

POTENSI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL BUNGA PACING PUTIH (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.)

Madaniah Fathirah^{1*}, Eva Marlina^{1,2}, Ritbey Ruga^{1,2}

¹Program Studi S1 Kimia FMIPA, Universitas Mulawarman

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Indonesia

²Pusat Unggulan IPTEKS-Perguruan Tinggi Obat dan Kosmetika dari Hutan Tropika Lembap dan Lingkungannya
(PUI-PT OKTAL) Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Corresponding author: mada.fathirah34@gmail.com

Diterbitkan: 01 Maret 2023

ABSTRAK

Inflamasi merupakan proses dasar jaringan merespon infeksi, iritasi maupun cedera lainnya. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antiinflamasi yaitu pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi pada ekstrak etanol bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.). Metode yang digunakan adalah penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* dan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Ekstrak etanol mengandung fenolik, flavonoid dan saponin. Aktivitas antiinflamasi (IC₅₀) sebesar 30,9031 mg/L. Ekstrak etanol bunga pacing putih berpotensi memiliki aktivitas antiinflamasi.

Kata Kunci: *Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.), Antiinflamasi, Denaturasi Protein

ABSTRACT

Inflammation is the basic process by which tissues respond or react to infection, irritation, or other injuries. One of the plants that have the potential as an anti-inflammatory is pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.). This study aims to determine the anti-inflammatory activity of ethanol extract. The method used was the inhibition of protein denaturation with bovine serum albumin and diclofenac sodium as positive controls. The ethanol extract contains phenolics, flavonoids, and saponins. Anti-inflammatory activity (IC₅₀) of 30.9031 mg/L. The ethanol extract of pacing putih flower has the potential to have anti-inflammatory activity.

Keywords: *Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.), Anti-inflammatory, Protein Denaturation

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antiinflamasi adalah tanaman pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.). Pacing putih merupakan herba tahunan dari genus *Costus* yang dapat hidup liar pada kawasan hutan primer, sekunder serta hutan jati hingga ketinggian 1.050 mdpl di dataran rendah. Ekstrak kasar etanol daun pacing putih terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, fenol, steroid dan tanin sedangkan pada ekstrak air daun pacing putih terdapat flavonoid, polifenol, dan monoterpenoid[1]. Pada fraksi n-heksana terdapat metabolit sekunder monoterpenoid. Fraksi etil asetat terdapat flavonoid, monoterpenoid dan tanin serta pada fraksi air terdapat kuinon, polifenol dan tanin[2]. Selain itu, infusa atau rebusan daun serta

tumbukan daun pacing putih bermanfaat untuk mengobati demam dan diare[3]. Rimpang dan akar pacing putih mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan fenolik. Ekstrak metanol dan etanol memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik dan antipiretik[4]

Inflamasi merupakan aktualisasi dari reaksi imun yang bertujuan untuk menghilangkan antigen dari tubuh yang ditandai dengan adanya 5 patologis makroskopik yaitu tumor (pembengkakan jaringan), calor (suhu jaringan meningkat), rubor (warna kemerahan pada jaringan vaskular), dolor (rangsangan rasa sakit) dan *functio laesa* (gangguan fungsi organ) [5]. Salah satu penyebab inflamasi adalah denaturasi protein. Denaturasi protein adalah kondisi protein

mengalami perubahan bentuk (struktur) sekunder, tersier serta kuarterner disebabkan oleh pemanasan, kondisi asam maupun basa yang ekstrim dan kation logam berat serta adanya penambahan garam jenuh [6].

Mekanisme obat antiinflamasi nonsteroidal (OAINS) yaitu menghalangi aktivitas dari COX ketika asam arakhidonat yang diubah menjadi tromboksan dan prostaglandin dengan prostaglandin sebagai mediator yang meningkatkan respon inflamasi [7]. Prostaglandin terbentuk melalui asam arakhidonat yang diproduksi oleh membran fosfolipid karena adanya enzim fosfolipase. COX akan mengkatalis asam arakhidonat menjadi endoperoxid (siklik) yang kemudian dirubah menjadi prostaglandin spesifik di berbagai jaringan [8].

METODE

Ekstraksi

Bunga pacing putih (*Costus speciosus*) dibersihkan menggunakan air mengalir lalu ditiriskan, dipotong hingga berukuran kecil. Bunga pacing putih dikeringanginkan menggunakan suhu ruang tanpa terpapar sinar matahari secara langsung dan dihaluskan hingga berbentuk serbuk menggunakan *blender* dan ditimbang [9].

Serbuk bunga pacing putih diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol selama 2×24 jam dalam media maserasi gelap kemudian disaring dan dilakukan 2 kali perulangan. Setelah itu, filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol bunga pacing putih dan ditimbang [10].

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak etanol bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Sebanyak 5 tetes H₂SO₄ dan 3 tetes pereaksi Dragendorff ditambahkan pada setiap tabung reaksi. Uji positif alkaloid ditandai adanya endapan jingga hingga merah coklat [11].

Uji Steroid/Triterpenoid

Larutan ekstrak bunga pacing putih ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard (anhidrida asetat dengan H₂SO₄ pekat) sebanyak 3 tetes pada setiap tabung reaksi. Uji positif steroid terbentuk warna hijau-biru dan triterpenoid terdapat warna ungu atau merah [12].

Uji Fenolik

Larutan ekstrak bunga pacing putih ditambahkan larutan FeCl₃ sebanyak 3 tetes pada setiap tabung reaksi. Uji positif mengandung fenolik terdapat warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat [12].

Uji Flavonoid

Larutan ekstrak bunga pacing putih ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 2 mg lalu 3 tetes HCl_(p) ditambahkan pada setiap tabung reaksi. Uji positif mengandung flavonoid terbentuk warna merah, hijau, kuning atau jingga [13].

Uji Kuinon

Larutan ekstrak ditambahkan NaOH 5% 3-5 tetes dan 5 tetes HCl 2 N pada setiap tabung reaksi. Uji positif mengandung kuinon kembalinya warna larutan ke awal (sama seperti warna blanko) [14].

Uji Saponin

Larutan ekstrak bunga pacing putih ditambahkan 2 mL akuades panas dan beberapa tetes HCl_(p) pada setiap tabung reaksi. Uji positif mengandung saponin terdapat busa stabil selama ±15 menit [15].

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Pembuatan Tris Buffer Saline (TBS)

Kristal NaCl sebanyak 4,35 gram dilarutkan dengan 200 mL akuades kemudian ditambahkan 605 mg *Tris Base* dan dicukupkan volume hingga 400 mL dengan akuades. Untuk menstabilkan pH mencapai 6,3 digunakan asam asetat glasial lalu volume dicukupkan dengan akuades hingga menjadi 500 mL [16].

Pembuatan Larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dalam Tris Buffer Saline (TBS)

Serbuk BSA sebanyak 0,2 gram dimasukkan ke labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan larutan *Tris Buffer Saline* (TBS) hingga tanda tera dan dihomogenkan [16].

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Serbuk natrium diklofenak dimasukkan sebanyak 25 mg dimasukkan ke labu ukur 25 mL, lalu ditambahkan metanol hingga tanda tera, dihomogenkan dan didapatkan larutan induk 1000 ppm. Selanjutnya, larutan induk diencerkan dengan variasi konsentrasi 50; 25; 12,5; 6,25 dan 3,13 ppm [16].

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Pelarut etanol atau etil asetat (pelarut sesuai) sebanyak 50 µL dimasukkan ke labu ukur 5 mL lalu ditambahkan BSA 0,2% dalam TBS

hingga tanda tera dan dihomogenkan [16].

Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 25 miligram ekstrak bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai dan dimasukkan ke labu ukur 25 mL dan didapatkan larutan induk 1000 ppm. Selanjutnya, larutan induk diencerkan dengan variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,3 ppm [16].

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Sebanyak 50 µL larutan kontrol positif, larutan kontrol negatif dan larutan uji, masing-masing ditambahkan larutan BSA 0,2% hingga volumenya menjadi 5 mL. Selanjutnya, larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$ dan selama 5 menit pada suhu $\pm 72^{\circ}\text{C}$ dalam *water bath*. Tahapan selanjutnya larutan tersebut didinginkan menggunakan suhu ruang selama 25 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dengan rentang panjang gelombang 655-665 nm [16].

Analisa Data

Pengukuran persentase penghambatan denaturasi protein menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi larutan uji}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan membuat persamaan regresi linier antara konsentrasi dan % inhibisi. Jika didapatkan % inhibisi $>20\%$ maka dapat diduga memiliki aktivitas antiinflamasi [16].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.) menggunakan pelarut etanol yang telah dipekatkan diperoleh sebanyak 52 gram dengan % rendemen sebesar 4,84%. Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan uji warna menggunakan pereaksi spesifik dengan hasil uji fitokimia disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Bunga Pacing Putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.)

Metabolit Sekunder	Ekstrak Kasar Etanol
Alkaloid	–
Steroid	–
Triterpenoid	–
Fenolik	+
Flavonoid	+
Kuinon	–
Saponin	+

Keterangan: (+) = positif mengandung senyawa metabolit sekunder

(–) = negatif mengandung senyawa metabolit sekunder

Pada uji flavonoid, garam flavilium terbentuk akibat adanya reduksi senyawa flavonoid pada sampel dengan Mg^{2+} dan HCl dimana didapatkan perubahan warna dari ion magnesium yang berinteraksi dengan ion fenoksi [17].

Pada uji fenolik, ion Fe^{3+} bereaksi dengan ion fenoksi (O^-) dengan melepaskan ion H^+ dari gugus hidroksilnya pada polifenol sehingga terbentuk senyawa kompleks besi(III) heksafenolat dengan warna hijau kehitaman [18].

Pada uji saponin, terbentuk busa stabil selama ± 15 menit yang menandakan terdapat glikosida dimana saponin mempunyai gugus hidrofobik (aglikon) dan glukosa. Glikosida memiliki kemampuan untuk membentuk busa (buih) pada air sehingga menghasilkan glukosa [19].

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan secara *in vitro* dengan metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) dan kontrol positif natrium diklofenak yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi pada bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.). Prinsip metode ini yaitu terjadinya perubahan larutan menjadi keruh yang menandakan protein tersebut mengalami denaturasi protein [20]. Pengukuran nilai inhibisi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* jika didapatkan % inhibisi $>20\%$ maka dapat dikatakan adanya aktivitas antiinflamasi. Nilai IC_{50} juga ditentukan untuk menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi suatu sampel pada konsentrasi tertentu yang dapat menghambat denaturasi protein sebesar 50% di mana semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi kekuatan

ekstrak dalam menghambat denaturasi protein [21]. Hasil uji aktivitas antiinflamasi pada ekstrak etanol bunga pacing putih dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antiinflamasi pada ekstrak etanol bunga pacing putih

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi Rata-rata	Inhibisi (%)
Kontrol negatif	0,999	–
31,3	0,5563	44,3143
62,5	0,469	53,0531
125	0,3976	60,2002
250	0,2216	77,8178
500	0,1143	88,5585
IC₅₀	30,9031	

Berdasarkan pada Tabel 2, pada ekstrak etanol variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 31,3; 62,5; 125; 250 dan 500 mg/L didapatkan %inhibisi >20 pada konsentrasi 31,3 mg/L sebesar 44,3143% dan pada konsentrasi 500 mg/L sebesar 88,5585%. Selanjutnya pembuatan kurva regresi linear bertujuan untuk menginterpretasikan hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar etanol bunga pacing putih dengan nilai % inhibisi dan didapatkan persamaan regresi $y=0,0908x+47,194$ dengan $R^2 = 0,9127$ 9127 dengan nilai IC₅₀ sebagai variabel x pada persamaan regresi linear sebesar 30,9031 mg/L yang termasuk ke dalam kategori sangat kuat.

Flavonoid memiliki kemampuan untuk memblokir jalur lipoksigenase dan siklooksigenase (COX) A2 yang berfungsi untuk menghambat produksi asam arakhidonat sehingga dapat mengurangi jumlah prostaglandin, leukotrien, asam hiperperoksida dan prostasiklin sehingga mengurangi inflamasi [22]. Pada fenolik biosintesis asam arakhidonat yang menjadi mediator inflamasi yaitu prostaglandin terjadi akibat kerusakan jaringan dan penangkapan radikal bebas sehingga menghambat enzim siklooksigenase [23]. Saponin bekerja dengan cara menghambat pembentukan eksudat dan menunda kenaikan permeabilitas vaskular [24].

Senyawa yang diduga menjadi agen antiinflamasi adalah flavonoid, fenolik dan saponin. Interaksi antara zat aktif dan tirosin, treonin dan lisin pada BSA sehingga tidak mencegah denaturasi protein [25]. Selain itu, adanya gugus hidroksil (–OH) pada flavonoid, fenolik dan saponin berfungsi sebagai pelindung

membran dan penghambat pelepasan mediator inflamasi [26].

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak etanol bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.) mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan saponin dengan nilai *inhibition concentration* (IC₅₀) sebesar 30,9031 mg/L. Ekstrak etanol bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.) memiliki aktivitas antiinflamasi yang bersifat sangat kuat.

Perlu dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dan efek farmakologis lainnya pada bunga pacing putih (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.) sehingga dapat diketahui zat aktif yang berpotensi pada uji aktivitas antiinflamasi secara *in vitro* maupun *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. H. El-Far, H. M. Shaheen, A. W. Alsenosy, Y. S. El Sayed, S. K. Al Jaouni, and S. A. Mousa, “*Costus speciosus*: Traditional Uses , Phytochemistry , and Therapeutic Potentials,” *Pharmacogn. Rev.*, vol. 12, no. 23, pp. 120–127, 2018.
- [2] R. Puspawati, J. Ratnawati, and Nurultika, “The Activity Test of Antimicrobial Water Extract, Ethanol Extract, and Their Fractions From Pacing tawar (*Costus speciosus* (Koenig) J.E. Smith) Leaf To The Skin of Microfloral and The Intestinal,” Bandung, 2012.
- [3] S. Srivastava, P. Singh, G. Mishra, K. K. Jha, and R. L. Khosa, “*Costus Speciosus* (Keukand): A Review,” *Der Chem. Sin.*, vol. 2, no. 1, pp. 118–128, 2011.
- [4] V. . Pawar and P. . Pawar, “*Costus speciosus*: An Important Medicinal Plant,” *Int. J. Sci. Res.*, vol. 3, no. 7, pp. 28–33, 2014.
- [5] S. V. Stankov, “Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-inflammatory Strategies,” *Open Inflamm. J.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–9, 2012.
- [6] M. R. T. Aditya, D. Marisa, and E. Suhartono, “Potensi Antiinflamasi Jus Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Denaturasi Protein *In vitro*,” *J. Berk. Kedokt.*, vol. 11, no. 2, pp. 149–156, 2015.
- [7] A. P. Zahra and N. Carolia, “Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS):

- Gastroprotektif vs Kardiotoxik,” *Majority*, vol. 6, no. 3, pp. 153–158, 2017.
- [8] IRA, *Penggunaan Obat Anti Inflamasi Non Steroid*. Jakarta: Perhimpunan Reumatologi Indonesia, 2014.
- [9] V. Handayani, A. R. Ahmad, and M. Sudir, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm) Menggunakan Metode DPPH,” *Pharm. Sci. Res.*, vol. 1, no. 2, pp. 86–93, 2014.
- [10] W. Jafar, Masriany, and E. Sukmawaty, “Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Bunga Pohon Hujan (*Spathodea campanulata*) Secara *In Vitro*,” *Pros. Biot.*, vol. 8, no. 1, pp. 328–334, 2021.
- [11] M. Mailuhu, M. R. J. Runtuwene, and H. S. J. Koleangan, “Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.),” *Chem. Prog.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–6, 2017.
- [12] J. B. Harbone, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB, 1987.
- [13] T. S. Julianto, *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*, vol. 53, no. 9. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia, 2019.
- [14] N. R. Isyatro, N. T. Widodo, and E. Marliana, “Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Keledang (*Artocarpus lanceifolius* Roxb),” in *Prosiding Seminar Kimia*, 2021, pp. 121–125.
- [15] I. Illing, W. Safitri, and Erfiana, “Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen,” *J. Din.*, vol. 8, no. 1, pp. 66–84, 2017.
- [16] Y. Farida, D. Rahmat, and A. Widia Amanda, “Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein,” *J. Ilmu Kefarmasian Indones.*, vol. 16, no. 2, pp. 225–230, 2018.
- [17] F. D. Oktavia and S. Sutoyo, “Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Selaginella doederleinii,” *J. Kim. Ris.*, vol. 6, no. 2, pp. 141–153, 2021.
- [18] C. Saleh and E. Marliana, “Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl),” *J. Kim. Mulawarman*, vol. 8, no. 2, pp. 63–69, 2011.
- [19] T. Hudaya, S. Prasetyo, and A. P. Kristijarti, “Ekstraksi, Isolasi, Dan Uji Keaktifan Senyawa Aktif Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Sebagai Pengawet Makanan Alami,” *Res. Rep. - Eng. Sci. Univ. Katolik Parahyangan*, vol. 2, no. 1, pp. 1–75, 2013.
- [20] L. A. Setiani and Z. Rusli, “Anti-inflammatory Potential of African Leaf Water Extract,” *J. Agric. Appl. Biol.*, vol. 1, no. 2, pp. 46–53, 2020, doi: 10.11594/jaab.01.02.02.
- [21] A. Shalihah, F. M. Christianty, and F. A. Fajrin, “Anti inflammatory Activity of the Ethanol Extract of Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Bark using Membrane Stabilization Method and Protein Denaturation,” *Indones. J. Pharm. Sci. Technol.*, vol. 1, no. 1, pp. 9–14, 2021.
- [22] A. S. Pramitaningastuti and E. N. Anggraeny, “Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa* L) Terhadap Edema Kaki Tikus Putih Jantan Galur Wistar,” *J. Ilmah Farm.*, vol. 13, no. 1, pp. 9–14, 2017.
- [23] N. Anisa, N. A. Amaliah, P. M. Al Haq, and A. N. Arifin, “Efektifitas Anti Inflamasi Daun Mangga (*Mangifera indica*) Terhadap Luka Bakar Derajat Dua,” *J. Ilm. Ilmu Pengetah. Alam*, vol. 8, no. 1, pp. 1–7, 2019.
- [24] N. Amir, D. Ananda, and N. Elvianti, “Potensi Cangkang Sotong (*Sepia* sp.) Sebagai Antiinflamasi pada Penderita Asma,” *J. IPTEKS PSP*, vol. 6, no. 12, pp. 207–213, 2019.
- [25] N. A. Nasution, M. Nurilmala, and A. Abdullah, “Hidrolisat Kuda Laut (*Hippocampus kuda*) dan Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein,” *J. Perikan.*, vol. 21, no. 1, pp. 47–51, 2019.
- [26] D. S. Novika, R. Ahsanunnisa, and D. F. Yani, “Anti-Inflammatory Activity of Ethanol Extract of Starfruit Leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) Against Inhibition of Protein Denaturation,” *J. Sains dan Terap. Kim.*, vol. 3, no. 1, pp. 16–22, 2021.