

Ekstrak Herba Seledri (*Apium Graveolens* L.) (Microwave-Assisted Extraction) Sebagai Antipiretik Pada Mencit Jantan Yang Diinduksi Demam Dengan Vaksin Dpt-Hb-Hib

(Celery Herb Extract (*Apium Graveolens* L.) (Microwave-Assisted Extraction) As an Antipyretic in Induced Male Mice Fever With Dpt-Hb-Hib Vaccine)

Min Rahminiwati^{1*}, Lusi Indriani², Tiyan Hidayanti²

¹Divisi Farmakologi dan Toksikologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

²Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor, Indonesia

Diterima: 26/03/2024, Disetujui: 31/05/2024, Terbit Online: 26/06/2024

*Penulis untuk korespondensi: minrahminiwati@gmail.com

ABSTRAK

Seledri (*Apium graveolens* L) mengandung flavonoid, suatu senyawa yang dilaporkan mempunyai efek antiinflamasi melalui mekanisme inhibisi terhadap cyclo oxidase yakni suatu enzim yang berperan penting dalam proses demam terkait peradangan. Flavonoid mempunyai kelarutan yang baik dalam pelarut polar seperti alkohol. Dengan mempertimbangkan *Microwave-Assisted Extraction* merupakan salah satu cara penarikan flavonoid yang lebih baik dibandingkan dengan maserasi konvensional, penelitian ini dilakukan untuk menetapkan efektivitas ekstrak etanol 70% herba seledri hasil dari MAE sebagai antipiretik pada mencit yang diinduksi vaksin DPT-HB-HIB. Penelitian dilakukan pada 25 ekor mencit yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yakni kelompok yang diberi CMC Na 0,5 % sebagai kontrol negatif, paracetamol 1,82 mg/20 g BB sebagai kontrol positif dan ekstrak herba seledri dosis 2, 4, dan 6 mg/20 g BB sebagai kelompok perlakuan. Sediaan diberikan peroral pada mencit yang mengalami demam setelah divaksin dengan DPT. Pengukuran suhu tubuh dilakukan sebelum dan sesudah di vaksin DPT dan setiap 15 menit sekali selama perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak herba seledri dapat menurunkan suhu tubuh mencit. Efek terbaik terjadi pada dosis 6 mg/20 g BB dan efeknya setara dengan kontrol positif. Sedangkan onset paling cepat terjadi pada menit ke-30 pada dosis 4 mg/20 gBB. Dengan demikian ekstrak herba seledri hasil MAE potensial sebagai antipiretik.

Kata Kunci: *Apium graveolens* L, demam, vaksin DPT-HB-HIB

ABSTRACT

Celery (*Apium graveolens* L) contains flavonoids, a compound that is reported to have anti-inflammatory effects through the inhibition of cyclo oxidase, an enzyme involved in the process of inflammation-related fever. Flavonoids have good solubility in polar solvents such as alcohol. By considering that *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) is a method of extracting flavonoid better than conventional maceration, this study aims to determine the effectiveness of ethanolic 70% celery herb extract resulting from MAE as an antipyretic in mice induced by the DPT-HB-HIB vaccine. The research was carried out on five treatment groups of 25 mice given CMCNa 0.5% as a negative control, paracetamol 1.82 mg/20 g BW as a positive control and celery herb extract at doses of 2, 4 and 6 mg/ 20 g BB. as a treatment group. The preparation was given orally to fever mice after being vaccinated. Body temperature was measured before and after being vaccinated and every 15 minutes during treatment. Celery herbal extract was able to reduce the body temperature of mice in a dose dependent manner. The best effect occurred at a dose of 6 mg/20 gBW, and the effect was equivalent to positive control. Thus, the celery herb extract resulting from MAE has potential as an antipyretic.

Keywords: *Apium graveolens* L, DPT-HB-HIB vaccine, fever

1. Pendahuluan

Demam adalah suatu kondisi dimana suhu tubuh mengalami peningkatan diatas suhu tubuh normal melebihi titik tetap (*set point*) yaitu lebih dari 37°C^[1]. Sebagai mekanisme pertahanan kompensasi tubuh yang bersifat adaptif, demam mengarah pada aktivasi kekebalan, penurunan laju pertumbuhan bakteri dan virus, dan meningkatkan kelangsungan hidup inang sebagai respons terhadap invasi antigen asing^[2]. Selain disebabkan oleh adanya infeksi mikroorganisme, demam juga dapat terjadi akibat paparan panas yang berlebih, dehidrasi, alergi atau dikarenakan gangguan sistem imun. Beberapa komplikasi yang sering muncul akibat demam tinggi yang tidak ditangani dengan baik adalah munculnya dehidrasi, halusinasi hingga kejang kejang^[3].

Upaya untuk menurunkan dan mengontrol demam dapat dilakukan dengan menggunakan antipiretik. Antipiretik bekerja secara sentral menekan kinerja pusat pengatur suhu di hipotalamus, yang kemudian diikuti dengan serangkaian respon fisiologis termasuk penurunan produksi panas, kenaikan aliran darah ke kulit, dan peningkatan pelepasan panas melalui kulit dengan radiasi, konveksi, dan penguapan. Selain obat konvensional seperti parasetamol yang bekerja sebagai antipiretik, tanaman berpotensi sebagai antipiretik telah banyak dilaporkan diantaranya adalah kunyit, papaya, kembang sepatu, sirsak, dadap serep, pisang, dan bengkuang. Tanaman lainnya yang sering digunakan secara empiris untuk menurunkan demam adalah seledri. Seledri sejak zaman dahulu telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional untuk mengatasi sakit kepala dan menurunkan panas^[4].

Seledri mengandung senyawa kimia diantaranya flavonoid yang salah satu bioaktivitasnya ialah menurunkan panas demam^[5]. Sebagai antipiretik, flavonoid sering dikaitkan dengan potensinya sebagai *inhibitor cyclooxygenase* (COX), suatu enzim yang berperan penting dalam pembentukan mediator kimia yang terlibat dalam pembentukan radang yakni prostaglandin^[6]. Flavonoid termasuk metabolit sekunder dalam kelompok senyawa fenol dengan gugus OH tersubstitusi pada struktur benzenanya. Secara umum flavonoid bisa berbentuk aglikon polihidroksi yang tidak larut dalam heksan, petroleum eter, dan kloroform, tetapi larut dalam eter, etil asetat, dan etanol, dan sedikit larut dalam air. Bentuk flavonoid lainnya adalah flavonoid

glikosida. Senyawa ini sedikit larut dalam etil asetat dan etanol serta sangat larut dalam air. Sedangkan flavonoid polimetil atau polimetoksi larut dalam pelarut hexan, petroleum eter, kloroform, eter, etil asetat dan etanol^[7].

Microwave assistance extraction (MAE) adalah salah satu cara untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang cepat, volume pelarut yang digunakan rendah, dan penggunaan suhu yang tinggi dapat mempercepat perpindahan massa senyawa target dari matriks sampel^[8]. Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa perolehan rendemen ekstrak kasar dan kadar polifenol termasuk diantaranya flavonoid yang diekstraksi dengan cara MAE lebih banyak dibandingkan dengan kadar flavonoid dan rendemen ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi konvensional. Namun suhu tinggi tidak selalu kondusif untuk ekstraksi, karena dapat merusak aktivitas flavonoid. Suhu ekstraksi microwave yang terlalu tinggi menyebabkan zat lain langsung larut dan sejumlah besar non-flavonoid terekstraksi, yang menyebabkan degradasi senyawa target^[9].

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efek antipiretik ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L) yang diperoleh dengan cara MAE terhadap demam mencit yang diinduksi dengan vaksin DPT-HB-HIB. Vaksin DPT-HB-HIB mengandung antigen difetri, tetanus, dan *whole-cell* pertussis (*DTwP*). Unsur pertusis dalam vaksin yang berasal dari semua bagian kuman sel (*whole-cell*) sering menyebabkan efek samping berupa demam tinggi.

2. Materi dan Metode

2.1. Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan antara lain *rotary vacuum evaporator*, cawan krus, cawan uap, oven, tanur, *thermometer infrared Puremed aicare*, grinder, pengayak *mesh 40*, pemanas, stopwatch, timbangan hewan, timbangan analitik, kandang mencit, alat-alat gelas (pyrex).

2.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan antara lain seledri, 25 ekor mencit putih jantan *Mus musculus* umur 2-4 bulan dengan bobot badan berkisar antara 20-30 g, vaksin DPT-HB-HIB, parasetamol, CMC Na 0,5%, aquadest steril, makanan mencit (pellet BR-11) magnesium, etanol 70%, HCL pekat, serbuk Mg, CH₃COOH, H₂SO₄, larutan asam sulfat 2 N, larutan 3% Besi (III) klorida, gelatin

10%, NaCl, kombinasi natrium klorida gelatin 10%, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff.

2.3. Determinasi Herba Seledri

Herba seledri (*Apium graveolens* L) diperoleh dari daerah Tajur, Kota Bogor. Determinasi bahan herba seledri untuk mengetahui keotentikannya dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Pusat Penelitian Biologi, Jl. Raya Bogor, Km 46 Cibinong, kabupaten Bogor.

2.4. Pembuatan Simplisia Herba Seledri

Herba seledri yang diperoleh dari Tajur, Kota Bogor, setelah di sortasi basah dan dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan menggunakan sinar matahari hingga didapatkan simplisia kering. Simplisia kering disortasi kembali kemudian dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 40 sehingga diperoleh simplisia serbuk.

2.5. Pembuatan Ekstrak Herba Seledri

Simplisia serbuk diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode MAE mengikuti protokol penelitian sebelumnya^[10]. Sebanyak 50 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 300 mL pelarut etanol 70%. Selanjutnya erlenmeyer dimasukkan ke dalam microwave oven dengan daya 800 watt selama 6 menit. Sampel di-radiasi dalam microwave secara berkala (radiasi 1 menit dan 2 menit dimatikan) untuk menjaga agar suhu tidak naik melebihi 80°C, mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa yang akan ditarik. Bagian ampas dipisahkan dari sarinya menggunakan kain batis sebagai penyaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

2.6. Uji Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Herba Seledri

Uji fitokimia terhadap simplisia kering dan ekstrak etanol 70% herba seledri dilakukan berdasarkan protokol penelitian sebelumnya^[11].

2.6.1. Uji Flavonoid

Serbuk simplisia dilarutkan dalam etanol 2 mL kemudian ditambahkan serbuk Mg 0,1 g dan 10

tetes HCl. Terbentuknya warna merah hingga merah lembayung setelah pengocokan, menunjukkan adanya flavonoid dan jika terbentuk warna kuning atau jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.

2.6.2. Uji Saponin

Serbuk simplisia sebanyak 0,5 g ditambah 10 mL air panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang stabil dengan waktu tidak kurang dari 1 menit menunjukkan adanya saponin.

2.6.3. Uji Alkaloid

Serbuk simplisia sebanyak 0,5 g ditambah beberapa tetes asam sulfat 2 N hingga larut kemudian dibagi dua. Hasil uji dinyatakan positif jika terbentuk endapan berwarna merah hingga jingga pada penambahan pereaksi Dragendorff dan terbentuk endapan putih kekuningan pada penambahan pereaksi Mayer.

2.6.4. Uji Terpenoid

Serbuk simplisia sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi diikuti 1 tetes CH₃COOH pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Sampel dinyatakan positif mengandung terpenoid jika terbentuk warna merah.

2.6.5. Uji Steroid

Serbuk simplisia sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 tetes CH₃COOH pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Jika larutan terbentuk warna biru hingga ungu maka positif mengandung steroid.

2.6.6. Uji Tanin

Serbuk simplisia sebanyak 0,5 g, dilarutkan dalam aquadest kemudian dipanaskan di atas penangas air. Setelah dingin, larutan disentrifugasi dan cairan di atasnya dipisahkan.

- Larutan uji ditambahkan ke dalam larutan gelatin 10%. Hasil dinyatakan positif jika terbentuk endapan berwarna putih.
- Larutan uji ditambahkan ke dalam NaCl-Gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan 10% NaCl 1:1). Hasil dinyatakan positif jika terbentuk endapan berwarna putih.
- Larutan uji ditambahkan ke dalam larutan 3% Besi (III) klorida. Hasil dinyatakan

positif jika terbentuk cairan berwarna hijau biru sampai kehitaman.

2.7. Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu

2.7.1. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara menguapkan 2 g serbuk simplisia di dalam oven 105°C sampai beratnya konstan (selisih berat antar penimbangan cawan setelah dikeringkan yaitu 0,25%). Syarat kadar air yang harus dipenuhi ialah kurang dari atau sama dengan 10%, kadar air dihitung terhadap berat bahan uji dinyatakan dalam % b/b ^[12].

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(A) - (B)}{C} \times 100\%$$

A: Bobot +Isi sebelum pemanasan

B: Bobot +Isi setelah pemanasan

C: Bobot penimbangan sampel (g)

2.7.2. Penetapan Kadar Abu

Penentuan kadar abu dilakukan dengan cara memijarkan 2 g serbuk simplisia dan ekstrak dalam krus silikat yang sudah dipijarkan dan ditara di dalam tanur dengan suhu 500-600°C. hingga arang habis. Setelah itu krus didinginkan dan ditimbang ^[12].

Cara perhitungan kadar abu:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot krus} + \text{abus sampel}) - \text{bobot krus (B)}}{\text{Bobot Sampel (g)}} \times 100\%$$

2.8. Pembuatan suspensi CMC Na dan Paracetamol

Aquades sebanyak 20 kali berat CMC-Na dimasukan ke dalam lumpang yang telah dipanaskan kemudian CMC-Na sebanyak 0,5 g ditaburkan di atasnya dan dibiarkan mengembang. Suspensi yang terbentuk digerus sampai homogen, kemudian dituangkan ke dalam gelas ukur 100 mL. Sisa yang terdapat dalam lumpang disuspensikan kembali dengan penambahan aquadest. Setelah digerus sampai homogen, suspensi dituangkan ke dalam gelas ukur 100 mL ad aquadest 100 mL. Parasetamol ditimbang sesuai perhitungan (berat yang diinginkan dibagi berat total 10 tablet yang mengandung eksipien) kemudian disuspensikan dengan larutan CMC Na 0,5% sedikit demi sedikit sambil dikocok dan ditambahkan CMC Na 0,5 % hingga batas garis 100 mL.

2.9. Pembuatan Suspensi Ekstrak Herba Seledri

Ekstrak herba seledri dibuat suspensi dengan penambahan CMC Na 0,5% (sebagai pembawa) kemudian diaduk sampai homogen.

2.10. Penetapan efek antipiretik Herba Seledri

Sebelum perlakuan sebanyak 25 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang sehat dengan bobot badan antara 30-35 g, diaklimatisasi selama 7 hari. Delapan belas jam sebelum percobaan mencit dipuaskan tidak diberi pakan selama 18 jam, tetapi air minum tetap diberikan. Suhu rektal mencit diukur menggunakan termometer infrared, kemudian diberi vaksin DPT-HB-HIB sebanyak 0,2 mL secara intramuscular. Selanjutnya suhu rektal mencit diukur setiap 15 menit sekali sampai tercapai puncak demam dimana suhu tubuh melebihi titik tetap (*set point*) yaitu lebih dari 37°C. Mencit selanjutnya dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan yakni kelompok kontrol negatif yang diberi CMC Na 0,5 %, kelompok kontrol positif yang diberi larutan parasetamol 1,82 mg/20 g BB dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak seledri dosis 2 mg, 4 dan 6 mg /20 g BB. Pengukuran suhu rektal selanjutnya dilakukan tiap 15 menit sekali sampai menit ke 120. Prosentase penurunan suhu tubuh dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{suhu demam} - \text{suhu setelah perlakuan}}{\text{Suhu demam} - \text{suhu awal}} \times 100\%$$

Protokol uji ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penggunaan Hewan Percobaan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan No.005/KEPHP-UNPAK/02-2022.

3. Hasil

3.1. Karakteristik Ekstrak dan simplisia Herba Seledri

Proses pembuatan simplisia kering dan serbuk dari 2 kg herba seledri menghasilkan simplisia serbuk, sebanyak 452,37 g dan dari 150 g serbuk setelah dilakukan proses ekstraksi dan pengeringan diperoleh ekstrak kental sebesar 29,98 g dengan perolehan rendemen 19,859 %. Rata rata kadar abu simplisia herba seledri yang diperoleh dari hasil penetapan kadar abu ialah 8,47%, sedangkan untuk kadar abu ekstrak yaitu 5,49%. Hasil penetapan kadar abu simplisia dan ekstrak kental memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10% (**Tabel 1**) ^[12].

Table 1. Kadar Air Herba Seledri

Bobot awal simplisia (g)	Kadar air	Kadar Abu
Serbuk Air	5,33%	8,47%
Ekstrak air	4,595%	5,49 %

Analisis fitokimia pada serbuk dan ekstrak herba seledri menunjukkan bahwa keduanya positif mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan steroid/terpenoid (**Tabel 2**).

Hasil uji fitokimia ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa tanaman seledri mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan steroid/terpenoid (**Tabel 2**)^[12].

3.2. Efek Antipiretik Ekstrak etanol herba seledri

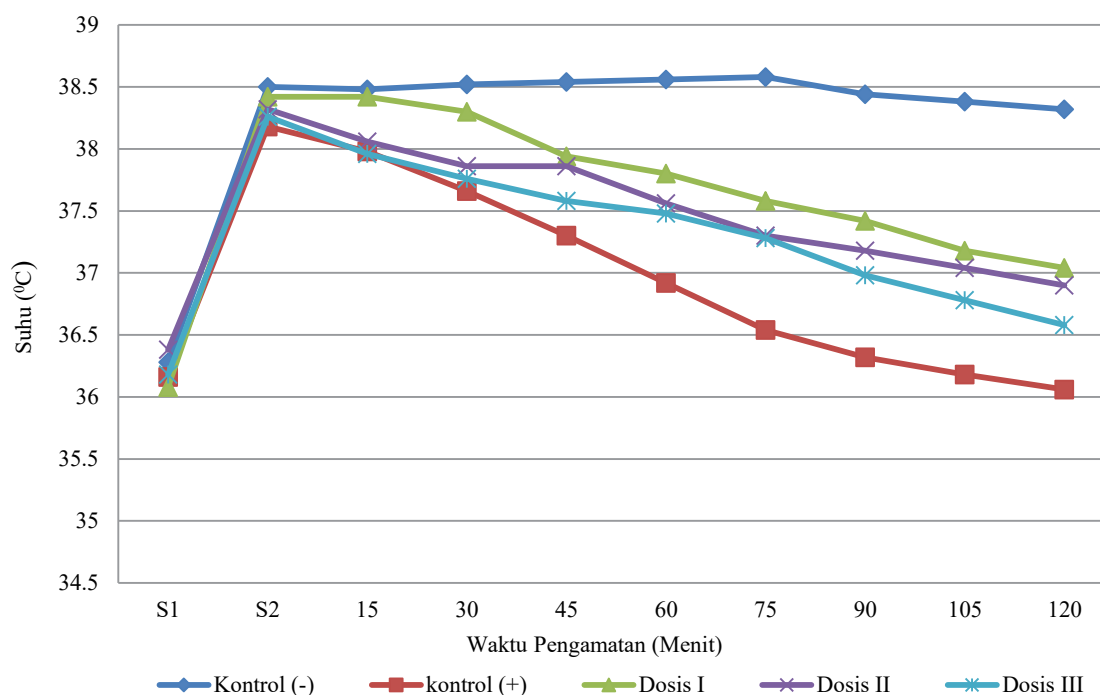
Keberhasilan induksi demam dengan vaksin DPT-HB-HIB disajikan pada tabel 3 dan Gambar 1. Suhu rektal mencit mengalami kenaikan yang signifikan setelah pemberian vaksin DPT yakni dari 36°C pada awal sebelum induksi vaksin DPT-HB-HIB menjadi lebih dari 38°C setelah induksi. Pada mencit kelompok kontrol negatif suhu rektal bertahan pada level ini sampai akhir waktu penelitian (**Gambar 1**).

Berbeda dengan profil suhu rektal kelompok kontrol negatif, suhu rektal kelompok mencit yang diberi ekstrak dan parasetamol, mengalami perubahan mulai dari 15 menit pasca pemberian. Perubahan suhu rektal terus berjalan sampai akhir

Table 2. Profil Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Herba Seledri

No	Identifikasi	Hasil yang didapat	Simplisia	Ekstrak
1	Flavonoid	Merah lembayung	+	+
2	Saponin	Terbentuk buih	+	+
3	Alkaloid	Terbentuk endapan putih	+	+
4	Tanin	Hijau kehitaman	+	+
5	Terpenoid/ Steroid	Larutan terbentuk warna merah (Terpenoid), Larutan terbentuk warna biru (Steroid).	+	+

Keterangan : (+) terdapat senyawa, (-) tidak terdapat senyawa

**Gambar 1.** Profil Suhu Rektal Mencit Selama Pengamatan

Tabel 3. Suhu Rektal Mencit Selama Perlakuan Setelah Diberi Ekstrak Herba Seledri

Perlakuan	Rata-rata ± SD suhu rektal (°C)										X, % Δ
	S1	S2	15	30	45	60	75	90	105	120	
Kontrol Negatif (CMC Na)	36,28 ± 0,16	38,5 ± 0,4	38,48 ± 0,30	38,52 ± 0,33	38,54 ± 0,26	38,56 ± 0,21	38,58 ± 0,20	38,44 ± 0,17	38,38 ± 0,18	38,32 ± 0,19	38,26 ^c 10,81%
Kontrol Positif (Parasetamol)	36,16 ± 0,29	38,18 ± 0,15	37,98 ± 0,11	37,66 ± 0,15	37,3 ± 0,19	36,92 ± 0,19	36,54 ± 0,26	36,32 ± 0,22	36,18 ± 0,18	36,06 ± 0,17	36,93 ^a 61,88%
Ekstrak Herba Seledri Dosis 2 mg/20 g BB	36,08 ± 0,33	38,42 ± 0,41	38,42 ± 0,41	38,3 ± 0,35	37,94 ± 0,26	37,8 ± 0,19	37,58 ± 0,11	37,4 ± 0,08	37,18 ± 0,11	37,04 ± 0,11	37,62 ^d 34,18%
Ekstrak Herba Seledri Dosis 4 mg/20 g BB	36,38 ± 0,13	38,32 ± 0,33	38,06 ± 0,31	37,86 ± 0,29	37,86 ± 0,20	37,56 ± 0,21	37,3 ± 0,12	37,18 ± 0,11	37,04 ± 0,11	36,9 ± 0,1	37,45 ^c 44,85%
Herba Seledri Dosis 6 mg/20 g BB	36,18 ± 0,33	38,26 ± 0,11	37,96 ± 0,05	37,76 ± 0,09	37,58 ± 0,04	37,48 ± 0,44	37,28 ± 0,08	36,98 ± 0,08	36,78 ± 0,04	36,58 ± 0,08	37,29 ^b 46,83%
X	36,22 ^a	38,34 ⁱ	38,18 ⁱ	38,02 ^h	37,844 ^g	37,66 ^f	37,46 ^c	37,27 ^d	37,11 ^c	36,98 ^b	

Keterangan : huruf superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada $P < 0,05$, ANOVA. X, Δ% = Rataan dan nilai prosentase penurunan suhu rektal.

percobaan menuju suhu rektal normal. Rata-rata penurunan suhu rektal tertinggi selama 120 menit terdapat pada kelompok mencit yang diberi parasetamol yakni dari 38,18°C pada awal perlakuan turun ke level normal menjadi 36,06°C pada akhir perlakuan dengan prosentase penurunan suhu rektal sebesar 46,83%, selanjutnya diikuti oleh kelompok mencit yang diberi ekstrak dosis III (6 mg/20 gBB), dosis II (4 mg/20 gBB), dan dosis I (2 mg/20 gBB). Suhu rektal mencit yang diberi sediaan ekstrak dosis II (4 mg/20 gBB) dan III (6 mg/20 gBB) pada akhir percobaan mencapai suhu rektal normal yaitu tidak lebih dari 37°C sedangkan dosis I (2 mg/20 gBB) masih berada pada level di atas 37°C.

Berdasarkan analisis statistik menggunakan *analysis of varian* (ANOVA) untuk rancangan pola factorial, perlakuan dan waktu mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap suhu rektal mencit dan ada interaksi antara keduanya. Analisis post hoc tes menggunakan uji statistik Duncan, diketahui efek pemberian parasetamol, ekstrak seledri dosis I (2 mg/20 gBB), dosis II (4 mg/20 gBB) dan dosis III (6 mg/20 gBB) memberikan pengaruh yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa semua dosis ekstrak dan parasetamol yang diberikan memiliki efek sebagai antipiretik. Hasil analisis statistik post hoc test dengan *Duncan*, juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efek antipiretik yang signifikan diantara ketiga dosis tersebut ($P < 0,05$). Besarnya efek antipiretik dosis III (6 mg/20 gBB) dengan nilai rata-rata suhu 36,58°C mendekati efek kontrol positif dengan nilai rata-rata suhu 36,93°C.

Hasil analisis statistik terhadap waktu munculnya efek antipiretik (**Tabel 3**), menunjukkan adanya perbedaan waktu terjadinya penurunan suhu tubuh yang signifikan ($P < 0,05$) antara kelompok yang diberi ekstrak herba seledri dan parasetamol dengan kontrol negatif. Onset kinerja antipiretik ekstrak herba seledri dosis I (2 mg/20 gBB) mulai terjadi pada menit ke-45 sedangkan pada dosis II dan dosis III (6 mg/20 gBB) onsetnya terjadi pada menit ke-35. Onset antipiretik kelompok mencit dosis III (6 mg/20 gBB) sama dengan kontrol positif yaitu pada menit ke 30.

4. Pembahasan

Vaksin DPT-HB-HIB mengandung fraksi seluler *Bordetella pertusis* yang berperan sebagai pirogen eksogen, yakni suatu antigen yang dapat menginduksi peningkatan suhu tubuh melebihi batas normal. Peningkatan suhu tubuh akibat vaksin DPT terjadi melalui mekanisme pembentukan antibodi terhadap kuman dalam vaksin DPT. Demam akibat vaksin DPT-HB-HIB dapat terjadi 30 menit pasca pemberian vaksin^{[13][14]}. Pada penelitian ini suhu rektal mencit yang divaksin DPT mengalami peningkatan sampai mencapai level di atas 38°C. Pada kelompok kontrol negatif suhu rektal mencit tetap bertahan pada level ini sampai akhir percobaan.

Parasetamol dan ekstrak herba seledri secara signifikan menurunkan suhu tubuh mencit menuju level normal. Hal ini mengindikasikan bahwa baik Parasetamol maupun ekstrak seledri mempunyai efek sebagai antipiretik. Efek antipiretik herba seledri

bersifat dose dependent. Namun, efek antipiretik ekstrak seledri pada dosis tertinggi dibandingkan dengan kontrol positif efeknya masih di bawah kontrol positif. Efek antipiretik ekstrak herba seledri sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya terhadap ekstrak etanol 96 % hasil maserasi konvensional. Peneliti tersebut mengemukakan ekstrak etanol 96 % herba seledri bersifat antipiretik pada mencit yang diinduksi demam dengan pepton^[15].

Hasil pemeriksaan fitokimia terhadap ekstrak herba seledri mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid quercetin, saponin, alkaloid, tanin, steroid dan terpenoid (**Tabel 2**). Flavonoid, terutama flavon dan tanin sebagai antipiretik kinerjanya mirip dengan parasetamol. Parasetamol bekerja sebagai antipiretik melalui mekanisme inhibisi terhadap kerja enzim COX₃ di sel endotel anterior hipotalamus pada jalur pembentukan prostaglandin di sistem saraf pusat. Efek yang diberikan akibat penurunan produksi prostaglandin adalah menurunkan panas pada tubuh. Sementara flavonoid menghambat *cyclooxygenase* (COX) perifer yakni suatu enzim yang terlibat dalam pembentukan prostaglandin. Prostaglandin berperan penting dalam proses inflamasi dan peningkatan suhu tubuh yang mengakibatkan demam^[16]. Selain itu metabolit sekunder flavonoid mempunyai aktivitas antipiretik dengan cara menghambat eikosanoid yang dapat memblokir jalur siklooksigenase, dan jalur lipoksigenase sehingga terjadi penurunan kadar prostaglandin dan penurunan suhu tubuh^[17]. Sedangkan tanin termasuk kelompok polifenol mempunyai efek antipiretik melalui asam arakidonat dalam pembentukan prostaglandin^[18].

Selain Flavonoid, dan tanin senyawa alkaloid mempunyai efek antipiretik yang mekanismenya kemungkinan melibatkan inhibisi terhadap pelepasan dopamin dan pembentukan prostaglandin^{[19][20]}. Sementara saponin berperan dalam mengantagonis reseptor opiod dengan cara mengikat ujung saraf sensorik^{[21][22]}.

Metode ekstraksi menggunakan metode MAE mempunyai kelebihan dapat menarik beragam metabolit sekunder dalam waktu singkat karena kemampuannya dalam mempengaruhi struktur sel sebagai akibat dari kenaikan suhu dan tekanan internal yang tiba-tiba. Lebih jauh lagi, pergerakan ion terlarut meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks, sehingga memfasilitasi pelepasan bahan kimia. peningkatan suhu pelarut memungkinkan penetrasi ke dalam sampel dan konstituen

dilepaskan ke dalam pelarut panas^[23]. Namun, dalam beberapa kasus, hanya pemanasan selektif matriks sampel yang dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut transparan gelombang mikro (heksana dan kloroform). Stabilitas dan bioaktivitas flavonoid sangat dipengaruhi oleh temperatur. Sensitivitas flavonoid terhadap panas yang mempengaruhi stabilitas dan aktivitasnya tergantung pada strukturnya. aglikon flavonoids, lebih tahan terhadap panas dibandingkan dengan flavonoid glikosilasi^[24].

Ekstraksi herba seledri dengan metode MAE pada penelitian ini telah berhasil menarik metabolit sekunder yang terlibat dalam menurunkan suhu tubuh. Senyawa metabolit sekunder yang diperoleh sama seperti penelitian sebelumnya bahwa tanaman seledri mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan steroid/terpenoid dan aktivitas antipiretiknya muncul seperti hasil penelitian sebelumnya bahwa ekstrak etanol 90 % herba seledri mempunyai efek sebagai antipiretik dengan persentase inhibisi terhadap demam meningkat sejalan dengan meningkatnya jumlah ekstrak yang diberikan. Dalam penelitian ini persentase inhibisi tertinggi terdapat pada dosis 6 mg/20 g BB sebesar 46,63% sedikit lebih rendah dari persentase inhibisi ekstrak etanol 90% konsentrasi 6% yang diperoleh penelitian sebelumnya^[25].

5. Kesimpulan

Ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L) mempunyai efektivitas antipiretik pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi vaksin DPT-HB-HIB. Dosis terbaik yang mempunyai efek antipiretik ialah 6 mg/20 g BB) yang efeknya setara dengan kontrol positif (Paracetamol 1,82 mg/20 g BB). Onset perlakuan paling cepat terjadi pada menit ke-30 pada dosis II (4 mg/20 gBB), diikuti menit ke-45 untuk dosis I (2 mg/20 gBB dan dosis III (6 mg/20 gBB).

Daftar Rujukan

- [1]. **Leggett, J.** 2008 Approach to fever or suspected infection in the normal host. In: Lee G, Ausiello D, editors. Cecil medicine. 23rd edition Saunders Elsevier p. 2112—24.
- [2]. **Mackowiak, P.A.** 1994 . Fever: blessing or curse? a unifying hypothesis. *Ann Intern Med.*, 120,1037—40.
- [3]. **Lubis, M.B.** 2009. Demam pada Bayi Baru Lahir, Dalam Tjjipta, G.D., Ali, M., dan Lubis, M.B., Editor. Ragam Pediatrik Praktis. Medan: USU Press, 82- 5.
- [4]. **Suproborini, A., Djoko Laksana, M. S., & Yudiantoro, D. F.** 2018. Etnobotani Tanaman Antipiretik Masyarakat

- Dusun Mesu Boto Jatiroto Wonogiri Jawa Tengah. *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 1(1), 1.
- [5]. **Mradu, G., Dalia, B., & Arup, M.** 2013. Studies of Anti-Inflammatory, Antipyretic and Analgesic Effect of Aqueous Extract of Traditional Herbal Drug on Rodents. *Jnt Res Pharm*; 4(3), 113120.
- [6]. **Dinarelo & Gelfand** 2011. Fever and Hyperthermia. Dalam: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, Editor. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 143–147.
- [7]. **Wahyudi, K.N., Irmawati, N.D., & Astari, Z.** 2020. Koefisien perpindahan massa Ekstraksi Flavonoid dari Buah Pare dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia* 14(2) 41-44.
- [8]. **Eskilsson, C.S., & Bjorklund, E.** 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902, 227–250.
- [9]. **Oroian, M., Dranca, F. & Ursachi, F.** 2020. Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. *Journal of food science and technology*, 57,70-78.
- [10]. **Quan P. T., Tong V. H., Nguyen H. H., Nguyen X. D., & Troung N. T.** 2006. Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols From Fresh Tea Shoot, *Science & Technology development*, 9(8). 69-75.
- [11]. **Hanani.** 2015. Analisis Fitokimia. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal: 85- 56.
- [12]. **Ika A, R., Fajrin, N., & Dina, P.** 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol 70% Herba Seledri (*Apium graveolens*, L.) Sebagai Diuretik Pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley. *Jurnal Kefarmasian: Muhammadiyah Tangerang*, 4(1), 42-49.
- [13]. **Ismodiyanto.** 2000. Demam pada Anak. *Sari Pediatri*, 2(2), 103–108.
- [14]. **Anggraeny, E. N., & Pramitaningastuti, A. S.** 2016. Studi Uji Daya Antiinflamasi dan Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Lengkek (*Dimocarpus longan* Lour) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(2), 1–14.
- [15]. **Depkes RI.** 2013. Farmakope Herbal Indonesia. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Jakarta. Hal 110-111.
- [16]. **Nijveldt, R.J., Van, Nood, E.L., Van Hoorn, D.E., Boelens P.G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A.** 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.*, 74, 418–25.
- [17]. **Dwi.** 2018. Analisis Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit Jantan Secara IN VIVO. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2), 304-311.
- [18]. **Kumar, M.D., Deepmala, J., Sangeeta, S.** 2012. Antioxidant, antipyretic and choleric activities of crude extract and active compound of *Polygonum bistorta* (Linn.) in albino rats. *Int J Pharm Biol Sci*, 2, 25–31.
- [19]. **Backhouse, N., Delporte, C., Givernau, M., Cassels, B. K., Valenzuela, A. & Speisky, H.** 1994. Anti-inflammatory and antipyretic effects of boldine. *Agents Actions*, 42(3-4), 114-117.
- [20]. **Van Arman, C. G., Armstrong, D., & Kim, D. H.** 1985. Antipyretics. *Pharmacol. Ther.*, 29(1), 1-48.
- [21]. **Huong, N.T., Matsumoto, K., Yamasaki, K., Duc, N.M., Nham, N.T. & Watanabe, H.** 1995. Crude saponin extracted from Vietnamese ginseng and its major constituent majonoside-R2 attenuate the psychological stress-and foot-shock stress-induced antinociception in mice. *Pharmacol Biochem Behav.*, 52, 427–32.
- [22]. **Baumann, J., Bruchhausen, F.V., & Wurm, G.** 1980. Flavonoids and related compounds as inhibitors of arachidonic acid peroxidation. *Prostaglandins*, 20:627–39.
- [23]. **Routray W, & Orsat V.** 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food Bioprocess Technol*, 5, 409–424.
- [24]. **Liu, X.M., Liu, Y., Shan, C.H., Yang, X.Q., Zhang, Q., Xu, N., Xu, L.Y., & Song, W.** 2022. Effects of five extraction methods on total content, composition, and stability of flavonoids in jujube. *Food Chemistry*, X (14), 100287.
- [25]. **Mendila, Jayanti, A.D.E., Fani, F., & Temarwut, I.A.** 2021. Uji Efek Antipiretik Ekstrak Etanol Dan-Heksan Herba Seledri (*Apium Graveolens* L) Pada Mencit (*Mus musculus*) *PhytoMedicine: Journal Pharmacy and Sciences*. 12 (2), 103-108.