

AKTIVITAS PENGHAMBATAN LIPASE PANKREAS *IN VITRO* DAN STANDARISASI EKSTRAK BANGLE (*ZINGIBER CASSUMUNAR ROXB.*)

Dyah Aryantini^{1*}, Asih Imulda Hari Purwani², Fita Sari¹, Krisna Kharisma Pertiwi²

Informasi Penulis

¹ Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri, Indonesia

²Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri, Indonesia

*Korespondensi

Dyah Aryantini
Email: dyah.aryantini@iik.ac.id

ABSTRAK

Obesitas merupakan suatu kondisi dengan *Body Mass Index* (BMI) ≥ 30 kg/m² yang disebabkan karena timbunan lemak yang berlebihan. Salah satu mekanisme pencegahan terjadinya obesitas adalah dengan menghambat aktivitas enzim lipase yang disekresikan di pankreas. Rimpang bangle merupakan salah satu tanaman dari keluarga Zingiberaceae yang telah dimanfaatkan secara tradisional diantaranya adalah untuk mengecilkan perut dan pelangsing tubuh. Untuk menjamin mutu ekstrak bangle sebagai bahan baku obat tradisional, maka perlu dilakukan standarisasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim lipase secara *in vitro* dan standarisasi ekstrak rimpang Bangle melalui pengujian parameter spesifik dan non spesifik. Metode pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi, ekstrak selanjutnya diuji kadar air, kadar sari larut air dan etanol, serta kandungan fitokimia. Persen penghambatan enzim lipase pankreas secara *in vitro* diperoleh dengan metode kolorimetri menggunakan p-nitro fenilbutirat sebagai substrat. Kondisi inkubasi lipase optimum dilakukan pada suhu 37 °C, pH 7, selama 10 menit. Hasil standarisasi memenuhi persyaratan FHI, kadar sari larut air dan etanol berturut-turut adalah 16,96 \pm 0,94 % dan 15,13 \pm 0,38 % dan pengujian kadar air serta kadar abu total memberikan hasil 9,4 \pm 0,36 % dan 0,7 \pm 0,02 %. Aktivitas ekstrak bangle terhadap enzim lipase pankreas pada konsentrasi 100 ppm memberikan penghambatan enzim lipase sebesar 27,21 \pm 1,59 %. Secara keseluruhan baik parameter spesifik maupun non spesifik ekstrak telah memenuhi persyaratan standar dan ekstrak bangle memiliki aktivitas yang lemah dalam menghambat enzim lipase pankreas secara *in vitro*.

Kata Kunci: Bangle, Lipase pankreas, Obesitas, PNPB, Standarisasi ekstrak

IN VITRO PANCREATIC LIPASE INHIBITING ACTIVITY AND STANDARDIZATION OF BANGLE (*ZINGIBER CASSUMUNAR ROXB.*) EXTRACT

ABSTRACT

Obesity is indicated by body mass index of ≥ 30 kg/m², due an excess of fat deposits. Blocking obesity can be achieved in part by blocking the pancreatic enzyme lipase from exerting its action. A plant belonging to the Zingiberaceae family, bangle rhizome has been used traditionally for body slimming and stomach reduction. Standardization is required to guarantee the quality of Bangle extract as a basic material for traditional medicine. The study aimed at evaluating specific and non-specific character to standardize Bangle extract and to conduct the inhibitory activity test against lipase activity in vitro. Maceration was used to prepare the extract. The extract is subsequently examined for loss of drying, microscopic, phytochemical screening and ethanol and water-soluble extract content. In vitro tests were carried out using the colorimetric method to determine the percentage of inhibition of bangle extract against lipase. Lipase was incubated at 37 °C, pH 7, for 10 minutes. The water content and total ash content yield respectively of 9.42 \pm 0.36 % and 0.7 \pm 0.02 while the water and ethanol soluble extract levels were 16.96 \pm 0.94 % and 15.13 \pm 0.38 %, respectively. When tested against the pancreatic lipase at 100 ppm, the bangle extract showed a 27.21 \pm 1.59 inhibition of the enzyme. Bangle extract exhibited low activity in suppressing the pancreatic lipase in vitro, however, overall, both specific and non-specific parameters of the extract have met the standard requirements.

Keywords: Bangle, Pancreatic Lipase, Obesity, PNPB, Standardization of extract

PENDAHULUAN

Permasalahan kesehatan yang terjadi pada masyarakat tidak hanya penyakit menular saja, tetapi penyakit tidak menular juga mengancam kualitas hidup manusia, permasalahan penyakit tidak menular ini disebabkan oleh perilaku individu itu sendiri contohnya obesitas. Obesitas adalah suatu keadaan dimana terjadi penumpukan lemak tubuh yang berlebih, sehingga berat badan seseorang jauh di atas normal dan dapat membahayakan kesehatan. Obesitas merupakan kondisi ketika individu memiliki indeks masa tubuh di atas 30 kg/m^2 (Sarma dkk. 2021). Obesitas terjadi karena adanya ketidak seimbangan energi yang masuk dengan energi yang keluar. Obesitas menjadi faktor resiko untuk berbagai penyakit seperti resistensi insulin, diabetes mellitus tipe 2, dislipidemia dan penyakit kardiovaskular (Price dkk. 2018) sehingga pencegahan ataupun pengobatan sangat penting untuk kesehatan individu itu sendiri.

Salah satu mekanisme pencegahan dan pengobatan obesitas adalah melalui penghambatan aktivitas enzim lipase pankreas agar tidak menguraikan trigliserida menjadi asam lemak bebas, sehingga penyerapan asam lemak bebas ke dalam jaringan adiposit dapat dicegah. Penghambatan terhadap enzim lipase pankreas disebabkan karena leboh dari 40% enzim lipase disekresikan di pankreas. Metode ini digemari karena tidak mempengaruhi susunan syaraf pusat seperti obat-obatan penahan napsu makan yang telah beredar sebelumnya (Seyedan dkk. 2015).

Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) merupakan tanaman dari keluarga Zingiberaceae yang telah terbukti secara empiris dimanfaatkan sebagai jamu untuk mengobati demam, cacingan, diare, mengecilkan perut dan melangsingkan tubuh. Berbagai aktivitas farmakologi dari ekstrak bangle juga telah dilaporkan sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, analgetic dan antidiabetes (Setyani dkk. 2021; Diastuti dkk. 2024). Rimpang bangle dieksplorasi untuk membuktikan aktivitasnya mengobati berbagai penyakit, namun ekstrak yang diujikan tersebut tidak disertai dengan standarisasi yang berkaitan dengan kualitasnya sebagai bahan baku obat tradisional.

Produk yang berasal dari alam seperti ekstrak merupakan salah satu bahan baku obat tradisional yang harus terjamin kualitasnya untuk menghasilkan obat tradisional yang aman, bermutu dan berkhasiat (Kepel dan Bodhi 2020). Standarisasi ekstrak dilakukan untuk menjamin keajegan parameter spesifik dan non spesifik pada ekstrak melalui serangkaian pengujian. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan parameter mutu ekstrak bangle melalui standarisasi pada parameter spesifik maupun non-spesifik untuk mengetahui kadar sari terlarut dalam air dan etanol, kandungan metabolit sekunder, serta kadar air dan kadar abu total.

Bahan baku ekstrak yang telah dipastikan mutunya diharapkan mampu menjamin aktivitas biologi senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya. Selama sepuluh tahun terakhir belum pernah dilaporkan penelitian tentang penghambatan aktivitas enzim lipase secara in vitro dari ekstrak bangle yang telah distandarisasi. Sehingga dari hasil penelitian ini diharapkan menjadi kandidat obat herbal terstandar (OHT) antiobesitas.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel yang digunakan berasal dari simplisia rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari koleksi Materia Medica Batu-Malang (kadar air 8,2 %) dan dideterminasi pada Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dengan nomor 074/698/102.20-A/2022. Bahan lain yang digunakan adalah *Crude Porcine Pancreatic Lipase Powder type II*, 100-650 units/mg protein using olive oil and 30-90 units/mg protein using triacetin (E.C. 3.1.1.3), Phosphat Buffer pH 7, p-Nitro fenil butirat (PNPB), Dimetil Sulfoksida (DMSO) dari Sigma-Aldrich-USA, dan Xenical® dari Roche sebagai kontrol positif. Pelarut etanol 70% dan aquadest (Bratachem), Reagen untuk skrining fitokimia seperti Mayer, dragendorf, molish, benedict, Lieberman- burchard, ferri klorida, serbuk magnesium, HCl pekat dan amil alkohol.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Elisa reader Bio Tek 800, Vortex Mixer, *glassware*, *microplate 96 well* (Biologix), incubator (Memmert).

Ekstraksi dan Standarisasi Ekstrak Rimpang Bangle

Ekstraksi simplisia rimpang bangle sebanyak 1000 gram dilakukan dengan metode maserasi dengan mengadopsi metode yang dilakukan Noviyanto dkk. (2020). Ekstrak Bangle (EB) kental yang diperoleh kemudian dilakukan standarisasi yang mengacu pada metode standarisasi ekstrak pada Farmakope Herbal Indonesia edisi I (Depkes RI 2008a). Penentuan parameter spesifik ekstrak meliputi uji kadar sari dalam air dan etanol, sedangkan parameter non spesifik ditentukan melalui uji kadar abu total dan kadar air ekstrak. Kandungan senyawa fitokimia dalam EB juga diidentifikasi dengan cara penapisan fitokimia terhadap senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, terpenoid dan amylum (Shaikh & Patil 2020).

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Pankreas *In Vitro*

Aktivitas penghambatan EB terhadap enzim lipase pankreas secara *in vitro* dilakukan berdasarkan metode pada penelitian sebelumnya (Alias dkk. 2017, Ong dkk. 2016) dengan modifikasi pada beberapa hal seperti konsentrasi sampel dalam penelitian ini 100 ppm sedangkan sebelumnya 500 ppm. Modifikasi tersebut dilakukan berdasarkan hasil percobaan sebelumnya. Sebelum ditambahkan substrat larutan enzim sebelumnya

diinkubasi dengan sampel uji. Sebanyak 50 µl larutan enzim ditambahkan ke dalam tabung uji yang berisi 50 µl dari sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C agar enzim bereaksi dengan inhibitor. Setelah masa inkubasi selesai tiap *well* ditambahkan 50 µl substrat PNPB kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Pada suhu 37°C, laju reaksi yang menghasilkan satu mol nitrofenil butirat digunakan sebagai definisi satu unit aktivitas. Ketika enzim lipase diinkubasi dengan inhibitor, jumlah aktivitas lipase yang dihambat ditentukan dengan menghitung persentase penurunan aktivitas tersebut. Larutan sampel diukur serapannya menggunakan elisa reader pada λ 405 nm. Persentase penghambatan enzim lipase dapat dihitung dengan melakukan perhitungan dengan rumus (Alias dkk. 2017) : $1\% = 100 - \frac{(B-b)}{(A-a)} \times 100$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Standarisasi Ekstrak

Ekstrak kental EB yang diperoleh dari metode maserasi menghasilkan rendemen sebesar 5,86% b/b atau sebanyak 58,6 gram ekstrak kental. Adapun hasil standarisasi ekstrak berdasarkan parameter spesifik dan non-spesifik ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Standarisasi Ekstrak Bangle

Parameter	Hasil	Spesifikasi Standar
Kadar sari larut air	16,96%±0,94	Tidak kurang dari 1,2 % (Depkes RI, 2008a)
Kadar sari larut etanol	15,13%±0,38	Tidak kurang dari 12,8% (Depkes RI, 2008a)
Kandungan fitokimia	Alkaloid (+), fenolik (+), flavonoid (+), saponin (+), terpenoid (-), amylum (+)	(Diastuti dkk. 2024; Noviyanto dkk. 2020)
Kadar air	9,42%±0,36	Tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008a)
Kadar abu total	0,7%±0,02	Tidak lebih dari 0,9% (Depkes RI, 2008a)

Ekstrak berkualitas yang menjadi bahan baku obat tradisional perlu ditetapkan standarisasi parameter spesifik dan non-spesifik. Pada standarisasi dilakukan penetapan sifat berdasarkan parameter-parameter tertentu untuk mencapai derajat kualitas yang sama. Berdasarkan

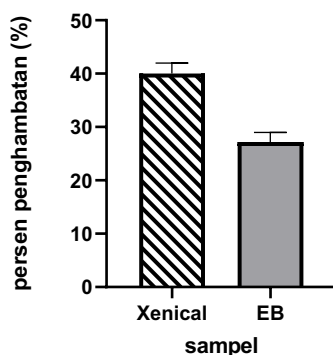
Tabel 1 hasil standarisasi EB yang meliputi parameter spesifik (kadar sari larut air dan etanol serta kandungan kimia ekstrak) dan parameter non-spesifik (kadar air dan kadar abu total) telah memenuhi persyaratan yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia edisi I (Depkes RI

2008b). Hal ini memberikan makna bahwa EB dapat dinyatakan sebagai ekstrak yang berkualitas. Hasil penapisan fitokimia dalam EB memberikan gambaran kandungan senyawa metabolit sekunder yang berkontribusi secara langsung untuk menghasilkan aktivitas farmakologi. Senyawa metabolit primer seperti amylum terdeteksi positif dalam EB, hal ini sesuai dengan rujukan dalam Farmakope Herbal Indonesia edisi I tentang fragmen pengenalan berupa butiran amylum pada simplisia rimapng bangle. Senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi positif juga dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Diastuti dkk. 2024, Noviyanto dkk. 2020, Wulansari dkk. 2018).

Aktivitas Penghambatan Lipase Pankreas *In Vitro*

Hasil uji aktivitas penghambatan EB terhadap enzim lipase pancreas secara *in vitro* ditunjukkan pada gambar 1. Gambar 1 menunjukkan persen penghambatan EB dengan konsentrasi 100 ppm terhadap enzim lipase pancreas pada $27,21 \pm 1,59$ %. Adapun Xenical® sebagai kontrol positif memberikan persen penghambatan $40,04 \pm 1,75$ %. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan Xenical® yang mengandung granul orlistat dalam bentuk sediaan kapsul, bentuk sediaan tersebut diduga menyebabkan rendahnya kelarutannya dalam DMSO yang mengakibatkan penghambatannya rendah. Penelitian yang dilaporkan Alias dkk. (2017) menunjukkan EB menghambat lipase pankreas sebesar $11,7 \pm 3,3$ % pada konsentrasi 500 ppm. Penemuan pada EB ini juga serupa dengan penelitian yang pernah dilaporkan sebelumnya (Iswantini dkk. 2011) yang menyampaikan bahwa pada dosis 100 ppm ekstrak

etanol rimpang Bangle memberikan penghambatan 29,17%. Perbedaannya adalah pada penelitian sebelumnya menggunakan metode dan instrument yang berbeda untuk mengidentifikasi aktivitas penghambatan enzim lipase pankreas secara *in vitro*. Pada penelitian ini substrat yang digunakan adalah PNPB menggunakan *microplate reader*, sedangkan pada penelitian terdahulu substrat yang digunakan adalah triolein menggunakan instrument spektrofotometri *UV-Vis*, demikian juga kondisi inkubasi enzim yang berbeda dengan penelitian sebelumnya (suhu 37 °C, pH 7 selama 30 menit)(Iswantini dkk. 2011). Metode kolorimetri dengan PNPB sebagai substrat untuk mengidentifikasi penghambatan enzim lipase pancreas secara *in vitro* tergolong metode yang mudah dan cepat untuk dilakukan (Bajes dkk. 2020, Choi dkk. 2003). Ketika enzim lipase pankreas diinkubasi dengan inhibitor, jumlah aktivitas lipase yang dihambat ditentukan dengan menghitung persentase penurunan aktivitas tersebut melalui perubahan warna kuning menjadi tidak berwarna (Alnukari, 2020, Pliego dkk. 2015) dengan pengukuran absorbansi menggunakan ELISA reader pada λ 405 nm. Persen penghambatan yang diperoleh bermakna bahwa EB memiliki potensi sebagai kandidat obat herbal antiobesitas namun lemah melalui mekanisme penghambatan enzim lipase pankreas secara *in vitro*. Menurut Alias (2017) yang melaporkan skrining beberapa ekstrak terhadap penghambatan enzim lipase pankreas pada konsentrasi 500 ppm mengkategorikan persen penghambatan *low* (<30%), *medium* (30-70%) dan *high* (>70%).



Gambar 1. Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Pankreas Secara *In Vitro*. Xenical (control +) dan Ekstrak Bangle (EB) (n=3)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak bangle memenuhi syarat kualitas baik dari parameter spesifik dan non-spesifik sesuai acuan resmi Farmakope Herbal Indonesia edisi I. Ekstrak Bangle dalam penelitian ini terbukti memiliki potensi antiobesitas yang rendah melalui mekanisme penghambatan enzim lipase pankreas secara *in vitro* pada konsentrasi 100 ppm (27,21±1,59 %).

Untuk selanjutnya, perlu dilakukan penelitian lebih mendalam menggunakan berbagai seri konsentrasi untuk mengetahui konsentrasi penghambatan (IC₅₀) terhadap enzim lipase pankreas. Selain itu juga diperlukan kajian tentang laju kinetika reaksi enzim dari parameter-parameter yang mempengaruhi inkubasi enzim lipase.

DAFTAR PUSTAKA

Alias N, Leow TC, Ali MSM, Tajudin AA, Salleh AB, Rahman RNZRA, 2017, Anti-obesity Potential of Selected Tropical Plants via Pancreatic Lipase Inhibition, *Adv Obesity Weight Manag Control* 6: 122–131, doi: 10.15406/aowmc.2017.06.00163.

Alnukari SS, 2020, Anti lipase activity of Rosa Damascena Extracts, *Egypt J Chem* 63: 861–865, doi: 10.21608/ejchem.2019.10388.1686.

Setyani AR, Arung ET, Sari YP, 2021, Phytochemical Screening, Antioxidant And Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Bangle Fresh Root (*Zingiber montanum*), *J Ris Teknol Ind* 15: 415–427.

Bajes HR, Almasri I, Bustanji Y, 2020, Plant Products and Their Inhibitory Activity Against Pancreatic Lipase, *Rev Bras Farmacogn* 30: 321–330, doi: 10.1007/s43450-020-00055-z.

Choi SJ, Hwang JM, Kim S, 2003, A Colorimetric Microplate Assay Method For High Throughput Analysis Of Lipase Activity, *J Biochem Mol Biol* 36: 417–420, doi: 10.5483/bmbrep.2003.36.4.417.

Diastuti H, Mufida ZL, Purwati, 2024, Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) serta Uji Aktivitas terhadap *Candida albicans*, *J Sains dan*

Edukasi Sains 7: 29–36, doi: 10.24246/juses.v7i1p29-36.

Iswantini D, Silitonga RF, Martatilova E, Darusman LK, 2011, *Zingiber cassumunar*, *Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity, *HAYATI J Biosci* 18: 6–10, doi: 10.4308/hjb.18.1.6.

Kepel BJ, Bodhi W, 2020, Standarisasi Parameter Spesifik dan Non-Spesifik Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum.) sebagai Obat Antibakteri, *eBiomedik* 8 (1): 63–67, doi: 10.35790/ebm.v8i1.28131.

Noviyanto F, Hodijah S, Yusransyah Y, 2020, Aktivitas Ekstrak Daun Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *J Syifa Sci Clin Res* 2: 31–38, doi: 10.37311/jsscr.v2i1.2665.

Ong SL, Mah SH, Lai HY, 2016, Porcine Pancreatic Lipase Inhibitory Agent Isolated from Medicinal Herb and Inhibition Kinetics of Extracts from *Eleusine indica* (L.) Gaertner, *J Pharm (Cairo)* 2016: 1–9, doi: 10.1155/2016/8764274.

Pliego J, Mateos JC, Rodriguez J, Valero F, Baeza M, Femat R, Camacho R, Sandoval G, Herrera-López EJ, 2015, Monitoring Lipase/Esterase Activity By Stopped Flow In A Sequential Injection Analysis System Using P-Nitrophenyl Butyrate, *Sensors (Switzerland)* 15: 2798–2811, doi: 10.3390/s150202798.

Price NL, Singh AK, Rotllan N, Goedeke L, Canfrán-duque A, Diaz-ruiz A, Araldi E, Baldán Á, Camporez J, Suárez Y, Rodeheffer MS, Shulman GI, Cabo R, De Fernández-hernando C., 2018, Genetic Ablation of miR-33 Increases Food Intake, Enhances Adipose Tissue Expansion, and Promotes Obesity and Insuline Resistance, *Cell Rep* 22(8): 2133–2145, doi: 10.1016/j.celrep.2018.01.074.

Sarma S, Sockalingam S, Dash S, 2021, Obesity As A Multisystem Disease: Trends In Obesity Rates And Obesity-Related Complications, *Diabetes Obes Metab* 23 (Suppl 1): 3–16, doi: 10.1111/dom.14290.

Seyedan A, Alshawsh MA, Alshagga MA, Koosha S, Mohamed Z, 2015, Medicinal Plants and Their Inhibitory Activities against Pancreatic Lipase: A Review, Evid Based Complement Alternat Med, doi: 10.1155/2015/973143.

Wulansari ED, Wahyuono S, Marchaban M, Widyarini S, 2018, Topical Anti-inflammatory Activity of Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) Ethanolic Extract in Mice Induced by Carrageenan, Maj Obat Tradis 23: 122 doi: 10.22146/mot.34640.