

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Seledri

2.1.1 Klasifikasi Tanaman seledri

Seledri *Apium graveolens* L. merupakan spesies famili Apiaceae yang dikenal luas sebagai penghasil flavonoid dan minyak atsiri sebagai senyawa bioaktif. Seledri termasuk ke dalam ordo Apiales, famili Apiaceae, genus *Apium* dan spesies *Apium graveolens* L. Famili Apiaceae mencakup lebih dari 3.700 spesies dan 450 genus yang tersebar di berbagai wilayah dunia, umumnya tumbuh di daerah beriklim sedang hingga subtropis. Anggota famili ini dikenal memiliki morfologi khas berupa batang berongga, daun majemuk menyirip, dan bunga kecil berkelompok dalam bentuk payung majemuk

Menurut Li *et al.* (2020) analisis genom seledri menunjukkan bahwa spesies ini memiliki hubungan kekerabatan erat dengan tanaman seperti peterseli (*Petroselinum crispum*) dan wortel (*Daucus carota*), yang juga berasal dari famili Apiaceae. Genom seledri kaya akan gen yang berperan dalam biosintesis flavonoid, terutama apigenin, yang menjadi salah satu senyawa khas tanaman ini. Hal tersebut memperkuat posisi taksonomi seledri sebagai tanaman yang bernilai ekonomi dan farmakologis tinggi dalam famili Apiaceae.

Penelitian oleh Kooti *et al.* (2021) menjelaskan bahwa genus *Apium* terdiri dari beberapa spesies yang memiliki kesamaan morfologi dan kandungan kimia, namun berbeda dalam adaptasi ekologis. *Apium graveolens* merupakan spesies yang paling banyak dibudidayakan untuk keperluan kuliner dan pengobatan tradisional. Secara morfologi, seledri memiliki batang silindris beralur, daun majemuk menyirip, dan bunga putih kehijauan berbentuk payung majemuk ciri khas yang menjadi dasar pengelompokan dalam famili Apiaceae.

2.1.2 Taksonomi dan Morfologi *Apium graveolens* L.

Kingdom : Plantae

Divisi : Angiospermae

Kelas : Eudicotyledonae
Ordo : Apiales
Familia : Apiaceae
Genus : *Apium*
Spesies : *A. graveolens*

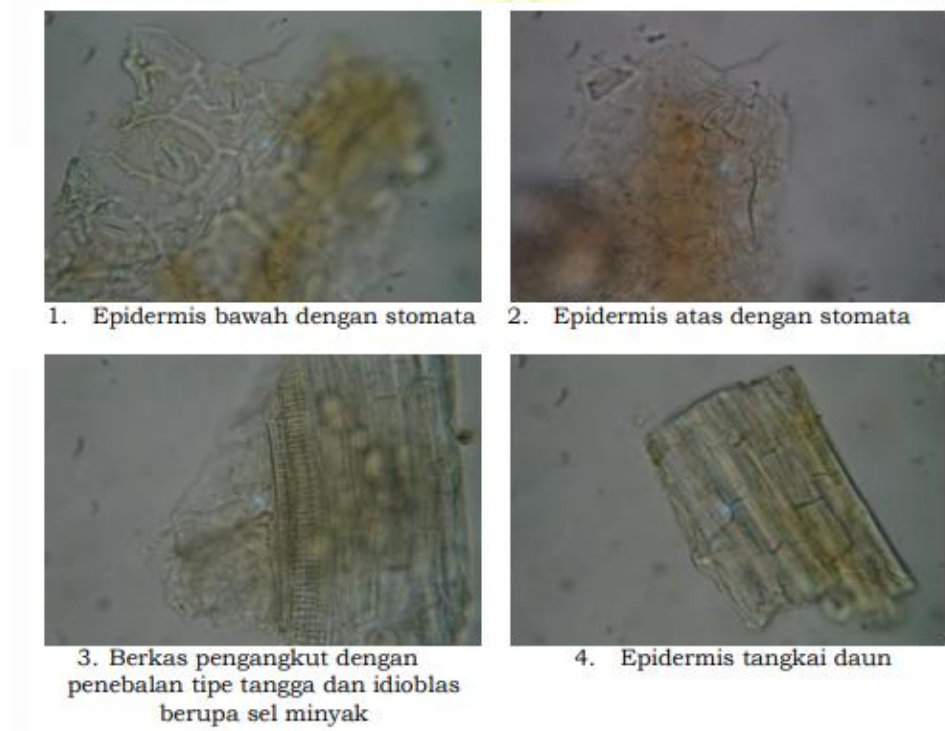
Batang tanaman seledri dapat tumbuh hingga mendekati ketinggian 1 meter, bersifat lunak, tidak berkayu, bercabang dan berwarna hijau. Daun tipis dan tersusun majemuk, melebar dari pangkal dan umumnya memiliki tangkai. Tangkai daun memiliki panjang berkisar 1 hingga 2,7 cm. Bunga seledri umumnya merupakan bunga tunggal yang memiliki tangkai mencolok dengan kelopak yang tidak tampak secara jelas. Sistem perakarannya berupa akar tunggang yang disertai akar serabut menembus tanah hingga kedalaman sekitar 30 cm dan menyebar secara horizontal (Aina Urfiyya, 2022).



Gambar 2. 1 Simplisia *Apium graveolens* L.
Sumber: FHI Edisi II, 2017

2.1.3 Mikroskopis Seledri

Menurut FHI Fragmen pengenalan mikroskopis daun seledri ditandai oleh stomata pada epidermis atas dan bawah, memiliki berkas pengangkut dengan penebalan tipe tangga, idioblas berupa sel minyak serta lapisan epidermis pada tangkai daun. Struktur mikroskopis daun seledri terdiri atas beberapa bagian utama yang meliputi helai daun, tulang daun, tangkai daun, dan rachis. Masing-masing bagian memiliki ciri anatomi khas yang dapat digunakan sebagai pembeda atau penanda identitas tanaman (Lay Mar, 2022).



Gambar 2. 2 Mikroskopis Seledri

Sumber: FHI Edisi II, 2017

2.1.3.1 Helai Daun

Pada tampilan permukaan daun sel epidermis bagian bawah daun seledri tampak lebih berlekuk dibandingkan bagian atas dan berbentuk poligonal. Stomata terdapat pada kedua permukaan namun lebih banyak pada bagian bawah dengan tipe anisositik di permukaan atas dan anomositik di permukaan bawah. Sel penjaga berbentuk seperti ginjal, dengan indeks stomata 7–10 di atas dan 8–12 di bawah.

Rambut penutup dan rambut kelenjar tidak ditemukan pada kedua permukaan, dengan rasio palisade 2–5, jumlah pulau tulang daun 1–3 dan ujung tulang daun 3–6 per mm². Pada penampang melintang daun seledri menunjukkan susunan dorsiventral yaitu sel epidermis berbentuk persegi panjang atau menyerupai tong. Mesofil palisade terdiri atas 1–2 lapisan sel silindris rapat yang kaya kloroplas sedangkan mesofil spons memiliki 4–6 lapisan sel tidak teratur yang tersusun padat. Berkas pengangkut bertipe kolateral dengan xilem di bagian atas dan floem di bagian bawah berbentuk oval dikelilingi sel parenkim berdinding tipis. Floem tersusun atas tabung tapis dan sel pengiring kecil dan xilem terdiri dari pembuluh, trakeid, serabut, dan parenkim xilem yaitu pembuluh berpita dengan perforasi sederhana dan serabut berujung meruncing (Lay Mar, 2022).

2.1.3.2 Tulang Daun

Pada tulang daun sel epidermis pada kedua sisi daun bersifat parenkimatis dan memanjang sejajar dengan tulang daun utama. Rambut penutup (trikoma) dan rambut kelenjar tidak ditemukan sedangkan stomata terdapat pada kedua permukaan daun. Pada penampang melintang tulang daun utama tampak berbentuk hampir bulat dengan permukaan atas sedikit cembung dan bagian bawah agak cekung. Lapisan kutikula di permukaan bawah lebih tebal (sekitar 2,7 µm) dibandingkan bagian atas (sekitar 1,5 µm). Sel-sel epidermis berbentuk poligonal hingga menyerupai tong. Korteks terdiri dari kolenkima bersudut dan parenkima berdinding tipis dengan kolenkima berlapis 2–3 di bagian atas dan 1–2 di bagian bawah. Parenkima memiliki ketebalan 4–6 lapisan di atas dan 3–6 lapisan di bawah berkas pengangkut. Berkas pengangkut berbentuk bulat hingga oval dengan tipe kolateral terdiri dari satu berkas utama di bagian tengah. Jaringan floem

tersusun atas tabung tapis dan sel pengiring dan jaringan xilem terdiri dari pembuluh, trakeid, serabut, dan parenkim xilem. Pembuluh xilem memiliki perforasi sederhana dan penebalan spiral, sementara trakeid menunjukkan pola penebalan annular, skalariform, dan retikulat (Lay Mar, 2022).

2.1.3.3 Tangkai Seledri

Pada tangkai seledri sel epidermis pada kedua sisi tangkai daun berbentuk persegi panjang dan memanjang. Stomata pada permukaan atas bertipe anisositik dan pada permukaan bawah bertipe anomositik. Rambut penutup (trikoma) dan rambut kelenjar tidak ditemukan. Pada penampang melintang tangkai daun berbentuk hampir bulat dengan permukaan atas cekung dan bagian bawah datar hingga sedikit cembung. Lapisan kutikula di bagian bawah lebih tebal ($\pm 2,5 \mu\text{m}$) dibandingkan bagian atas ($\pm 2 \mu\text{m}$). Sel epidermis atas dan bawah berbentuk seperti tong (barrel-shaped) dan tersusun dalam satu lapisan. Korteks tersusun atas jaringan kolenkima dan parenkima. kolenkima terdiri dari 2–3 lapisan di bagian atas dan bawah berkas pengangkut sedangkan parenkima terdiri dari 4–8 lapisan di atas dan 3–5 lapisan di bawah berkas pengangkut dengan bentuk sel membulat hingga isodiametris. Berkas pengangkut berbentuk setengah bulan dengan satu berkas besar di tengah dan enam berkas kecil di tepi, bertipe kolateral. Jaringan floem terdiri atas elemen tabung tapis dan sel pengiring, sedangkan jaringan xilem terdiri dari pembuluh, trakeid, serabut, dan parenkim xilem. Pembuluh xilem memiliki perforasi sederhana dengan penebalan spiral, sementara trakeid menunjukkan pola annular, retikulat, dan skalariform. Sel serabut berbentuk panjang dengan ujung meruncing (Lay Mar, 2022).

2.1.3.4 Rachis Seledri

Pada sel epidermis pada kedua sisi rachis berbentuk

memanjang. Stomata pada permukaan atas bertipe diasitik sedangkan pada permukaan bawah bertipe anisositik. Sel penjaga (guard cell) berbentuk menyerupai ginjal dan rambut penutup (trikoma) tidak ditemukan pada kedua permukaan. Pada penampang melintang rachis tampak berbentuk oval dengan lapisan kutikula lebih tebal di bagian atas ($\pm 5 \mu\text{m}$) dibandingkan bagian bawah ($\pm 3 \mu\text{m}$). Sel epidermis atas dan bawah berbentuk seperti tong (barrel-shaped) dan tersusun dalam satu lapisan. Korteks terdiri atas jaringan kolenkima dan parenkima. Kolenkima tersusun 1–2 lapisan di atas dan di bawah berkas pengangkut dan parenkima memiliki 4–10 lapisan di atas dan 4–6 lapisan di bawah dengan sel berbentuk bulat hingga isodiametris. Berkas pengangkut berbentuk bulat hingga oval dengan tipe kolateral berkas terbesar berada di tengah dan berkas lateral berukuran lebih kecil. Jaringan floem terdiri dari elemen tabung tapis dan sel pengiring sedangkan xilem tersusun atas pembuluh, trakeid, dan parenkim xilem. Pembuluh menunjukkan penebalan spiral, trakeid memiliki pola helical, spiral, dan skalariform, sedangkan sel serabut panjang dan meruncing di ujungnya. Sel parenkim xilem berbentuk tidak beraturan (Lay Mar, 2022).

2.1.4 Kandungan Metabolit Sekunder Seledri

Tanaman seledri memiliki beragam senyawa metabolit sekunder meliputi fenolik, flavonoid, terpenoid dan senyawa volatil yang berkontribusi terhadap berbagai aktivitas farmakologis. Perbedaan komposisi dan konsentrasi senyawa bioaktif antara daun dan tangkai cenderung memiliki kadar fenolik dan flavonoid lebih tinggi (Sun et al., 2023). Variasi ini dipengaruhi oleh perbedaan ekspresi gen dalam jalur biosintesis flavonoid yang mengatur akumulasi apigenin dan luteolin pada jaringan tertentu (Li et al., 2020). Kandungan apigenin juga terdeteksi pada bagian tangkai sehingga bagian tersebut berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber senyawa bioaktif tambahan yang

mendukung nilai farmakologis tanaman seledri secara keseluruhan.

Farmakope Herbal Indonesia jilid II tahun 2017 menetapkan bahwa kandungan dan senyawa identitas flavonoid total harus dihitung sebagai apigenin. Monografi tersebut hanya mencantumkan standar untuk bagian daun sedangkan parameter mutu pada bagian tangkai belum dijelaskan secara rinci dalam FHI.

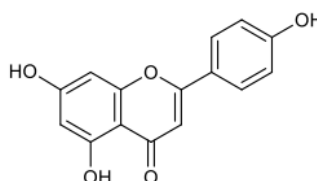
2.2 Apigenin sebagai Senyawa Penanda

2.2.1 Marker Compound Seledri

Seledri mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu apigenin, saponin, tanin, minyak atsiri, kolin, vitamin A, B, C, dan asam amino asparagin (Stephen et al., 2020). Menurut FHI Apigenin dipilih sebagai marker compound pada ekstrak seledri karena flavonoid utama yang secara konsisten terdapat dalam simplisia maupun ekstrak daun seledri. Senyawa ini digunakan sebagai penanda identitas karena mudah dideteksi melalui kromatografi, memiliki nilai Rf yang khas dan digunakan sebagai dasar perhitungan kadar flavonoid total. Apigenin mencerminkan aktivitas farmakologis penting dari seledri seperti antioksidan dan antiinflamasi sehingga keberadaannya menjadi indikator mutu dan standar kualitas ekstrak seledri.

2.2.2 Peran Apigenin

Apigenin (4',5,7-trihydroxyflavone) merupakan senyawa yang termasuk dalam golongan flavon dan tergolong ke dalam subkelas flavonoid. Dibandingkan dengan jenis flavonoid lainnya, apigenin memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah. Senyawa apigenin memiliki berbagai aktivitas biologis seperti bersifat antimutagenik, antiinflamasi, antikarsinogenik, antivirus dan berperan sebagai penangkap radikal bebas (Youssef et al., 2023).



Gambar 2.2.2 Struktur Senyawa Apigenin

2.2.3 Identifikasi Apigenin menurut FHI

2.2.3.1 Pola kromatografi lapis tipis

Identifikasi apigenin dilakukan melalui metode kromatografi lapis tipis (TLC) dengan membandingkan larutan uji dengan larutan pembanding apigenin (Kementrian, 2017). Mekanisme dalam uji ini apigenin akan melalui fase diam (lempeng silika gel) dan fase gerak (pelarut) hingga mencapai jarak tertentu yang stabil lalu kemudian divisualisasikan, nilai R_f sama atau mendekati larutan pembanding menunjukkan kehadiran apigenin dalam sampel (Chougule et al., 2022). Proses visualisasi mencakup perlakuan dengan pereaksi spesifik dan pengamatan sinar UV (366 nm) untuk memunculkan band fluoresen khas apigenin (Chougule et al., 2022).

2.2.3.2 Fase gerak dan fase diam

Fase gerak campuran toluen : etil asetat : asam format (7 : 2,5 : 0,5) dan fase diam berupa silika gel 60 F254 (Kementrian, 2017). Mekanisme kerja kombinasi pelarut ini adalah untuk mengoptimalkan separasi apigenin dari senyawa pengganggu lainnya berdasarkan perbedaan polaritas dan afinitas terhadap fase diam. Silika gel sebagai fase diam menyediakan permukaan adsorpsi untuk senyawa, sedangkan campuran pelarut fase gerak mendorong migrasi senyawa dengan polaritas tertentu hingga mencapai jarak yang konsisten (Kementrian, 2017). Perubahan komposisi pelarut dapat mempengaruhi resolusi spot dan R_f apigenin secara signifikan (Chougule et al., 2022).

2.2.3.3 Metode deteksi

Setelah pengembangan kromatogram visualisasi dilakukan dengan menyemprotkan pereaksi sitroborat ke lempeng TLC kemudian dipanaskan pada suhu 100 °C selama 5–10 menit (Kementrian, 2017). Pemanasan ini mempercepat

reaksi antara apigenin dan pereaksi yang menghasilkan fluoresensi atau warna khas yang mudah diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Mekanisme pengamatan ini mengandalkan sifat fotoluminesen atau fluoresen flavonoid seperti apigenin yang setelah dipanaskan dan bereaksi dengan pereaksi spesifik akan memunculkan pita yang dapat diidentifikasi. Pengamatan ini kemudian dibandingkan dengan larutan pembanding agar keaslian atau keberadaan apigenin dalam sampel bisa dikonfirmasi (Hidayatullah et al., 2022).

2.2.3.4 Pembanding nilai Rf

Nilai Rf untuk larutan pembanding adalah senyawa apigenin. Senyawa apigenin digunakan sebagai acuan untuk memastikan bahwa pada kromatogram sampel memiliki jarak migrasi yang sama atau mendekati dan memiliki karakter warna fluoresen yang sama, sehingga dapat dianggap sebagai apigenin (Kementrian, 2017). Nilai Rf ini penting karena jika sangat berbeda maka kemungkinan senyawa yang muncul bukan apigenin atau terjadi interferensi. Studi terkini mencatat bahwa metode TLC-densitometri untuk apigenin memberikan Rf yang bervariasi tergantung kondisi pelarut dan lempeng, sehingga peneliti direkomendasikan untuk memvalidasi sistem TLC yang digunakan dalam laboratorium (Patel et al., 2023).

2.3 Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan obat tradisional dan hanya melalui proses pengeringan tanpa pengolahan lanjutan. Pengeringan dilakukan pada suhu di bawah 60°C untuk menjaga kestabilan dan mencegah degradasi senyawa aktif yang terdapat di dalam bahan (Kementrian, 2017). Menurut Farmakope Herbal Indonesia tahun 2017 simplisia berasal dari tumbuhan, hewan dan mineral yang digunakan langsung atau melalui proses sederhana seperti pencucian dan pengeringan (FHI, 2017).

2.3.1 Klasifikasi Simplisia

Menurut (MMI, 1977) Simplisia dibagi menjadi tiga golongan berdasarkan asal bahan bakunya yaitu:

2.3.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati merupakan bahan alam yang berasal dari tumbuhan dalam bentuk tanaman utuh, bagian tertentu dari tanaman maupun eksudat. Eksudat sendiri adalah substansi yang keluar dari jaringan tanaman secara alami atau diperoleh melalui perlakuan tertentu. Simplisia nabati juga mencakup bahan yang diisolasi dari tanaman dengan metode tertentu namun belum berupa senyawa kimia murni. (Utami et al., 2013).

2.3.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani merupakan bahan alam yang berasal dari hewan dalam bentuk hewan secara utuh, bagian tubuh hewan, maupun produk yang dihasilkan oleh hewan dan masih belum berupa senyawa kimia murni. Dalam persyaratan mutu simplisia hewani harus terbebas dari kontaminasi berupa bagian hewan lain atau kotoran, tidak mengalami perubahan warna maupun bau yang menunjukkan kerusakan dan tidak terkontaminasi oleh jamur maupun zat-zat yang bersifat toksik (MMI, 1977).

2.3.1.3 Simplisia Mineral

Simplisia mineral adalah bahan baku yang berasal dari mineral atau bahan galian digunakan sebagai simplisia. Bahan tersebut dapat berupa mineral yang belum mengalami pengolahan maupun yang telah melalui pengolahan sederhana tetapi masih belum berada dalam bentuk senyawa kimia murni (MMI, 1977).

2.3.2 Pengolahan Simplisia

Pengolahan simplisia adalah tahapan pembuatan bahan baku obat tradisional untuk mempertahankan mutu stabilitas kandungan

senyawa aktif di dalam bahan alam. Proses pengolahan yang tidak tepat dapat menyebabkan penurunan kadar zat aktif kontaminasi mikroba dan menurunkan kualitas simplisia (Maslahah, 2024). Tahapan pengolahan simplisia meliputi yaitu pemanenan, sortasi basah, pencucian, pemotongan, pengeringan, sortasi kering, pengemasan dan penyimpanan (FHI, 2017).

2.3.2.1 Pemanenan

Tahap pemanenan harus dilakukan pada waktu yang tepat karena waktu panen memengaruhi kadar metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman obat. Daun umumnya dipanen saat tanaman belum berbunga sedangkan buah dipanen ketika sudah matang fisiologis (Yoga Pratama et al., 2024). Pemanenan yang tidak sesuai dapat mengurangi kadar senyawa aktif dan menurunkan efektivitas simplisia.

2.3.2.2 Sortasi Basah

Sortasi basah adalah memisahkan bahan tanaman yang rusak, kotor atau terkontaminasi benda asing sebelum proses pencucian. Langkah ini penting untuk memastikan bahan yang dikeringkan dalam kondisi baik dan seragam (Maslahah, 2024)

2.3.2.3 Pencucian

Pencucian bertujuan menghilangkan kotoran dan kontaminan seperti tanah, debu, atau mikroorganisme yang menempel. Pencucian harus dilakukan dengan air bersih yang mengalir dan segera diikuti dengan proses pengeringan agar tidak terjadi fermentasi atau pembusukan (Jannah et al., 2021).

2.3.2.4 Pemotongan

Pemotongan dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan dan mempermudah penanganan. Ukuran potongan disesuaikan dengan jenis bahan, misalnya daun atau bunga cukup dipotong kasar sedangkan batang atau akar perlu dipotong lebih kecil (Yoga Pratama et al., 2024).

2.3.2.5 Pengeringan

Pengeringan merupakan tahap yang menentukan stabilitas dan daya simpan simplisia. Tujuan pengeringan adalah menurunkan kadar air hingga di bawah 10% untuk mencegah pertumbuhan jamur. Suhu pengeringan biasanya tidak melebihi 60°C agar senyawa aktif tidak rusak (FHI, 2017). Metode pengeringan dapat dilakukan dengan sinar matahari, oven, atau pengeringan udara panas.

2.3.2.6 Sortasi Kering

Setelah pengeringan dilakukan sortasi kering untuk menghilangkan bagian bahan yang gosong, terlalu kering, atau masih lembap. Tahap ini memastikan keseragaman mutu simplisia sebelum dikemas (Maslahah, 2024).

2.3.2.7 Pengemasan dan Penyimpanan

Simplisia yang sudah kering dikemas dalam wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya untuk mencegah penyerapan kelembapan. Memastikan Penyimpanan dilakukan di tempat yang kering, bersih dan terhindar dari sinar matahari langsung. Penyimpanan yang tidak sesuai menyebabkan penurunan mutu akibat oksidasi atau pertumbuhan jamur (Rendowaty et al., 2021)

2.3.3 Parameter Mutu Simplisia

2.3.3.1 Susut pengeringan

Syarat susut pengeringan simplisia daun seledri Tidak lebih dari 10%. Kadar air yang hilang selama proses pengeringan harus dikendalikan agar simplisia tetap stabil dan tidak mudah ditumbuhi mikroba atau mengalami degradasi senyawa aktif (Kementrian, 2017). Uji susut pengeringan (loss on drying) dilakukan dengan cara mengeringkan sampel simplisia pada suhu tertentu hingga berat konstan kemudian menghitung persentase berat yang hilang sebagai indikator kadar air dan pelarut volatil yang tersisa (Inprasit et al., 2024).

2.3.3.2 Kadar abu total

Kadar abu sesuai dengan FHI 2017 sebesar 19,3%. Parameter ini digunakan untuk mengukur residu anorganik yang diperoleh setelah proses pengabuan sehingga dapat mengetahui tingkat cemaran mineral, tanah atau bahan anorganik lainnya pada sampel. (Kementrian, 2017). Uji kadar abu total dilakukan dengan membakar simplisia sampai seluruh bahan organik terbakar dan menimbang residu anorganik yang tersisa, nilai ini mencerminkan total kandungan mineral serta potensi kontaminasi anorganik seperti tanah atau logam (Massarioli et al., 2023).

2.3.3.3 Kadar abu tidak larut asam

Nilai abu tidak larut asam tidak lebih dari 4,2%. Uji ini menilai kandungan zat anorganik yang tidak larut dalam asam seperti pasir atau silikat, yang dapat menurunkan kualitas simplisia (Kementrian, 2017). Uji kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan merebus residu abu total dalam asam klorida encer, menyaring dan membakar kembali sisa yang tidak larut untuk menentukan jumlah zat anorganik seperti silika atau pasir yang terikat dan tidak larut, nilai yang tinggi menunjukkan kontaminasi mekanis yang dapat menurunkan mutu simplisia (Inprasit et al., 2024).

2.3.3.4 Kadar Sari larut air

Sari larut air ditetapkan minimal 10,3%. Nilai ini menunjukkan kadar senyawa polar yang dapat terekstrak dengan air dan berperan penting dalam aktivitas biologis simplisia (Kementrian, 2017). Kadar senyawa polar dan semi-polar/non-polar yang terekstraksi menggunakan pelarut air. Ekstraksi dilakukan dengan mengekstrak serbuk simplisia dengan pelarut yang sesuai kemudian menguapkan filtrat hingga kering dan menimbang residu sebagai persentase. Nilai ini penting karena senyawa-senyawa tersebut berperan

langsung dalam aktivitas biologis tanaman (Massarioli et al., 2023).



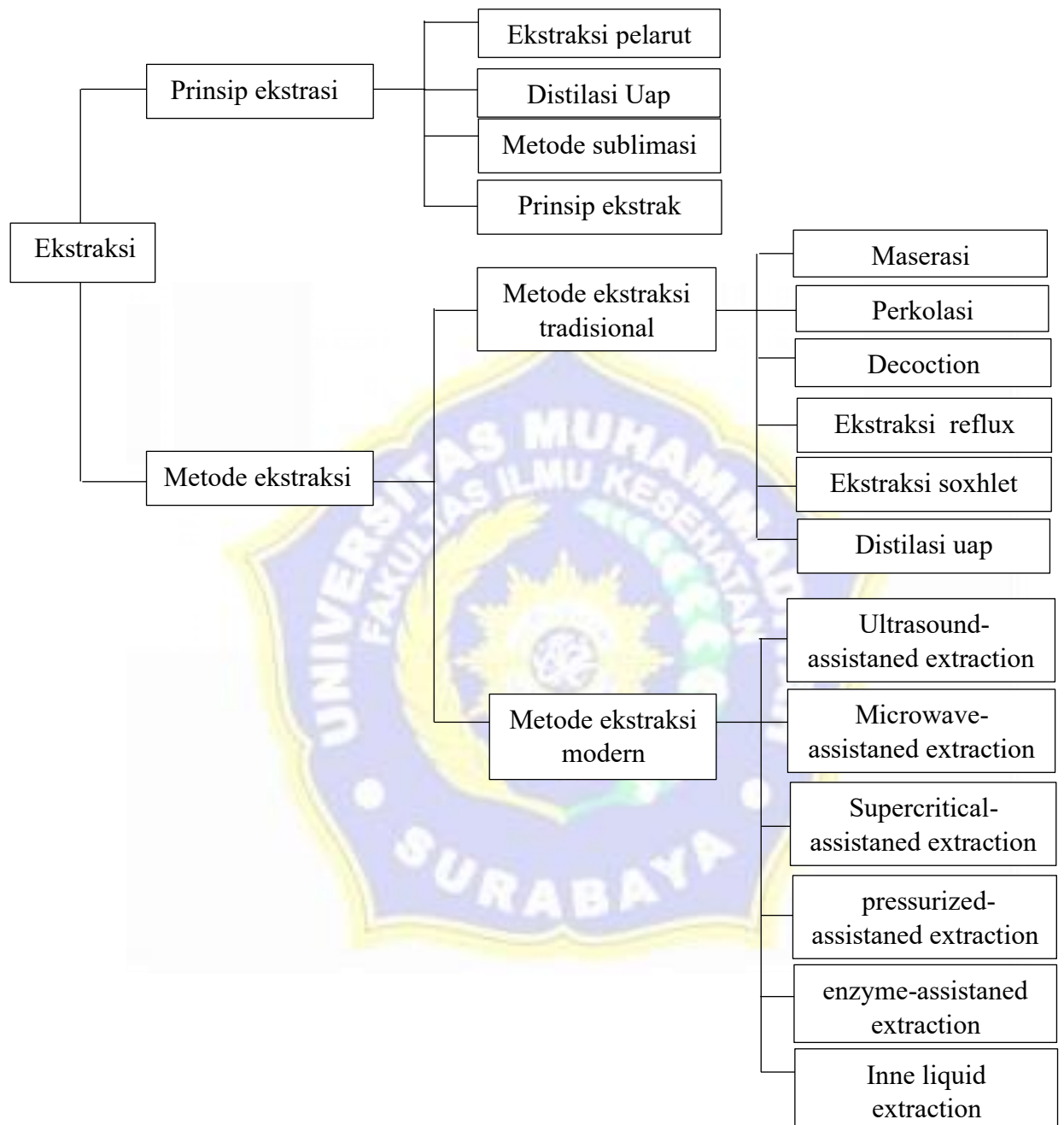
2.3.3.5 Kadar Sari larut etanol

Kadar sari larut etanol harus tidak kurang dari 5,2%. Kadar senyawa aktif yang larut dalam etanol berkontribusi pada aktivitas farmakologis (Kementrian, 2017). Kadar senyawa polar dan semi-polar/non-polar yang terekstraksi menggunakan pelarut etanol. Ekstraksi dilakukan dengan mengekstrak serbuk simplisia dengan pelarut yang sesuai kemudian menguapkan filtrat hingga kering dan menimbang residu sebagai persentase. Nilai ini penting karena senyawa-senyawa tersebut berperan langsung dalam aktivitas biologis tanaman (Massarioli et al., 2023).

2.3.3.6 Kadar flavonoid total

Kadar flavonoid total pada simplisia $\geq 1,96\%$ yang dihitung sebagai apigenin. Standar ini memastikan konsistensi kandungan marker compound sebagai penjamin mutu (Kementrian, 2017). Uji dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen yang membentuk kompleks berwarna dengan flavonoid, intensitas warna diukur untuk menentukan persentase kandungan flavonoid dalam simplisia, parameter ini membantu memastikan konsistensi kandungan bioaktif dalam bahan baku (Zahra et al., 2025)

2.4 Tinjauan Ekstraksi



Gambar 2.3 Klasifikasi Ekstraksi

Sumber : (M. Zhang et al., 2023)

2.4.1 Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah bahan tumbuhan yang diproses menggunakan metode tertentu sehingga menghasilkan sediaan dalam bentuk cair, semi padat (kental) dan kering. Proses tersebut dilakukan dengan memperhatikan perlindungan terhadap paparan sinar matahari langsung (Kementrian, 2017). Menurut (Prasetya et al., 2022) Ekstrak dapat dihasilkan dalam beberapa bentuk fisik yang berbeda tergantung pada sejauh mana pelarut dihilangkan selama prosesnya. Ekstrak dibedakan menjadi ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair diperoleh melalui penguapan sebagian pelarut sedangkan ekstrak kental didapatkan dengan proses pemekatan lebih lanjut hingga berbentuk semi-padat. Ekstrak kering dihasilkan setelah seluruh pelarut dihilangkan sepenuhnya menggunakan teknik pengeringan seperti *spray drying* atau *freeze drying*.

2.4.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi untuk memperoleh senyawa bioaktif dari bahan tanaman kompleks agar dapat dipisahkan dan dimanfaatkan lebih lanjut, meningkatkan ketepatan dan selektivitas metode analisis dan memperkuat sensitivitas bioassay dengan cara meningkatkan konsentrasi senyawa target (Patra et al., 2022). Proses ini senyawa bioaktif diubah menjadi bentuk yang lebih mudah dideteksi dan dipisahkan selama analisis.

2.4.3 Prinsip Ekstraksi

2.4.3.1 Ekstraksi Pelarut

Berdasarkan (Lee et al., 2024) berbagai jenis pelarut yang digunakan saat proses ekstraksi senyawa bioaktif meliputi pelarut polar, semi polar dan non polar.

Tabel 2.1 Pelarut Ekstraksi

Pelarut	Sifat/Polarity	Jenis Senyawa yang Efektif Diekstraksi
Ethanol	Polar (amphiphilic)	Fenolik (flavonoid, asam fenolat), lipid & asam lemak, terpenoid, mineral

Methanol	Lebih polar dari etanol	Flavonoid, fenolik, terpenoid, vitamin, lignan, asam lemak, polisakarida
Acetone	Medium-polar, sangat volatil	Senyawa non-polar: poliasetilen, terpenoid lipofilik, asam karboksilat
Air	Pelarut sangat polar	Fenolik polar, flavonoid tertentu, polisakarida, mineral, vitamin
Steam Distillation (uap)	Untuk senyawa volatil	Minyak atsiri (terpen, kamfor, cineol, dsb.)

Sumber : (Lee et al., 2024)

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi disesuaikan dengan tingkat polaritas senyawa yang akan diambil. Pelarut polar (etanol, metanol, air, dan aseton) digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat polar. Sementara itu etil asetat, propanol dan butanol yaitu pelarut semipolar yang mampu melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran menengah. Senyawa nonpolar lebih mudah diekstraksi menggunakan pelarut nonpolar seperti n-heksana, kloroform, dan petroleum eter. Pemilihan jenis pelarut disesuaikan dengan tingkat polaritas senyawa yang akan diekstraksi sesuai dengan prinsip “like dissolves like” yaitu senyawa akan lebih mudah larut dalam pelarut dengan polaritas yang serupa. Etanol 70% pelarut yang paling efektif untuk mengekstraksi senyawa bioaktif memiliki polaritas yang memungkinkan pelarut ini melarutkan baik senyawa polar maupun semi polar dan etanol relatif aman dan ramah lingkungan dibandingkan metanol yang bersifat toksik.

2.4.3.2 Distilasi Uap

Metode distilasi uap merupakan teknik mengekstraksi minyak atsiri dari tanaman seledri *Apium graveolens* L. biji, daun dan tangkai. Prinsip kerjanya dari penguapan senyawa

volatil dengan uap air pada suhu lebih rendah dari titik didih murni komponennya untuk mencegah degradasi termal senyawa sensitif. Bahan tanaman ditempatkan pada ruang distilasi di atas air atau kisi logam, kemudian dipanaskan hingga menghasilkan uap yang membawa komponen volatil. Uap tersebut dialirkan ke kondensor dan dikembalikan menjadi cairan, di mana minyak atsiri akan terpisah dari fase air dan dikumpulkan (Nouioura et al., 2024). Hasil distilasi dipengaruhi oleh ukuran partikel bahan, waktu distilasi, laju uap dan kondisi suhu (Gaikwad et al., 2025). Optimasi parameter ini penting agar rendemen minyak atsiri maksimal tanpa merusak profil senyawa aktif seperti phthalides, limonene, dan selinene (Wanna et al., 2025).

2.4.3.3 Metode sublimasi

Metode Sublimasi adalah teknik untuk memisahkan atau memurnikan senyawa volatil dari bahan alam dengan cara mengubah fase padat langsung menjadi fase gas tanpa melalui fase cair kemudian mengembunkannya kembali menjadi padatan murni (Wanna et al., 2025). Proses ini biasanya dilakukan di bawah tekanan rendah (vakum ringan) agar senyawa volatil dapat menguap pada suhu rendah dan mengendap di permukaan dingin sebagai kristal murni sehingga meminimalkan degradasi termal senyawa sensitif (Wanna et al., 2025). Dalam konteks ekstraksi bahan alam sublimasi sering digunakan untuk pemurnian atau pemerayaan senyawa aromatik, kumarin, furanokumarin yang mudah menguap dan berfungsi sebagai tahap awal sebelum analisis dengan GC–MS atau LC–MS (Cleminte et al., 2022). Keunggulan metode ini adalah tidak menggunakan pelarut sehingga ramah lingkungan dan menghasilkan ekstrak yang lebih murni namun keterbatasannya adalah hanya efektif untuk senyawa yang benar-benar mudah menguap dan

memerlukan pengaturan tekanan, suhu dan waktu yang tepat agar senyawa tidak terdegradasi (Luksta & Spalvins, 2023).

2.4.4 Klasifikasi Metode Ekstraksi

2.4.4.1 Metode Ekstraksi Tradisional

Metode ekstraksi tradisional merupakan salah satu cara yang banyak diterapkan untuk memperoleh senyawa bioaktif dari bahan alam. Teknik yang termasuk dalam metode ini meliputi maserasi, perkolasi, dekokta, refluks, sokletasi dan distilasi uap. Metode ini memanfaatkan kemampuan pelarut untuk menembus jaringan tumbuhan dan melarutkan senyawa yang diinginkan melalui proses difusi secara konvensional (Luksta & Spalvins, 2023). Salah satu metode paling sederhana adalah maserasi, ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut selama waktu tertentu hingga tercapai keseimbangan konsentrasi. Modifikasi teknik ini menghasilkan *maserasi dipercepat (accelerated maceration)* yaitu metode yang menggunakan suhu moderat, agitasi, atau rasio pelarut-bahan yang dioptimalkan untuk mempercepat difusi senyawa (Usman et al., 2022). Teknik maserasi dipercepat efektif untuk senyawa termolabil seperti flavonoid pada seledri karena prosesnya tidak melibatkan suhu tinggi yang berpotensi menyebabkan degradasi (Usman et al., 2022).

2.4.4.2 Metode Ekstraksi Modern

Metode ekstraksi modern dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi, selektivitas dan ramah lingkungan. Beberapa teknik yang termasuk dalam kategori ini meliputi ultrasound-assisted extraction (UAE), microwave-assisted extraction (MAE), supercritical fluid extraction (SFE), enzyme-assisted extraction (EAE), dan pressurized-liquid extraction (PLE) (Mungwari et al., 2025). sebagian besar metode modern seperti ultrasound-assisted extraction (UAE)

dan microwave-assisted extraction (MAE) membutuhkan peralatan khusus dengan biaya investasi dan perawatan yang cukup tinggi, hal ini menjadi kendala terutama bagi laboratorium skala kecil atau penelitian yang memiliki keterbatasan anggaran (Sawant et al., 2025). Penggunaan energi ultrasonik dan gelombang mikro memerlukan pengaturan parameter yang sangat presisi (frekuensi, suhu, waktu paparan, daya) karena kesalahan kecil dapat menyebabkan degradasi senyawa termolabil seperti flavonoid dan vitamin (Shen et al., 2023).

Beberapa metode modern sulit diterapkan untuk bahan alam dalam jumlah besar karena kapasitas alat yang terbatas dan kebutuhan kalibrasi rutin agar hasil tetap konsisten (Malini et al., 2023). Pada penelitian ini ekstraksi senyawa bioaktif dari daun dan tangkai seledri, metode maserasi dipercepat dianggap lebih praktis dan ekonomis karena mampu memberikan hasil optimal tanpa memerlukan teknologi tinggi.

2.4.5 Maserasi Dipercepat

Metode maserasi dipercepat merupakan bentuk optimasi dari maserasi tradisional untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi tanpa merusak stabilitas senyawa aktif. Prinsip dasar teknik ini adalah mempersingkat waktu ekstraksi dan mengurangi penggunaan pelarut melalui pengaturan suhu dan pengadukan terkendali, maserasi dipercepat dapat mempercepat penetrasi pelarut ke dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan degradasi senyawa (López-Salazar et al., 2023).

2.4.6 Tekanan Maserasi Dipercepat

Maserasi dipercepat merupakan pengembangan dari metode maserasi konvensional yang dilakukan dengan pemberian suhu terkontrol dalam sistem relatif tertutup sehingga secara tidak langsung menghasilkan tekanan internal ringan selama proses ekstraksi. Peningkatan suhu pada sistem dengan volume tetap akan menyebabkan

kenaikan tekanan sesuai dengan prinsip Hukum Gas Ideal yang mana tekanan terbentuk bukan merupakan tekanan tinggi seperti pada metode pressurized liquid extraction melainkan tekanan internal moderat yang terbentuk secara alami di dalam bejana tertutup (Allais *et al.*, 2020). Tekanan internal ini berperan penting dalam meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks sel tanaman dan mempercepat difusi senyawa bioaktif dari jaringan tanaman ke dalam pelarut sehingga proses ekstraksi menjadi lebih efisien dibandingkan maserasi konvensional pada suhu ruang (Gori *et al.*, 2020)

Kombinasi antara suhu terkontrol dan tekanan internal yang stabil pada maserasi dipercepat mampu meningkatkan kelarutan senyawa aktif serta mempercepat proses pelarutan tanpa menyebabkan degradasi senyawa termolabil (Zhang *et al.*, 2018). Pengendalian tekanan internal juga berfungsi untuk mempertahankan pelarut tetap berada dalam fase cair selama proses pemanasan sehingga kehilangan pelarut akibat penguapan dapat diminimalkan dan efisiensi ekstraksi dapat ditingkatkan (López-Salazar *et al.*, 2023). Kondisi ekstraksi dengan suhu dan tekanan internal ringan yang terkontrol mampu menghasilkan rendemen yang lebih tinggi serta meningkatkan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid dibandingkan maserasi konvensional (Fan *et al.*, 2021).

Dalam konteks ekstraksi hijau (green extraction), maserasi dipercepat dengan pengendalian suhu dan tekanan internal dinilai lebih berkelanjutan karena mampu mengurangi waktu ekstraksi, konsumsi pelarut, dan kebutuhan energi tanpa memerlukan peralatan bertekanan tinggi yang kompleks (Putra *et al.*, 2023). Farmakope Herbal Indonesia edisi II tahun 2017 juga mengizinkan penerapan pemanasan terkendali pada metode maserasi selama tidak merusak stabilitas senyawa aktif, sehingga maserasi dipercepat dengan kontrol tekanan internal masih berada dalam koridor standar farmakope. Dengan demikian, pengendalian tekanan dalam maserasi dipercepat menjadi salah satu faktor penting yang mendukung peningkatan efisiensi ekstraksi,

kestabilan senyawa aktif, dan mutu ekstrak, sehingga metode ini potensial diterapkan dalam proses standardisasi bahan baku obat herbal.

2.5 Faktor Mutu Ekstrak Seledri

Faktor mutu ekstrak seledri dapat dipengaruhi oleh faktor internal yang berasal dari karakteristik fisiologis dan biokimia tanaman dan faktor eksternal yang berkaitan dengan kondisi lingkungan dan proses pascapanen. Kedua faktor ini saling berinteraksi dan menentukan kualitas akhir senyawa bioaktif yang dihasilkan dalam ekstrak seledri.

2.5.1 Faktor Internal

2.5.1.1 Usia Daun Seledri

Usia daun faktor utama yang memengaruhi variasi kandungan fitokimia. Penelitian pada seledri menunjukkan bahwa profil senyawa volatil berubah seiring tahap vegetatif, monoterpena dan seskuiterpena meningkat pada daun tua dan phthalide lebih dominan pada daun muda (Naghneh et al., 2023).

2.5.1.2 Kandungan Klorofil

Klorofil berperan penting dalam aktivitas fotosintesis dan biosintesis metabolit sekunder. Studi terkait adaptasi fisiologis tanaman melaporkan bahwa peningkatan kandungan klorofil berkorelasi positif dengan kapasitas fotosintesis dan akumulasi senyawa fenolik (Peng et al., 2022)

2.5.1.3 Kondisi Fisiologis Daun

Kondisi fisiologis daun seledri dipengaruhi oleh hormon dan regulasi genetik yang mengatur pertumbuhan, kandungan klorofil yang menentukan efisiensi fotosintesis senyawa dan fitokimia. Struktur mesofil dan stomata berperan dalam pertukaran gas dan transpirasi sedangkan pigmen fotosintetik menentukan warna, aktivitas fotosintesis, dan ketahanan pascapanen (Efendi et al., 2024).

2.5.1.4 Lingkungan dan Agroklimat

Faktor lingkungan meliputi agroklimat, nutrisi tanah,

kelembapan, suhu dapat meningkatkan kadar klorofil sebagai indikator metabolit pigmen utama dan terkait dengan kapasitas fotosintesis serta dinamika metabolit sekunder yang terkait dengan fotosintesis. Semua unsur berperan dalam regulasi produksi metabolit sekunder yang menentukan sifat dan efektivitas ekstrak seledri dalam berbagai aplikasi (Szarek et al., 2024).

2.5.1.5 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi menentukan kandungan fitokimia yang diperoleh dari seledri. Variasi suhu, durasi, jenis pelarut dapat memengaruhi jumlah, komposisi senyawa bioaktif yang terekstrak dan perbedaan signifikan dalam rendemen maupun kualitas metabolit yang dihasilkan (Silva et al., 2021).

2.5.2 Faktor Eksternal

2.5.2.1 Waktu Panen

Waktu panen berpengaruh terhadap mutu ekstrak seledri karena menentukan kadar metabolit sekunder yang terbentuk. Pada fase vegetatif awal kandungan furanokumarin dan flavonoid masih rendah dan saat fase generatif akumulasinya meningkat seiring peningkatan aktivitas enzim fenilalanin amonia liaze. Panen pada waktu optimal menghasilkan kadar senyawa bioaktif tertinggi dan kualitas ekstrak yang lebih baik. Sehingga waktu panen harus diperhatikan agar mendapatkan mutu seledri yang maksimal (Malini et al., 2023).

2.5.2.2 Proses Pengeringan Ekstrak

Metode pengeringan berpengaruh terhadap stabilitas fitokimia ekstrak seledri. Pengeringan pada suhu tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa volatil dan flavonoid sedangkan pengeringan dengan suhu rendah atau di tempat teduh membantu mempertahankan kandungan bioaktif (Al-Qudah et al., 2023).

2.5.2.3 Kondisi Penyimpanan

Penyimpanan yang tidak tepat dapat menurunkan mutu ekstrak seledri karena senyawa aktif mudah terdegradasi akibat oksidasi, kelembapan tinggi, dan paparan cahaya. Penelitian menunjukkan bahwa penyimpanan dalam wadah tertutup, suhu ruang stabil, dan lingkungan gelap mampu mempertahankan kadar flavonoid dan fenolik lebih lama dibandingkan kondisi terbuka

2.6 Parameter Mutu Ekstrak Kental menurut FHI

2.6.1 Rendemen

Ekstrak kental daun seledri harus memiliki rendemen $\geq 24,6\%$. Rendemen yang sesuai persyaratan menunjukkan efisiensi proses ekstraksi serta konsistensi mutu bahan baku. Nilai rendemen dipengaruhi oleh jenis pelarut, suhu, dan durasi ekstraksi yang menentukan jumlah senyawa aktif yang terekstrak. Penelitian terbaru melaporkan bahwa peningkatan suhu dan penggunaan etanol 70% dapat meningkatkan efisiensi rendemen serta memperkaya kandungan flavonoid pada ekstrak seledri.

2.6.2 Identitas ekstrak

Ekstrak kental daun seledri warna hijau tua dengan aroma serta rasa yang khas. Ekstrak kental daun seledri umumnya memiliki warna hijau tua, aroma khas dan rasa sedikit pahit, yang menjadi indikator identitas dan keaslian bahan. Warna hijau pekat dikaitkan dengan kandungan klorofil dan flavonoid yang tinggi.

2.6.3 Kadar air

Kadar air ekstrak kental tidak boleh lebih dari 10%. Kadar air diperlukan untuk menjaga kestabilan kimia dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Kadar air yang terlalu tinggi dapat mempercepat oksidasi senyawa aktif seperti apigenin serta menurunkan umur simpan produk. Penelitian menunjukkan bahwa pengeringan terkontrol pada suhu rendah mampu mempertahankan kestabilan senyawa bioaktif seledri.

2.6.4 Kadar abu total

Abu total dalam ekstrak kental ditetapkan tidak lebih dari 10,6% untuk memastikan tidak adanya kontaminasi anorganik berlebihan pada produk akhir. Batas abu total tidak lebih dari 10,6% mencerminkan rendahnya kontaminasi anorganik seperti logam berat dan tanah dalam ekstrak. Kandungan abu yang melebihi batas dapat menunjukkan ketidakmurnian bahan baku atau proses ekstraksi yang tidak optimal.

2.6.5 Kadar abu tidak larut asam

Nilai abu tidak larut asam tidak boleh melebihi 0,5%. Batas ini sebagai indikator adanya kontaminan padat tak larut. Parameter ini berfungsi sebagai indikator kebersihan dan efisiensi proses penyaringan selama ekstraksi. Penelitian pada bahan herbal lain menunjukkan bahwa peningkatan kadar abu tak larut asam dapat menurunkan kualitas ekstrak dan kestabilan senyawa aktif.

2.6.6 Kadar flavonoid total

Kadar flavonoid total pada ekstrak kental tidak boleh kurang dari 11,76% yang dihitung sebagai apigenin. Penetapan kadar ini menjadi acuan dalam menjamin konsistensi kandungan marker compound sehingga mutu ekstrak tetap terstandar. Flavonoid berperan penting dalam aktivitas antioksidan, antiinflamasi dan antimikroba. Studi terbaru menunjukkan bahwa ekstrak etanol seledri kaya apigenin dan luteolin yang merupakan senyawa utama penyumbang aktivitas biologis tanaman ini (Putri & Astuti, 2023).

2.7 Parameter Spesifik dan Non Spesifik

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) parameter mutu ekstrak yaitu parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Parameter spesifik mencakup identitas simplisia atau ekstrak yaitu pemerian organoleptis, senyawa terlarut dalam simplisia atau ekstrak dan kandungan kimia yang menjadi penanda kualitas.

Parameter non spesifik berfokus pada aspek umum yang berhubungan dengan keamanan dan konsistensi mutu meliputi susut pengeringan, bobot

jenis, kadar air, kadar abu, serta keberadaan sisa pelarut, pengujian residu pestisida, cemaran logam berat dan cemaran mikroba.

2.8 Pentingnya Parameter Mutu

Parameter mutu ekstrak merupakan parameter yang digunakan untuk menjamin bahwa suatu ekstrak memiliki kualitas yang konsisten, aman dan efektif. Berdasarkan parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter spesifik meliputi identitas bahan baku, karakteristik organoleptik, kadar zat terlarut dalam pelarut tertentu, skrining fitokimia terhadap metabolit sekunder dan kandungan senyawa penanda atau fitomarker yang mencerminkan identitas ekstrak. parameter nonspesifik meliputi kadar air, rendemen ekstraksi, kadar abu total dan abu tidak larut asam, susut pengeringan, bobot jenis, sisa pelarut, cemaran mikroba, serta kadar logam berat. Penetapan parameter-parameter tersebut sangat penting untuk memastikan keamanan ekstrak dari kontaminan berbahaya menjamin konsistensi kadar senyawa aktif antar batch dan menjaga stabilitas dan mutu produk selama penyimpanan. Pemenuhan parameter mutu juga menjadi dasar pemenuhan persyaratan regulatori dan meningkatkan kepercayaan ilmiah maupun konsumen terhadap ekstrak sebagai bahan baku obat tradisional atau produk herbal terstandar.

2.9 Metode Analisis Fitokimia

2.9.1 Uji fitokimia

Uji pendahuluan fitokimia (qualitative phytochemical screening) digunakan untuk mendeteksi keberadaan golongan metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman melalui reaksi warna atau endapan (Senge et al., 2024). Skrining fitokimia pada ekstrak etanol menemukan adanya flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, fenolik, dan terpenoid (Nortjie et al., 2022). Metode ini memberikan gambaran awal kandungan bioaktif dan sangat penting dalam tahap validasi ekstrak tanaman sebelum dilakukan analisis struktur atau kuantifikasi (Bhadange et al., 2024).

2.9.2 KLT

Menurut (Kementrian, 2017) Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu teknik kromatografi sederhana yang digunakan dalam analisis kualitatif maupun kuantitatif senyawa kimia. Prinsip

KLT memisahkan komponen-komponen dalam sampel berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Sampel akan terdistribusi antara kedua fase tersebut sehingga senyawa dengan interaksi lebih kuat terhadap fase gerak akan bergerak lebih jauh pada plat dan senyawa yang lebih kuat terikat pada fase diam akan tertahan dan memiliki jarak migrasi lebih pendek. Proses ini memungkinkan terbentuknya bercak-bercak terpisah yang merepresentasikan masing-masing senyawa dalam campuran.

2.9.3 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis kuantitatif yang banyak digunakan dalam penelitian fitokimia karena mampu mengukur konsentrasi senyawa berdasarkan penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu (Kementrian, 2017). Metode ini bekerja dengan prinsip bahwa senyawa memiliki spektrum serapan khas yang bergantung pada struktur kimianya sehingga intensitas absorbansi dapat digunakan untuk menentukan kadar senyawa dalam suatu ekstrak (Adoui et al., 2025). Spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan prosedurnya cepat, sensitif, biaya rendah dan cocok digunakan untuk analisis fenolik, flavonoid total dan antioksidan (Custodio-Mendoza et al., 2024).