

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi tanaman

Determinasi herba seledri dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Hasil determinasi menunjukkan bahwa herba seledri yang digunakan untuk penelitian ini adalah benar Seledri (*Apium graveolens L.*). (Lampiran 1)

2. Pengumpulan dan ekstraksi herba seledri

Susut pengeringan pada serbuk herba seledri dilakukan menggunakan alat Moisturizer balance hingga diperoleh nilai sebesar 7,726%.

Tabel 4 Susut pengeringan

Sampel	Berat awal sampel (g)	Berat simplisia kering (g)	Susut pengeringan (%)
Serbuk herba seledri (<i>Apium graveolens L.</i>)	3000	180	7,79

Pada penelitian ini ekstraksi herba seledri dilakukan dengan metode maserasi, pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan 1:10 b/v. Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak kental herba seledri sebanyak 82,574 gram dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5 Ekstrak seledri

Sumber: Dokumen Pribadi Peneliti

Eksrak herba seledri yang diperoleh selanjutnya di hitung berat rendemen ekstrak. Berdasarkan tabel 5, diketahui bahwa hasil rendemen ekstrak herba seledri memiliki berat sebesar 45,874% b/b. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada (Lampiran 3)

Tabel 5 Rendemen

Sampel	Berat sampel (g)	Volume pelarut (L)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
Herba seledri (<i>Apium graveolens L.</i>)	180	5,4	82,574	45,874

3. Hasil uji organoleptik

Ekstrak herba seledri yang telah dikentalkan kemudian di uji organoleptik. Berdasarkan hasil uji organoleptik, ekstrak etanol herba seledri memiliki spesifikasi seperti pada tabel 6.

Tabel 6 Uji Organoleptik

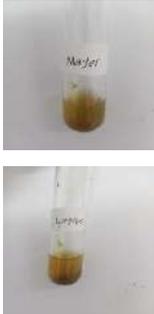
Identifikasi	Hasil	Teori
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Bau	Khas seledri	Bau
Rasa	Pahit	Khas seledri
Warna	Hijau pekat	Hijau tua

(Kemenkes RI, 2017)

4. Hasil skrining fitokimia

Berikut ini hasil pengujian fitokimia ekstrak herba seledri dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7 Skrining Fitokimia

Senyawa	Hasil	Teori	Keterangan	Gambar
Alkaloid				
a. Mayer	a. Hijau	a. Endapan putih	a. Negatif	
b. Wagner	b. kecoklatan (tanpa endapan)	b. Endapan coklat	b. Negatif	
c. Dragondorf	c. Hijau kecoklatan	c. Merah (jingga)	c. Negatif	

Senyawa	Hasil	Teori	Keterangan	Gambar
				
Flavanoid	Kuning	Merah, kuning dan jingga	Positif	
Saponin	Busa 4,5 cm	Busa setinggi 1-10 cm	Positif	
Tanin	Hijau kehitam-hitaman	Biru tua atau hijau kehitam-hitaman	Positif	
Steroid & terpenoid	Hijau	Merah atau hijau	Positif	

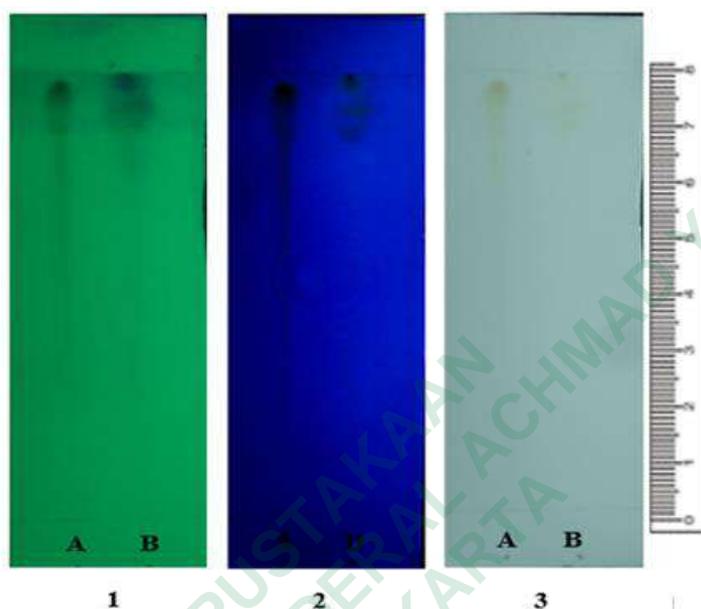
(Djamil & Wijastuti, 2015) (Parbuntari et al., 2018)

Berdasarkan hasil pengamatan uji fitokimia pada tabel 7, diketahui bahwa ekstrak etanol herba seledri mengandung senyawa flavanoid, saponin, tanin, dan steroid. Sedangkan untuk senyawa alkaloid pada penelitian tidak terjadi perubahan warna sehingga ekstrak etanol herba seledri. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari (2015) bahwa pengujian fitokimia ekstrak herba seledri menghasilkan senyawa flavanoid, saponin, tanin, dan steroid.

5. KLT pengujian senyawa flavonoid

Analisis ini menggunakan plat silika gel GF₂₅₄, standar pembanding kuersetin serta fase gerak n-butanol, asam asetat, air (4:1:5). (Lampiran 4) Pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel yakni etanol. Konsentrasi ekstrak, dan standar yang digunakan untuk penotolan yakni masing-masing sebesar 100 mg/ml dan 5 mg/ml. Volume penotolan sebanyak $\pm 150 \mu\text{L}$. Hasil penotolan dibaca pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm, serta dihitung

nilai Rf pada masing-masing perlakuan. Pemeriksaan profil KLT ini bertujuan sebagai identifikasi awal untuk memberikan gambaran pemisahan dari suatu senyawa yang terkandung dalam simplisia berdasar tingkat kepolarannya.



Gambar 6 Profil KLT ekstrak herba seledri, keterangan : 1. Deteksi dengan UV 254 nm; 2. Deteksi dengan UV 365 nm; 3. Pereaksi AlCl₃. A) kuersetin; B) ekstrak herba seledri. Fase diam: silika Gel GF₂₅₄ ; Fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4:1:5 v/v/v)

Hasil pengamatan di bawah sinar UV 254 nm (Gambar 6) menunjukkan bercak berpendar jelas dengan warna coklat. Pada sinar UV 365 nm (Gambar 6) terlihat bahwa bercak ekstrak berwarna coklat sedangkan standar berwarna juga berwarna coklat. Dari hasil percobaan di peroleh nilai Rf kuersetin sebesar 0,887 dan Rf ekstrak herba seledri sebesar 0,875. Nilai Rf dapat dijadikan bukti identifikasi suatu senyawa dikatakan mirip atau memiliki karakteristik yang sama dengan pembanding apabila memiliki nilai Rf yang sama. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak herba seledri mengandung senyawa kuersetin. Berdasarkan hasil pengamatan KLT yang dibandingkan dengan standar kuersetin, diduga ekstrak herba seledri yang digunakan dalam uji ini mengandung senyawa flavonoid.

Pada penelitian ini dilakukan orientasi fase gerak (Tabel 8), yang bertujuan untuk menentukan fase gerak yang cocok digunakan untuk

menganalisis kandungan zat aktif pada ekstrak. Berdasarkan hasil orientasi, fase gerak yang dapat mendeteksi kandungan flavonoid pada ekstrak herba seledri dan kuersetin adalah Butanol:Asam Asetat:Air dengan perbandingan 4:1:5. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10% sedangkan konsentrasi kuersetin adalah 0,1%. Bercak yang diperoleh pada ekstrak herba seledri dan kuersetin menunjukkan terbentuknya bercak yang baik yaitu bercak berwarna coklat yang memiliki nilai Rf yang hampir sama antara ekstrak dan kuersetin.

Tabel 8 Orientasi penggunaan fase gerak

No.	Fase Gerak	Perbandingan	Hasil
1	Butanol:Asam Asetat:Air	4:1:5	Konsentrasi ekstrak sebesar 1%, sehingga pemisahan sampel tidak terlihat
2	Butanol:Asam Asetat:Air	4:1:5	Konsentrasi kuersetin 1%, sehingga bercak kuersetin terlalu pekat
3	Butanol:Asam Asetat:Air	4:1:5	Bercak kuersetin terlihat, namun bercak ekstrak belum terlihat
4	Kloroform:Metanol:Air	7:2:1	Konsentrasi ekstrak 1% dan kuersetin 0,1%, bercak ekstrak masih tidak terlihat dan bercak kuersetin sudah terlihat
5	Kloroform:Metanol	9,5:0,5	Konsentrasi ekstrak 10% dan kuersetin 0,1%, bercak sudah nampak pada ekstrak dan kuersetin, namun nilai Rf tidak sesuai dengan literatur
6	Butanol:Asam Asetat:Air	4:1:5	Konsentrasi ekstrak 10% dan kuersetin 0,1%, bercak pada ekstrak dan kuersetin sudah terlihat

6. Hasil pengukuran antioksidan

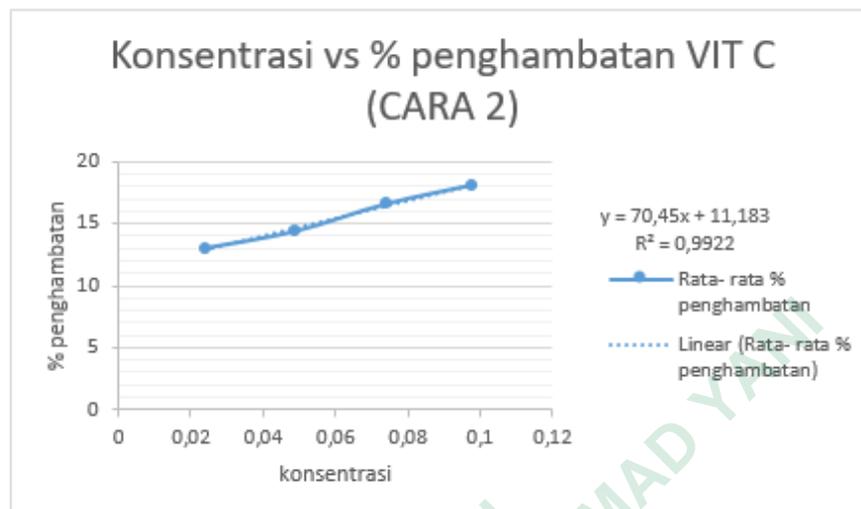
Uji aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri (*Apium graveolens L.*) dilakukan dengan menggunakan 2 metode yaitu metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Perbandingan yang digunakan pada kedua metode ini adalah vitamin C.

A. Metode DPPH

Pada uji aktivitas antioksidan dengan reagen DPPH digunakan konsentrasi DPPH sebesar 0,1 mM. Pengujian aktivitas antioksidan standar vitamin C dibuat dari larutan induk 10 ppm, kemudian dibuat masing - masing seri konsentrasi awal antara lain 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm (Lampiran 5). Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C yang dinyatakan dalam persen penghambatan (Tabel 9) kemudian diplotkan terhadap konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = 70,45x + 11,183$ (Gambar 7). Hasil tersebut digunakan untuk mengitung nilai IC_{50} dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 0,55 $\mu\text{g/ml}$ (kategori sangat kuat).

Tabel 9 Uji aktivitas antioksidan DPPH vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Rep.	Absorbansi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi	% penghambatan	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
0,024	1	0,528	0,515	13,006	0,55
	2	0,512			
	3	0,506			
0,049	1	0,524	0,507	14,358	
	2	0,502			
	3	0,495			
0,074	1	0,5	0,494	16,554	
	2	0,492			
	3	0,491			
0,098	1	0,497	0,485	18,074	
	2	0,493			
	3	0,466			



Gambar 7 Kurva Standar Vitamin C DPPH

Pada metode DPPH uji aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri dilakukan dengan berbagai macam konsentrasi awal yaitu 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm (Lampiran 5). Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri yang dinyatakan dalam persen penghambatan (Tabel 10). Hal ini berarti untuk menghilangkan 50% aktivitas radikal DPPH diperlukan konsentrasi ekstrak etanol diperoleh adalah 4,9577 $\mu\text{g/ml}$, artinya sampel ekstrak herba seledri masuk dalam kategori sangat kuat.

Tabel 10 Uji aktivitas antioksidan DPPH ekstrak seledri

Konsentrasi (ppm)	Rep.	Absorbansi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi	% penghambatan	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
0,061	1	0,646	0,647	23,341	4,9577
	2	0,648			
	3	0,647			
0,123	1	0,645	0,639	24,289	
	2	0,634			
	3	0,639			
0,308	1	0,63	0,628	25,592	
	2	0,621			
	3	0,633			

Konsentrasi (ppm)	Rep.	Absorbansi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi	% penghambatan	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
0,617	1	0,616	0,613	27,369	
	2	0,614			
	3	0,609			
1,234	1	0,585	0,592	29,857	
	2	0,603			
	3	0,59			

Pada penelitian ini dilakukan terlebih dahulu orientasi penentuan seri konsentrasi dari vitamin C (Tabel 11). Orientasi ini dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang sesuai sehingga data penelitian yang diperoleh akan lebih relevan. Berdasarkan hasil optimasi konsentrasi induk yang digunakan adalah 10 ppm sedangkan untuk seri konsentrasi yang digunakan adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm.

Tabel 11 Orientasi seri konsentrasi Vitamin C

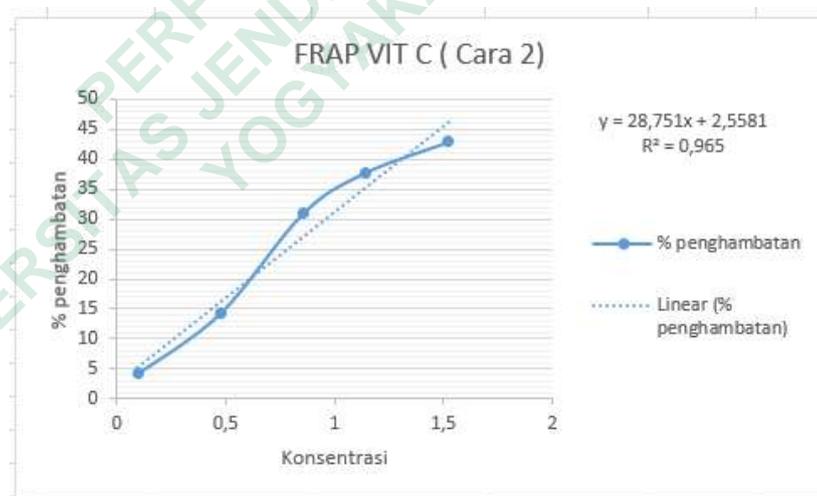
No.	Larutan induk	Seri konsentrasi	Pengujian	Absorbansi
1	500 ppm	10 ppm	1 ml vit C + 1 ml DPPH + ad 5 ml metanol pa	- 0,029
2	10 ppm	2 ppm	50 μl vit C + 4 ml DPPH	0,515
		4 ppm		0,507
		6 ppm		0,494
		8 ppm		0,485

B. Metode FRAP

Reagen FRAP terdiri dari beberapa bahan yaitu Buffer asetat pH 3,6, TPTZ dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan perbandingan 10:1:1. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak herba seledri dengan standar vitamin C. Standar vitamin C dibuat larutan induk dengan konsentrasi sebesar 400 ppm, kemudian dibuat seri konsentrasi menjadi 2 ppm, 10 ppm, 18 ppm, 24 ppm dan 32 ppm (Lampiran 6). Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C yang dinyatakan dalam persen perendaman (Tabel 12) kemudian diplotkan terhadap konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = 28,751x + 2,5581$ (Gambar 8). Hasil tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 1,65 $\mu\text{g/ml}$ (kategori sangat kuat).

Tabel 12 Uji aktivitas antioksidan FRAP vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Rep.	Absorbansi (µg/ml)	Rata-rata absorbansi	% penghambatan	IC ₅₀ (µg/ml)
0,095	1	0,339	0,331	4,229	1,65
	2	0,323			
	3	0,332			
0,476	1	0,337	0,37	14,324	
	2	0,369			
	3	0,363			
0,857	1	0,468	0,46	31,086	
	2	0,454			
	3	0,457			
1,142	1	0,519	0,51	37,843	
	2	0,502			
	3	0,508			
1,523	1	0,567	0,556	42,985	
	2	0,552			
	3	0,549			



Gambar 8 Kurva Standar Vitamin C FRAP

Ekstrak herba seledri dibuat larutan induk dengan konsentrasi sebesar 10.000 ppm, kemudian dibuat seri konsentrasi menjadi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm (Lampiran 6). Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri yang dinyatakan dalam persen penghambatan (Tabel 13). Hal ini berarti untuk menghilangkan 50%

aktivitas radikal DPPH diperlukan konsentrasi ekstrak etanol diperoleh adalah 100,885 $\mu\text{g/ml}$, artinya sampel ekstrak herba seledri masuk dalam kategori kuat.

Tabel 13 Uji aktivitas antioksidan FRAP ekstrak seledri

Konsentrasi (ppm)	Rep.	Absorbansi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi	% penghambatan	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
9,523	1	0,324	0,328	3,963	100,885
	2	0,326			
	3	0,334			
19,047	1	0,345	0,348	8,959	
	2	0,341			
	3	0,352			
28,571	1	0,36	0,37	14,864	
	2	0,373			
	3	0,379			
38,095	1	0,378	0,385	18,181	
	2	0,381			
	3	0,396			
47,619	1	0,417	0,41	23,17	
	2	0,411			
	3	0,402			

Orientasi penentuan seri konsentrasi Vitamin C pada metode FRAP dilakukan dengan beberapa percobaan (Tabel 14). Berdasarkan hasil orientasi, seri konsentrasi yang memiliki absorbansi yang baik dan linier adalah 2 ppm, 10 ppm, 18 ppm, 24 ppm, dan 32 ppm.

Tabel 14 Orientasi penentuan seri konsentrasi Vitamin C

Larutan Induk (ppm)	Percobaan	Seri konsentrasi (ppm)	Pengujian	Absorbansi
400	1	3,2	20 μl sampel + 3 ml FRAP	0,144
		4,0		0,146
		4,8		0,132
		5,6		0,160
		6,4		0,129
		10		0,351
	2	25		0,479
		10		0,319
		25		0,346
		40		0,377
		55		,423
		70		0,431
		3		10

	55		0,535
	70		0,541
	62,5		0,655
	100		0,669
4	10	150 µl sampel + 3 ml FRAP	0,505
	20		0,608
	30		0,638
	40		0,656
	50		0,668
	1		0,298
5	2	0,323	
	10	0,369	
	18	0,454	
	24	0,502	
	32	0,552	

Orientasi penentuan konsentrasi induk dan seri konsentrasi ekstrak pada metode FRAP dilakukan dengan beberapa percobaan (Tabel 15). Berdasarkan hasil orientasi, konsentrasi induk yang digunakan adalah konsentrasi 1000 ppm, karena dengan konsentrasi tersebut nilai absorbansi yang diperoleh akan lebih terlihat perubahannya. Seri konsentrasi yang digunakan adalah 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm, karena dengan seri konsentrasi ini nilai absorbansi yang diperoleh lebih linier dan data absorbansi tidak ekstrapolasi jika dibandingkan dengan standa vitamin C.

Tabel 15 Orientasi penentuan seri konsentrasi Ekstrak

Larutan Induk (ppm)	Percobaan	Seri konsentrasi (ppm)	Pengujian	Absorbansi
2000	1	2000		0,564
		200		0,356
5000	2	5000	20 µl sampel + 3 ml FRAP	0,376
		200		0,315
10000	3	10000	150 µl sampel + 3 ml FRAP	0,416
		200		0,333
	10000	0,662		
	200	0,324		
	400	0,345		
	600	0,373		
	4	800		0,378
		1000		0,417

B. Pembahasan

Tahap awal dilakukannya penelitian adalah dengan melakukan determinasi tanaman. Determinasi tanaman merupakan tahapan untuk membandingkan suatu tanaman dengan tanaman yang telah dikenal sebelumnya, yang bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan untuk penelitian, sehingga dapat dihindari adanya kesalahan pengumpulan bahan yang akan diteliti. Berdasarkan hasil determinasi, dapat di buktikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah seledri (*Apium graveolens L.*). Bahan yang digunakan untuk determinasi adalah herba seledri (*Apium graveolens L.*) yang meliputi bagian daun, batang dan akar. Hasil dari identifikasi tanaman seledri (*Apium graveolens L.*) dapat dilihat di Lampiran 1.

Herba seledri yang digunakan sebagai bahan penelitian dikumpulkan dari daerah Pakis, Magelang, Jawa Tengah. Herba seledri di ambil dalam satu kali waktu saja untuk menghindari adanya perbedaan kualitas kandungan kimia dalam herba seledri yaitu pada bulan Maret. Pemanenan herba seledri dilakukan pada pagi hari yang bertujuan untuk mendapatkan kandungan zat aktif yang masih optimal, karena pada pagi hari tanaman belum mengalami metabolisme. (Kurniawan, 2011)

Herba seledri yang digunakan dalam penelitian ini dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰C selama 3 hari, sehingga pengeringan sampel tidak dilakukan menggunakan terik matahari dan terhindar dari debu atau pun kotoran lain di udara terbuka (Kusumadewi & Widiyastuti, 2010). Sampel dapat dikatakan kering apabila ketika di remas dengan tangan simplisia dapat hancur. Pengeringan sampel bertujuan untuk menghindari adanya kerusakan sampel karena adanya pertumbuhan mikroorganisme dan agar sampel tidak mudah rusak jika disimpan dalam waktu yang lama. Setelah simplisia kering kemudian dilakukan penyerbukkan dengan menggunakan Grinder simplisia. Tujuan dari penyerbukkan adalah untuk memperbesar luas permukaan simplisia sehingga penyarian simplisia juga lebih optimal, karena semakin kecil ukuran partikel maka luar permukaan simplisia yang kontak langsung dengan pelarut akan lebih besar dan memudahkan untuk menarik senyawa kimia. Simplisia yang telah menjadi serbuk selanjutnya di

ayak menggunakan ayakan 40 mesh. (Bretha celia Saragih, 2019). Serbuk yang diperoleh kemudian di timbang menjadi sebanyak 180 gram, selanjutnya dilakukan uji susut pengeringan untuk mengetahui kelembaban dari serbuk yang akan di ekstraksi menggunakan alat *Moisturizer balance* dan diperoleh nilai susut pengeringan sebesar 7,726%. Hal ini telah sesuai dengan nilai yang tertera di Farmakope herbal indonesia yaitu untuk nilai susut pengeringan serbuk seledri adalah tidak lebih dari 10% (Kemenkes RI, 2017).

Pada penelitian ini proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol 70%. Perendaman dilakukan selama 1 x 24 jam, di aduk pada 6 jam pertama dan dibiarkan selama 18 jam (Kemenkes RI, 2017). Metode maserasi digunakan karena tidak menggunakan suhu yang tinggi sehingga dapat memperkecil kemungkinan adanya kerusakan ekstrak karena proses pemanasan (Susanty & Bachmid, 2016). Etanol 70% dipilih sebagai pelarut karena etanol memiliki tingkat kepolaran yang cukup tinggi, dan senyawa yang akan di tarik juga memiliki tingkat kepolaran yang tinggi yaitu senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki kepolaran yang tinggi karena senyawa ini memiliki gugus hidroksi pada strukturnya. Tingkat kepolaran ini yang menjadi alasan mengapa digunakan etanol 70%. Pengadukan dilakukan agar larutan tidak jenuh serta agar pelarut bisa menembus dinding sel pada herba seledri sehingga zat aktif yang keluar lebih banyak. Selanjutnya dilakukan proses remaserasi sebanyak 2 kali untuk memastikan bahwa tidak ada zat aktif yang tertinggal dalam ampas herba seledri. Filtrat yang diperoleh kemudian di rotary evaporator pada suhu 50⁰C hingga menjadi ekstrak kental. Hasil dari ekstrak yang diperoleh adalah sekitar 82,5742 gram dan hasil randemennya adalah 45,874%. Hasil rendemen yang diperoleh telah sesuai dengan teori, menurut Farmakope Herbal nilai rendemen ekstrak seledri adalah tidak kurang dari 24,6% (Kemenkes RI, 2017). Hasil dari nilai rendemen dapat digunakan sebagai indikator banyaknya komponen zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak, karena semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak kandungan zat aktif yang tertarik dari sampel (Senduk et al., 2020).

Uji organoleptik dilakukan untuk mengidentifikasi ciri khas dari ekstrak. Berdasarkan Farmakope Herbal ekstrak herba seledri yang dibuat telah sesuai

dengan teori yaitu memiliki bentuk berupa ekstrak kental, bau dan rasa seledri yang khas serta memiliki warna hijau tua. (Kemenkes RI, 2017)

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya di uji kualitatif yaitu dengan melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan terpenoid. Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dengan HCL 2N. Penggunaan HCL 2N untuk memisahkan senyawa alkaloid yang bersifat basa, sehingga perlu ditambahkan suatu bahan yang bersifat asam seperti HCL 2N. Kemudian larutan dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing larutan ditambahkan dengan reagen mayer, wagner dan dragendorf. Penambahan reagen mayer akan terbentuk endapan putih jika mengandung alkaloid karena terjadinya reaksi antara nitrogen dan logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) sehingga akan terbentuk endapan dari kompleks kalium-alkaloid (Harahap & Situmorang, 2021). Penambahan wagner akan membentuk endapan coklat, karena terjadinya reaksi ion logam K^+ dengan nitrogen yang membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga akan terbentuk ikatan kalium-alkaloid (Parbuntari et al., 2018). Sedangkan untuk penambahan dragendorf akan menimbulkan perubahan warna menjadi merah (jingga), hal ini dapat terjadi karena adanya ikatan kovalen koordinat antara nitrogen dan K^+ (ion logam) (Harahap & Situmorang, 2021). Hasil dari pengujian ekstrak seledri membuktikan bahwa ekstrak seledri yang di analisis tidak mengandung alkaloid, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wulandari yang memperoleh hasil negatif (Wulandari et al., 2015). Uji flavonoid dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan serbuk magnesium dan HCL 2N, magnesium dan HCL digunakan untuk memutus ikatan antara glikosida dan flavonoid sehingga akan membentuk garam flavium yang berwarna merah, jingga hingga kuning (Parbuntari et al., 2018). Hasil dari percobaan ekstrak herba seledri mendapatkan perubahan warna menjadi kuning, hal ini menjadi salah satu tanda bahwa herba seledri mengandung flavonoid, sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari yang memperoleh hasil positif (Wulandari et al., 2015). Pada uji saponin, ekstrak dilarutkan dengan air panas dan dikocok kuat selama 10 detik, hasil yang diperoleh adalah busa setinggi 4,5 cm, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wulandari

bahwa herba seledri positif mengandung saponin (Wulandari et al., 2015). Pada uji tanin, ekstrak direaksikan dengan FeCl_3 dan mengalami reaksi perubahan warna menjadi hijau kehitaman, terjadinya reaksi ini karena adanya gugus fenol dalam herba seledri yang bereaksi dengan FeCl_3 sehingga akan terjadi perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman (Muthmainnah, 2017). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari bahwa herba seledri positif mengandung tanin (Wulandari et al., 2015). Pada uji steroid dan terpenoid, ekstrak seledri di reaksikan dengan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat sehingga akan menimbulkan terjadinya perubahan warna menjadi merah atau hijau, jika berwarna merah menandakan mengandung terpenoid sedangkan jika berwarna hijau positif mengandung steroid. Hasil yang di peroleh berwarna hijau menandakan bahwa herba seledri positif mengandung steroid. (Harahap & Situmorang, 2021)

Pada uji fitokimia herba seledri positif mengandung senyawa flavonoid, selanjutnya dilakukan identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Uji kromatografi lapis tipis digunakan untuk membuktikan bahwa herba seledri mengandung senyawa flavonoid. Perbandingan yang digunakan dalam identifikasi senyawa ini adalah kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai perbandingan karena termasuk dalam senyawa flavonoid golongan flavonol (Azizah et al., 2014). Prinsip kerja dari KLT adalah suatu proses pemisahan senyawa kimia menggunakan fase gerak dan fase diam (Kusnadi & Devi, 2017). Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel GF₂₅₄ yang bersifat polar, dipilih silika gel GF₂₅₄ karena silika gel ini akan berfluorensi pada sinar UV 254 (Feladita et al., 2016). Fase diam sebelum digunakan harus di oven pada suhu 100⁰C selama 30 menit untuk meningkatkan daya serap plat dengan menghilangkan kandungan air yang terdapat dalam plat. (Mawarda et al., 2020). Fase gerak yang digunakan adalah n-butanol (polar): asam asetat (polar): air (polar) dengan perbandingan 4:1:5. Pemilihan fase gerak ini karena senyawa yang akan diidentifikasi adalah senyawa yang polar yaitu flavonoid, sehingga agar senyawa tersebut dapat terelusi membutuhkan fase gerak yang memiliki kepolaran yang tinggi. Pada penelitian ini sebelumnya telah dilakukan orientasi penentuan fase gerak yang sesuai terlebih dahulu agar bercak yang diperoleh dapat di amati dengan baik. Tujuan dari orientasi

ini adalah melakukan percobaan dengan beberapa fase gerak hingga diperoleh fase gerak yang sesuai agar diperoleh hasil yang baik.

Fase gerak dimasukkan ke dalam chamber dan di tunggu hingga jenuh, untuk mengetahui kejenuhan fase gerak dapat digunakan kertas saring. Fase gerak yang telah jenuh ditandai dengan terserapnya larutan oleh kertas saring sudah mencapai batas atas tutup chamber. Penjenuhan fase gerak berfungsi untuk menghomogenkan tekanan uap yang ada dalam chamber serta untuk meminimalkan terjadinya penguapan fase gerak. Pembuatan ekstrak untuk KLT dibuat dengan konsentrasi 10% yaitu sebanyak 500 mg ekstrak herba seledri dilarutkan dengan etanol 70% ad 5 ml, kemudian filtrat di vortex hingga ekstrak larut sempurna. Selanjutnya filtrat disaring dengan kertas saring untuk menyaring ekstrak yang cokolat tidak dapat larut sempurna. Filtrat ekstrak yang telah dibuat kemudian ditotolkan ke plat KLT dan ditotolkan juga standar kuersetin sebagai pembanding. Pembanding kuersetin dibuat dengan konsentrasi 0,1 %. Apabila totolan telah kering, maka plat KLT dapat dimasukkan ke dalam chamber yang telah jenuh dan chamber harus segera ditutup kembali. Setelah fase gerak telah mencapai batas atas plat KLT, kemudian plat dikeluarkan dan di keringkan. Amati hasil KLT dibawah sinar tampak, sinar UV 254 dan sinar UV 365. Bercak yang diperoleh pada sinar UV 254 nm (Gambar 6) menunjukkan bercak jelas dengan warna coklat. Pada sinar UV 365 nm (Gambar 6) terlihat bahwa bercak ekstrak berwarna coklat dan juga bercak standar berwarna coklat. Pada sinar UV 254 plat KLT akan berpendar dan bercak akan tampak lebih gelap sedangkan pada sinar UV 365 bercak berpendar dengan latar belakang yang gelap (Karima et al., 2019). Plat berpendar pada sinar UV 254 karena silika gel yang digunakan adalah silika gel 254, sehingga senyawa akan berpendar pada panjang gelombang tersebut. Dilakukan penyemprotan dengan $AlCl_3$ dan selanjutnya di amati dengan sinar UV kembali. Penyemprotan dengan $AlCl_3$ berfungsi sebagai penampak bercak, agar bercak lebih jelas terlihat setelah di semprot dengan $AlCl_3$. Dari hasil percobaan di peroleh nilai R_f kuersetin sebesar 0,887 dan R_f ekstrak herba seledri sebesar 0,875. Nilai R_f dapat dijadikan bukti identifikasi suatu senyawa dikatakan mirip atau memiliki karakteristik yang sama dengan pembanding apabila memiliki nilai R_f yang sama. Hal ini membuktikan

bahwa ekstrak herba seledri mengandung senyawa flavonoid (Kusnadi & Devi, 2017). Menurut Mosleh et al. (2021) seledri memiliki kandungan flavonoid, salah satunya adalah kuersetin. Kandungan kuersetin pada seledri dapat menjadi indikator bahwa seledri memiliki sifat antioksidan yang kuat (Mosleh et al., 2021).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang memiliki peran untuk menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh, sehingga dapat menghindari terjadinya kerusakan oksidatif. Cara untuk mendeteksi adanya senyawa antioksidan di dalam suatu sampel yaitu dengan melakukan uji antioksidan. Uji antioksidan sangat penting untuk menganalisis adanya aktivitas penangkapan radikal bebas dari suatu tanaman. Pada penelitian ini uji aktivitas antioksidan yang akan dilakukan adalah dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode ini memiliki mekanisme kerja yang berbeda, metode DPPH bekerja dengan menangkap radikal bebas, sedangkan FRAP bekerja dengan kemampuannya untuk mereduksi. Pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH dan FRAP dapat menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Evaluasi hasilnya dengan menggunakan nilai IC_{50} , dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan juga semakin besar. Perbandingan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C, karena vitamin C dikenal sebagai senyawa antioksidan yang mampu untuk menangkal adanya radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Sayuti & Yenrina, 2015). Pada penelitian ini sebelumnya telah dilakukan orientasi penentuan konsentrasi larutan DPPH, penentuan konsentrasi induk & seri konsentrasi pada vitamin C dan ekstrak menggunakan metode DPPH dan FRAP. Tujuan dilakukan orientasi ini adalah agar diperoleh data yang linier dan tidak mengalami ekstrapolasi data, sehingga data yang digunakan itu lebih relevan.

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan secara *in vitro*. Metode DPPH di kenal sebagai metode yang sederhana, mudah, akurat, dan hanya menggunakan sampel yang sedikit serta waktu yang relatif singkat. Selain itu metode DPPH ini hanya membutuhkan sampel yang sedikit. Prinsip dari metode DPPH adalah adanya interaksi antara senyawa antioksidan dengan DPPH sebagai

radikal bebas, yang bekerja melalui transfer elektron atau pun hidrogen yang dapat menetralkan radikal bebas DPPH. (Marjoni & Zulfisa, 2017). Pada metode DPPH penangkapan radikal bebas oleh suatu senyawa dapat diketahui dengan adanya penurunan absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang maksimum. Penurunan absorbansi DPPH dapat turun karena adanya kemampuan suatu senyawa untuk menangkap radikal bebas sehingga senyawa radikal menjadi lebih sedikit. Selain itu dapat juga di amati dari perubahan warna yang terjadi, DPPH memiliki warna ungu yang cukup pekat, apabila DPPH ditambahkan dengan senyawa antioksidan maka warna ungu dari DPPH akan mengalami perubahan menjadi sedikit pudar karena adanya aktivitas penangkapan radikal bebas.

Pembuatan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM dibuat dengan menimbang 4 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan metanol ad 100 ml. Pemilihan metanol sebagai pelarut karena serbuk DPPH mudah larut dengan pelarut polar seperti metanol. Pembuatan larutan induk DPPH harus dilakukan di tempat yang gelap yaitu dengan melapisi labu ukur dengan alumunium foil, agar larutan tidak terkena cahaya secara langsung, karena jika terkena cahaya larutan DPPH akan mudah rusak dan menjadi tidak stabil. Selanjutnya dilakukan skринning panjang gelombang larutan DPPH dari 400-600 nm, berdasarkan hasil skринning diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515 nm, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wulandari bahwa panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515 nm (Wulandari et al., 2015). Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui serapan maksimum DPPH, karena jika di analisis dengan panjang gelombang maksimum, maka akan meningkatkan kepekaan terhadap hasil absorbansi yang diperoleh. Setelah di peroleh panjang gelombang maksimum selanjutnya dilakukan operating time di periksa nilai absorbansi setiap 5 menit sekali selama 40 menit, DPPH stabil pada menit ke 30, hal ini sesuai penelitian Wulandari bahwa operating time DPPH adalah selama 30 menit. Operating time bertujuan untuk mengetahui waktu yang tepat dilakukannya pengukuran absorbansi, dimana pada waktu tersebut telah terjadi reaksi yang optimal (Wulandari et al., 2015). Penggunaan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM telah dilakukan orientasi, sebelumnya dibuat DPPH dengan

konsentrasi 0,4 mM namun diperoleh nilai absorbansi yang sangat tinggi yaitu sekitar $\pm 3,5$. Adanya nilai absorbansi yang terlalu tinggi sehingga konsentrasi DPPH harus diturunkan, karena jika tidak diturunkan maka bahan yang digunakan banyak yang akan terbuang, sehingga penggunaan bahan juga tidak banyak yang terbuang.

Standar vitamin C dibuat seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm (lampiran). Sebelum menggunakan konsentrasi tersebut telah dilakukan uji orientasi vitamin C dengan konsentrasi induk sebesar 500 ppm, yaitu dengan mencampurkan 1 ml vitamin c dan ditambah 1 ml DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan di ad hingga tanda batas dengan metanol. Hasil yang diperoleh dari hasil orientasi dengan konsentrasi induk 500 ppm adalah -0,029 berasal dari pengujian vitamin C dengan pembuatan seri konsentrasi 10 ppm. Oleh karena itu standar vitamin C dibuat dengan konsentrasi seperti yang disebutkan di atas. Sedangkan ekstrak herba seledri dibuat seri konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Sebelumnya dilakukan optimasi dengan menggunakan seri konsentrasi 5 ppm, 25 ppm, dan 100 ppm, dari hasil absorbansi yang diperoleh telah memenuhi syarat (linier) sehingga dilanjutkan dengan seri konsentrasi lainnya. Selanjutnya dari masing-masing seri konsentrasi di ambil 50 μ l selanjutnya di tambahkan DPPH 4 ml. Homogenkan larutan dan di inkubasi 30 menit dalam suhu ruang. Selanjutnya diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Saat proses pengerjaan semua tabung dan gelas ukur ditutup dengan aluminium foil agar terhindar dari cahaya matahari secara langsung untuk menghindari terjadinya kerusakan. Setelah di peroleh nilai absorbansi kemudian di hitung nilai % inhibisi dan dibuat persamaan regresi liniernya dengan memasukkan konsentrasi sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan regresi linier yang diperoleh dari data vitamin C adalah $y = 70,45x + 11,183$ dan $r = 0,996$. Sedangkan untuk ekstrak herba seledri adalah $y = 5,3262x + 23,594$ dan $r = 0,985$. Nilai IC_{50} diperoleh dengan mengantikan nilai y dengan angka 50, sehingga diperoleh nilai IC_{50} vitamin C sebesar 0,55 μ g/ ml sedangkan untuk nilai IC_{50} ekstrak sebesar 4,9577 μ g/ ml. Hasil nilai IC_{50} yang diperoleh menjelaskan bahwa vitamin C dan ekstrak masuk dalam kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu$ g/ml).

Seledri memiliki kandungan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan yaitu dengan menghambat pembentukan radikal DPPH. Senyawa flavonoid bekerja dengan menangkap radikal bebas, di mana akibat dari penangkapan itu akan terjadi perpindahan elektron hidrogen dari senyawa flavonoid ke radikal DPPH sehingga radikal DPPH akan menjadi senyawa yang lebih stabil sedangkan untuk senyawa flavonoid akan menjadi radikal juga, namun tetap menjadi radikal yang stabil. Mekanisme vitamin C sebagai standar yaitu adanya reaksi antara vitamin C dengan anion hidroksil untuk membentuk senyawa semihidroaskorbat dengan mendonorkan satu elektron. Senyawa yang terbentuk bersifat tidak reaktif dan akan mengalami reaksi disproporsionasi untuk membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Selanjutnya dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. (Lung & Destiani, 2018)

Hal ini telah sesuai dengan penelitian yang dilakukan Din et al. (2015) nilai aktivitas antioksidan pada seledri sangat kuat, hal ini dinyatakan dari nilai IC_{50} yang di dapatkan untuk ekstrak etanol biji seledri sebesar 1,09. Selain itu pada penelitian menurut Tjahjadi (2019) pengujian ekstrak herba seledri dengan metode refluks memperoleh nilai persen penghambatan sebesar 1,63. Pada penelitian lain aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri memiliki kandungan aktivitas antioksidan yang kuat, dibuktikan dengan nilai % penghambatan yaitu 68 $\mu\text{g/ml}$. (Liu et al., 2020)

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk, menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak herba seledri dan vitamin C signifikan ($p > 0,05$) artinya data terdistribusi normal. Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan metode Levene's, berdasarkan data yang diperoleh nilai sig $< 0,05$ artinya data yang di gunakan tidak homogen, sehingga pengambilan keputusan T test menggunakan hasil equal variance not assumed. Uji Statistik T-test merupakan salah satu uji untuk mengetahui perbedaan antara dua sampel yang berbeda. Interpretasi data dapat dilihat dari nilai signifikan ($p < 0,05$). Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan signifikan dari nilai IC_{50} ekstrak herba seledri dan vitamin C. Berdasarkan hasil uji T-test equal variance not assumed menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vit C dan ekstrak herba seledri dengan

metode DPPH berbeda secara signifikan ($p < 0,05$), artinya adanya perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak herba seledri dan vitamin C.

Pengujian metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi senyawa Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} pada pH 3,6. Mekanisme senyawa flavonoid dalam pengujian antioksidan dengan metode FRAP bekerja dengan adanya transfer elektron dari senyawa flavonoid sehingga akan terjadi proses reduksi dari Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Fe^{3+} pada uji FRAP berasal dari pereaksi FRAP yaitu campuran dari buffer asetat, TPTZ, dan $FeCl_3$. Ketika Fe^{3+} direduksi menjadi Fe^{2+} maka akan terbentuk warna biru pada larutan uji. Jika warna biru menjadi lebih gelap, ion Fe^{2+} yang terbentuk akan semakin banyak. Semakin gelap intensitas warna biru, maka semakin tinggi potensi aktivitas antioksidan sampel. (Rismayanti & Husni, 2021)

Reagen FRAP dibuat dari beberapa larutan yaitu dari buffer pH 3,6, larutan induk TPTZ, larutan induk $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. Larutan induk ini di ambil dengan perbandingan 10:1:1, setelah ketiga larutan tersebut dicampur dan bereaksi hingga homogen maka akan menjadi suatu reagen FRAP pekat. Reagen FRAP pekat harus di encerkan 10 kali dengan menggunakan aquades. Selanjutnya dilakukan skrining panjang gelombang larutan FRAP dari 400-800 nm, berdasarkan hasil skrining diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum FRAP adalah 600 nm. Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum selanjutnya dilakukan operating time diperiksa nilai absorbansi setiap 1 menit sekali selama 40 menit, reagen FRAP setelah di operating time stabil pada menit ke 30.

Standar vitamin C dibuat seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 10 ppm, 18 ppm, 24 ppm, dan 32 ppm. Sedangkan ekstrak herba seledri dibuat seri konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm. Sebelum menggunakan seri konsentrasi berikut sebelumnya telah dilakukan orientasi dengan beberapa seri konsentrasi. Seri konsentrasi vitamin C awal yang dibuat adalah 3,2 ppm; 4,0 ppm; 4,8 ppm; 5,6 ppm; 6,4 ppm; 10 ppm; dan 25 ppm, diperoleh absorbansi masing masing sebesar 0,144; 0,146; 0,132; 0,160; 0,129; 0,351; dan 0,479, karena hasil yang diperoleh masing banyak yang tidak stabil (data yang diperoleh masih naik turun) maka perlu dilakukan orientasi konsentrasi kembali, yaitu dengan seri

konsentrasi 10 ppm; 25 ppm; 40 ppm; 55 ppm; dan 70 ppm dan diperoleh nilai absorbansi 0,330; 0,369; 0,376; 0,443; dan 0,448. Dilihat dari nilai absorbansi ini nilai absorbansi vitamin C dan sampel ekstrapolasi, sehingga perlu dilakukan orientasi ulang dengan seri konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm; dan 50 ppm. Hasil absorbansi yang diperoleh masih ekstrapolasi sehingga seri konsentrasi perlu dicek kembali yaitu 2 ppm; 10 ppm; 18 ppm; 24 ppm; dan 32 ppm. Konsentrasi inilah yang digunakan dalam penelitian. Orientasi konsentrasi pada herba seledri dilakukan dari pembuatan larutan induknya yaitu mulai dari menggunakan konsentrasi 2000 ppm hingga 10.000 ppm.

Masing-masing seri konsentrasi diambil 150 μ L dan ditambahkan dengan 3 mL reagen FRAP. Homogenkan larutan dan di inkubasi 30 menit dalam suhu ruang. Selanjutnya diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Saat proses pengerjaan semua tabung dan gelas ukur ditutup dengan aluminium foil agar terhindar dari cahaya matahari secara langsung untuk menghindari terjadinya kerusakan. Setelah di peroleh nilai absorbansi kemudian di hitung nilai % inhibisi dan dibuat persamaan regresi liniernya dengan memasukkan konsentrasi sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan regresi linier yang diperoleh dari data vitamin C adalah $y = 28,751x + 2,5581$ dan $r = 0,982$. Sedangkan untuk ekstrak herba seledri adalah $y = 0,5002x - 0,4629$ dan $r = 0,996$. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggantikan nilai y dengan angka 50, sehingga diperoleh nilai IC_{50} vitamin C sebesar 1,65 μ g/ml sedangkan untuk nilai IC_{50} ekstrak sebesar 100,885 μ g/ml. Dari hasil tersebut terlihat bahwa vitamin C memiliki kandungan IC_{50} yang sangat kuat sedangkan herba seledri memiliki kandungan yang kuat ($IC_{50} < 50 - 100 \mu$ g/ml).

Mekanisme seledri sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah dengan melakukan transfer elektron dari senyawa flavonoid pada seledri sehingga akan terjadi proses reduksi dari Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Proses reduksi ini lah yang menjadi peran suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan, karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron sehingga membuat senyawa radikal menjadi stabil. Nilai aktivitas antioksidan dengan menggunakan menggunakan metode FRAP lebih rendah dibandingkan dengan metode DPPH, hal

ini terjadi karena adanya pengaruh pH asam yang dapat mengubah matriks penyusun antioksidan. Reaksi vitamin C yaitu elektron pada atom oksigen yang terionisasi dapat terstabilkan dengan sistem karbonil tak jenuh dan ikatan hidrogen dengan proton dari gugus alifatik (Maesaroh et al., 2018). Menurut Din et al. (2015) uji kadungan antioksidan seledri dengan menggunakan metode FRAP adalah sebesar 8,64 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini membuktikan bahwa pada penelitian yang dilakukan sebelumnya seledri memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk, menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak herba seledri dan vitamin C signifikan ($p > 0,05$) artinya data terdistribusi normal. Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan metode Levene's, berdasarkan data yang diperoleh nilai $sig < 0,05$ artinya data yang digunakan tidak homogen, sehingga pengambilan keputusan T test menggunakan hasil equal variance not assumed. Berdasarkan hasil uji T-test equal variance not assumed menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vit C dan ekstrak herba seledri dengan metode FRAP berbeda secara signifikan ($p < 0,05$), artinya adanya perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak herba seledri dan vitamin C.

Hasil uji normalitas dengan metode Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa uji aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri dengan metode DPPH dan FRAP terdistribusi normal, dengan nilai signifikan $> 0,05$. Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan metode Levene's, berdasarkan data yang diperoleh nilai $sig < 0,05$ artinya data yang digunakan tidak homogen, sehingga pengambilan keputusan T test menggunakan hasil equal variance not assumed. Berdasarkan hasil T-test independent equal variance not assumed menunjukkan bahwa ekstrak herba seledri dengan metode DPPH dan FRAP berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Artinya adanya perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri dengan menggunakan metode DPPH dan FRAP.