

## The Effect of Ethanol Percentage on Antioxidant Activity of Celery (*Apium graveolens*)

Lukman Lukman<sup>1\*</sup>, Suwahyuni Mus<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Almarisah Madani, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

### Abstract

Excessive physical activity forms reactive oxygen species (ROS), which oxidize low-density lipoprotein (LDL) and trigger the formation of arteriosclerosis. Increasing antioxidant consumption, such as celery (*Apium graveolens*), has been proven to prevent heart disease. This study investigated the effect of ethanol concentration on the antioxidant activity of celery herbs in vitro and in vivo. The dried herb was macerated using a mixture of ethanol and water (100% water, 50% ethanol, 70% ethanol, 90% ethanol, and ethanol absolute (99,5%)). Antioxidant activity was determined using the LDL oxidation and  $\beta$ -carotene bleaching methods. Additionally, the antioxidant in vivo activity was carried out on rats using the high-intensity swimming exercises method. The results showed that 70% ethanol extract was significantly ( $p < 0.05$ ) able to inhibit the degradation of  $\beta$ -carotene and LDL oxidation compared to other extracts. The 70% ethanol extract also reduced malondialdehyde levels ( $14.35 \pm 0.63$  ng/mL) compared to negative controls ( $46.04 \pm 1.69$  ng/mL). In addition, there was an increase in glutathione levels after administration of 70% ethanol extract ( $111.93 \pm 11.68$  ng/mL) compared to negative controls ( $46.04 \pm 1.69$  ng/mL). In conclusion, 70% ethanol extract of celery herb has the potential to be developed as an alternative to prevent arteriosclerosis.

**Keywords:** Antioxidant; *Apium graveolens*; ethanol concentration; High-intensity exercises.

## Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Seledri (*Apium graveolens*) secara *In Vitro* dan *In Vivo*

### Abstrak

Reactive oxygen species (ROS) yang terbentuk akibat aktivitas fisik yang berlebih akan mengoksidasi LDL (*low-density lipoprotein*) dan memicu terbentuknya arteriosklerosis. Peningkatan konsumsi antioksidan terbukti dapat menghindari penyakit jantung, salah satunya bersumber dari bumbu dapur seperti seledri (*Apium graveolens*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antioksidan herba seledri secara *in vitro* dan *in vivo*. Siplisia dimaserasi menggunakan campuran pelarut etanol dan air dengan berbagai konsentrasi (air 100%, etanol 50%, etanol 70%, etanol 90%, dan etanol 96%). Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode LDL oxidation dan  $\beta$ -carotene bleaching secara *in vitro*, sedangkan secara *in vivo* menggunakan hewan uji tikus metode *high intensity swimming exercises*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% secara signifikan ( $p < 0,05$ ) mampu menghambat lalu degradasi  $\beta$ -karoten dan LDL dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Pada pengujian *in vivo*, ekstrak etanol 70% juga mampu menurunkan kadar malondialdehid ( $14,35 \pm 0,63$  ng/mL) dibandingkan dengan kontrol negatif ( $46,04 \pm 1,69$  ng/mL). Selain itu, ditemukan peningkatan kadar glutation setelah pemberian ekstrak etanol 70% ( $111,93 \pm 11,68$  ng/mL) dibandingkan dengan kontrol negatif ( $46,04 \pm 1,69$  ng/mL). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% herba seledri berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat pencegah arteriosklerosis.

**Kata Kunci:** Aktivitas fisik, antioksidan, *Apium graveolens*, konsentrasi etanol

### Article History:

Submitted 29 December 2024

Revised 25 March 2025

Accepted 16 April 2025

Published 31 October 2025

\*Corresponding author:

[lukman\\_m01@yahoo.co.id](mailto:lukman_m01@yahoo.co.id)

### Citation:

Lukman L., Mus, S. The Effect of Ethanol Percentage on Antioxidant Activity of Celery (*Apium graveolens*). Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025; 12 (3), 349-356

## 1. Pendahuluan

Penyakit jantung masih menjadi penyebab kematian utama di Indonesia. Hal ini disebabkan oleh pergeseran pola konsumsi makanan cepat saji yang tinggi lemak, kolesterol, dan garam.<sup>1</sup> Konsumsi makanan cepat saji yang berlebih mengakibatkan tingginya kadar *low density lipoprotein* (LDL). Semakin tinggi kadar LDL, maka lebih banyak yang akan mengalami oksidasi oleh radikal bebas dan ditangkap oleh makrofag. Komponen LDL yang telah dioksidasi membentuk LDL-teroksidasi (LDL-Ox) yang mengendap di dinding pembuluh dan mengakibatkan arteriosklerosis yang berdampak terjadinya penyakit jantung koroner.<sup>2</sup> Hal ini diperparah jika diikuti dengan produksi radikal bebas berlebih oleh tubuh. Aktivitas fisik berlebihan menyebabkan pasokan oksigen yang tidak mencukupi dan mengakibatkan oksidasi oksigen disertai pelepasan elektron. Elektron yang terlepas akan menjadi radikal bebas yang dikenal *reactive oxygen species* (ROS).<sup>3,4</sup> Spesies reaktif ini akan mempercepat terbentuknya LDL-Ox.<sup>5</sup> Secara alami, tubuh memproduksi antioksidan endogen seperti glutathione dan ubiquinol. Akan tetapi, ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan endogen menyebabkan stres oksidatif.<sup>6</sup> Stres oksidatif ditandai dengan peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan penurunan kadar glutathione.<sup>7</sup> Peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam tanaman terbukti dapat menghindari penumpukan LDL-Ox.<sup>8</sup> Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sumber antioksidan adalah seledri (*Apium graveolens*).

Seledri secara tradisional bermanfaat untuk menurunkan kolesterol, antioksidan dan anti inflamasi. Menurut Aboody,<sup>9</sup> ekstrak etanol 70% seledri mampu meredam radikal bebas nitrit oksida, DPPH, dan ABTS dengan nilai IC<sub>50</sub> 16,23±0,15; 11,25±0,06; dan 10,25 µg/mL dibandingkan dengan ekstrak air. Indraningsih<sup>10</sup> melaporkan bahwa kadar flavonoid tertinggi seledri ditunjukkan oleh ekstrak etanol 70% dibandingkan dengan ekstrak air. Ekstrak etanol 96% seledri mampu meredam radikal DPPH dengan nilai IC<sub>50</sub> 4,96 µg/mL dan daya reduksi *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) sebesar 100,89 µg/mL.<sup>11</sup> Nurjanah dkk.<sup>12</sup> melaporkan ekstrak etanol 96% seledri lebih aktif dibandingkan etil asetat dan heksana terhadap aktivitas antioksidan.

Septiana dkk.<sup>13</sup> melaporkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol 96% dengan air terhadap aktivitas anti hipertensi seledri, akan tetapi pada metode *Trolox equivalent antioxidant capacity*, aktivitas ekstrak etanol lebih tinggi dibandingkan ekstrak air. Ekstrak etanol 96% seledri dosis 250 mg/kg BB mampu melindungi

fungsi ginjal ditandai dengan peningkatan kadar glutathione dan penurunan kadar MDA.<sup>14</sup> Senyawa aktif yang terkandung dalam seledri seperti apigenin dan luteolin mampu menghambat aktivitas NRH-*quinone oxidoreductase-2*, mengaktifkan AMP kinase, dan menurunkan aktivitas AMP-*activated protein kinase* sehingga mampu menghambat stres oksidatif di hati akibat paparan radikal bebas.<sup>15</sup> Berdasarkan uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan jenis pelarut yang digunakan mempengaruhi aktivitas biologi.

Efektivitas ekstraksi sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut sesuai prinsip *like dissolve like*. Pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi adalah metanol, etanol, heksana, kloroform, etil asetat, butanol dan air.<sup>16</sup> Berdasarkan peraturan BPOM No. HK.04.02.42.421.12.17.1673 disebutkan bahwa pelarut yang direkomendasikan adalah etanol dan air.<sup>17</sup> Air dan etanol merupakan pelarut yang bersifat polar sedangkan apigenin dan luteolin termasuk ke dalam senyawa flavonoid yang juga bersifat polar.<sup>18</sup> Air tidak toksik, mudah diperoleh dengan harga yang relatif murah akan tetapi sulit diuapkan dan mudah ditumbuhi jamur, sedangkan etanol memiliki kemampuan mengekstrak yang baik, bersifat *pharmaceutical grade* dan *food grade*, akan tetapi memiliki harga yang relatif mahal dibandingkan air.<sup>19</sup> Selain itu, kombinasi antara air dengan etanol yang tepat terbukti mampu menghasilkan ekstrak dengan nilai rendemen yang tinggi serta aktivitas biologi yang lebih baik.<sup>20-22</sup> Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak seledri baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Secara *in vitro* menggunakan metode LDL *oxidation* dan  $\beta$ -*carotene bleaching*, sedangkan secara *in vivo* menggunakan tikus model *swimming-induced oxidative stress*.

## 2. Metode

### 2.1. Pengumpulan sampel uji

Sampel berupa herba seledri diperoleh dari Malino, Kab. Gowa, Sulawesi Selatan. Sampel dipetik pada pagi hari sebelum matahari terbit selanjutnya dicuci dengan air mengalir, dilakukan sortasi basah dan dikeringkan. Pengeringan sampel didasarkan pada metode yang diutarakan oleh Khoiriyah dan Nurhasanah (2021) menggunakan oven simplisia pada suhu 40°C.<sup>11</sup>

### 2.2. Pembuatan ekstrak

Sebanyak 500 g simplisia kering dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan dengan pelarut air

100%; etanol 50%; etanol 70%; etanol 90%; dan etanol absolut (99,5%) sebanyak 5 L (1:10). Etanol diperoleh dari Sigma-Aldrich (Merck (Darmstadt, Jerman) (no. katalog 459828), dan air diperoleh dari *Water One OneMed* spesifikasi pro analitik (Sidoarjo, Indonesia). Ekstraksi dilakukan selama 3 hari sambil sesekali diaduk dan terlindung dari sinar matahari langsung. Ekstrak cair selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Buchi®) pada suhu 30°C dan tekanan 68 mmHg, selanjutnya dikeringkan dalam desikator dan dihitung rendemennya sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat simplisia}} \times 100$$

### 2.3. Uji aktivitas antioksidan

#### 2.3.1. Metode LDL oxidation

Sebanyak 10 mg ekstrak kering dilarutkan dengan 10 mL *phosphate buffered saline* (PBS) (pH 7,4) yang diencerkan hingga didapatkan konsentrasi akhir 15,63; 31,25; 62,50; 125,00; dan 250,00 µg/mL. Masing-masing larutan dipipet 100 µL dan ditambahkan dengan 100 µL LDL (5,8 µg/mL). Oksidasi LDL diinisiasi dengan penambahan 5 µL tembaga (II) sulfat (CuSO<sub>4</sub>; 100 µM) dan dicukupkan hingga 5 mL. Pembentukan senyawa diena terkonjugasi selama proses oksidasi diukur menggunakan spektrofotometer λ 234 nm (Shimadzu UV-1800, Japan).

#### 2.3.2. Metode β-carotene bleaching

Radikal bebas disiapkan dengan cara melarutkan 50 mg β-karoten dan 2 mL asam linoleat dengan 10 mL tween, lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL dengan akuades. Sebanyak 1 mL larutan radikal bebas ditambahkan dengan 100 µL sampel (15,63; 31,25; 62,50; 125,00; dan 250,00 µg/mL), dengan kontrol negatif terdiri dari 1 mL radikal dan 100 µL etanol, selanjutnya diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Absorbansi diukur pada λ 450 nm dengan menggunakan spektrofotometer (Shimadzu UV-1800, Japan).

### 2.4. Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih berjenis kelamin jantan galur Wistar. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus (n= 5). Tikus ditimbang dan diadaptasikan selama 7 hari. Pakan menggunakan makanan standar hewan pengerat dan akses air secara *ad libitum*. Semua proses pengerjaan akan dikonsultasikan ke komisi etik penelitian kesehatan Universitas Almarisah Madani untuk mendapatkan persetujuan yang ditandai dengan

dikeluarkannya sertifikat ethical clearance (No. 415/EC.1.1.B/XI/KEPK/2024).

### 2.5. Pembuatan hewan model

Stres oksidatif diinduksi dengan menempatkan hewan uji dalam baskom (50 × 60 cm) berisi air dengan kedalaman 60 cm dan suhu air 40°C. Tikus dibiarkan berenang selama 1 jam per hari selama 8 minggu sebelum diberi perlakuan.<sup>7</sup>

### 2.6. Perlakuan hewan uji

Sebanyak 1 g masing-masing ekstrak kering disuspensikan ke dalam Na-CMC 1%. Ekstrak diberikan ke dalam setiap kelompok menggunakan kanula oral tikus dengan dosis:

- Kelompok kontrol: Na-CMC 1%;
- Kelompok perlakuan 1: ekstrak air seledri 100 mg/kg BB;
- Kelompok perlakuan 2: ekstrak etanol 50% seledri 100 mg/kg BB;
- Kelompok perlakuan 3: ekstrak etanol 70% seledri 100 mg/kg BB;
- Kelompok perlakuan 4: ekstrak etanol 90% seledri 100 mg/kg BB;
- Kelompok perlakuan 5: ekstrak etanol 96% seledri 100 mg/kg BB;

Dosis yang diberikan didasarkan pada bobot tikus. Ekstrak diberikan 1 kali sehari sambil dilakukan aktivitas fisik 1 jam setelah perlakuan. Setelah 8 minggu perlakuan, darah dikumpulkan melalui vena orbital, serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari es suhu -20°C.

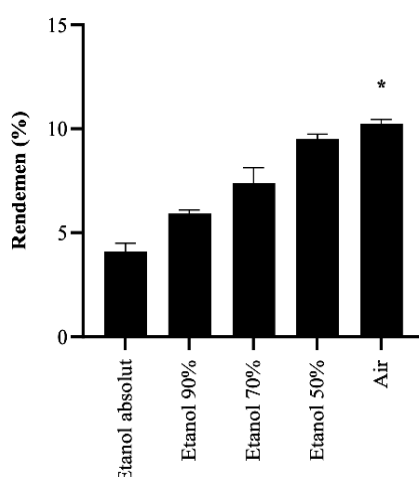
### 2.7. Penetapan kadar MDA dan glutathion

Kadar MDA diukur menggunakan kit MDA ELISA (FineTest; ER1878) (Hubei, China), kemudian level glutathion diukur menggunakan *Kit Gpx1 ELISA* (FineTest; ER0274) (Hubei, China) berdasarkan manual kit masing-masing. Kadar MDA dan glutathion diukur dengan persamaan regresi logistik empat parameter (4PL;  $y = a + b_1.x_1 + b_2.x_2 + b_n.x_n + e$ ).

## 3. Hasil

### 3.1. Rendemen ekstrak

Rendemen menunjukkan nilai perbandingan simplisia kering dengan ekstrak yang dihasilkan. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap rendemen ekstrak herba seledri dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan nilai rendemen didapatkan bahwa rendemen yang paling besar adalah ekstrak air (10,25±0,20%) diikuti oleh



**Gambar 1.** Perbandingan rendemen ekstrak seledri berdasarkan variasi konsentrasi etanol ( $n=3$ ). Tanda (\*) menunjukkan signifikansi terhadap semua kelompok perlakuan. Uji statistik menggunakan metode One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey dengan taraf signifikansi  $p<0,05$ .

ekstrak etanol 50% ( $9,51\pm0,23\%$ ), ekstrak etanol 70% ( $7,39\pm0,74\%$ ), dan ekstrak etanol 90% ( $5,92\pm0,17\%$ ), sedangkan rendemen terkecil diperlihatkan oleh ekstrak etanol absolut ( $4,09\pm0,40\%$ ). Berdasarkan uji statistik didapatkan bahwa nilai rendemen ekstrak air berbeda secara signifikan ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan ekstrak yang lain, sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut yang dapat menghasilkan rendemen terbaik adalah menggunakan pelarut air.

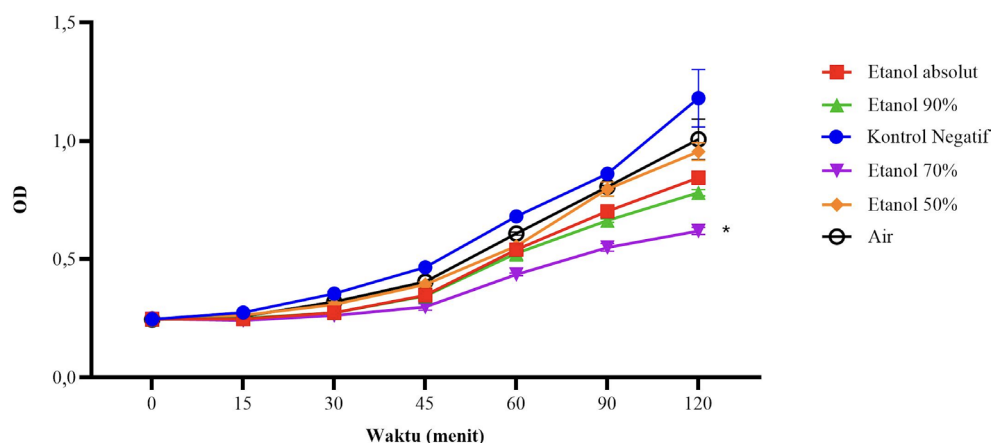
diperlihatkan oleh ekstrak etanol 70% diikuti oleh ekstrak etanol 90%, ekstrak etanol absolut, ekstrak etanol 50%, dan ekstrak air. Uji statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ) antara kelompok ekstrak etanol 70% seledri dibandingkan dengan ekstrak air, etanol 50%, etanol 90%, dan etanol absolut. Oleh karena itu, ekstrak terbaik yang paling ampuh untuk menghambat laju degradasi oksidasi LDL adalah ekstrak etanol 70% seledri.

### 3.2 Aktivitas antioksidan metode LDL oxidation

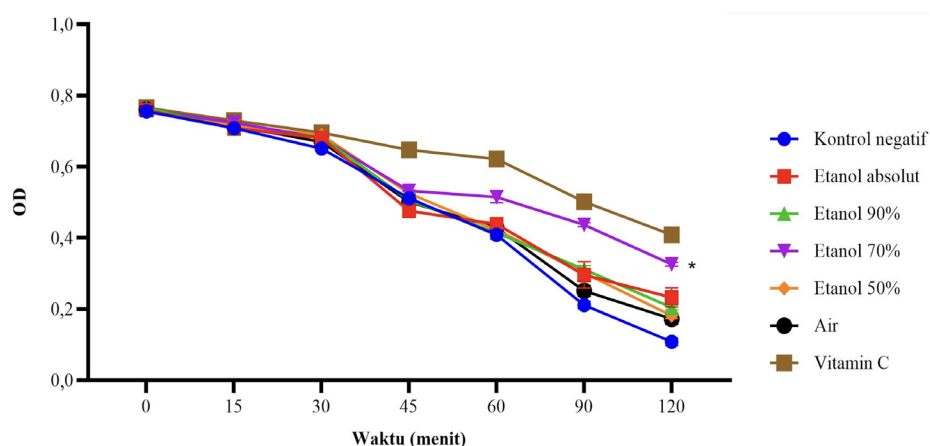
Dalam penelitian diharapkan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak seledri mampu menghambat oksidasi LDL yang diuji secara *in vitro*. Oksidasi diinisiasi dengan penambahan  $\text{CuSO}_4$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ekstrak mampu menghambat laju oksidasi LDL sebagaimana pada Gambar 2. Laju degradasi LDL meningkat seiring dengan waktu. Laju oksidasi LDL terendah

### 3.3 Aktivitas antioksidan metode $\beta$ -carotene bleaching

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ekstrak mampu menghambat laju degradasi  $\beta$ -karoten akibat paparan radikal bebas asam linoleat dibandingkan dengan kontrol negatif (Gambar 3). Penurunan yang tajam teramati pada menit ke 45. Lebih khusus, ekstrak etanol 70% seledri mampu menghambat laju degradasi  $\beta$ -karoten dibandingkan ekstrak etanol



**Gambar 2.** Perbandingan laju degradasi oksidasi LDL berdasarkan variasi konsentrasi etanol per satuan waktu ( $n=3$ ). Tanda (\*) menunjukkan signifikansi terhadap semua kelompok perlakuan. Uji statistik menggunakan metode *Repeated Measures* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey dengan taraf signifikansi  $p<0,05$



**Gambar 3.** Perbandingan efek antioksidan ekstrak seledri berdasarkan variasi konsentrasi per satuan waktu (n= 3). Tanda (\*) menunjukkan signifikasi terhadap semua kelompok perlakuan. Uji statistik menggunakan metode *Repeated Measures ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* dengan taraf signifikansi  $p < 0,05$

absolut, ekstrak etanol 90%, ekstrak etanol 50%, dan ekstrak air. Namun, vitamin C masih lebih aktif menghambat laju degradasi  $\beta$ -karoten dibandingkan dengan ekstrak etanol 70%. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% seledri berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan ekstrak air, etanol 50%, etanol 90%, dan etanol absolut. Meskipun begitu, ekstrak etanol 70% seledri juga berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan vitamin C. Berdasarkan data tersebut, ekstrak terbaik yang paling ampuh untuk menghambat laju degradasi  $\beta$ -karoten adalah ekstrak etanol 70% seledri.

#### 3.4 Pengaruh pemberian ekstrak seledri terhadap kadar MDA dan Glutation

Perubahan kadar MDA dan glutathion setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Kadar MDA tertinggi diperlihatkan oleh kontrol negatif sebesar  $71,01 \pm 4,41$  ng/mL. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas fisik yang berlebihan mampu meningkatkan kadar MDA. Secara umum bahwa pemberian ekstrak seledri pada berbagai jenis ekstrak dapat menurunkan kadar MDA. Namun, kadar MDA terendah diperlihatkan oleh ekstrak etanol 70% dan berbeda secara signifikan

( $p < 0,05$ ) dengan kelompok ekstrak air, etanol 50%, etanol 90%, dan etanol absolut. Begitu halnya dengan glutathion, peningkatan kadar glutathion tertinggi diperlihatkan oleh ekstrak etanol 70%.

#### 4. Pembahasan

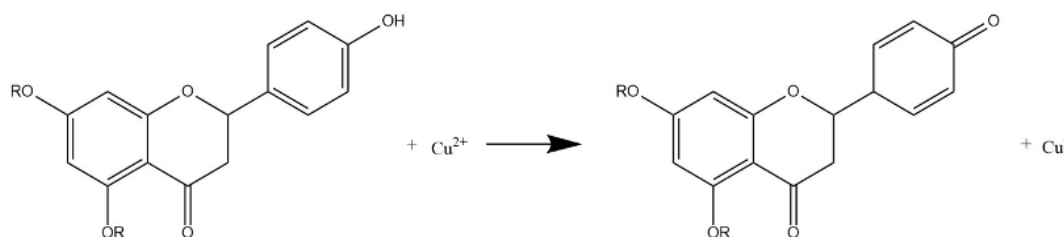
Salah satu strategi untuk mencegah penyakit arteriosklerosis adalah memperbanyak konsumsi obat atau makanan yang tinggi antioksidan seperti seledri. Antioksidan akan menghambat oksidasi LDL sehingga tidak terakumulasi dalam lumen pembuluh darah.<sup>8</sup> Untuk mendapatkan efek yang lebih optimal maka herba sebaiknya diekstraksi. Ekstraksi merupakan proses penyarian senyawa aktif yang terdapat dalam suatu tanaman menggunakan pelarut tertentu.<sup>20</sup> Dalam penelitian ini, didapatkan bahwa rendemen tertinggi diperlihatkan oleh ekstrak air herba seledri dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Jumlah kumulatif kandungan senyawa aktif yang terekstraksi dipengaruhi banyak hal seperti jenis pelarut yang dipergunakan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maser dkk.<sup>23</sup> bahwa nilai rendemen ekstrak etanol 80% herba seledri lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol murni.

**Tabel 1** Perbandingan kadar MDA dan glutathion setelah perlakuan dengan ekstrak seledri dengan variasi konsentrasi etanol dibandingkan dengan kontrol negatif (n=5)

| Sampel          | Kadar glutathion (ng/mL) | Kadar MDA (ng/mL)  |
|-----------------|--------------------------|--------------------|
| Etanol absolut  | $79,14 \pm 4,84$         | $29,34 \pm 9,59$   |
| Etanol 90%      | $58,57 \pm 4,99$         | $15,40 \pm 0,47$   |
| Etanol 70%      | $111,93 \pm 11,68^*$     | $14,35 \pm 0,63^*$ |
| Etanol 50%      | $89,14 \pm 1,60$         | $46,16 \pm 2,39$   |
| Air             | $83,32 \pm 3,80$         | $52,79 \pm 3,15$   |
| Kontrol negatif | $46,04 \pm 1,69$         | $71,01 \pm 4,41$   |

Ket: Tanda (\*) menunjukkan signifikasi terhadap semua kelompok perlakuan. Uji statistik menggunakan metode One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* dengan taraf signifikansi  $p < 0,05$ .





**Gambar 4.** Mekanisme penghambatan oksidasi LDL oleh flavonoid yang dimediasi oleh tembaga (II).

Antioksidan didefinisikan sebagai zat yang mampu menetralkan atau menstabilkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya. Oleh karena itu, senyawa yang bersifat antioksidan kadang juga dikenal sebagai reduktor.<sup>24</sup> Karena kemampuan ini, maka antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara menstabilkan radikal bebas. Konsumsi senyawa yang berkhasiat antioksidan diharapkan dapat terjadinya berbagai macam penyakit degeneratif akibat radikal bebas.<sup>13</sup> Seledri yang dikenal sebagai bumbu dapur kaya akan antioksidan. Dalam penelitian ini, uji antioksidan yang digunakan adalah metode *β-carotene bleaching*.

Metode ini sejalan dengan tujuan penelitian yaitu penetralan radikal bebas yang dihasilkan oleh asam lemak linoleat. Adanya pemanasan akan memutuskan ikatan rangkap yang tidak jenuh asam linoleat. Ikatan rangkap yang terputus tersebut akan menghasilkan radikal bebas yang selanjutnya akan dinetralkan oleh *β*-karoten. Inkubasi bersama dengan ekstrak herbal seledri pada berbagai cairan penyari yang diduga mengandung antioksidan diharapkan dapat menghambat laju degradasi *β*-karoten. Semakin lambat laju degradasi *β*-karoten maka semakin kuat pula daya antioksidan ekstrak tersebut.<sup>25,26</sup>

Aktivitas antioksidan herba seledri diduga karena adanya kandungan flavonoid seperti apiin, apigenin, dan rutin serta terpena seperti *α*-ionon. Kandungan lain seperti senyawa golongan flavonol (kaempferol), asam fenolik (kafeik, p-koumarik, dan asam ferulik), minyak atsiri (limonena, mirsena, dan *α*-selinena) juga terbukti memiliki aktivitas antioksidan.<sup>27</sup> Penelitian sebelumnya seperti herba seledri yang diperoleh dari Algeria terbukti memiliki efek antioksidan secara *β-carotene bleaching*.<sup>28</sup> Septiana dkk.<sup>13</sup> mengungkapkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak air herba seledri lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol. Aktivitas antioksidan dari herba seledri juga diuji pada LDL.

Kolestrol tipe LDL dikenal sebagai kolesterol jahat karena memiliki pengaruh buruk bagi kesehatan jika kadarnya melebihi batas normal. Di dalam tubuh, LDL sangat mudah teroksidasi dan dapat dikenali oleh

reseptor *scavenger* makrofag, tetapi tidak dikenali lagi oleh reseptor LDL.<sup>29</sup> Pengambilan LDL yang telah termodifikasi akibat oksidasi oleh makrofag dapat mengakibatkan akumulasi kolesterol yang selanjutnya tersimpan di dalam bentuk titik lemak. Semakin lama, titik lemak dan makrofag tadi akan membentuk sel busa. Kehadiran sel busa pada pembuluh darah akan memicu terjadinya agregasi trombosit.<sup>30</sup> Kemampuan herba seledri untuk menghambat oksidasi LDL dihubungkan adanya kandungan flavonoid. Gugus hidroksil (-OH) pada cincin flavonoid dapat mengikat logam tembaga (Cu) yang pada gilirannya tidak memungkinkan reaksi oksidasi LDL. Pengikatan logam Cu juga menghambat pro-oksidatif Cu(I).<sup>31</sup>

Selain karena adanya radikal bebas, aktivitas fisik yang berlebihan menyebabkan pelepasan ROS yang akan mengoksidasi LDL.<sup>5</sup> Stres oksidatif ditandai dengan peningkatan kadar MDA dan penurunan glutathione.<sup>14</sup> Hal ini dikuatkan oleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa hewan yang mendapatkan *high intensity swimming exercises* tanpa terapi menunjukkan peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar glutathione dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Penelitian membuktikan bahwa ekstrak herba seledri memiliki aktivitas antioksidan secara *in vivo*. Senyawa seperti flavonoid mampu menghambat peroksidasi lipid dengan cara menghambat aktivitas radikal peroksil.<sup>32,24</sup>

## 5. Simpulan

Perbedaan jenis pelarut selama proses ekstraksi mempengaruhi aktivitas dari suatu ekstrak. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap herba seledri menunjukkan bahwa penggunaan etanol 70% selama proses maserasi menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi menggunakan metode LDL oxidation dan *β-carotene bleaching* dibandingkan dengan air, etanol 50%, etanol 90%, dan etanol absolut. Selain itu, ekstrak etanol 70% juga mampu menurunkan kadar MDA dan meningkatkan kadar glutathione pada hewan dengan aktivitas fisik berlebih secara signifikan dibandingkan dengan ekstrak air, etanol 50%, etanol 90%, dan etanol absolut.

## Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat; Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi; Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah membiayai penelitian ini (No. kontrak 111/E5/PG.02.00.PL/2024).

## Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## Referensi

1. Charchar FJ, Prestes PR, Mills C, Ching SM, Neupane D, Marques FZ, et al. Lifestyle management of hypertension: International society of hypertension position paper endorsed by the world hypertension league and european society of hypertension. *J Hypertens*. 2024;42(1):23-49.
2. Sirichaiwetchakoon K, Eumkeb G. Free radical scavenging and anti-isolated human LDL oxidation activities of *Butea superba* Roxb. extract. *BMC Complement Med Ther*. 2024;24(1):e75.
3. Thirupathi A, Wang M, Lin JK, Fekete G, István B, Baker JS, et al. Effect of different exercise modalities on oxidative stress: A systematic review. *Biomed Res Int*. 2021:e1947928.
4. Wang F, Wang X, Liu Y, Zhang Z. Effects of exercise-induced ROS on the pathophysiological functions of skeletal muscle. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:e3846122.
5. Andrade-Guerrero J, Rodríguez-Arellano P, Barron-Leon N, Orta-Salazar E, Ledesma-Alonso C, Díaz-Cintra S, et al. Advancing alzheimer's therapeutics: Exploring the impact of physical exercise in animal models and patients. *Cells*. 2023;12(21):e2531.
6. Vona R, Pallotta L, Cappelletti M, Severi C, Matarrese P. The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants*. 2021;10(2):e201.
7. Lukman M, Plasay M. The effect of administration of honey on physical activity in malondialdehyde, glutathione, and superoxide dismutase blood levels in male rat. *J Med Chem Sci*. 2024;7(4):590-97.
8. Olufunmilayo EO, Gerke-Duncan MB, Holsinger RMD. Oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative disorders. *Antioxidants*. 2023;12(2):e517.
9. Aboody MSA. Cytotoxic, antioxidant, and antimicrobial activities of celery (*Apium graveolens* L.). *Bioinformation*. 2021;17(1):147-56.
10. Indraningsih. Penetapan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode ABTS. Skripsi. 2020. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Surakarta.
11. Khoiriyah U, Nurhasanah D. Uji aktivitas antioksidan ekstrak seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Skripsi. 2021. Universitas Jenderal Achmad Yani. Yogyakarta.
12. Nurjanah L, Pratama NP, Rahayu K. Pengaruh perbedaan pelarut dalam ekstraksi herba seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap aktivitas peredaman radikal bebas DPPH. Skripsi. 2021. Universitas Jenderal Achmad Yani. Yogyakarta.
13. Septiana E, Rahmawati SI, Izzati F, Ahmadi P, Wulandari D, Bustanussalam B, et al. Biological activity of celery extract using different extraction methods. *Proceedings of the 1st International Conference for Health Research 2022 in Advances in Health Sciences Research*. 2023;56:312-26.
14. Afifah A, Pribadi FW, Salsabiela A, Anggara DH, Komara ZM, Al Fauzy R. The protective effect of celery ethanol extract on oxidative stress in chronic kidney disease rat model. *Universa Medicina*. 2022;41(2):114-20.
15. Janda E, Martino C, Riillo C, Parafati M, Lascala A, Mollace V, et al. Apigenin and luteolin regulate autophagy by targeting NRH-quinone oxidoreductase 2 in liver cells. *Antioxidants*. 2021;10(5):e776.
16. Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(1):1-10.
17. Indonesia BPOdMR. Peraturan BPOM No HK.04.02.42.421.12.17.1673 tentang pelarut yang diizinkan digunakan dalam proses ekstraksi/fraksinasi tumbuhan dalam produk obat bahan alam in: Indonesia, BPOdMR (Ed.). 2017. BPOM RI, Jakarta
18. Liu WN, Shi J, Fu Y, Zhao XH. The stability and activity changes of apigenin and luteolin in human cervical cancer hela cells in response to heat treatment and Fe2+/Cu2+ addition. *Foods*. 2019;8(8):e346.
19. Plaskova A, Mlcek J. New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Front Nutr*. 2023;10:e1118761.
20. Alara OR, Abdurahman NH, Olalere OA. Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. *J King Saud Univ Sci*. 2020;32(1):7-16.
21. Li LJ, Wang MZ, Yuan TJ, Xu XH, Dad HA, Yu CL, et al. The crude ethanol extract of *Periplaneta americana* L. stimulates wound healing in vitro & in vivo. *Chin Med*. 2019;14:e33.
22. Yuxuan G, Zhihao D, Shiyun G, Yujie L, Sen M, Tong Z, et al. Optimization of ethanol-based extraction process for duliang formula by central composite design and response surface methodology. *Nat Prod Commun*. 2022;17(12):1-9.
23. Maser W, Maiyah N, Nagarajan M, Kingwascharapong P, Senphan T, Moula Ali A, et al. Effect of different extraction solvents on the yield and enzyme inhibition (α-amylase, α-glucosidase, and lipase) activity of some vegetables. *Biodiversitas*. 2023;24(6):3320-31.
24. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*. 2022;2(2):48-78.
25. Kiokias S, Proestos C, Oreopoulou V. Effect of natural food antioxidants against LDL and DNA oxidative changes. *Antioxidants*. 2018;7(10):e133.
26. Musetti B, González-Ramos H, González M, Bahnson EM, Varela J, Thomson L. Cannabis sativa extracts

- protect LDL from Cu<sup>2+</sup>-mediated oxidation. J Cannabis Res. 2020;2(1):e37.
27. Liu D-K, Xu C-C, Zhang L, Ma H, Chen X-J, Sui Y-C, et al. Evaluation of bioactive components and antioxidant capacity of four celery (*Apium graveolens* L.) leaves and petioles. Int J Food Prop. 2020;23(1):1097-109.
28. Saiah H, Allem R, Kebir FZE. Antioxidant and antibacterial activities of six algerian medicinal plants. Int J Pharm Pharm Sci. 2016;8(1):367-74.
29. Hou P, Fang J, Liu Z, Shi Y, Agostini M, Bernassola F, et al. Macrophage polarization and metabolism in atherosclerosis. Cell Death Dis. 2023;14(10):e691.
30. He Y, Liu T. Oxidized low-density lipoprotein regulates macrophage polarization in atherosclerosis. Int Immunopharmacol. 2023;120:e110338.
31. Amarowicz R. Natural phenolic compounds protect LDL against oxidation. Eur J Lipid Sci Technol. 2016;118(5):677-79.
32. Boadi WY, Stevenson C, Johnson D, Mohamed MA. Flavonoids reduce lipid peroxides and increase glutathione levels in pooled Human Liver Microsomes (HLMs). Adv Biol Chem. 2021;11(6):283-95.