

SKRINING FITOKIMIA DAN POTENSI DAYA HAMBAT EKSTRAK PACING (*Costus speciosus*, J.Sm) TERHADAP *Mycobacterium Tuberculosis* H37Rv

Ayik Rosita Puspaningtyas^{1*}, Carolin Enjelin Rumaikewi¹, Indah Purnama Sari¹

¹Program Studi (S1) Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

Info Artikel

Riwayat Artikel :

Diterima 08 07, 2024

Direvisi 10 11, 2024

Terbit 11 29, 2024

Keywords:

Mycobacterium Tuberculosis

Pacing Extract,

Phytochemicals,

ABSTRACT

*Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by the bacteria Mycobacterium tuberculosis (Mtb) and can attack other body organs. Transmission occurs through splashes of phlegm when coughing, sneezing or talking. TB treatment using antituberculosis drugs (OAT) has side effects ranging from mild to severe side effects, namely hepatotoxicity. Therefore, alternative therapy from natural ingredients is needed because natural ingredients have few side effects when used appropriately. This research aims to determine the class of secondary metabolite compounds in the extract and fraction of the Pacing plant (*Costus speciosus*, J.Sm) and determine its effectiveness against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. The extraction method used is remaceration with methanol solvent. The concentrations of the samples tested varied with the positive control of isoniazid. The research results showed that Pacing plant extracts and fractions contained alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. Terpenoid compounds were not detected in the samples tested. The antituberculosis test showed that the n-hexane fraction had the best anti-TB activity, although the IC50 value of the extract and fraction was still lower than that of isoniazid as a positive control. However, Pacing extract and fraction still have potential as a very strong anti-TB agent because the IC50 value is below 50 ppm.*



Journal of Agropharmacy is licensed under [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Email Koresponden Penulis: ayik.rosita@unej.ac.id

1. PENDAHULUAN (10 pt)

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) yang dapat menular melalui percikan dahak. Bakteri ini sebagian besar menyerang paru tetapi dapat juga menyerang organ tubuh yang lainnya, seperti otak, usus, ginjal, atau tulang belakang (Kemenkes RI, 2016). Penularan penyakit ini adalah melalui perantara ludah atau dahak penderita batuk, bersin, menyanyi, atau berbicara, butir-butir air ludah (droplet) akan berterbangan di udara dan terhisap oleh orang yang sehat sehingga masuk ke dalam paru. Angka kejadian TB di Indonesia semakin meningkat. Pada tahun 2020 ditemukan sebanyak 393.323 kasus dan di tahun 2021 terdapat 443.235 kasus TB yang ditemukan dan diobati (Sharifi-Rad dkk., 2017).

Obat antituberkulosis (OAT) memiliki efek samping mulai dari ringan hingga efek samping berat juga dapat mempengaruhi morbiditas dan mortalitas akibat tuberkulosis. Efek samping OAT dapat berakibat pada ketidakpatuhan terapi bahkan dapat berakibat putus obat. Oleh karena itu, munculnya alternatif terapi dari bahan alam. Keuntungan utama menggunakan bahan alam seperti tumbuhan adalah bahwa mereka merupakan sumber daya alam yang tidak ada habisnya, karena mereka menyediakan banyak molekul kecil dengan sifat seperti obat. Selain itu, manfaat teraupetik yang mendalam dari pengobatan herbal dapat mengurangi banyak efek samping yang umumnya terkait dengan obat-obatan sintesis (Mohamad dkk., 2018).

Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap tumbuhan Pacing (*Costus speciosus*, J.sm). Ekstrak n-heksan dan metanol dari daun dan rimpang pacing memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus subtilis*, dan *Salmonella* spp (El-Far et al., 2018).

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, peneliti ingin meneliti lebih lanjut kandungan dan aktivitas antituberkulosis secara *in vitro* dari ekstrak dan fraksi seluruh bagian tumbuhan Pacing terhadap *M. tuberculosis* H37Rv menggunakan metode kombinasi resazurin dan kolorimetri. Metode ekstraksi yang akan digunakan adalah maserasi dengan pelarut metanol. Hasil ekstraksi akan dipekatkan dan difraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair dengan menggunakan n-heksana, diklorometana (DCM), dan etil asetat sebagai pelarut dalam fraksinasi. Selain itu, peneliti juga akan melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak Pacing dan mengevaluasi persentase penghambatan ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi DCM, dan fraksi etil asetat dari tumbuhan Pacing terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi DCM, dan fraksi etil asetat dari tumbuhan Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm) dan mengetahui nilai IC₅₀ ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi DCM, dan fraksi etil asetat dari tumbuhan Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Hasil penelitian ini dapat memberikan pemahaman lebih lanjut tentang potensi Pacing sebagai alternatif pengobatan tuberkulosis dan kontribusi dalam pengembangan terapi antituberkulosis yang efektif dan berkelanjutan.

2. METODE

2.1. Bahan

Bahan digunakan dalam penelitian ini yaitu terdiri dari Tanaman Pacing, metanol, fraksi n-heksana, fraksi DCM dan fraksi etil asetat, akuades, kloroform, asam asetat, butanol, kafein, asam galat, kuersetin, lempeng KLT, dapat fosfat pH 6,9, DMSO, kertas saring, aluminium foil, dragendorff, FeCl₃, anisaldehyd sulfat, Liberman-Burchard, Reagen resazurin, MT.H37Rv dan media cair 7H9 yang dimodifikasi.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Determinasi Tanaman

Langkah ini dilakukan untuk memastikan identitas tanaman yang digunakan, yaitu Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm). Identifikasi tanaman dilakukan di Politeknik Negeri Jember guna memastikan kebenaran identitas tanaman dan menghindari kesalahan dalam mengumpulkan komponen utama yang akan dipelajari (Diniatik, 2015).

2.2.2 Pembuatan Simplisia

Pada langkah ini, akar, batang, daun, dan bunga Pacing dikumpulkan. Sampel tersebut kemudian dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan air bersih. Setelah itu, sampel dikeringkan dengan menjemurnya di bawah sinar matahari. Setelah kering, sampel dihaluskan menjadi serbuk yang homogen menggunakan pisau atau gunting.

2.2.3 Ekstraksi Sampel

Serbuk Pacing sebanyak 500 gram ditimbang dan diekstraksi menggunakan metode remaserasi. Proses remaserasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan menggunakan 2,5 liter metanol pada setiap proses maserasi. Setelah proses maserasi, filtrat hasil penyaringan dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C dan kecepatan 100 rpm. Kemudian, ekstrak dikeringkan dalam oven dengan suhu 45-50°C hingga mencapai berat rendemen yang konstan.

2.2.4 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan menggunakan metode partisi cair-cair dengan pelarut n-heksana, DCM, dan etil asetat. Ekstrak metanol sebanyak 2 gram dilarutkan dalam 100 ml metanol, dan kemudian ditambahkan 100 ml n-heksana dalam perbandingan 1:1. Campuran tersebut dikocok dan didiamkan hingga terbentuk lapisan metanol (bagian bawah) dan lapisan n-heksana (bagian atas). Fraksi n-heksana dikumpulkan dan dipekatkan, sedangkan fraksi metanol menjadi residu yang akan digunakan untuk fraksinasi berikutnya. Proses ini diulangi dengan pelarut DCM dan etil asetat.

2.2.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan menggunakan metode uji kromatografi lapis tipis (KLT) dengan beberapa modifikasi, yaitu : Identifikasi Alkaloid, Flavonoid, Tanin, Saponin, dan Terpenoid.

2.2.6 Uji Antituberkulosis secara In vitro

Uji Antituberkulosis secara in vitro adalah metode pengujian yang dilakukan di laboratorium untuk mengevaluasi efek suatu zat atau senyawa terhadap pertumbuhan dan aktivitas bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, yang merupakan penyebab penyakit tuberkulosis. Berikut adalah langkah-langkah umum yang dilakukan dalam uji antituberkulosis secara in vitro, yaitu media yang digunakan adalah media yang mengandung 10% oleic acid- albumin-dextrose-catalase (OADC), 0,1% calistone, dan 0,5% gliserol. Isolat yang digunakan adalah *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv yang telah diperkaya dalam media tersebut. Isoniazid digunakan sebagai kontrol positif. Isoniazid merupakan obat antituberkulosis yang telah terbukti efektif. Resazurin digunakan sebagai indikator pertumbuhan bakteri. Resazurin adalah zat yang mengalami perubahan warna dari biru menjadi merah muda ketika terjadi pertumbuhan bakteri. Bakteri dalam media cair diinkubasi dalam inkubator pengocok pada suhu 37°C selama 5-10 hari. Suspensi bakteri kemudian diencerkan dalam mikroplate hingga mencapai konsentrasi 5x10⁷ CFU/ml, kemudian dilakukan inkubasi lanjutan

selama 4 minggu. Mikroplate yang berisi sampel uji, bakteri, dan media cair diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 hari. Setelah inkubasi selama 5 hari, 20 µL resazurin ditambahkan ke setiap sumur mikroplate. Mikroplate kembali diinkubasi selama 24 jam. Jika terjadi perubahan warna menjadi biru, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak tumbuh. Jika terjadi perubahan warna menjadi merah muda, hal ini menunjukkan pertumbuhan bakteri

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Determinasi Tanaman

Tumbuhan Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Tanggul kabupaten Jember Jawa Timur, Indonesia pada bulan September 2022. Selanjutnya dilakukan determinasi di Fakultas Pertanian Politeknik Negeri Jember untuk mendapatkan identitas bagian tanaman yang digunakan secara jelas dan menghindari kesalahan dalam penelitian. berdasarkan hasil determinasi, diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar Tunbuan Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm) dari suku Zingiberaceae.

3.2 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia melibatkan serangkaian langkah pengolahan yang penting untuk menjaga kualitas dan kandungan senyawa aktif pada bahan baku tumbuhan. Pada penelitian ini, tumbuhan Pacing yang digunakan diperoleh dalam bentuk kering karena mudah dipatahkan. Ciri-ciri kualitas simplisia yang mudah dipatahkan sudah baik untuk pengolahan dan penyimpanan yang aman (Kusumaningrum dkk., 2015). Tumbuhan Pacing dikeringkan selama 14 hari menggunakan metode kering udara di tempat yang teduh. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mencegah pembusukan serta hidrolisis senyawa oleh enzim. Selanjutnya, dilakukan pengecilan ukuran partikel pada kulit batang dengan alat penggiling dan blender. Tujuannya adalah mempermudah penetrasi pelarut ke dalam sel dan mengoptimalkan penarikan senyawa-senyawa saat ekstraksi. Simplisia yang telah diproses dengan baik siap untuk proses ekstraksi (Fadhi dkk., 2019).

3.3 Ekstraksi

Ekstraksi tumbuhan Pacing dilakukan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut organik selama 3x24 jam pada suhu ruangan dan dilindungi dari cahaya langsung. Metode ini digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Pemilihan metode maserasi bertujuan untuk memastikan kelarutan senyawa aktif dalam pelarut organik. Selain itu, penggunaan pelarut organik seperti metanol dipilih karena memiliki kemampuan melarutkan senyawa organik baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Rahmawati dkk., 2022). Metanol juga mudah menguap sehingga dapat dengan mudah dibebaskan dari ekstrak. Setelah proses maserasi, maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Langkah ini dilakukan untuk menghilangkan pelarut organik dan memperoleh ekstrak kental dari tumbuhan Pacing. Hasil pemekatan menunjukkan bahwa diperoleh ekstrak kental sebanyak 32,209 gram dengan rendemen sebesar 6,44%. Ekstrak yang dihasilkan memiliki warna hijau kehitaman. Dengan menggunakan metode maserasi dan pemekatan, berhasil diperoleh ekstrak kental dari tumbuhan Pacing yang mengandung senyawa-senyawa aktif yang diinginkan. Ekstrak tersebut dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut atau pengujian aktivitas biologis yang diperlukan dalam penelitian tersebut.

3.4 Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak metanol tumbuhan Pacing dilakukan menggunakan metode fraksinasi cair-cair bertingkat dengan bantuan corong pisah. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut-pelarut

dengan polaritas yang berbeda secara berturut-turut, yaitu n- heksan, DCM, dan etil asetat (Green, 2004).

3.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel penelitian. Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif terhadap ekstrak dan fraksi tumbuhan Pacing menggunakan metode KLT. Metode KLT mempunyai beberapa kelebihan, yaitu mudah dikerjakan, lebih murah, peralatannya sederhana, serta semua komponen dalam sampel mampu dideteksi karena metode ini memungkinkan terjadinya pemisahan sampel secara serentak. Golongan senyawa yang diperiksa terdiri dari alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Kelima golongan senyawa tersebut diketahui memiliki mekanisme yang berbeda-beda sebagai agen antibakteri (Aprilia dan Tjitraesmi, 2018; Nugrahani dkk., 2020). Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi tumbuhan pacing dapat dilihat pada Table 2.

3.6 Determinasi Tanaman

Tumbuhan Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Tanggul kabupaten Jember Jawa Timur, Indonesia pada bulan September 2022. Selanjutnya dilakukan determinasi di Fakultas Pertanian Politeknik Negeri Jember untuk mendapatkan identitas bagian tanaman yang digunakan secara jelas dan menghindari kesalahan dalam penelitian. berdasarkan hasil determinasi, diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar Tunbuhan Pacing (*Costus speciosus*, J.Sm) dari suku Zingiberaceae.

3.7 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia melibatkan serangkaian langkah pengolahan yang penting untuk menjaga kualitas dan kandungan senyawa aktif pada bahan baku tumbuhan. Pada penelitian ini, tumbuhan Pacing yang digunakan diperoleh dalam bentuk kering karena mudah dipatahkan. Ciri-ciri kualitas simplisia yang mudah dipatahkan sudah baik untuk pengolahan dan penyimpanan yang aman (Kusumaningrum dkk., 2015). Tumbuhan Pacing dikeringkan selama 14 hari menggunakan metode kering udara di tempat yang teduh. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mencegah pembusukan serta hidrolisis senyawa oleh enzim. Selanjutnya, dilakukan pengecilan ukuran partikel pada kulit batang dengan alat penggiling dan blender. Tujuannya adalah mempermudah penetrasi pelarut ke dalam sel dan mengoptimalkan penarikan senyawa-senyawa saat ekstraksi. Simplisia yang telah diproses dengan baik siap untuk proses ekstraksi (Fadhi dkk., 2019).

3.8 Ekstraksi

Ekstraksi tumbuhan Pacing dilakukan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut organik selama 3x24 jam pada suhu ruangan dan dilindungi dari cahaya langsung. Metode ini digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Pemilihan metode maserasi bertujuan untuk memastikan kelarutan senyawa aktif dalam pelarut organik. Selain itu, penggunaan pelarut organik seperti metanol dipilih karena memiliki kemampuan melarutkan senyawa organik baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Rahmawati dkk., 2022). Metanol juga mudah menguap sehingga dapat dengan mudah dibebaskan dari ekstrak. Setelah proses maserasi, maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Langkah ini dilakukan untuk menghilangkan pelarut organik dan memperoleh ekstrak kental dari tumbuhan Pacing. Hasil pemekatan menunjukkan bahwa diperoleh ekstrak

kental sebanyak 32,209 gram dengan rendemen sebesar 6,44%. Ekstrak yang dihasilkan memiliki warna hijau kehitaman. Dengan menggunakan metode maserasi dan pemekatan, berhasil diperoleh ekstrak kental dari tumbuhan Pacing yang mengandung senyawa-senyawa aktif yang diinginkan. Ekstrak tersebut dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut atau pengujian aktivitas biologis yang diperlukan dalam penelitian tersebut.

3.9 Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak metanol tumbuhan Pacing dilakukan menggunakan metode fraksinasi cair-cair bertingkat dengan bantuan corong pisah. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut-pelarut dengan polaritas yang berbeda secara berturut-turut, yaitu n- heksan, DCM, dan etil asetat (Green, 2004).

3.10 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel penelitian. Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif terhadap ekstrak dan fraksi tumbuhan Pacing menggunakan metode KLT. Metode KLT mempunyai beberapa kelebihan, yaitu mudah

dikerjakan, lebih murah, peralatannya sederhana, serta semua komponen dalam sampel mampu dideteksi karena metode ini memungkinkan terjadinya pemisahan sampel secara serentak. Golongan senyawa yang diperiksa terdiri dari alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Kelima golongan senyawa tersebut diketahui memiliki mekanisme yang berbeda-beda sebagai agen antibakteri (Aprilia dan Tjitraesmi, 2018; Nugrahani dkk., 2020). Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi tumbuhan pacing dapat dilihat pada Table 2.

3.11 Uji Aktivitas Antituberkulosis Secara In Vitro

Uji aktivitas antituberkulosis secara in vitro dilakukan dengan menggunakan metode Resazurin Microtiter Assay (REMA) yang dikombinasikan dengan kolorimetri. Metode REMA adalah metode baru yang memberikan hasil uji sensitivitas obat antituberkulosis (OAT) secara cepat dan akurat dengan prosedur yang lebih sederhana. Dalam metode REMA, hasil pembacaan dilakukan dengan mengamati perubahan warna yang terbentuk. Metode ini menggunakan medium cair Middlebrook 7H9 dan indikator redoks resazurin. Resazurin awalnya memiliki warna biru non-fluoresen dan tidak menunjukkan pertumbuhan. Namun, saat tereduksi, resazurin berubah menjadi warna merah muda yang berfluoresen atau resorufin, yang menandakan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Perubahan warna ini digunakan untuk mendeteksi pertumbuhan *M. tuberculosis*.

Pertumbuhan mikobakteri dihitung berdasarkan persentase viabilitas mikobakteri. Selanjutnya, persentase penghambatan sampel uji terhadap *M. tuberculosis* H37Rv dihitung melalui nilai IC50. Nilai IC50 merupakan konsentrasi sampel uji yang dapat menghambat 50% pertumbuhan bakteri. Semakin kecil nilai IC50, maka aktivitas antibakteri sampel uji tersebut semakin besar. Metode REMA dengan kolorimetri memberikan kemudahan dan kecepatan dalam pengujian aktivitas antituberkulosis serta memberikan informasi mengenai sensitivitas obat dan efektivitas penghambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* dari sampel yang diuji.

Uji aktivitas antituberkulosis, nilai IC50 diperoleh melalui perhitungan menggunakan persamaan $Y = bX + a$, di mana nilai Y adalah 50 dan nilai anti ln (X) adalah nilai IC50 (Himawan dkk., 2016). Perhitungan nilai IC50 dapat dilihat pada Gambar 6, sedangkan nilai IC50 dari masing-masing sampel tercantum dalam Tabel 3. Persentase viabilitas mikobakteri (viability) yang diperoleh dapat dilihat pada Lampiran 4. Persentase viabilitas mikobakteri menggambarkan tingkat

kelangsungan hidup atau pertumbuhan mikobakteri setelah terpapar dengan sampel atau perlakuan tertentu.

Tabel 3. Nilai IC50 Sampel Uji dan Kontrol Positif

Sampel	Nilai IC50 (ppm)
Ekstrak metanol	13,2394
Fraksi n-heksan	5,4151
Fraksi DCM	27,8156
Fraksi etil asetat	6,5659
Isoniazid	1,7831

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh nilai IC50 untuk ekstrak metanol Pacing (*Costus speciosus* J.sm) sebesar 13,2394 ppm, fraksi n-heksan sebesar 5,4151 ppm, fraksi DCM sebesar 27,8156 ppm, dan fraksi etil asetat sebesar 6,5659 ppm. Sementara itu, nilai IC50 isoniazid sebagai kontrol positif adalah 1,7831 ppm. Menurut Zuhra, dkk (2008), semakin kecil nilai IC50, maka aktivitas sebagai agen antituberkulosis (Anti-TB) semakin baik. Aktivitas anti-TB diklasifikasikan sebagai sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat jika nilai IC50 antara 50-100 ppm, sedang jika nilai IC50 antara 101-150 ppm, dan lemah jika nilai IC50 antara 151-200 ppm. Sampel yang memiliki nilai IC50 > 200 ppm dianggap memiliki aktivitas sangat lemah sebagai anti bakteri (Situmeang dkk., 2022). Dari keempat ekstrak dan fraksi Pacing (*Costus speciosus* J.sm), fraksi n-heksan menunjukkan aktivitas anti-TB yang paling baik. Meskipun aktivitas anti-TB dari keempat ekstrak dan fraksi Pacing masih lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif isoniazid, namun tetap berpotensi sebagai kandidat anti-TB yang sangat kuat karena memiliki nilai IC50 < 50 ppm (Situmeang dkk., 2022).

Hasil skrining fitokimia pada fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, ekstrak metanol, dan fraksi DCM menunjukkan adanya kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Keempat kelompok senyawa ini memiliki peran penting sebagai agen antibakteri. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan kerusakan pada lapisan dinding sel dan kematian sel bakteri. Selain itu, alkaloid juga dapat menghambat enzim topoisomerase dalam sel bakteri, yang diperlukan untuk pembelahan sel (Amalia dkk., 2017).

Flavonoid bekerja sebagai antibakteri melalui tiga mekanisme. Pertama, mereka dapat menghambat sintesis asam nukleat, yang menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Kedua, flavonoid dapat mengganggu fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, sehingga merusak membran sel bakteri. Ketiga, flavonoid dapat menghambat metabolisme energi bakteri, yang mengakibatkan terhambatnya biosintesis makromolekul bakteri (Aprillia dan Tjitraresmi, 2018).

Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan menyebabkan lisis sel *Mycobacterium tuberculosis*. Tanin mempengaruhi dinding polipeptida sel bakteri, mengganggu pembentukan dinding sel yang sempurna, dan akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri. Tanin juga dapat menginaktifkan enzim bakteri dan mengganggu jalannya protein dalam sel (Mohammad dkk., 2021). Efek antibakteri tanin juga dapat diperkuat melalui pembentukan kompleks tanin dengan ion logam, meningkatkan toksisitas tanin terhadap bakteri. Selain itu, tanin dapat menyebabkan kerutan pada dinding dan

membran sel, mengganggu permeabilitas sel, dan menghambat pertumbuhan bakteri (Anggoro, 2015).

Saponin berperan sebagai antibakteri dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Mekanisme kerja saponin melibatkan penurunan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan kerusakan permeabilitas membran sel. Saponin memiliki sifat permukaan yang mirip dengan deterjen, sehingga dapat mengikat membran sitoplasma, merusak stabilitas membran sel, dan menyebabkan kebocoran sitoplasma keluar dari sel bakteri (Mohamad dkk., 2021).

4. KESIMPULAN

Ekstrak metanol, fraksi n-heksan, DCM dan etil asetat tumbuhan Pacing (*Costus speciosus* J.sm) mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Keempat sampel tidak mengandung golongan senyawa terpenoid. Hasil pengujian antituberkulosis secara *in vitro* Terhadap *M. tuberculosis* H37Rv menggunakan metode kolorimetri resazurin menunjukkan nilai IC50 sampel ekstrak metanol Pacing (*Costus speciosus* J.sm) 13,2394 ppm, fraksi n-heksan 5,4151 ppm, DCM 27,8156 ppm, dan etil asetat 6,5659 ppm sedangkan nilai IC50 isoniazid sebagai kontrol positif yaitu 1,7831 ppm. Dari keempat ekstrak dan fraksi Pacing (*Costus speciosus* J.sm) menunjukkan fraksi n-heksan memiliki aktivitas anti-TB yang paling baik. Namun aktivitas anti-TB keempat ekstrak dan fraksi Pacing masih lebih.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Anggoro, Agam. 2015. Potensi Daun Pepaya (*Carica papaya* Sp.) sebagai Obat Anti Tuberkulosis. *Jurnal Agromed Unila* 2(2):86-89
- Aprillia, E. dan A. Tjitraresmi. 2018. Review: uji aktivitas tumbuhan sebagai anti-tuberkulosis. *Farmaka*. 16(2):517-524.
- Diniatik. 2015. Penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BL.) Hook F. & TH.) dengan metode spektrofotometri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(1):1-5
- El-Far, A. H., H. M. Shaheen, A. W. Alsenosy, Y. El-Sayed, S. K. Al Jaouni, dan S. A. Mousa. 2018. *Costus Speciosus: Traditional Uses, Phytochemistry, and Therapeutic Potentials*. *Pharmacognosy Reviews*. January 1, 2018
- Green, R. J. 2004. *Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues*. Raleigh: Department of Food Science
- Indah, M. 2018. *Infodatin Tuberkulosis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mohamad, S., N. N. Ismail, H. Osman, H. A Wahab, dan T. Parumasivam. 2021. *In vitro* interactions of *Costus speciosus* (j. koenig) sm., *cymbopogon citratus* (dc. ex nees) stapf. and *tabernaemontana coronaria* (l.) willd. with first-line anti-tuberculosis drugs against *mycobacterium tuberculosis* h37rv. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 19(2):171-178.
- Mohamad, S., N. N. Ismail, T. Parumasivam, P. Ibrahim, H. Osman, dan H. A. Wahab. 2018. Antituberculosis activity, phytochemical identification of *Costus speciosus* (j. koenig) sm., *cymbopogon citratus* (dc. ex nees) stapf., and *tabernaemontana coronaria* (l.) willd. and their effects

on the growth kinetics and cellular integrity of mycobacterium tuberculosis h37rv. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 18(1)

Rahmawati, I. S., R. M. Widyanto, A. R. Maulidiana, M. S. Madani, dan C. N. Riski. 2022. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol buah ihau (*dimocarpus longan* var. *malesianus* leenh) terhadap bakteri gram positif (*staphylococcus aureus*). *Jurnal Al- Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*. 7(2):138.

Ruswanto, N. Rahayuningsih, N. L. D. Hidayati, G. S. Nuryani, dan R. Mardianingrum. 2019. Uji in vitro dan studi in silico senyawa turunan n ' -benzoylisonicotinohydrazide sebagai kandidat antituberkulosis (in vitro and in silico study of n ' - benzoylisonicotinohydrazide as antituberculosis candidate). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 17(2):218–226.

Sharifi-Rad, J., B. Salehi, Z. Z. Stojanović-Radić, P. V. T. Fokou, Marzieh Sharifi-Rad, G. B. Mahady, Majid Sharifi-Rad, M. R. Masjedi, T. O. Lawal, S. A. Ayatollahi, J. Masjedi,

R. Sharifi-Rad, W. N. Setzer, Mehdi Sharifi-Rad, F. Kobarfard, A. ur Rahman, M. I. Choudhary, A. Ata, dan M. Iriti. 2020. Medicinal plants used in the treatment of tuberculosis - ethnobotanical and ethnopharmacological approaches. *Biotechnology Advances*. 44(July 2017):107629.

Situmeang, B., I. Ilham, A. M. Ibrahim, F. Amin, M. Mahardika, N. Bialangi, dan W. J. A. Musa. 2022. Aktivitas antioksidan dan antibakteri dari fraksi ekstrak metanol kulit batang kesambi (*shleichera oleosa*). *Jurnal Kimia*. 16(1):53.