

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Tanaman herba seledri yang didapatkan dari perkebunan di Desa Pogalan, Kec. Pakis, Kab. Magelang, Jawa Tengah dikumpulkan secara random sampling. Selanjutnya determinasi dilakukan di Laboratrium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan dengan No. SK: 260/Lab.Bio/B/IV/2025. Hasil determinasi (**Lampiran 2**), menyatakan bahwa sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah Herba Seledri (*Apium graveolens* L.).

2. Pengumpulan Sampel

Simplisia herba seledri dilakukan pemanenan pada pagi hari yakni pukul 07.00 WIB dengan kriteria panen 40 hari setelah penanaman. Hasil pengumpulan sampel dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Sampel Herba Seledri

Herba Seledri	Bobot (g)
Segar	3000
Serbuk	460

3. Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia

Kadar air serbuk simplisia herba seledri didapatkan hasil <10 %. Hasil dapat dilihat pada **Tabel 6**.

4. Ekstraksi Herba Seledri

Proses ekstraksi dilakukan dengan dua metode, hasil ekstraksi tersebut dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Lampiran 3**.

Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak herba seledri

Metode ekstraksi	% Rendemen	Teori (Farmakope Herbal Indonesia, 2017)
UAE	18,67%	>10%
Maserasi	15,73%	

5. Uji Organoleptis

Ekstrak kental herba seledri selanjutnya dilakukan pengujian organoleptis secara obyektif. Hasil pengujian organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Herba Seledri

Parameter	UAE	Maserasi
Warna	Hijau – Kehitaman	Hijau - Kehitaman
Tekstur	Kental	Kental
Aroma	Khas	Khas

6. Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan bentuk pengujian kualitatif yang dilakukan dengan tujuan mendeteksi adanya senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak herba seledri. Hasil dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Lampiran 6**.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Herba Seledri

Uji Fitokimia	UAE	Maserasi	Menurut (Khoiriyah, 2021)	Teori (Fauzia, 2023)
Alkaloid				
a. Reagen Mayer	(-)	(-)	(-)	a. Endapan putih
b. Reagen Wagner	(-)	(-)	(-)	b. Endapan coklat
c. Reagen Dragendorff	(-)	(-)	(-)	c. Endapan jingga
Tanin	(+)	(+)	(+)	Terbentuk warna hijau-hitam
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	Terbentuk warna merah, kuning, atau jingga
Saponin	(+)	(+)	(+)	Terbentuk busa 1-10 cm
Triterpenoid/Steroid	(+)	(+)	(+)	Terbentuk warna merah/kuning dan warna hijau

Keterangan:

(+) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder

(-) menunjukkan tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

7. Uji Kadar Air

Kadar air simplisia dan ekstrak untuk metode ekstraksi UAE dan maserasi menunjukkan hasil <10%. Dapat dilihat pada **Tabel 6** dan **Lampiran 5**.

Tabel 6. Hasil Kadar Air Serbuk Simplisia, Ekstrak Metode UAE dan Maserasi

Sampel	Kadar Air (%)	Teoritis (Farmakope Herbal Indonesia, 2017)
Serbuk herba seledri	5,79%	
Ekstrak UAE	1,99%	<10%
Ekstrak Maserasi	2,19%	

8. Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan KLT

Identifikasi senyawa flavonoid dengan kromatografi lapis tipis dimulai dengan melakukan orientasi dan optimasi fase gerak. Hasil orientasi dan optimasi fase gerak dapat dilihat pada **Tabel 7**.

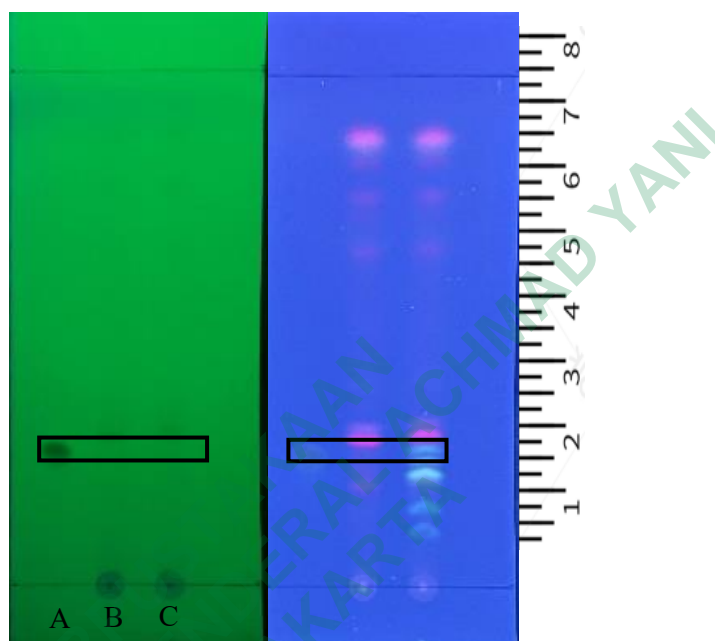
Tabel 7. Hasil Orientasi dan Optimasi Fase Gerak

No	Fase Gerak	Hasil
1	Butanol : Asam Asetat : Air (4 : 1 : 5)	Terlihat noda pada sampel ekstrak metode UAE dan Maserasi yang mencapai batas atas, standar kuersetin tidak terelusi optimal dan terjadi tailing karena terlalu pekat.
2	Kloroform : Metanol : n-Heksan (9 : 1 : 1)	Standar kuersetin tidak terelusi dengan optimal dan terdapat tailing.
3	Toluen : Etil Asetat : Asam Format (7 : 2,5 : 0,5)	Terjadi pemisahan senyawa, kuersetin terelusi baik dan tampak noda pada kedua sampel ekstrak.

Berdasarkan **Tabel 7**, fase gerak yang paling optimal adalah toluen : Etil Asetat : Asam Format (7 : 2,5 : 0,5) sehingga digunakan pada penelitian ini. Hasil orientasi dan optimasi fase gerak dapat dilihat pada **Gambar 7** dengan panjang gelombang UV 254 dan 356 dan hasil Rf dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Nilai R_f Ekstrak Herba Seledri

Sampel	Nilai R _f (<i>Reterdation Factor</i>)
Kuersetin	0,287
Ekstrak Herba Seledri UAE	0,287
Ekstrak Herba Seledri Maserasi	0,287



Gambar 7. Profil KLT Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* L), keterangan: 1. Deteksi sinar UV 254; 2. Deteksi sinar UV 365; A) Standar Kuersetin; B) Sampel Ekstrak Herba Seledri UAE; C) Sampel Ekstrak Herba Seledri Maserasi. Fase diam (silika gel 60 F₂₅₄); Fase Gerak (Toluen : Etil Asetat : Asam Format; 7: 2,5 : 0,5).

9. Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal FeSO₄·7H₂O

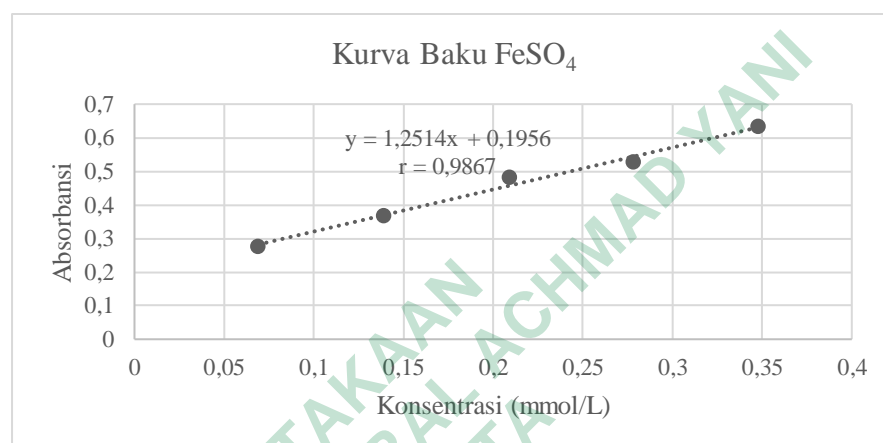
Penentuan panjang gelombang maksimal dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan FRAP. Hasil dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

b. Penentuan *Operating Time*

Operating time dilakukan selama 45 menit dengan interval 1 menit, sehingga *operating time* yang diperoleh adalah 14 menit yang dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

c. Penentuan Kurva Kalibrasi $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Pada penelitian ini digunakan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai standar baku untuk menentukan kurva baku yang berperan dalam perhitungan kapasitas antioksidan. Penentuan kurva kalibrasi dibuat 5 seri konsentrasi yang dilakukan replikasi pada setiap konsentrasinya. Hasil kurva kalibrasi dapat dilihat dari **Gambar 8** dan **Lampiran 10**.



Gambar 8. Kurva Kalibrasi FeSO_4

d. Penentuan Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan secara kuantitatif untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE) dengan maserasi dilihat dari FRAP Value yang didapat dari ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L.). Nilai antioksidan ekstrak herba seledri dapat dilihat pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Hasil Aktivitas Antioksidan Standar Kuersetin, Ekstrak Herba Seledri Metode UAE dan Maserasi Menggunakan FRAP

Sampel Uji	FRAP Value (mmol/L FeSO_4) \pm SD
Kuersetin	187,933 \pm 1,887
Ekstrak Metode UAE	180,214 \pm 0,000
Ekstrak Metode Maserasi	179,948 \pm 0,032

e. Analisis Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan SPSS

Analisis data pada penelitian ini digunakan *software* SPSS. Hasil statistic normalitas, homogenitas, dan *T-test independent* untuk membandingkan pengaruh dari 2 metode ekstraksi terhadap FRAP *Value* ekstrak herba seledri, dapat dilihat pada **Tabel 10** dan **Lampiran 11**.

Tabel 10. Analisis Statistik FRAP *Value* Ekstrak Herba Seledri

Sampel	Uji Normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>)	Uji Homogenitas (<i>Levene test</i>)	<i>T-Test</i> Independent
Metode UAE	0,725		
Metode Maserasi	0,745	0,959	0,997

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANUWIS
YOGYAKARTA

B. Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan komparatif untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi maserasi dengan *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE) dalam uji aktivitas antioksidan dari ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L.). Simplisia herba seledri yang digunakan didapat dari perkebunan yang berada di Desa Pogalan, Kec. Pakis, Kab. Magelang, Jawa Tengah. Selanjutnya dilakukan determinasi tanaman yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan digunakan sebagai sampel uji (Nurhayati et al., 2022). Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan dengan No. SK : 260/Lab.Bio/B/IV/2025 (**Lampiran 2**). Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Herba Seledri (*Apium graveolens* L.). Sampel herba seledri dengan usia panen 40 hari setelah penanaman, diambil dengan kriteria berwarna hijau dan segar serta dipanen pada pagi hari (Khoiriyah, 2021). Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari pukul 07.00 WIB, karena intensitas cahaya yang terlalu tinggi pada siang hari dapat merangsang degradasi flavonoid karena oksidasi (Aulianshah et al., 2024).

Herba seledri sebanyak 3 kg dilakukan penyortiran basah yang mula-mula dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran pada sampel. Sortasi basah dilakukan untuk menghindari kontaminan yang terdapat pada sampel herba seledri, dilanjutkan dengan sortasi kembali/ulang. Sortasi kembali/ulang dilakukan untuk memastikan sampel terbebas dari kotoran yang masih menempel dan juga memisahkan sampel yang sudah rusak. Berikutnya dilakukan pemisahan antara daun dan batang yang kemudian bagian batang dirajang sekitar 5 cm, pemisahan dilakukan dengan tujuan agar tidak terjadi kerusakan pada saat proses pengeringan. Pengeringan sampel dilakukan menggunakan oven dengan suhu 40°C, pemilihan suhu tersebut dikarenakan senyawa bioaktif bahan alami sensitif terhadap panas. Semakin tinggi suhu pengeringan dapat merusak atau mendegradasi senyawa aktif (Sembiring et al., 2022). Herba seledri yang sudah melalui proses pengeringan, selanjutnya dilakukan penyerbukan menggunakan grinder guna meningkatkan kontak langsung antara sampel dan pelarut. Serbuk yang dihasilkan kemudian

diayak menggunakan ayakan 40 *mesh* untuk memastikan ukuran partikel sampel. Penggunaan ayakan 40 *mesh* bertujuan untuk mendapatkan serbuk simplisia dengan ukuran yang seragam dan halus agar memudahkan penarikan senyawa saat proses ekstraksi (Pujiastuti & Andreana, 20220). Kemudian, proses ekstraksi dilakukan guna memisahkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel yaitu senyawa flavonoid dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan etanol 70% didasarkan dari penelitian Hasanah & Novian (2020), yang menyatakan etanol 70% dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya dan juga bersifat polar sehingga dapat melarutkan senyawa flavonoid yang bersifat polar.

Pada penelitian ini herba seledri diekstraksi menggunakan dua metode ekstraksi yaitu, metode *Ultrasonoic-assisted Extraction* (UAE) dan metode maserasi. Proses ekstraksi pada metode UAE dan maserasi menggunakan suhu 25°C dengan waktu 30 menit. Suhu tinggi pada proses ekstraksi mengakibatkan rusaknya senyawa flavonoid pada simplisia dan jika suhu yang rendah maka senyawa flavonoid pada simplisia tidak dapat terekstrak (Sekarsari *et al.*, 2019).. Metode ekstraksi UAE bekerja dengan adanya getaran gelombang ultrasound pada frekuensi yang tinggi sehingga dapat mempercepat proses pemecahan dinding sel dalam zat aktif. Gelombang tersebut tercipta ketika fase cair berada di bawah titik didihnya sehingga memicu pembentukan gelembung secara spontan yang dapat meningkatkan permeabilitas terhadap dinding sel (Susiloningrum, 2023). Metode maserasi yang digunakan pada penelitian ini telah dilakukan modifikasi yaitu dengan menggunakan bantuan *magnetic stirrer* (20 mm) guna mempercepat pemindahan senyawa dari serbuk herba seledri dalam pelarut yang digunakan. Setelah melalui proses ekstraksi akan dihasilkan ekstrak kental yang kemudian dilakukan perhitungan % rendemen dengan tujuan untuk mengetahui persentase ekstrak yang berhasil larut dalam pelarut (Wijaya, 2018). Syarat dari rendemen yaitu tidak kurang dari 10% (Depkes RI, 2017), sedangkan pada penelitian ini % rendemen yang dihasilkan pada metode UAE sebesar 18,67% dan metode maserasi sebesar 15,73% (**Lampiran 4**). Hasil rendemen menggambarkan jumlah senyawa aktif yang berhasil diekstrak, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak

zat aktif yang terekstrak dari sampel . Hal tersebut menunjukkan hasil ekstraksi dengan metode UAE lebih tinggi senyawa metabolit sekunder yang terekstrak dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi (Deng *et al.*, 2017).

Ekstrak herba seledri yang didapatkan berikutnya dilakukan pengujian organoleptis pada ekstrak bertujuan agar dapat mendeskripsikan bentuk, warna, dan bau pada ekstrak (Dewi, I.K., 2021). Hasil yang didapat sejalan dengan penelitian yang dilakukan Khoiriyah (2021), yaitu membentuk ekstrak kental dengan bau/aroma yang khas herba seledri dengan warna hijau pekat. Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui jumlah air yang terkandung dalam ekstrak setelah proses pemekatan atau pengeringan (Vanessa *et al.*, 2024). Hal ini dilakukan karena kadar air dapat mempengaruhi kualitas simplisia seperti mudah terkontaminasi mikroba dan fisik simplisia menjadi rusak (Wandira *et al.*, 2023). Pengujian tersebut dilakukan pada serbuk dan ekstrak herba seledri pada suhu 105°C, penggunaan suhu tersebut karena air menguap pada suhu 100°C dengan suhu 105°C maka kandungan air dalam sel sebagian besar sudah menguap. Kadar air yang ditetapkan untuk menjaga mutu simplisia adalah $\leq 10\%$ (Wandira *et al.*, 2023). Dilihat dari **Tabel 4**, kadar air pada serbuk simplisia sebesar 5,79%, ekstrak metode UAE sebesar 1,99% dan ekstrak metode maserasi 2,12%, Hal ini menunjukkan bahwa serbuk simplisia dan ekstrak kedua metode tersebut telah memenuhi kadar yang telah dipersyaratkan yaitu $\leq 10\%$. Menurut Utami *et al* (2020) nilai persentase kadar air kurang dari 10% dapat mengurangi risiko kontaminasi mikroba seperti bakteri, jamur, dan kapang yang dapat mempengaruhi ekstrak. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa metode UAE memiliki kadar air yang rendah, hal tersebut dapat dipengaruhi dari durasi proses penguapan ekstrak yang tidak sama.

Pengujian skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Pengujian ini meliputi uji alkaloid, tanin, flavonoid, triterpenoid/steroid, dan saponin. Uji alkaloid dibagi menjadi 3 bagian dengan dilakukan penambahan reagen Wagner, Dragendorff, dan juga Mayer pada setiap bagiannya. Penambahan reagen Wagner menghasilkan endapan coklat karena terbentuknya ion I_3^- dari reaksi antara iodin (I_2) dan ion I^- dari KI. Hal ini disebabkan oleh ikatan antara atom nitrogen (N) yang memiliki

pasangan elektron bebas pada alkaloid dengan ion logam K^+ , membentuk senyawa kompleks kalium-alkaloid melalui ikatan kovalen koordinasi (Parbuntari *et al.*, 2018). Penambahan reagen Dragendorff menghasilkan endapan jingga akibat reaksi antara atom nitrogen pada alkaloid dan ion logam K^+ dalam senyawa kompleks kalium tetraiodobismutat(III), yang membentuk kompleks kalium-alkaloid melalui ikatan kovalen koordinasi serta menghasilkan ion kompleks tetraiodobismutat(III) (Harahap & Situmorang, 2021). Sedangkan pada penambahan reagen Mayer akan membentuk endapan putih hasil reaksi antara nitrogen dan logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) sehingga terbentuk endapan dari kompleks kalium-alkaloid (Harahap & Situmorang, 2021). Uji flavonoid dilakukan dengan mereaksikan magnesium dengan HCl guna memutus ikatan antara glikosida dan flavonoid sehingga akan membentuk garam flavium yang berwarna merah, jingga hingga kuning (Parbuntari *et al.*, 2018). Uji saponin dilakukan dengan menggojog sampel yang dilarutkan dengan air panas hingga membentuk busa yang kemudian dilakukan penambahan HCl untuk menstabilkan busa yang terbentuk (Wulandari *et al.*, 2015). Uji tanin dilakukan dengan mereaksikan $FeCl_3$ dan sampel ekstrak yang akan terjadi perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman karena adanya gugus fenol dalam sampel yang bereaksi dengan $FeCl_3$ (Mutmainnah, 2017). Uji steroid/triterpenoid direaksikan dengan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat sehingga akan menimbulkan terjadinya perubahan warna merah atau hijau (Harahap & Situmorang, 2021). Hasil skrining fitokimia menunjukkan sampel ekstrak herba seledri memiliki kandungan tannin, flavonoid, triterpenoid/steroid dan saponin (**Lampiran 6**). Hal tersebut selaras dengan hasil penelitian yang dilakukan Khoiriyah (2021). Berdasarkan (**Lampiran 6**) hasil sampel ekstrak herba seledri metode UAE menunjukkan bahwa intensitas warna yang terbentuk dari uji skrining fitokimia memiliki intensitas warna yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metode maserasi.

Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif ekstrak herba seledri menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis digunakan untuk mengetahui adanya senyawa flavanoid yang ditunjukkan dengan nilai perbandingan R_f pada sampel dan standar. Metode KLT dalam proses pemilihan system pelarut

yang dipakai didasarkan atas prinsip *like dissolves like* (Kusnadi & Devi., 2017). Standar yang digunakan ialah kuersetin yang merupakan salah satu jenis flavonoid golongan flavonol (Cahyono *et al.*, 2021). Pelarut yang digunakan ialah etanol p.a. (*pro analysis*) sebagai pelarut dalam metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) karena tingkat kemurniannya yang tinggi sangat penting untuk menjaga akurasi dan validitas hasil analisis. Menurut Nunung *et al.*, (2020) dalam KLT, pelarut berperan sebagai media pembawa senyawa sampel maupun sebagai komponen fase gerak, sehingga keberadaan kontaminan sekecil apa pun dalam pelarut dapat menyebabkan gangguan pada proses pemisahan, seperti munculnya bercak asing, perubahan nilai *R_f*, atau tumpang tindih antar senyawa. Plat silika gel F254 digunakan sebagai fase diam dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) karena memiliki sifat polar dan gugus hidroksil yang memungkinkan interaksi kuat dengan senyawa polar melalui ikatan hidrogen, sehingga efektif dalam menyerap dan memisahkan senyawa organik maupun anorganik; selain itu, kandungan fluoresen pada panjang gelombang 254 nm memudahkan visualisasi bercak senyawa di bawah sinar UV, menjadikannya media ideal untuk analisis kualitatif yang akurat dan sensitif (Asra *et al.*, 2021) Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari hasil orientasi dan optimasi untuk mendapatkan fase gerak dengan perbandingan yang optimal sehingga dapat memisah dengan baik dan menimbulkan bercak flavonoid tanpa adanya penyebaran spot dan berekor (*tailing*). Hasil dari optimasi dan orientasi fase gerak menunjukkan bahwa Toluena : Etil Asetat : Asam Format memiliki hasil yang optimal (**Tabel 7**). Penggunaan Toluena : Etil Asetat : Asam Format (7 : 2,5 : 0,5) sebagai fase gerak yang memiliki sifat non-polar ini bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran berdasarkan perbedaan polaritasnya. Hasil yang didapat (**Gambar 7**), pada sinar UV 264 terdapat berupa bercak kuning pada standar kuersetin, warna kuning kehijauan pada sampel ekstrak metode UAE dan maserasi. Sedangkan pada sinar UV 365 terdapat bercak berwarna ungu pada setiap sampel uji. Hasil positif flavonoid didasarkan karena adanya pembentukan bercak warna kuning kehijauan (Ayu *et al.*, 2019), maka dapat disimpulkan kedua sampel menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid dengan melihat nilai *R_f* pada masing-masing sampel yang setara dengan

nilai R_f pada standar (**Tabel 8 & Lampiran 7**). Menurut oktavianitari *et al* (2019) dikatakan positif apabila selisih nilai $R_f \leq 0,05$ dan dikatakan negatif apabila selisih nilai $R_f \geq 0,05$. Dari hasil penelitian ini dapat dikatakan positif mengandung senyawa flavonoid dikarenakan selisih antara sampel uji dengan standar yaitu $\leq 0,05$.

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak herba seledri dilakukan menggunakan metode FRAP. Metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Metode FRAP digunakan untuk menentukan total kandungan antioksidan, bekerja berdasarkan prinsip transfer elektron, di mana senyawa antioksidan bertindak sebagai reduktor yang menyumbangkan elektron kepada ion ferri (Fe^{3+}), sehingga berubah menjadi ion ferro (Fe^{2+}). Reaksi ini terjadi dalam kondisi asam (pH 3,6) dan melibatkan kompleks Fe^{3+} -TPTZ (*2,4,6-tripyridyl-s-triazine*) yang tidak berwarna, yang kemudian berubah menjadi kompleks Fe^{2+} -TPTZ berwarna biru setelah reduksi (Ohorela *et al.* 2024). Pada penelitian ini digunakan larutan buffer asetat pH 3,6 yang bertujuan sebagai pemberi suasana asam dan untuk melarutkan $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. Penggunaan pH 3,6 bertujuan untuk menjaga kelarutan ion besi yang dapat meningkatkan transfer electron sehingga mekanisme reaksi akan lebih stabil (Munteanu, 2021). Penambahan TPTZ (*2,4,6-tripyridyl-striazine*) dan $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ diperlukan untuk membentuk senyawa kompleks Fe^{3+} (Theafelicia & Wulan., 2023). Digunakan larutan $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ sebagai larutan standar sehingga hasil yang diperoleh dalam penentuan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol/L $FeSO_4$. Penentuan kurva kalibrasi $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dilakukan dengan pengukuran absorbansi sampel pada 5 konsentrasi (20, 40, 60, 80, 100 ppm) yang dilakukan replikasi pada setiap konsentrasinya. Berdasarkan hasil kurva kalibrasi $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (**Gambar 8 & Lampiran 10**), persamaan regresi linier yang didapat yaitu $y = 1,2524x + 0,1956$ dengan nilai $r = 0,9867$. Menurut Valentine & Yunita (2023), Nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menunjukkan bahwa hubungan antara variabel absorbansi dan konsentrasi bersifat linier. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan nilai absorbansi..

Pada penelitian ini, penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencari panjang gelombang dan operating time terlebih dahulu. Hal ini dilakukan untuk memperoleh nilai absorbansi tertinggi yang digunakan sebagai acuan dalam pengukuran aktivitas antioksidan. Pengujian dilakukan pada rentang panjang gelombang 588–610 nm, dan hasil menunjukkan bahwa panjang gelombang optimum berada pada 596 nm. Temuan ini konsisten dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Fauziah *et al* (2023), yang juga mengidentifikasi panjang gelombang serupa dalam analisis aktivitas antioksidan. Dilanjutkan penentuan waktu operasional (*operating time*) dilakukan untuk mengetahui durasi optimum yang dibutuhkan agar reaksi antara sampel dan reagen FRAP mencapai titik maksimal, yang ditandai dengan nilai absorbansi yang konstan atau stabil. Proses ini dilakukan dengan pengamatan pada interval waktu setiap 1 menit hingga mencapai menit ke-45, guna memastikan bahwa reaksi telah berlangsung secara sempurna dan hasil pengukuran absorbansi mencerminkan aktivitas antioksidan secara akurat. Didapatkan hasil operating time yang menunjukkan absorbansi stabil pada menit ke 14 – 17. Penetapan aktivitas antioksidan terhadap kuersetin dan sampel ekstrak dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi dengan konsentrasi 20 ppm. Dengan membandingkan pola absorbansi yang dihasilkan, dapat diketahui sejauh mana kemampuan masing-masing sampel dalam mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , sebagai indikator aktivitas antioksidan berdasarkan metode FRAP dan dilakukan replikasi. Berikutnya, digunakan standar pembanding kuersetin yang merupakan senyawa flavonoid tunggal golongan flavonol, sejalan dengan penelitian yang dilakukan Suhartatik *et al* (2023), yang menyatakan adanya kandungan flavonoid dalam herba seledri yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan FRAP *Value* sebagai parameter. FRAP *Value* merupakan kemampuan suatu ekstrak atau kuersetin untuk mereduksi ion besi (Fe^{3+}) menjadi (Fe^{2+}). Semakin tinggi konsentrasi maka FRAP *Value* yang dihasilkan semakin meningkat (Fernandes *et al.*, 2016). Berdasarkan **Tabel 9**, kuersetin memiliki FRAP *Value* tertinggi sebesar $187,933 \pm 1,887$ mmol/g kuersetin, disusul dengan FRAP *Value* yang diperoleh dari metode ekstraksi UAE sebesar $180,214 \pm 0,000$ mmol/g ekstrak dan metode

ekstraksi maserasi sebesar $179,948 \pm 1,613$ mmol/g ekstrak. Hasil tersebut menunjukkan kuersetin memiliki kemampuan reduksi terhadap Fe^{2+} tertinggi dibandingkan dengan sampel ekstrak UAE dan maserasi. Hal ini terjadi karena kuersetin merupakan senyawa murni dibandingkan ekstrak herba seledri metode UAE dan maserasi. Fenomena tersebut dapat dijelaskan melalui karakteristik ekstrak kasar yang digunakan sebagai sampel uji. Ekstrak tersebut merupakan hasil dari proses pelarutan menggunakan etanol, yang bersifat semi-polar dan mampu melarutkan berbagai jenis senyawa bioaktif, baik yang bersifat polar maupun non-polar. Akibatnya, komposisi ekstrak tidak hanya terdiri dari senyawa antioksidan, melainkan juga mencakup senyawa lain yang tidak memiliki aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, aktivitas yang terdeteksi dalam uji tidak sepenuhnya merefleksikan potensi antioksidan secara spesifik, melainkan merupakan akumulasi dari berbagai senyawa yang larut dalam pelarut etanol tersebut (Martati & Simamora, 2021). Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol herba seledri secara signifikan berpengaruh terhadap nilai FRAP yang dihasilkan. Secara prinsip, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pengujian, maka semakin besar pula jumlah senyawa aktif yang berpotensi berperan sebagai antioksidan dalam sistem reaksi. Hal ini berdampak langsung pada kemampuan reduksi terhadap ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , yang tercermin dalam peningkatan nilai FRAP. Dengan demikian, terdapat korelasi positif antara konsentrasi ekstrak dan kapasitas antioksidan yang terukur, di mana konsentrasi yang lebih tinggi cenderung menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat (Ahyani *et al.*, 2025).

Hasil pengolahan data statistik menggunakan uji *T-test Independent* dilakukan untuk menguji perbedaan kedua metode ekstraksi pada ekstrak herba seledri. Uji normalitas dilakukan sebelum uji tersebut untuk menentukan apakah data terdistribusi secara normal dan dilanjutkan uji homogenitas untuk memastikan apakah data homogen. Hasil menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) serta hasil uji *T-test independent* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kedua metode UAE dan Maserasi ($p > 0,05$).

Pada penelitian ini hasil FRAP *Value* dari kedua metode ekstraksi diperoleh hasil yang tidak signifikan diantara kedua metode tersebut. FRAP *Value* paling

tinggi yang didapat pada metode ekstraksi UAE. Hal ini selaras dengan hasil penelitian yang dilakukan Agusti (2024), yang menyatakan metode ekstraksi UAE memperoleh hasil aktivitas antioksidan tertinggi dikarenakan proses ekstraksi pada metode tersebut menggunakan bantuan gelombang ultrasonic yang dapat menarik ekstrak dari matriks tanpa merusak senyawa ekstrak itu sendiri, sehingga senyawa-senyawa yang dibutuhkan sebagai antioksidan terekstraksi dengan baik. Metode UAE memanfaatkan gelombang suara berfrekuensi tinggi yang diarahkan melalui media cair yang mengandung sampel. Ketika gelombang suara melewati media tersebut, partikel-partikel terpecah menjadi lebih kecil dan terbentuk ruang kosong atau kavitasi. Kavitasi ini meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks sampel dan menghasilkan tekanan mekanis yang merusak dinding sel serbuk sampel. Akibatnya, senyawa-senyawa dalam sel dapat terpisah dan terlarut dalam pelarut dengan lebih efisien, menjadikan metode UAE lebih efektif dan efisien dibandingkan metode konvensional (Aldian, 2024). Faktor lain yang mendukung hasil tersebut ialah nilai rendemen yang diperoleh dari metode ekstraksi UAE lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi, hal ini menyebabkan banyaknya kandungan metabolit sekunder seperti senyawa flavonoid pada ekstrak metode UAE (Pawarti *et al.* 2023). Rendemen ekstrak yang tinggi umumnya mencerminkan efisiensi ekstraksi yang baik serta potensi kandungan metabolit sekunder yang lebih melimpah, seperti flavonoid dan fenol, yang berperan sebagai antioksidan aktif dalam metode FRAP (Amaliah *et al.*, 2023). Dalam konteks ini, semakin tinggi rendemen, maka kemungkinan nilai FRAP juga meningkat karena jumlah senyawa reduktor yang tersedia untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} lebih besar. Sebaliknya, rendemen yang rendah dapat mengindikasikan keterbatasan senyawa aktif dalam ekstrak, sehingga kapasitas antioksidan yang terdeteksi pun cenderung lebih rendah. Di sisi lain, kadar air yang tinggi dalam ekstrak dapat menurunkan stabilitas dan konsentrasi senyawa aktif, serta mengganggu pembacaan spektrofotometri akibat interferensi pelarut polar, sehingga berpotensi menurunkan nilai FRAP. Oleh karena itu, ekstrak dengan rendemen tinggi dan kadar air rendah lebih diharapkan menghasilkan nilai FRAP yang optimal dan representatif terhadap aktivitas antioksidan total (Baehaki *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil (**Tabel**

3 & Tabel 6), menunjukkan ekstrak herba seledri dengan metode UAE memiliki nilai rendemen yang tinggi dan kadar air yang rendah dibandingkan dengan metode maserasi. Namun demikian FRAP Value kedua metode tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA