

UJI AKTIVITAS INHIBISI TIROSINASE EKSTRAK ETANOL RIMPANG PACING (*Costus speciosus*)

TYROSINASE INHIBITORY ACTIVITY ASSAY OF THE ETHANOL EXTRACT OF PACING RHIZOME (*Costus speciosus*)

Kharina Septi Lestari^{1*}, Vierly Stephany Putri Wahyudi¹, Marita Kaniawati¹, Aulia Nurfazri Istiqomah¹,
Reza Pratama¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Bandung

*Korespondensi: kharina.septi@bku.ac.id

Submitted : December 5, 2025

Revised : March 5, 2026

Accepted : March 13, 2026

ABSTRAK

Melanin merupakan pigmen utama yang menentukan warna kulit, namun produksinya yang berlebihan dapat menyebabkan hiperpigmentasi seperti melasma. Enzim tirosinase memiliki peran penting dalam biosintesis melanin, sehingga penghambatan aktivitas enzim ini menjadi target utama dalam penanganan hiperpigmentasi. Rimpang pacing (*Costus speciosus*) diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan serta berpotensi menghambat aktivitas tirosinase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inhibitor tirosinase dari ekstrak etanol rimpang pacing (*Costus speciosus*), menentukan nilai persen inhibisi, serta nilai IC_{50} -nya.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan secara *in vitro*. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Penapisan fitokimia menunjukkan adanya kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan senyawa fenolik. Uji aktivitas tirosinase dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode ELISA dengan substrat L-DOPA dan enzim mushroom tyrosinase, serta pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 490 nm. Data persen inhibisi dihitung dari nilai absorbansi hasil pengujian, kemudian digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} melalui analisis hubungan antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang pacing memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase dengan persentase inhibisi tertinggi sebesar 65,91% pada konsentrasi 10.000 ppm. Aktivitas penghambatan ekstrak tergolong lebih lemah dibandingkan kontrol positif asam kojat yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 45,96 ppm. Dengan demikian, ekstrak rimpang pacing memiliki potensi sebagai agen anti-hiperpigmentasi alami, namun masih memerlukan pengembangan lebih lanjut untuk meningkatkan efektivitasnya.

Kata kunci: *Costus speciosus*; inhibisi tirosinase; melanin; hiperpigmentasi; IC_{50}

ABSTRACT

Melanin is the main pigment that determines skin color, but excessive melanin production can lead to hyperpigmentation disorders such as melasma. Tyrosinase is a key enzyme involved in melanin biosynthesis; therefore, inhibition of this enzyme is considered an important target in the treatment of hyperpigmentation. The rhizome of *Costus speciosus* contains various bioactive compounds such as flavonoids, phenolics, tannins, and saponins that have been reported to possess antioxidant activity and potential tyrosinase inhibitory effects. This study aimed to evaluate the tyrosinase inhibitory activity of the ethanol extract of *Costus speciosus* rhizome, determine the percentage of inhibition, and calculate its IC_{50} value.

This study is a laboratory experimental research conducted *in vitro*. The extract was obtained using maceration with 96% ethanol. Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, steroids, and phenolic compounds. Tyrosinase inhibition was tested *in vitro* using an ELISA-based method with L-DOPA as the substrate and mushroom tyrosinase, and absorbance was measured at 490 nm. The inhibition percentage was calculated from absorbance values, and the IC_{50} value was determined from the relationship between extract concentration and inhibition percentage.

The results showed that pacing rhizome ethanol extract had tyrosinase enzyme inhibition activity with the highest inhibition percentage of 65.91% at a concentration of 10,000 ppm. The inhibitory activity of the extract was weaker than the positive control of kojic acid which had an IC_{50} value of 45.96 ppm. Thus, pacing rhizome extract has potential as a natural anti-hyperpigmentation agent, but it still needs further development to improve its effectiveness.

Keywords: *Costus speciosus*; tyrosinase inhibition; melanin; hyperpigmentation; IC_{50}

PENDAHULUAN

Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh manusia, mencakup sekitar 15% dari berat badan orang dewasa. Kulit berperan penting dalam melindungi tubuh dari berbagai ancaman fisik, kimia, dan biologis, mencegah kehilangan cairan berlebih, serta membantu mengatur suhu tubuh. Kulit terdiri atas tiga lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan jaringan subkutan. Epidermis mengandung sel keratinosit yang menghasilkan keratin sebagai pelindung. Dermis berada di bawahnya dan tersusun atas protein kolagen sebagai struktur utama. Lapisan terdalam, yaitu jaringan subkutan, mengandung sel-sel lemak (Kolarsick dkk., 2011).

Tirosinase merupakan enzim kunci yang berperan dalam proses biosintesis melanin, yaitu zat pigmen yang menentukan warna kulit. Produksi melanin yang berlebihan dapat memicu berbagai permasalahan kulit, seperti melasma dan flek akibat penuaan. Enzim ini berfungsi sebagai pengendali utama dalam proses melanogenesis yang berlangsung di dalam sel melanosit. Pada proses ini, tirosinase mengkatalisis pembentukan prekursor melanin berupa senyawa kuinon (Mukherjee dkk., 2018).

Melasma merupakan gangguan hiperpigmentasi yang sering terjadi pada area wajah dan lebih banyak dialami oleh wanita dengan tipe kulit lebih gelap. Kondisi ini dipicu oleh paparan sinar ultraviolet, faktor hormonal, serta peningkatan aktivitas tirosinase dalam proses pembentukan melanin (Ogbechie dkk., 2017 ; Shin & Park, 2014). Tanaman pacing (*Costus speciosus*) merupakan sumber alami yang kaya akan senyawa bioaktif, seperti asam fenolat, flavonoid, tanin, β -karoten, asam askorbat (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), dan glutathione. Kombinasi senyawa ini berperan sebagai antioksidan kuat, yang efektif melawan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Stres oksidatif diketahui menjadi salah satu penyebab utama gangguan kulit, termasuk hiperpigmentasi (Sohrab dkk., 2021). Oleh karena itu, tanaman pacing berpotensi dikembangkan sebagai sumber inhibitor tirosinase alami.

Pelarut etanol banyak digunakan dalam proses ekstraksi bahan alam karena mampu melarutkan berbagai senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar hingga semi-polar, seperti flavonoid, fenolik, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan berpotensi menghambat aktivitas enzim tirosinase. Oleh karena itu, ekstraksi menggunakan etanol diharapkan mampu menarik senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas penghambatan tirosinase, karena pelarut etanol diketahui efektif mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan sebagai inhibitor tirosinase (El-Nashar dkk., 2021).

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan secara *in vitro*. Tahapan pada penelitian meliputi tahap ekstraksi rimpang pacing (*Costus speciosus*), penapisan fitokimia, serta pengujian aktivitas penghambatan enzim tirosinase menggunakan metode ELISA. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji kandungan metabolit sekundernya melalui penapisan fitokimia untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif (Rahmatuzzahra dkk., 2024).

Uji aktivitas inhibitor tirosinase dilakukan dengan menggunakan enzim mushroom tirosinase dan substrat L-DOPA, dengan pengukuran absorbansi menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 490 nm. Aktivitas penghambatan dinyatakan dalam bentuk persentase inhibisi, kemudian ditentukan nilai IC_{50} melalui analisis hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persentase inhibisi.

Alat dan Bahan

Alat

Timbangan analitik (Ohaus, USA), oven, krus porselen, cawan petri, penangas air, kertas saring, spatel logam, pipet tetes, pH meter, gelas ukur, tabung reaksi, gelas kimia, mortir, stemper, batang pengaduk, inkubator, aluminium foil, reservoir, mikropipet 1000 μ L dan 100 μ L, multichannel pipettor 200 μ L, sentrifus (Eppendorf, Germany) dan microplate reader (Bio-Rad, USA), tips pipet berukuran 1000 μ L dan 200 μ L, tabung sentrifus 15 mL dan 50 mL, microtube 1,5 mL, dan 96 well plate.

Bahan

Simplisia kering rimpang pacing, etanol 96% (Brataco), enzim mushroom tyrosinase (Sigma-Aldrich) dengan konsentrasi 250 Unit/mL, larutan *phosphate buffer saline* (PBS) 0,1 M dengan pH 6,8, dan substrat L-DOPA (3,4-dihydroxy-L-phenylalanine) (Sigma-Aldrich) dengan konsentrasi 5 mM, kojic acid (Sigma-Aldrich), DMSO, aquadest.

Prosedur Kerja

Preparasi tanaman

Tanaman Pacing yang digunakan adalah bagian rimpang. Tanaman diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) yang terletak di Kota Bogor, Jawa Barat. Determinasi tanaman rimpang pacing (*Costus speciosus*) dilakukan di Herbarium Jatinangor Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran.

Penyiapan simplisia rimpang pacing

Rimpang pacing yang segar disortasi basah, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya rimpang yang telah bersih masing-masing dirajang tipis dan ditata di atas nampan untuk selanjutnya dikeringkan pada tempat yang kering dan tidak terkena sinar matahari langsung selama $\pm 5-7$ hari hingga kadar air simplisia mencapai kurang dari 10%. Rimpang yang sudah kering dihancurkan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk simplisia yang telah jadi disimpan dalam wadah kering dan tertutup.

Uji Karakteristik Simplisia

Penetapan susut pengeringan dan pembuatan serbuk

Sebanyak 1 gram simplisia ditimbang, dimasukkan ke dalam krus porselen bertutup yang telah dikeringkan dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipanaskan dalam oven pada suhu 100–105°C dengan tutup terbuka hingga diperoleh bobot tetap (Sari dkk, 2019).

Penetapan kadar abu total

Sebanyak 3 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditera, lalu diratakan. Krus kemudian dipijarkan perlahan pada suhu 600°C selama 3 jam hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang hingga bobot tetap. Jika arang belum sepenuhnya hilang, ditambahkan air panas dan disaring menggunakan kertas saring bebas abu. Sisa residu dan kertas disaring, diuapkan, dan dipijarkan kembali hingga mencapai bobot tetap, kemudian dilakukan penimbangan untuk menghitung kadar abu (Sari dkk. 2019).

Penetapan kadar abu tidak larut asam

Abu hasil penetapan kadar abu direfluks dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit. Bagian yang tidak larut disaring dengan kertas saring bebas abu atau krus kaca masir yang telah ditimbang, lalu dipijarkan, didinginkan, dan ditimbang hingga bobot tetap. Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap simplisia yang dikeringkan di udara (Sari dkk. 2019).

Penetapan kadar sari larut air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 ml kloroform P selama 24 jam dalam labu tertutup, sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama lalu didiamkan. Filtrat disaring cepat, 20 ml diuapkan dalam cawan bertara di atas penangas air hingga kering, lalu dipanaskan pada 105°C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen terhadap simplisia kering udara (Sari dkk. 2019).

Penetapan kadar sari larut etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia diekstraksi melalui metode maserasi dengan menggunakan 100 ml etanol selama 24 jam sesuai dengan prosedur pada monografi. Proses dilakukan dalam labu tertutup rapat, dengan pengocokan sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan dalam keadaan diam. Filtrat yang diperoleh disaring secara cepat, lalu sebanyak 20 ml dari filtrat tersebut diuapkan dalam cawan penguap (Sari dkk. 2019).

Ekstraksi Etanol Rimpang Pacing

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia direndam dalam pelarut selama beberapa hari dengan pengadukan berkala, kemudian disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental yang mengandung senyawa aktif (Rahmatuzzahra dkk., 2024).

Pemeriksaan Ekstrak Etanol Rimpang Pacing

Organoleptik

Uji organoleptik dari ekstrak meliputi bentuk, bau, warna, dan rasa dari ekstrak rimpang pacing (*Costus speciosus*).

Rendemen ekstrak

Rendemen ekstrak etanol 96% rimpang pacing (*Costus speciosus*) dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir ekstrak yang dihasilkan

Penapisan Fitokimia

Uji flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol rimpang pacing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 tetes asam klorida pekat dan dikocok dengan kuat. Selanjutnya, serbuk magnesium (Mg) ditambahkan ke dalam campuran, kemudian dikocok kembali dengan kuat. Kehadiran flavonoid dalam sampel ditandai dengan munculnya buih dalam jumlah banyak serta perubahan warna larutan dari hijau muda menjadi jingga (Mailuhu dkk, 2017).

Uji terpenoid dan steroid

Sebanyak 3 titik ekstrak etanol rimpang pacing diteteskan pada plat tetes, dengan titik pertama sebagai standar, titik kedua untuk uji terpenoid, dan titik ketiga untuk uji steroid. Ekstrak dibiarkan mengering, kemudian masing-masing titik diberi 1 tetes asam sulfat pekat, 1 tetes asam asetat anhidrat, dan 2 tetes dietil eter. Perubahan warna diamati dari warna awal hijau muda. Sampel menunjukkan adanya terpenoid (triterpenoid) jika warna berubah menjadi merah atau cokelat, dan mengindikasikan steroid jika berubah menjadi biru, ungu, atau hijau (Mailuhu dkk, 2017).

Uji saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol rimpang pacing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL air panas dan 2 tetes asam klorida (HCl) 2 N. Campuran tersebut dikocok dengan kuat dan diamati pembentukan buih setelah dibiarkan selama 10 menit. Kehadiran saponin dalam sampel ditunjukkan oleh terbentuknya buih dengan intensitas yang banyak dan tetap stabil selama 10 menit, disertai warna awal hijau muda (Mailuhu dkk, 2017).

Uji alkaloid

Disiapkan tiga tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 1 mL ekstrak etanol dari rimpang pacing. Selanjutnya, setiap tabung ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2 N dan dikocok hingga tercampur sempurna. Pada tabung pertama, ditambahkan reagen Dragendorff, pada tabung kedua ditambahkan reagen Wagner, dan pada tabung ketiga ditambahkan reagen Mayer. Perubahan yang terjadi pada setiap tabung kemudian diamati. Sampel dinyatakan positif jika tabung pertama (dengan reagen Dragendorff) menghasilkan endapan merah, tabung kedua (dengan reagen Wagner) menghasilkan endapan kecokelatan, dan tabung ketiga (dengan reagen Mayer) menghasilkan endapan putih (Mailuhu dkk, 2017).

Uji tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol rimpang pacing ditambahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditetesi dengan 2–3 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Adanya kandungan tanin ditunjukkan dengan perubahan warna larutan dari hijau muda menjadi hijau kehitaman (Mailuhu dkk, 2017).

Uji kuinon

Ekstrak etanol rimpang pacing ditambahkan larutan NaOH 1 N, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Terbentuknya warna kuning menunjukkan hasil reaksi positif (Suratno, 2016).

Uji Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Preparasi buffer phosphate pH 6,8

Buffer phosphate pH 6,8 dibuat dengan mencampurkan larutan phosphate monobasic dan phosphate dibasic. Sebanyak 6,899 gram phosphate monobasic dilarutkan dalam 50 mL aquadest untuk membuat Larutan A. Selanjutnya, 7,098 gram phosphate dibasic dilarutkan dalam 50 mL aquadest untuk membuat Larutan B. Larutan A dan B masing-masing diambil sebanyak 4,97 mL dan 5,03 mL, kemudian dicampurkan dan ditambahkan aquadest hingga mencapai volume 100 mL. Campuran dihomogenkan hingga terbentuk larutan buffer pH 6,8.

Preparasi larutan L-DOPA

Larutan L-DOPA 5 mM disiapkan dengan menimbang sebanyak 49,2975 mg L-DOPA, kemudian melarutkannya dalam 50 mL aquadest. Larutan dihomogenkan hingga benar-benar larut dan disimpan dalam kondisi terlindung dari cahaya.

Preparasi enzim mushroom tirosinase

Larutan stok enzim dengan aktivitas 3000 Unit/mL diencerkan menggunakan buffer phosphate pH 6,8 hingga diperoleh konsentrasi kerja 250 Unit/mL.

Preparasi larutan standar kojic acid

Sebanyak 10 mg kojic acid ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest untuk menghasilkan larutan induk 1000 ppm. Larutan ini dihomogenkan, lalu disimpan dalam freezer apabila belum digunakan. Untuk keperluan uji, larutan standar kojic acid kemudian diencerkan secara bertingkat (serial dilution) menggunakan PBS pH 6,8 untuk mendapatkan beberapa konsentrasi kerja.

Preparasi sampel (ekstrak uji)

Sampel uji dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak, kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO untuk memperoleh larutan induk dengan konsentrasi 100.000 ppm. Campuran dihomogenkan menggunakan vortex hingga larut sempurna. Setelah itu, dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan PBS pH 6,8 untuk mendapatkan beberapa konsentrasi uji sesuai kebutuhan.

Uji aktivitas tirosinase menggunakan ELISA

Tahapan uji dilakukan dalam 96-well microplate dengan mengikuti langkah-langkah sebagai berikut. Masing-masing sumur diisi dengan campuran larutan sebanyak:

1. 40 μ L larutan L-DOPA
2. 40 μ L larutan sampel atau larutan standar kojic acid
3. 160 μ L phosphate buffer saline (PBS) pH 6,8
4. 40 μ L larutan enzim tirosinase 250 Unit/mL

Setelah semua larutan ditambahkan, microplate ditutup menggunakan aluminium foil dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, absorbansi masing-masing sumur diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 490 nm.

Analisis Data

Data absorbansi dari hasil pembacaan digunakan untuk menghitung persentase inhibisi aktivitas enzim tirosinase. Persen inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut (1):

$$\left(\frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \right) \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

Data persen inhibisi dihitung dari hasil pembacaan absorbansi pada microplate reader, kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menentukan hubungan antara konsentrasi ekstrak dan aktivitas penghambatan enzim tirosinase. Setiap nilai inhibisi dihitung untuk masing-masing konsentrasi, lalu dirata-ratakan dan dicari standar deviasi. Data inhibisi rata-rata selanjutnya dimasukkan ke dalam perangkat lunak GraphPad untuk menentukan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% aktivitas enzim tirosinase. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi awal aktivitas inhibitor tirosinase dari ekstrak tanaman sehingga analisis dilakukan secara deskriptif tanpa uji statistik komparatif antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Simplisia

Hasil karakterisasi simplisia rimpang pacing Tabel 1 menunjukkan kadar susut pengeringan sebesar 6,17%, masih di bawah batas 10% sehingga menandakan simplisia cukup kering dan stabil. Kadar air pada bagian rimpang umumnya lebih tinggi dibanding bagian atas tanaman karena berfungsi sebagai tempat penyimpanan air cadangan (Singh dkk, 2014).

Kadar sari larut air sebesar 8% menunjukkan tingginya kandungan senyawa polar seperti tanin dan flavonoid, sedangkan kadar sari larut etanol sebesar 3% menandakan jumlah senyawa semi-polar lebih sedikit. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak rimpang *Costus speciosus* kaya senyawa fenolik, saponin, dan flavonoid yang lebih optimal diekstraksi dengan pelarut polar (Sohrab dkk, 2021).

Kadar abu total sebesar 4% menunjukkan kandungan mineral dalam simplisia, sedangkan kadar abu tidak larut asam sebesar 1% menandakan adanya sedikit silikat. Nilai ini sejalan dengan penelitian sebelumnya dan menunjukkan bahwa simplisia rimpang *Costus speciosus* memiliki kemurnian baik tanpa cemaran logam berat atau tanah (Kala dkk, 2016).

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Serbuk Simplisia Rimpang Pacing (*Costus speciosus*)

Parameter	Hasil
Susut Pengerangan	6,166% (rata-rata)
Kadar Sari Larut Air	8%
Kadar Sari Larut Etanol	3%
Kadar Abu Total	4%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	1%

Penelitian ini menggunakan 500 gram rimpang pacing yang kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 20,4 gram (Tabel 2). Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak rimpang pacing. Uji dilakukan terhadap beberapa golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, saponin, serta steroid/triterpenoid.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Rimpang Pacing (*Costus speciosus*)

Berat Sampel	Berat Ekstrak	Jenis Ekstrak	Persen (%) Rendemen
500 gram	20,4 gram	Ekstrak Kental	4,08 %

Hasil penapisan fitokimia Tabel 3 terhadap ekstrak rimpang *Costus speciosus* mengungkap adanya alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, saponin, serta steroid/triterpenoid. Temuan ini konsisten dengan laporan sebelumnya yang mengidentifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik, tanin, dan glikosida dalam ekstrak *Costus speciosus* (Khan dkk, 2023). Penelitian lain terhadap bunga pacing putih juga menunjukkan keberadaan flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan steroid dalam berbagai fraksi, disertai dengan aktivitas antibakteri (Rahmawati dkk, 2023).

Tabel 3. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Rimpang Pacing (*Costus speciosus*)

Jenis Senyawa	Indikasi Positif	Hasil Uji
Alkaloid	Endapan putih dan merah bata	(+)
Flavonoid	Terbentuk warna pada lapisan amil alkohol	(+)
Kuinon	Terbentuk warna merah	(+)
Tanin	Warna biru tua/hitam kehijauan dan endapan putih	(+)
Saponin	Terbentuk busa stabil	(+)
Steroid/Triterpenoid	Warna merah-ungu atau hijau-biru	(+)

Keterangan : (+) Terdapat golongan senyawa tertentu

Lebih jauh, tinjauan komprehensif oleh Delarosa dkk. (2023) menegaskan bahwa flavonoid, senyawa fenolik, tanin, terpenoid, serta saponin yang terkandung dalam *C. speciosus* memberikan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan potensi antidiabetik. Hal ini mendukung dugaan bahwa kehadiran flavonoid dan tanin memberikan efek antioksidan dan antiinflamasi, sementara saponin dan steroid/triterpenoid berperan sebagai imunostimulan dan agen antimikroba.

Dengan demikian, keberadaan berbagai metabolit sekunder ini secara ilmiah mendukung potensi penggunaan *Costus speciosus* rimpang sebagai bahan baku dalam formulasi farmasi atau kosmetik, khususnya yang menargetkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri alami. Studi-studi tersebut memberikan landasan ilmiah kuat untuk pengembangan produk berbasis ekstrak pacing.

Hasil Pengukuran Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Pengujian aktivitas inhibitor tirosinase diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum untuk memastikan akurasi pengukuran aktivitas enzim. Panjang gelombang 490 nm dipilih karena berada dalam rentang serapan maksimum dopakrom (475–490 nm), yaitu produk oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase. Pemilihan panjang gelombang ini sesuai dengan karakteristik reaksi tirosinase dan telah banyak digunakan dalam pengujian aktivitas inhibitor tirosinase secara *in vitro* (Chang, 2009).

Tabel 4. Hasil % Inhibisi Enzim Tirosinase Asam Kojat

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi (rata-rata)	IC ₅₀ (ppm)
2,34	8,53 ± 0,66	
4,69	13,14 ± 0,23	
9,38	21,38 ± 1,72	
18,75	32,74 ± 0,47	45,96
37,50	45,93 ± 1,05	
75,00	62,41 ± 1,58	
150,00	76,95 ± 0,32	

Kontrol negatif berupa larutan buffer tanpa penambahan sampel digunakan untuk memastikan bahwa tidak terjadi penghambatan aktivitas enzim tirosinase pada kondisi normal. Pada kontrol negatif tidak ditemukan aktivitas penghambatan sehingga nilai inhibisinya dianggap 0% dan digunakan sebagai nilai dasar (baseline) dalam perhitungan persen inhibisi sampel uji.

Asam kojat digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan inhibitor tirosinase yang telah teruji dan banyak diaplikasikan dalam formulasi kosmetik pencerah kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa asam kojat memiliki aktivitas penghambatan yang sangat kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 45,96 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa asam kojat mampu menghambat 50% aktivitas enzim tirosinase pada konsentrasi yang relatif rendah. Mekanisme penghambatan asam kojat terjadi melalui pengikatan ion tembaga (Cu²⁺) pada pusat aktif enzim tirosinase, sehingga menghambat reaksi oksidasi tirosin dan L-DOPA yang merupakan tahapan kunci dalam biosintesis melanin (Parvez dkk, 2006).

Tabel 5. Hasil % Inhibisi Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Rimpang Pacing

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi (rata-rata)	IC ₅₀ (ppm)
625	15,77 ± 1,75	
1250	23,03 ± 1,05	
2500	33,83 ± 0,78	4542,35
5000	52,93 ± 1,15	
10000	65,91 ± 0,31	

Berdasarkan data pada Tabel 5, ekstrak etanol rimpang pacing menunjukkan aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi, namun dengan potensi yang lebih rendah dibandingkan asam kojat. Nilai IC₅₀ sebesar 4542,35 ppm menunjukkan bahwa ekstrak tergolong memiliki daya hambat lemah, karena memerlukan konsentrasi tinggi untuk menghambat 50% aktivitas enzim tirosinase. Perbedaan potensi ini diduga disebabkan oleh sifat ekstrak yang masih berupa campuran kompleks berbagai senyawa, sehingga kandungan senyawa aktif penghambat tirosinase berada dalam konsentrasi relatif rendah dibandingkan senyawa murni seperti asam kojat. Peningkatan persentase inhibisi seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya kecenderungan hubungan dosis–respon yang mengindikasikan keberadaan senyawa aktif dalam ekstrak rimpang pacing yang berperan dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak meningkatkan jumlah senyawa aktif yang berinteraksi dengan enzim tirosinase sehingga aktivitas katalitik enzim dapat terhambat.

Aktivitas penghambatan tirosinase yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol rimpang pacing diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid dan senyawa fenolik yang teridentifikasi pada uji penapisan fitokimia. Senyawa flavonoid dan fenolik diketahui memiliki kemampuan menghambat tirosinase melalui mekanisme pengikatan ion tembaga (Cu^{2+}) pada pusat aktif enzim, sehingga menghambat pembentukan dopakrom dan menurunkan produksi melanin (El-Nashar dkk., 2021). Keberadaan gugus hidroksil pada struktur flavonoid berperan penting dalam aktivitas penghambatan tersebut. Temuan ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder dalam ekstrak rimpang pacing berpotensi berperan sebagai inhibitor tirosinase alami melalui mekanisme penghambatan enzim pada proses melanogenesis.

Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan El-Nashar dkk (2021), yang menyatakan bahwa flavonoid seperti kuarsetin dan luteolin mampu menghambat aktivitas tirosinase melalui interaksi langsung dengan situs aktif enzim. Namun, rendahnya aktivitas ekstrak dibandingkan kontrol positif menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak masih terbatas. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan lebih lanjut, seperti fraksinasi, isolasi senyawa aktif, atau optimasi metode ekstraksi, untuk meningkatkan potensi penghambatan tirosinase.

Berdasarkan data pada Tabel 5, ekstrak etanol rimpang pacing memiliki potensi sebagai agen anti-hiperpigmentasi alami, meskipun aktivitas penghambatannya masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif asam kojat yang disajikan pada Tabel 4 sebagai inhibitor tirosinase standar pada penelitian ini. Perbedaan aktivitas ini menunjukkan bahwa ekstrak masih memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghasilkan efek penghambatan yang sebanding dengan senyawa inhibitor tirosinase yang telah diketahui aktivitasnya.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol rimpang pacing (*Costus speciosus*) menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap enzim tirosinase secara in vitro melalui metode ELISA, dengan nilai IC_{50} sebesar 4542,35 ppm. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang pacing memiliki potensi sebagai sumber bahan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen anti-hiperpigmentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Bhakti Kencana pendanaan melalui Hibah Penelitian Internal Skema Riset Dasar Tahun 2025, berdasarkan surat keputusan Rektor Universitas Bhakti Kencana

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, T.S., 2009. An Updated Review Of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal Of Molecular Sciences*.10(6):2440–2475.
- Delarosa, A., Hendrawan, R.P. & Halimah, E. 2023. Screening Of *Costus Speciosus* And Determination Of Antioxidant Potential Using Dpph Method: A Review. *European Journal Of Medicinal Plants*. 34(7):17–28.
- El-Nashar, H.A.S., Gamal El-Din, M.I., Hritcu, L. dan Eldahshan, O.A., 2021. Insights On The Inhibitory Power Of Flavonoids On Tyrosinase Activity: A Survey From 2016 To 2021, *Molecules*. 26(24).
- Kala, C., Ali, S.S. & Chaudhary, S. 2016. Comparative Pharmacognostical Evaluation Of *Costus Speciosus* (Wild Ginger) And *Zingiber Officinale* (Ginger) Rhizome. *International Journal Of Current Pharmaceutical Review And Research*. 8(4):19–23.
- Khan, A., Rashid, S.M. & Uddin, M.A. 2023. Phytochemical Analysis And In Vitro Antimicrobial Activity Of *Costus Speciosus* Extracts. *Bangladesh Journal Of Microbiology*. 39(2): 46–52.
- Kolarsick, P.A.J., Kolarsick, M.A. dan Goodwin, C., 2011. Anatomy And Physiology Of The Skin', *Journal Of The Dermatology Nurses' Association*.3(4).203–213.
- Mailuhu, M., Runtuwene, M.R.J. dan Koleangan, H.S.J., 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia Bracteosa* Dc). *Chem. Prog*. 10(1).
- Mukherjee, P.K., Biswas, R., Sharma, A., Banerjee, S., Biswas, S. dan Katiyar, C.K., 2018. Validation Of Medicinal Herbs For Anti-Tyrosinase Potential. *Journal Of Herbal Medicine*.14: 1–16.
- Ogbechie-Godec, O.A. dan Elbuluk, N. 2017. Melasma: An Up-To-Date Comprehensive Review. *Dermatology And Therapy*.7(3):305–318.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H.-S., Cho, C., Hong, M.-C., Shin, M.-K. dan Bae, H. 2006. Skin Depigmentation And Lightening: Survey And Mechanism Of Skin Depigmenting Agents. *Phytother. Res*. 20: 921–934.
- Sari, P., Teokarsa Laoli, M., Studi, P.S., Imelda Medan, Stik., Bilal No, J., Pulo Brayon Darat Kecamatan Medan Timur, K.I. & -Sumatera Utara, M., 2019. Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta

- Analisis Secara Klt (Kromatografi Lapis Tipis) Daun Dan Kulit Buah Jeruk Lemon (Citrus Limon (L.) Burm.F.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*. 2(2): 59–68.
- Rahmawati, E.M., Marlina, E. & Ruga, R. 2023. Phytochemical Analysis And Screening Of Antibacterial Activity Of White Pacing Flower (Costus Speciosus (J. Koenig) Sm.). *Proceedings of the International Conference of Tropical Studies and Its Applications (ICTROPS 2022)*.
- Rahmatuzzahra, Ardini, S., Indriyani, D.M., Rahayu, P., 2024. Perbandingan Metode Ekstraksi Soxhletasi Dan Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper Retrofractum Vahl*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Analis Farmasi*.9(1):80-96
- Shin, J.W. dan Park, K.C., 2014. Current Clinical Use Of Depigmenting Agents. *Dermatologica Sinica*. 32(4): 205–210.
- Singh, P., Khosa, R.L., Srivastava, Shruti, Mishra, G., Jha, K.K., Srivastava, Sourabh, Sangeeta, Verma, R.K. & Tahseen, M.A., 2014. Pharmacognostical Study And Establishment Of Quality Parameters Of Aerial Parts Of Costus Speciosus-A Well Known Tropical Folklore Medicine. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*.4(6):486–491.
- Sohrab, S., Mishra, P. dan Mishra, S.K., 2021. Phytochemical Competence And Pharmacological Perspectives Of An Endangered Boon—Costus Speciosus (Koen.) Sm.: A Comprehensive Review. *Bulletin Of The National Research Centre*. 45(1).
- Suratno, 2016. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Spirulina Platensis Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri. *Jurnal Surya Medika*