

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL JAHE (*Zingiber officinale* Roscoe.) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.)

*Antioxidant Activity of Combination of Ethanol Extract of Ginger (Zingiber officinale Roscoe.)
and Kaffir Lime Leaves (Citrus hystrix DC.)*

Darsih Sarastr¹, Evieta Rohana^{1*}, Indah Saraswati¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

*Corresponding author : evieta.er@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman herbal jahe (*Zingiber officinale*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) memiliki kandungan senyawa antioksidan berupa flavonoid, fenol, dan terpenoid. Penelitian bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan (efek dan nilai aktivitas antioksidan terkuat) dari kombinasi jahe dan daun jeruk purut. Penelitian meliputi determinasi, pembuatan, dan karakterisasi simplisia, ekstraksi etanol 96% (1 : 10) metode ultrasonik, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada ekstrak tunggal jahe dan daun jeruk purut serta kombinasi ekstrak dengan perbandingan (3 : 1), (1 : 1), dan (1 : 3). Hasil yang diperoleh pada kombinasi ekstrak jahe dan daun jeruk purut (1 : 1) menunjukkan efek sinergis (nilai CI 0,695) dengan nilai IC₅₀ 72,703 ± 0,195 ppm. Kombinasi ekstrak jahe dan daun jeruk purut (3 : 1) menghasilkan efek adisi (nilai CI 0,958) dengan nilai IC₅₀ 69,545 ± 0,167 ppm yang merupakan aktivitas antioksidan terkuat dibandingkan kombinasi lain. Kombinasi ekstrak jahe dan daun jeruk purut (1 : 3) menghasilkan efek adisi (nilai CI 0,919) dengan nilai IC₅₀ 107,030 ± 0,123 ppm.

Kata Kunci: tanaman herbal, flavonoid, fenol, terpenoid, DPPH

ABSTRACT

Ginger (*Zingiber officinale*) and kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*) contain antioxidant compounds such as flavonoids, phenols and terpenes. This study aims to find out the effect and the strongest value of antioxidant activity from a combination of *Zingiber officinale* and *Citrus hystrix* leaves ethanolic extract. This research begins with determination, preparation and characterization of simplicia, ultrasonic-assisted extraction using ethanol 96% (1 : 10) as a solvent, phytochemical screening, and an antioxidant activity test. The antioxidant activity test was conducted using the DPPH method on a single extract of ginger and kaffir lime leaves, and a combination extract of ginger and kaffir lime leaves (3 : 1, 1 : 1, and 1 : 3). The result of the combination extract of ginger and kaffir lime leaves (1 : 1) showed a synergistic effect (CI value 0,695) with an IC₅₀ 72,703 ± 0,195 ppm. The combination extract of ginger and kaffir lime leaves (3 : 1) showed an addition effect (CI value 0,958) with an IC₅₀ 69,545 ± 0,167 ppm which is the strongest value of antioxidant activity than other combination. The combination extract of ginger and kaffir lime leaves (1 : 3) showed an addition effect (CI value 0,919) with an IC₅₀ 107,030 ± 0,123 ppm

Keywords: herbal plant, flavonoid, phenol, terpenoid, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas berlebih dalam tubuh dapat menimbulkan penyakit seperti penuaan dini, penyakit degeneratif, kanker dan jantung. Molekul tidak stabil dan reaktif dari radikal bebas dapat berinteraksi dengan molekul sekitar untuk mencapai kestabilan (Mustarichie and Priambodo, 2019). Radikal bebas dapat dinetralkan dengan senyawa antioksidan. Penelitian antioksidan eksogen semakin berkembang seiring kebutuhan. Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dikenal sebagai tanaman dengan kandungan antioksidan eksogen.

Jahe dipercaya dapat meningkatkan fungsi fisiologis tubuh sehingga banyak dimanfaatkan dalam bahan pangan fungsional. Jahe berperan sebagai antiemetik, anti inflamasi dan antioksidan. Senyawa antioksidan pada jahe berupa gingerol, shogaol dan zingerone (Bekkouch *et al.*, 2019).

Penggunaan kombinasi bahan alam pada produk pangan sudah banyak diterapkan masyarakat dengan harapan hasil yang lebih baik. Kombinasi jahe dan daun jeruk purut diterapkan dalam produk pangan seperti wedang jahe. Daun jeruk purut mengandung senyawa geraniol, strolonal, fenol, sitronelol, alkaloid, terpenoid, dan flavonoid (Zuhria, Danimayostu and Iswarin, 2017; {Formatting Citation} Muzuka, Danimayostu and Iswarin, 2018).

Penggunaan kombinasi suatu bahan dapat memicu terjadinya interaksi seperti sinergis, antagonis atau adisi. Penelitian oleh Fauziyyah (2018) melaporkan interaksi antagonis pada kombinasi air jahe dan kayu secang, sedangkan pada kombinasi ekstrak air jahe dan cengkeh menghasilkan interaksi sinergis. Berdasarkan data penelitian terdahulu mengenai adanya interaksi antar kombinasi

bahan alam terhadap aktivitas antioksidan, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui dan menganalisis interaksi antioksidan ekstrak etanol jahe dan daun jeruk purut yang diekstraksi dengan metode ultrasonik dan dianalisis dengan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, oven, *grinder*, ayakan, kurs porselen, cawan porselen, corong kaca, desikator, *ultrasonic bath*, *rotary evaporator*, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet tetes, gelas beker, labu ukur, kuvet, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan adalah jahe, daun jeruk purut, akuadest, etanol 96%, HCl, FeCl₃, Liebermann-Bouchard, NaOH, kloroform, Dragendorff, vitamin C, DPPH, metanol p.a, kuersetin, asam galat, kafein, eugenol, dan daun waru.

Pembuatan simplisia

Sampel disortasi basah, dicuci menggunakan air mengalir dan ditiriskan. Jahe dipotong kurang lebih 0,3 cm. Sampel dikeringkan dengan oven suhu 50°C, dihaluskan menggunakan *grinder* dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 40. Simplisia kemudian dilakukan karakterisasi susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan kadar sari laut etanol sesuai dengan pedoman Farmakope Herbal Indonesia (FHI) 2017 (Departemen Kesehatan Indonesia, 2017).

Ekstraksi

Ekstraksi dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96% (1 : 10) pada suhu 45°C selama 30 menit. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Tabel 1. Karakterisasi Simplisia Jahe dan Daun Jeruk Purut

Karakterisasi Simplisia	Jahe (%)	Daun Jeruk Purut (%)	Syarat
Susut pengeringan	9,523	7,497	≤ 10%
Kadar air	8,054	5,472	≤ 10%
Kadar abu total	5,535	4,915	≤ 5,6%
Kadar abu tidak larut asam	0,19	0,04	≤ 0,6%
Kadar sari larut air	22,638	22,294	≥ 17%
Kadar sari larut etanol	10,089	14,444	≥ 5,8%

Tabel 2. Data Uji Skrining Fitokimia

Uji Fitokimia	Reagen	Jahe	Daun Jeruk Purut
Flavonoid	NaOH	++	+
Fenol	FeCl ₃	++	+
Terpenoid	<i>Liebermann-Bouchard</i>	+	++
Alkaloid	HCl pekat + Dragendorff	-	-
Saponin	Akuadest Panas + HCl	-	-

Keterangan :

(++) = mengandung senyawa dengan intensitas warna lebih pekat

(+) = mengandung senyawa

(-) = tidak mengandung senyawa

Skrining fitokimia

Flavonoid

Larutan ekstrak direaksikan dengan larutan NaOH, reaksi positif bila terjadi perubahan warna menjadi kuning (Muzuka, Danimayostu and Iswarin, 2018).

Fenol

Larutan ekstrak direaksikan dengan FeCl₃ 1%, reaksi positif bila terbentuk warna biru/ hijau kehitaman (Muzuka, Danimayostu and Iswarin, 2018).

Terpenoid

Larutan ekstrak direaksikan dengan kloroform dan pereaksi *Liebermann-Bouchard*, reaksi positif apabila terbentuk warna coklat keunguan (Muzuka, Danimayostu and Iswarin, 2018).

Alkaloid

Larutan ekstrak direaksikan dengan HCl dan pereaksi Dragendorff, reaksi positif apabila terbentuk endapan berwarna coklat (Muzuka, Danimayostu and Iswarin, 2018).

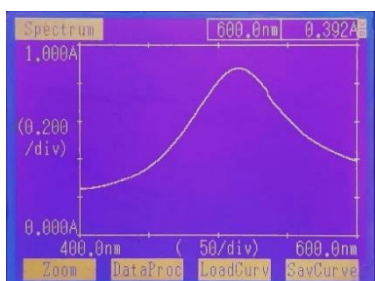
Saponin

Larutan ekstrak ditambahkan dengan akuades panas dan dikocok kuat, reaksi positif apabila terbentuk busa stabil 1 - 10 cm yang tidak hilang dengan penambahan HCl (Muzuka, Danimayostu and Iswarin, 2018).

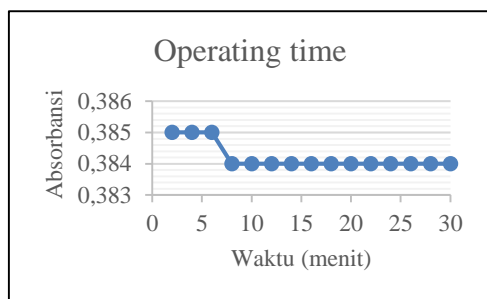
Tahap Pengujian Aktivitas antioksidan

Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 190 µl larutan DPPH 1000 ppm ditambahkan dengan metanol ad 5 mL, diambil ± 2 mL, dimasukkan dalam kuvet. Selanjutnya diukur panjang gelombang maksimum pada spektrofotometer UV-Vis (rentang 400 - 600 nm).



Gambar 1. Panjang gelombang maksimum DPPH



Gambar 2. Operating Time

Penentuan operating time

450 μ l larutan vitamin C 1000 ppm ditambahkan 3,8 mL DPPH 1000 ppm, dihomogenkan dengan stirrer, diambil \pm 2 mL dan dimasukkan ke kuvet. Diukur absorbansi tiap 2 menit selama 30 menit.

Penentuan absorbansi blanko

Sebanyak 190 μ l DPPH 1000 ppm ditambahkan dengan metanol ad 5 mL, dihomogenkan, diambil \pm 2 mL dan dimasukkan ke kuvet. Larutan didiamkan selama *operating time* dan kemudian diukur absorbansinya.

Uji aktivitas antioksidan

Larutan uji (vitamin C; ekstrak tunggal jahe; ekstrak tunggal daun jeruk purut; dan kombinasi ekstrak 1 : 3; 1 : 1; 3 : 1) dibuat 5 seri konsentrasi, kemudian ditambahkan dengan 190 μ l DPPH 1000 ppm dan metanol ad 5 mL dihomogenkan, diambil \pm 2 mL dan dimasukkan ke kuvet. Larutan didiamkan selama *operating time* dan kemudian diukur absorbansinya.

Penentuan aktivitas antioksidan dan nilai IC_{50}

Aktivitas antioksidan =

$$\frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

(Mitayani, 2010)

Data aktivitas antioksidan yang didapatkan diolah secara regresi linier dengan sumbu x merupakan konsentrasi larutan sampel uji dan sumbu y merupakan aktivitas antioksidan sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = ax + b$. Nilai IC_{50} diperoleh melalui perhitungan persamaan regresi linier dengan variabel x berupa konsentrasi dan variabel y berupa nilai persen antioksidan

Analisis statistika dan penentuan combination index (CI)

Hasil nilai IC_{50} dianalisis statistika meliputi homogenitas, normalitas, *one way* ANOVA dan dilanjutkan *post hoc* LSD dan Duncan. Nilai *combination index* (CI) dihitung menggunakan *software* CompuSyn.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diawali dengan pembuatan simplisia dan karakterisasi simplisia. Hasil pembuatan simplisia dari 3.000 gram rimpang jahe segar menghasilkan serbuk simplisia 590,25 gram dan sebanyak 1.213 gram daun jeruk purut segar menghasilkan serbuk simplisia 511,23 gram.

Karakterisasi simplisia dilakukan sesuai dengan pedoman Farmakope Herbal Indonesia (FHI) tahun 2017. Berdasarkan Tabel 1, hasil susut pengeringan kedua simplisia telah sesuai dengan standar FHI 2017 yaitu $\leq 10\%$ (Departemen Kesehatan Indonesia, 2017). Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang hilang pada simplisia masih dalam rentang syarat penerimaan sehingga simplisia masih mengandung senyawa dalam jumlah cukup yang mempengaruhi kualitas simplisia.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sampel	Rata-rata IC ₅₀ (ppm)	SD
Vitamin C	5,191	0,020
Ekstrak etanol jahe	51,463	0,306
Ekstrak etanol daun jeruk purut	304,430	0,417
Kombinasi EZO : ECH perbandingan 1 : 1	72,703	0,195
Kombinasi EZO : ECH perbandingan 3 : 1	69,545	0,167
Kombinasi EZO : ECH perbandingan 1 : 3	107,030	0,123

Keterangan :

EZO = ekstrak *Z. officinale*

ECH = ekstrak *C. hystrix*

Tabel 4. Nilai *Combination Index* Ekstrak Etanol Jahe dan Daun Jeruk Purut dengan *Software* CompuSyn.

Perbandingan ekstrak		Nilai <i>Combination Index</i>	Diskripsi
Jahe	Daun Jeruk Purut		
1	1	0,695	Sinergis
3	1	0,958	Adisi
1	3	0,919	Adisi

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	164521.419	5	32904.284	565496.418	.000
Within Groups	.698	12	.058		
Total	164522.118	17			

Gambar 3. Analisis Statistik ANOVA

IC50

Subset for alpha = 0.01

Perlakuan	N	1	2	3	4	5	6
Duncan*							
Vitamin C	3	5.191199					
Jahe	3		51.463043				
3:1	3			69.545340			
1:1	3				72.703021		
1:3	3					107.030011	
Jeruk Purut	3						304.430415
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Gambar 4. Analisis Statistik *Post-hoc* Duncan

Berdasarkan Tabel 1, hasil kadar air simplisia rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* sesuai dengan standar FHI 2017 yaitu $\leq 10\%$ (Departemen Kesehatan Indonesia, 2017). Hasil kadar air tersebut menunjukkan bahwa risiko terjadinya kontaminasi mikroba pada simplisia tergolong kecil karena kandungan air pada simplisia $\leq 10\%$.

Berdasarkan Tabel 1, hasil kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam untuk kedua simplisia telah sesuai dengan standar FHI 2017 yaitu $\leq 5,6\%$ dan $\leq 0,6\%$ (Departemen Kesehatan Indonesia, 2017). Hasil kadar abu dan kadar abu tidak larut asam yang diperoleh menunjukkan kontaminasi mineral dan logam yang tidak hilang pada suhu tinggi dan tidak larut asam pada simplisia rendah

sehingga memberikan gambaran terkait kemurnian dan kontaminasi simplisia yang berpengaruh terhadap kualitas simplisia.

Berdasarkan Tabel 1, hasil kadar sari larut air dan etanol kedua simplisia telah sesuai dengan standar FHI 2017 yaitu $\geq 17\%$ dan $\geq 5,8\%$ (Departemen Kesehatan Indonesia, 2017). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar sari larut air pada kedua simplisia lebih tinggi dari kadar sari larut etanol. Hal tersebut mengindikasikan senyawa yang terkandung dari kedua simplisia lebih banyak tersari dengan pelarut air dibanding etanol. Namun dalam penelitian ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% karena pelarut etanol memiliki kelebihan mudah menguap dibandingkan air, sehingga proses evaporasi setelah ekstraksi lebih mudah.

Ekstraksi terhadap simplisia dilakukan menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 96% (1 : 10) pada *ultrasonic bath* pada suhu 45°C selama 30 menit dengan frekuensi rendah - sedang. Penggunaan metode UAE akan meningkatkan permeabilitas dinding sel karena menggunakan getaran ultrasonik sehingga kandungan didalam sel mudah keluar dan didapatkan rendemen yang tinggi (Sholihah, Ahmad and Budiastira, 2017). Ekstrak etanol kental *Z. officinale* yang diperoleh sebesar 23,702 gram (9,481%), sedangkan ekstrak etanol kental daun *C. hystrix* yang diperoleh sebesar 31,792 gram (12,717%).

Berdasarkan Tabel 2, ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* menunjukkan mengandung senyawa flavonoid, fenol dan terpenoid. Skrining fitokimia senyawa flavonoid dan fenol dalam ekstrak jahe menghasilkan warna yang lebih pekat dibandingkan dengan ekstrak daun jeruk purut. Namun pada senyawa terpenoid, ekstrak daun jeruk purut memberikan warna yang lebih pekat dibandingkan dengan ekstrak jahe. Perbedaan kepekatan warna

yang dihasilkan ini dapat dimungkinkan karena perbedaan jumlah senyawa yang terkandung dan kemungkinan senyawa yang berbeda meskipun dari golongan senyawa yang sama.

Penentuan aktivitas antioksidan terhadap kedua sampel dilakukan menggunakan metode DPPH. Berdasarkan Gambar 1 dan 2, diketahui bahwa panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada pengujian larutan DPPH 38 ppm yaitu 515,4 nm dan diketahui pula bahwa operating time DPPH terdapat pada menit ke-14.

Hasil aktivitas antioksidan vitamin C yang diperoleh berupa aktivitas yang tergolong kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $5,191 \pm 0,02$ ppm. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Z. officinale* diperoleh nilai IC_{50} $51,463 \pm 0,306$ ppm yang tergolong antioksidan kuat. Ekstrak etanol daun *C. hystrix* menghasilkan aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC_{50} $304,430 \pm 0,417$ ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak jahe lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak daun jeruk purut meskipun dari skrining fitokimia memiliki kandungan senyawa yang sama. Penelitian terdahulu membuktikan adanya hubungan antara kadar fenolik terhadap nilai IC_{50} , maka perbedaan aktivitas antioksidan dari ekstrak jahe dan ekstrak daun jeruk purut yang diteliti dapat dimungkinkan karena perbedaan kadar fenol dalam sampel. Semakin tinggi kadar fenolik semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Nur et al., 2019). Selain itu, perbedaan aktivitas antioksidan juga dapat dimungkinkan karena pengaruh senyawa utama yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan utama dalam jahe berupa senyawa fenol (gingerol dan shogaol) (Ali, El-Nour and Yagi, 2018). Mekanisme senyawa fenol sebagai senyawa antioksidan yaitu sebagai donor atom hidrogen dari gugus hidoksil ke radikal bebas, sehingga membantu menstabilkan radikal bebas (Susanti and Panunggal, 2015). Sedangkan senyawa antioksidan utama daun jeruk purut berupa

senyawa terpenoid (sitronelal, sitronelol, dan geraniol) (Febrianti and Ariani, 2020). Mekanisme senyawa terpenoid sebagai senyawa antioksidan dengan memutus reaksi berantai dan diubah menjadi produk lebih stabil (Maulida, Fadraersada and Rijai, 2016).

Pengukuran aktivitas antioksidan kombinasi dari ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* bertujuan untuk mengetahui efek yang dihasilkan dari kombinasi kedua sampel uji. Berdasarkan Tabel 3, aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* perbandingan 3 : 1 menghasilkan aktivitas paling kuat dibandingkan perbandingan yang lainnya. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan konsentrasi ekstrak jahe yang ditambahkan dalam kombinasi, ekstrak jahe memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan ekstrak daun jeruk purut. Konsentrasi yang ditambahkan dalam suatu senyawa antioksidan dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi. Kombinasi EZO : ECH 3 : 1 mengandung konsentrasi ekstrak jahe paling banyak sehingga memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan perbandingan lain. Sedangkan kombinasi EZO : ECH 1 : 3 mengandung konsentrasi jahe paling rendah sehingga memiliki aktivitas antioksidan paling lemah dibandingkan perbandingan lain.

Aktivitas antioksidan kombinasi EZO : ECH 3 : 1 lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol tunggal daun *C. hystrix* tetapi lebih lemah jika dibandingkan dengan ekstrak etanol tunggal rimpang *Z. officinale*. Penelitian terdahulu membuktikan adanya hubungan antara kadar fenolik terhadap nilai IC_{50} , maka rendahnya aktivitas antioksidan kombinasi EZO : ECH 3 : 1 dibanding ekstrak jahe tunggal dapat terjadi karena jumlah

fenol yang terkandung lebih rendah (Nur et al., 2019).

Hasil nilai IC_{50} yang didapat dianalisis statistika untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan pada nilai IC_{50} yang dihasilkan tiap perlakuan uji. Hasil analisis uji normalitas dan homogenitas diperoleh hasil data terdistribusi normal dan data bersifat homogen. Berdasarkan Gambar 3, hasil *one way* ANOVA menunjukkan bahwa hasil tiap perlakuan memiliki pengaruh terhadap nilai IC_{50} . Berdasarkan Gambar 4, hasil uji statistik lanjutan *post hoc* Duncan menunjukkan bahwa dari ketiga variasi kombinasi terdapat perbedaan signifikan karena tidak ada perlakuan yang berada pada grup yang sama. Sementara itu, berdasarkan Gambar 5, hasil analisis *Post-hoc* LSD didapatkan hasil terdapat perbedaan bermakna IC_{50} antar perlakuan.

Data nilai IC_{50} yang diperoleh dianalisis menggunakan *software* CompuSyn untuk mengetahui nilai *Combination Index* (CI) yang dihasilkan sehingga dapat ditentukan jenis interaksi kombinasi yang diperoleh. Berdasarkan Tabel 4, nilai CI yang diperoleh dari kombinasi ekstrak etanol *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* dengan perbandingan 1 : 1, 3 : 1 dan 1 : 3 menggunakan *software* CompuSyn berturut-turut 0,695; 0,958 dan 0,919. Hasil CI yang diperoleh sesuai dengan ketentuan jenis interaksi oleh Chou and Kettering (2006), sehingga dapat dinyatakan bahwa kombinasi ekstrak etanol *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* perbandingan 1 : 1 menghasilkan efek sinergis. Sedangkan kombinasi ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* perbandingan 3 : 1 dan 1 : 3 menghasilkan efek adisi.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	Vitamin C	Jahe	-46.2718439 [*]	.1969544	.000	-46.873449	-45.670239
		Jeruk Purut	-299.2392157 [*]	.1969544	.000	-299.840821	-298.637611
		1:1	-67.5118219 [*]	.1969544	.000	-68.113427	-66.910217
		3:1	-64.3541402 [*]	.1969544	.000	-64.955745	-63.752535
		1:3	-101.8388121 [*]	.1969544	.000	-102.440417	-101.237207
	Jahe	Vitamin C	46.2718439 [*]	.1969544	.000	45.670239	46.873449
		Jeruk Purut	-252.9673718 [*]	.1969544	.000	-253.568977	-252.365767
		1:1	-21.2399780 [*]	.1969544	.000	-21.841583	-20.638373
		3:1	-18.0822963 [*]	.1969544	.000	-18.683901	-17.480691
		1:3	-55.5669682 [*]	.1969544	.000	-56.168573	-54.965363
	Jeruk Purut	Vitamin C	299.2392157 [*]	.1969544	.000	298.637611	299.840821
		Jahe	252.9673718 [*]	.1969544	.000	252.365767	253.568977
		1:1	231.7273938 [*]	.1969544	.000	231.125789	232.328999
		3:1	234.8850755 [*]	.1969544	.000	234.283470	235.486680
		1:3	197.4004036 [*]	.1969544	.000	196.798799	198.002009
	1:1	Vitamin C	67.5118219 [*]	.1969544	.000	66.910217	68.113427
		Jahe	21.2399780 [*]	.1969544	.000	20.638373	21.841583
		Jeruk Purut	-231.7273938 [*]	.1969544	.000	-232.328999	-231.125789
		3:1	3.1576817 [*]	.1969544	.000	2.556077	3.759287
		1:3	-34.3269902 [*]	.1969544	.000	-34.928595	-33.725385
3:1	Vitamin C	64.3541402 [*]	.1969544	.000	63.752535	64.955745	
	Jahe	18.0822963 [*]	.1969544	.000	17.480691	18.683901	
	Jeruk Purut	-234.8850755 [*]	.1969544	.000	-235.486680	-234.283470	
	1:1	-3.1576817 [*]	.1969544	.000	-3.759287	-2.556077	
	1:3	-37.4846719 [*]	.1969544	.000	-38.086277	-36.883067	
1:3	Vitamin C	101.8388121 [*]	.1969544	.000	101.237207	102.440417	
	Jahe	55.5669682 [*]	.1969544	.000	54.965363	56.168573	
	Jeruk Purut	-197.4004036 [*]	.1969544	.000	-198.002009	-196.798799	
	1:1	34.3269902 [*]	.1969544	.000	33.725385	34.928595	
	3:1	37.4846719 [*]	.1969544	.000	36.883067	38.086277	

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Gambar 5. Analisis Statistik *Post-hoc* LSD

Hasil dari kombinasi EZO : ECH 1 : 1 lebih baik dibandingkan dengan kombinasi lain walaupun memiliki aktivitas antioksidan yang lebih lemah karena menghasilkan efek sinergis. Efek sinergis berarti memberikan efek peningkatan aktivitas antioksidan dari jumlah masing-masing aktivitas antioksidan. Sedangkan kombinasi ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* perbandingan 3 : 1 dan 1 : 3 menghasilkan efek adisi. Efek adisi berarti memberikan aktivitas yang sama seperti apabila aktivitas masing-masing senyawa uji dijumlahkan. Perbedaan efek

sinergitas yang dihasilkan dapat dimungkinkan karena perbedaan konsentrasi ekstrak yang direaksikan. Konsentrasi tinggi dari salah satu ekstrak dapat mengakibatkan hilangnya aktivitas antioksidan grup fenolik karena menjadi prooksidan (Fauziyyah, 2018). Pada kombinasi ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* perbandingan 3 : 1 dan 1 : 3 mengandung salah satu ekstrak dengan konsentrasi tinggi. Sehingga pada perbandingan 3 : 1 dan 1 : 3 hanya menghasilkan efek adisi, tidak menghasilkan efek sinergis seperti pada perbandingan 1:1.

Sedangkan pada kombinasi ekstrak etanol rimpang *Z. officinale* dan daun *C. hystrix* perbandingan 1 : 1 jumlah ekstrak sama banyak sehingga menghasilkan efek sinergis.

SIMPULAN

Kombinasi ekstrak etanol jahe (*Zingiber officinale*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) memberikan efek berupa sinergis dan adisi. Kombinasi 1 : 1 memberikan efek sinergis dengan nilai CI 0,695. Kombinasi 3 : 1 (CI = 0,958) dan 1 : 3 (CI = 0,919) memberikan efek adisi.

Perbandingan ekstrak etanol rimpang jahe (*Zingiber officinale*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) yang memberikan aktivitas antioksidan paling kuat yaitu perbandingan 3 : 1 dengan nilai IC₅₀ sebesar 69,545 ± 0,167 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A. M. A., El-Nour, M. E. A. M. and Yagi, S. M. (2018) 'Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Rhizome, Callus and Callus Treated with Some Elicitors', *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), pp. 677–682. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.03.003.
- Bekkouch, O. *et al.* (2019) 'In Vitro Antioxidant and in Vivo Lipid-Lowering Properties of *Zingiber officinale* Crude Aqueous Extract and Methanolic Fraction: A Follow-Up Study', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2019/9734390.
- Chou, T. and Kettering, S. (2006) 'Theoretical Basis , Experimental Design , and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies', *Pharmacological Reviews*, 58(3), pp. 621–81. doi: 10.1124/pr.58.3.10.
- Departemen Kesehatan Indonesia (2017) *Farmakope Herbal Indonesia*. II. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Fauziyyah, A. (2018) Interaksi Aktivitas Antioksidan dan Uji Kestabilan dari Ekstrak Air jahe, Secang dan Cengkeh. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Febrianti, D. R. and Ariani, N. (2020) 'Uji Potensi Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri', *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. doi: 10.36387/jifi.v3i1.458.
- Maulida, W., Fadraersada, J. and Rijai, L. (2016) 'Isolasi Senyawa Antioksidan dari Daun Pila-Pila (*Mallotus paniculatus*)', in *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences (Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-4)*. Samarinda: Universitas Mulawarman. doi: 10.25026/mpc.v4i1.209.
- Mitayani, G. (2010) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica fragran* Houtt) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang.

- Mustarichie, R. and Priambodo, D. (2019) 'Formulation of Orally Disintegrating Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Tablets as An Antioxidant with Hydroxypropyl Cellulose as A Masking Agent', *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(4), pp. 236–241. doi: 10.22159/ijap.2019v11i4.32663.
- Muzuka, M. O. D., Danimayostu, A. A. and Iswarin, S. J. (2018) 'Uji Antioksidan Etosom Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai Anti Penuaan Kulit dengan Metode DPPH', *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 3(2), pp. 39–44. doi: 10.21776/ub.pji.2017.003.02.1.
- Nur, S. *et al.* (2019) 'Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina Arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan', *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(1), pp. 33–42. doi: 10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034.
- Sholihah, M., Ahmad, U. and Budiastira, I. W. (2017) 'Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis', *Jurnal Keteknik Pertanian*, 5(2). doi: 10.19028/jtep.05.2.161-168.
- Susanti, T. M. I. and Panunggal, B. (2015) 'Analisis Antioksidan, Total Fenol dan Kadar Kolesterol pada Kuning Telur Asin dengan Penambahan Ekstrak Jahe', *Journal of Nutrition College*, 4(2), pp. 636–644. doi: 10.14710/jnc.v4i4.10173.
- Zuhria, K. H., Danimayostu, A. A. and Iswarin, S. J. (2017) 'Perbandingan Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Bentuk Liposomnya', *Majalah Kesehatan*, 4(2). doi: 10.21776/ub.majalahkesehatan.2017.04.02.2.