

Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksan Daun Kayu Manis Hutan (*Cinnamomum iners*) Dengan Metode ABTS dan DPPH

Hendri Faisal^{1*}, Azzura Ligo², Rizka Hasmi Nasution,³

^{1,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia

²Program Studi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi dan Kesehatan,

Institut Kesehatan Helvetia

hendrifaisal@helvetia.ac.id

Abstract. Indonesia possesses remarkable biodiversity, including numerous medicinal plant species traditionally employed as natural therapeutic agents. Among these, *Cinnamomum iners* is widely utilized and is known to contain diverse bioactive compounds with reported antimicrobial, anti-inflammatory, and free radical-scavenging activities. This research focuses on evaluate the antioxidant activity of ethanol, ethyl acetate, and n-hexane extracts of wild cinnamon leaves (*Cinnamomum iners*) using the ABTS and DPPH methods. Extraction was carried out using the maceration method. The antioxidant effectiveness was measured by analyzing the IC_{50} values through free radical scavenging activity using the ABTS and DPPH methods with a UV-Vis spectrophotometer. The antioxidant activity of *Cinnamomum iners* leaves assessed using the ABTS method revealed that the ethanol extract exhibited very strong activity with an IC_{50} value of 7.56 ppm, followed by the ethyl acetate extract with moderate activity (IC_{50} 103.59 ppm), and the n-hexane extract with weak activity (IC_{50} 188.64 ppm). In contrast, the DPPH assay showed that the ethanol extract demonstrated moderate antioxidant activity with an IC_{50} value of 168.03 ppm, the ethyl acetate extract exhibited weak activity (IC_{50} 400.5 ppm), and the n-hexane extract displayed no antioxidant activity (IC_{50} 2373.2 ppm).

Keywords: *Cinnamomum iners*; antioxidant activity; ABTS; DPPH; IC_{50}

Abstrak. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang luar biasa, termasuk berbagai spesies tanaman obat yang secara tradisional digunakan sebagai agen terapi alami. Di antara tanaman tersebut, *Cinnamomum iners* banyak dimanfaatkan dan diketahui mengandung beragam senyawa bioaktif yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba, antiinflamasi, dan penangkap radikal bebas. Penelitian ini berfokus untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana daun kayu manis hutan (*Cinnamomum iners*) menggunakan metode ABTS dan DPPH. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Efektivitas antioksidan diukur melalui analisis nilai IC_{50} berdasarkan aktivitas penangkapan radikal bebas menggunakan metode ABTS dan DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan daun *Cinnamomum iners* berdasarkan metode ABTS menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 7,56 ppm, diikuti oleh ekstrak etil asetat dengan aktivitas sedang (IC_{50} 103,59 ppm), dan ekstrak n-heksana dengan aktivitas lemah (IC_{50} 188,64 ppm). Sebaliknya, berdasarkan uji DPPH, ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 168,03 ppm, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas lemah (IC_{50} 400,5 ppm), dan ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas antioksidan (IC_{50} 2373,2 ppm).

Kata kunci: *Cinnamomum iners*; aktivitas antioksidan; ABTS; DPPH; IC_{50}

1. LATAR BELAKANG

Stres oksidatif merupakan fenomena biokimia penting yang berkontribusi pada berbagai penyakit kronis seperti peradangan, penyakit kardiovaskular, dan kanker. Kondisi ini timbul ketika produksi radikal bebas, seperti *reactive oxygen species* (ROS), melebihi kapasitas pertahanan antioksidan tubuh, sehingga menyebabkan kerusakan molekuler (lipid, protein, DNA) (Halliwell & Gutteridge, 2015). Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan

antioksidan alami dari tumbuhan menjadi sangat relevan dalam upaya pencegahan stres oksidatif.

Salah satu tanaman yang menarik untuk dieksplorasi adalah *Cinnamomum iners*, atau kayu manis hutan. Tanaman ini termasuk dalam famili *Lauraceae* dan tersebar di Asia Tenggara. Ekstrak daun *Cinnamomum iners* diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid yang potensial sebagai antioksidan (Fazlina et al., 2016). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun *Cinnamomum iners* serta fraksi kloroform memiliki kapasitas penangkap radikal DPPH yang menjanjikan (Udayaprakash et al., 2015). Selain itu, kajian lain melaporkan kandungan fenolik total yang tinggi pada ekstrak etanol daun *Cinnamomum iners*, serta aktivitas antioksidan yang baik berdasarkan metode DPPH dan ABTS (Tanruean et al., 2025).

Pemilihan pelarut ekstraksi sangat menentukan komposisi senyawa bioaktif yang diperoleh. Pelarut polar seperti etanol biasanya mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid, sedangkan pelarut dengan polaritas menengah (seperti etil asetat) bisa mengekstraksi flavonoid aglikon dan beberapa terpenoid. Di sisi lain, pelarut non-polar seperti n-heksan cenderung mengekstrak senyawa lipofilik seperti minyak atsiri dan triterpen (Azwanida, 2015). Dengan demikian, perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak dari daun *Cinnamomum iners* menggunakan pelarut dengan polaritas berbeda bisa mengungkap senyawa mana yang paling aktif secara antioksidan.

Untuk menilai kapasitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan, metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat)) merupakan prosedur yang paling sering digunakan dalam penelitian fitokimia. Metode DPPH mengukur kemampuan senyawa bioaktif dalam mereduksi radikal stabil DPPH melalui perubahan intensitas warna larutan, sehingga mencerminkan kapasitas penangkap radikal dari suatu ekstrak. Sementara itu, metode ABTS memiliki keunggulan karena lebih fleksibel dan sensitif; radikal ABTS mampu mendeteksi antioksidan bersifat hidrofilik maupun lipofilik, dapat larut baik dalam pelarut organik maupun air, serta dapat diaplikasikan pada sistem berbasis air maupun organik. Selain itu, metode ABTS memiliki waktu reaksi yang lebih cepat, memberikan absorbansi yang lebih spesifik pada panjang gelombang tampak, dan dapat bekerja pada rentang pH yang luas (Udayaprakash et al., 2015) (Roberta RE, 1999). Kombinasi kedua metode ini memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai potensi antioksidan suatu ekstrak sehingga sering digunakan untuk memperoleh hasil evaluasi yang lebih akurat dan representatif. Meskipun telah ada beberapa studi mengenai aktivitas antioksidan daun *Cinnamomum iners*, penelitian yang membandingkan ekstrak dengan pelarut

yang berbeda (etanol, etil asetat, n-heksan) menggunakan metode DPPH dan ABTS masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting untuk mengidentifikasi fraksi mana dari daun *Cinnamomum iners* yang paling efektif sebagai sumber antioksidan alami.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan Adalah timbangan analitik, blender, bejana maserasi, gelas jar, cawan porselin, krus porselin, kaca arloji, gelas ukur, tabung reaksi, , penjepit tabung, beaker gelas, objek gelas, deck gelas, erlenmeyer, labu ukur (5 ml, 25 ml, 50 ml, 1000 ml), bola hisap, pipet ukur, pipet tetes, aluminium foil, rotary evaporator, tanur, ayakan, kertas perkamen, kertas saring, lemari pengering, corong, batang pengaduk, oven, desikator, corong pisah,waterbath, mikroskop, spektrofotometer UV-VIS.

Bahan yang digunakan yaitu daun kayu manis hutan (*Cinnamomum Iners*) Reinw. ex Ness & T. Ness Blume, alkohol 97%, ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat), Etanol 96%,N-Heksan,Etil Aseat, Kalium Persulfat, Aquades, DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia sebanyak 500 gram direndam dengan etanol 96% sebanyak 3,750 ml selama 5 hari sambil sesekali di aduk. Lalu disaring menggunakan kertas saring dan diperoleh filtrat 1 dan ampas. Kemudian ampas direndam ulang selama 2 hari dengan pelarut sebanyak 1,250 ml sambil sesekali diaduk kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan diperoleh filtrat 2 dan ampas dibuang. Kemudian filtrat 1 dan 2 dicampurkan dan dipekatkan di rotary evaporator dengan suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental. Lakukan prosedur yang sama untuk ekstrak etil asetat dan n-heksan(Faisal, 2019)

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak N-heksan Daun Kayu Manis Hutan Dengan Metode DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan etil asetat daun kayu manis hutan (*Cinnamomum iners*) diuji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm. Tiap konsentrasi ditambahkan larutan DPPH 100 ppm sebanyak 2 ml dan diadddkan dengan etanol 96% sampai tanda batas. Serapannya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm. Pengukuran absorbansi ekstrak N-Heksan diuji dengan konsentrasi dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm,dan 500 ppm (Faisal et al., 2024).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak N-heksan Daun Kayu Manis Hutan Dengan Metode ABTS

Larutan ABTS disiapkan dengan menggabungkan masing-masing 5 ml larutan stok ABTS 7 mM dan larutan kalium peroksidisulfat 2,45 mM, lalu campuran tersebut dibiarkan bereaksi selama 12–16 jam. Setelah proses inkubasi, larutan ABTS diencerkan menggunakan etanol 70% hingga mendapatkan absorbansi $0,7 \pm 0,02$ pada panjang gelombang 734 nm. Selanjutnya, masing-masing 0,1 ml larutan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun kayu manis hutan (*Cinnamomum iners*) dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL dicampurkan dengan 0,9 ml larutan ABTS. Campuran ini kemudian didiamkan selama 6 menit di tempat gelap, setelah itu absorbansinya diukur pada panjang gelombang 734 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Faisal & Handayani, 2019)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kayu Manis Hutan Dengan Metode DPPH dan Metode ABTS

Hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH ekstrak kayu manis hutan menunjukan adanya aktivitas antioksidan yang berbeda dari masing-masing ekstrak daun tersebut.

Tabel 1. Persen Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Ekstrak N-Heksan Daun Kayu Manis Hutan dengan Metode DPPH

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀
1	Ekstrak Etanol	50	23,05 %	168.03 ppm
		100	36,58 %	
		150	52,43 %	
		200	56,94 %	
		250	68,35 %	
2	Ekstrak Etil Asetat	50	9,40 %	400.5 ppm
		100	14,71 %	
		150	20,80 %	
		200	27,13 %	
		250	32,28 %	
3	Ekstrak N-Heksan	100	9,17 %	2373.20 ppm
		200	12,03 %	
		300	13,89 %	
		400	16,94 %	
		500	18,76 %	

Tabel 2. Persen Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Ekstrak N-Heksan Daun Kayu Manis Hutan dengan Metode ABTS

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀
1	Ekstrak Etanol	20	49,86 %	7,56 ppm
		40	51,28 %	
		60	54,05 %	
		80	58,09 %	
		100	59,49 %	
2	Ekstrak Etil Asetat	20	12,25 %	103,59 ppm
		40	16,99 %	
		60	28,19 %	
		80	38,86 %	
		100	49,24 %	
3	Ekstrak N-Heksan	20	1,84 %	188,64 ppm
		40	2,78 %	
		60	11,09 %	
		80	19,01 %	
		100	23,53 %	

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan ABTS memberikan gambaran komprehensif mengenai kemampuan ekstrak daun kayu manis hutan (*Cinnamomum iners*) dalam menangkap radikal bebas. Kedua metode ini berbasis pengukuran absorbansi dari radikal stabil, sehingga nilai IC₅₀ menjadi parameter utama untuk menentukan potensi antioksidan (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC₅₀, semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu ekstrak.

Hasil uji DPPH menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan berdasarkan jenis pelarut ekstraksi. Ekstrak etanol memberikan nilai IC₅₀ sebesar 168,03 ppm, termasuk kategori antioksidan sedang. Hal ini sesuai dengan sifat etanol sebagai pelarut polar yang mampu mengekstraksi senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin secara lebih optimal. Senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai donor proton dan memiliki aktivitas kuat dalam menetralkan radikal bebas (Kahkonen, 1999),(Mathew & Abraham, 2006).

Ekstrak etil asetat menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 400,50 ppm yang termasuk kategori lemah. Etil asetat mengekstraksi metabolit semi-polar yang kandungan total fenoliknya lebih rendah dibandingkan ekstrak polar. Studi pada *Cinnamomum* menunjukkan bahwa fraksi semi-polar biasanya memiliki potensi antioksidan lebih rendah karena minimnya senyawa fenolik polar (Singleton, 1999).

Sementara itu, ekstrak n-heksan memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2373,20 ppm, yang masuk kategori tidak aktif. Pelarut non-polar seperti n-heksan umumnya mengekstraksi minyak atsiri

dan senyawa lipofilik lainnya yang tidak memiliki gugus hidroksil aromatik untuk berpartisipasi dalam mekanisme donasi elektron pada uji DPPH (Diem et al., 2013). Oleh karena itu, aktivitas antioksidannya jauh lebih rendah dibandingkan ekstrak polar.

Pengujian menggunakan metode ABTS juga menunjukkan adanya variasi aktivitas antioksidan berdasarkan jenis pelarut. Pada metode ini, nilai IC_{50} ekstrak etanol sebesar 7,56 ppm, yang termasuk kategori sangat kuat. Hasil ini konsisten dengan literatur yang menyatakan bahwa metode ABTS lebih sensitif terhadap senyawa polar seperti polifenol, sehingga ekstrak etanol yang kaya komponen polar cenderung menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (Czemerys & Oszmian, 2007).

Ekstrak etil asetat memiliki nilai IC_{50} 103,59 ppm yang termasuk kategori sedang. Aktivitas ini lebih baik dibandingkan hasil DPPH, hal ini disebabkan karena metode ABTS dapat mendeteksi radikal hidrofilik dan lipofilik, sehingga senyawa semi-polar dalam etil asetat terdeteksi lebih baik dibandingkan pada metode DPPH (Arnao et al., 2001).

Ekstrak n-heksan memiliki nilai IC_{50} 188,64 ppm, termasuk kategori lemah. Meskipun masih rendah, aktivitasnya sedikit lebih baik dibandingkan hasil DPPH. Hal ini karena metode ABTS dapat mendeteksi reaksi antioksidan yang terjadi pada senyawa lipofilik tertentu, sehingga fraksi non-polar dapat menunjukkan sedikit aktivitas (Prior et al., 2005).

Perbedaan nilai IC_{50} antara metode DPPH dan ABTS merupakan fenomena yang umum terjadi. DPPH lebih selektif terhadap senyawa antioksidan lipofilik, sedangkan ABTS dapat berinteraksi baik dengan senyawa hidrofilik maupun lipofilik. Oleh karena itu, ekstrak yang kaya senyawa polar seperti etanol biasanya memberikan nilai IC_{50} lebih rendah pada ABTS dibandingkan DPPH (Wojdyło et al., 2007).

Hasil penelitian ini memperlihatkan tren yang konsisten ekstrak etanol menunjukkan aktivitas tertinggi pada kedua metode, menegaskan bahwa senyawa polar pada daun *Cinnamomum iners* merupakan penyumbang utama aktivitas antioksidan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa daun genus *Cinnamomum* kaya akan senyawa fenolik polar, dan aktivitas antioksidannya sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut ekstraksi (Mathew & Abraham, 2006)(Davoudi & Ramazani, 2024).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun kayu manis hutan (*Cinnamomum iners*) sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut. Ekstrak etanol memiliki aktivitas tertinggi dengan kategori sangat kuat pada metode ABTS dan kategori sedang pada metode DPPH, menunjukkan kandungan senyawa polar sebagai kontributor utama. Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas sedang pada ABTS dan lemah pada DPPH, sedangkan ekstrak n-heksan menunjukkan aktivitas terendah pada kedua metode. Disarankan untuk dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif dari masing-masing fraksi untuk memastikan komponen yang paling berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan dan juga uji aktivitas antioksidan dengan metode lain seperti FRAP atau ORAC.

DAFTAR REFERENSI

- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). *The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity*. 73, 239–244.
- Azwanida. (2015). *Medicinal & Aromatic Plants A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants , Principle , Strength and Limitation*. 4(3), 3–8. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Czemerys, R., & Oszmian, J. (2007). *Food Chemistry Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs*. 105, 940–949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>
- Davoudi, F., & Ramazani, E. (2024). Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Cinnamomum* species and their bioactive compounds: An updated review of the molecular mechanisms. *Physiology and Pharmacology*, 28(2), 99–116.
- Diem, Q., Elisa, A., & Tran-nguyen, P. L. (2013). Effect of extraction solvent on total phenol content , total flavonoid content , and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2, 2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid). *Ready Star*, 2(1), 1–5.
- Faisal, H., Andry, M., Lumbantoruan, J. M., & Farmasi, P. S. (2024). *PEMANFAATAN EKSTRAK BUAH TAKOKAK (Solanum torvum Sw.) PADA FORMULASI MINUMAN SUPLEMEN SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN 1*, 22(02), 222–237.
- Faisal, H., & Handayani, S. (2019). *Comparison of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Fruit and Okra Leaves (Abelmoschus esculentus L . Moench) by DPPH and ABTS Methods*. 02(2), 6–13.
- Fazlina, M., Zurina, H., & Mohd, Z. A. (2016). Antioxidant activity of *Cinnamomum iners* leaves standardized extract. *Asian J Biochem*, 11, 90–96.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press.
- Kahkonen, M. P. (1999). *Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic*

- Compounds. 3954–3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146l>
- Mathew, S., & Abraham, T. E. (2006). *Food Chemistry Studies on the antioxidant activities of cinnamon (Cinnamomum verum) bark extracts, through various in vitro models*. 94, 520–528. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.043>
- Molyneux, P. (2004). *The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. 50(June 2003).
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
- Roberta RE, et al. (1999). *ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL*. 26(98), 1231–1237.
- Singleton, L. V. (1999). *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent*. 299(1974), 152–178.
- Tanruean, K., Luangkamin, S., Srisurat, T., & Bunmusik, W. (2025). *Optimization of Microwave-Assisted Extraction Process for Production of Polyphenol-Rich Crude Extract from Cinnamomum iners Leaves*. 1–18.
- Udayaprakash, N. K., Ranjithkumar, M., Deepa, S., Sripriya, N., Al-arfaj, A. A., & Bhuvaneswari, S. (2015). Antioxidant, free radical scavenging and GC – MS composition of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Blume. *Industrial Crops & Products*, 69, 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.018>
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949.