

UJI *IN VITRO* EKSTRAK AIR DAN ETANOL DARI BUAH ASAM GELUGUR, RIMPANG LENGKUAS, DAN KENCUR SEBAGAI INHIBITOR AKTIVITAS LIPASE PANKREAS

Dyah Iswantini^{*1,2}, Latifah K. Darusman^{1,2}, Ana Fitriyani²

¹Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Jl. Taman Kencana No. 3 Bogor
Telp/Fax: 0251-8373561/ 0251-8347525

²Departemen Kimia FMIPA IPB Gedung Fapet W2 Lt 4-5, Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

Abstract

Asam gelugur fruits of *Garcinia* often used to reduce body weight. *Lengkuas* and *kencur* are traditional herbal that potential for antiobesity because they could reduce the level of phospholipids, triglycerides, and cholesterol. The aim of the research was to evaluate the potencies of these herbal as antiobesity by measurement of their water and ethanol extracts capabilities as *in vitro* inhibitor of pancreatic lipase activity. The water and ethanol extracts of *asam gelugur* fruits contained saponins and alkaloids, respectively. The water extract of *lengkuas* rhizomes contained alkaloids, flavonoids, saponins, and quinones, while the ethanol extract contained alkaloids, flavonoids, saponins, and steroids. The water extract of *kencur* rhizomes contained saponins and quinones, while the ethanol extract contained alkaloids, flavonoids, steroids, and quinones. The highest inhibitory effect of all extracts was obtained from the ethanol extract of *asam gelugur* fruits with value of 86.3% at 150 ppm. The highest inhibitory effect of *lengkuas* extracts was from the ethanol extract at 200 ppm (56.2%). The highest inhibitory effect of *kencur* was showed by the ethanol extract with the value 37.6% at 300 ppm. These values were higher than the inhibitory effect of the positive control (*Xenical*[®]) at 100 ppm (10.6%).

Kata kunci: asam gelugur, lengkuas, kencur, inhibitory effect, antiobesity

1. PENDAHULUAN

Kegemukan saat ini menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat karena dapat menurunkan produktivitas kerja, mengganggu penampilan, dan menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes melitus tipe 2, aterosklerosis, kanker, dan hipertensi. Oleh karena itu, para penderita kegemukan atau obesitas rela melakukan berbagai upaya untuk menurunkan bobot badan mereka, mulai dari mengatur kembali pola makan, berolah raga, mengonsumsi berbagai obat penurun bobot badan atau pelangsing, hingga melakukan pembedahan.

Sebagian besar obat penurun bobot badan atau pelangsing sintetik di pasaran, seperti sibutramin dan orlistat dapat menimbulkan efek samping yang tidak baik bagi kesehatan (Downey *et al.* 2005) sehingga masyarakat lebih memilih mengonsumsi pelangsing dari tanaman obat karena dinilai lebih aman dan harganya lebih terjangkau. Mekanisme obat pelangsing salah satunya adalah menghambat penyerapan lemak melalui penghambatan aktivitas lipase pankreas sebagai

sumber utama kelebihan kalori. Hal ini dikarenakan peningkatan aktivitas lipase pankreas mampu meningkatkan jumlah monogliserida dan asam lemak yang diserap tubuh, penyebab kegemukan.

Inhibitor lipase yang pertama ditemukan adalah orlistat, suatu turunan lipstatin yang diisolasi dari bakteri *Streptomyces toxitricini* (Hadvary *et al.* 1988). Inhibitor lipase dari beberapa ekstrak tanaman antara lain ekstrak herba *Cassia mimosoides* (Yamamoto *et al.* 2000) biji kacang kedelai (Satouchi *et al.* 1998), biji anggur (Moreno *et al.* 2003), rimpang jahe (Han *et al.* 2005). Selain itu, buah *Kochia scoparia* (Han *et al.* 2006), buah *Juglans mandshurica* (Han *et al.* 2007), akar *Platycodon grandiflorum* (Xu *et al.* 2005), serta akar tanaman *Actinidia arguta* (Jang *et al.* 2008) juga diketahui mampu menghambat lipase pankreas secara *in vitro*.

Penelitian dari tanaman obat Indonesia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun jati belanda (Iswantini *et al.* 2003a), dan ekstrak tunggal dan gabungan dari bangle (Iswantini *et al.* 2003b) secara *in vitro* mampu menghambat lipase yang diisolasi dari *Rhizopus arrhizus*. Ekstrak

etanol daun jati belanda secara *in vivo* juga mampu menghambat aktivitas lipase serum *Rattus norvegicus* (Rahardjo *et al.* 2005). Tanaman lain yang berpotensi sebagai antiobesitas adalah *Garcinia cambogia* karena banyak mengandung asam hidroksisitat (Heysmfield *et al.* 1998). Bahkan telah terdapat paten mengenai pengaturan bobot badan menggunakan ekstrak *Garcinia cambogia* dan *Gymnema sylvestre* serta beberapa senyawa lainnya (Alviar *et al.* 2002). Jenis *Garcinia* lain yang ditemui di Indonesia dengan kandungan utama dan potensi yang sama adalah asam gelugur (*Garcinia atroviridis*).

Lengkuas dan kencur sebagai tanaman obat tradisional yang mudah didapat dan murah juga berpotensi sebagai antiobesitas karena ekstrak etanolnya secara efektif dapat menurunkan kolesterol, trigliserida, serta fosfolipid total pada jaringan dan serum (Padikkala *et al.* 1997) Senyawaan flavonoid dan terpenoid yang terkandung dalam rimpang lengkuas, serta adanya saponin, polifenol, dan flavonoid dalam rimpang kencur diharapkan mendukung potensi tersebut. Akan tetapi, mekanisme penurunan bobot badan oleh buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur melalui penghambatan terhadap aktivitas lipase pankreas belum diketahui.

Penelusuran melalui situs paten Amerika (www.uspto.gov) menunjukkan beberapa hasil penelitian mengenai penanganan obesitas yang telah dipatenkan antara lain sinergitas antara ekstrak rimpang jahe dengan beberapa tanaman obat lainnya (Pushpangadan *et al.* 2006), serta gabungan ekstrak teh hijau, ginseng, dan bahan-bahan kimia seperti kafein dan garam-garam kalsium sebagai suplemen penurunan bobot badan (Yatcilla *et al.* 2005). Akan tetapi, paten yang memuat informasi mengenai ekstrak buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur sebagai antiobesitas melalui inhibisi aktivitas lipase pankreas belum ditemukan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi daya inhibisi ekstrak air dan etanol dari buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur terhadap aktivitas lipase pankreas dalam potensinya sebagai antiobesitas.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat yang digunakan adalah buah asam gelugur kering diperoleh dari Medan, sedangkan rimpang lengkuas dan kencur kering diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro). Lipase pankreas yang digunakan adalah lipase pankreas manusia dengan kode Sigma L9780-50 *units*. Bahan-bahan yang digunakan adalah Xenical[®], asam oleat, minyak wijen, telur udang *A. salina*, kuersetin, pereaksi tembaga, pereaksi Meyer, Wagner, Dragendorf, dan

Lieberman Buchard. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis U-2800 Hitachi.

2.1. Ekstraksi

Simplisia buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur diekstrak menggunakan pelarut air dan etanol 70% secara maserasi dengan nisbah antara contoh dengan pelarut 1:8.

2.2. Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap keenam ekstrak meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan triterpenoid/steroid.

2.3. Uji toksisitas ekstrak (Meyer *et al.* 1982).

Uji toksisitas terhadap keenam ekstrak dilakukan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Nilai konsentrasi letal 50% (LC₅₀) ditentukan dengan metode analisis probit dengan selang kepercayaan 95%. Semua ekstrak selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai inhibitor lipase pankreas secara *in vitro* dengan konsentrasi dibawah nilai LC₅₀.

2.4. Uji *in Vitro* Ekstrak sebagai Inhibitor Aktivitas Lipase Pankreas (Han *et al.* 2005).

Metode uji inhibisi yang digunakan berdasarkan pada metode yang digunakan oleh Han *et al.* (2005) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1 mL campuran ekstrak dengan berbagai konsentrasi, 10 µg albumin 10% (b/v), lipase pankreas murni dengan konsentrasi 1.4×10^{-4} µg/µL, dan bufer fosfat pH 8 dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40 °C selama 45 menit. Setelah itu ditambahkan kloroform sebanyak 3 mL. Larutan kemudian dipisahkan dengan sentrifus selama 5 menit. Lapisan kloroform kemudian diambil sebanyak 1.0 mL dan ditambahkan larutan kloroform-heptana (1:1) sebanyak 4 mL, lalu dikocok hingga homogen. Setelah homogen, ke dalam larutan ditambahkan pereaksi tembaga sebanyak 2.5 mL, dikocok selama 3 menit, lalu dimasukkan ke dalam sentrifus selama 10 menit. Setelah itu, lapisan kloroform diambil sebanyak 3 mL, kemudian larutan natrium dietilditiokarbamat 0.25% (v/v) dalam butanol ditambahkan sebanyak 0.25 mL hingga terbentuk larutan berwarna kuning. Selanjutnya, absorbans larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 435 nm. Absorbans yang diperoleh dikonversi hingga diperoleh nilai aktivitas enzim dan daya inhibisi ekstrak.

Kemudian ekstrak dengan nilai daya inhibisi tertinggi dari setiap tanaman ditentukan kadar flavonoid totalnya (berdasarkan data uji fitokimia).

2.5. Penentuan Kadar Flavonoid Total (Nobre *et al.* 2005).

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan berdasarkan metode yang digunakan dalam Nobre *et al.* (2005).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur diekstrak dengan air dan etanol 70% secara maserasi dengan nisbah 1:8 antara contoh dan pelarut. Rendemen yang diperoleh dari ekstrak air ketiga contoh masing-masing sebesar 23.7, 10.1, dan 4.78%, sedangkan ekstrak etanolnya memiliki rendemen secara berurutan untuk ketiga contoh adalah sebesar 26.2, 21.1, dan 7.56%. Selanjutnya ekstrak kasar tersebut diuji fitokimia dan toksisitasnya dengan menentukan nilai LC₅₀ nya.

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap buah asam gelugur (Tabel 1) menunjukkan bahwa buah asam gelugur kering hanya mengandung alkaloid dan saponin. Saponin dalam buah gelugur diduga lebih banyak terdapat dalam bentuk glikosida sehingga hanya dapat terekstrak dengan air, sedangkan alkaloidnya lebih terekstrak oleh etanol. Tidak terdeteksinya senyawa metabolit sekunder lainnya dalam buah asam gelugur kering maupun dalam ekstrak air dan etanolnya dapat disebabkan kadar senyawa-senyawa tersebut di dalam buah asam gelugur kering dan ekstraknya sangat sedikit atau berkurang akibat pengeringan.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia buah asam gelugur

Golongan senyawa	Asam gelugur kering	Ekstrak	
		Air	Etanol
Alkaloid	+	-	++
Saponin	+	+	-
Tanin	-	-	-
Flavonoid	-	-	-
Triterpenoid	-	-	-
Steroid	-	-	-
Kuinon	-	-	-

Marga *Garcinia* lainnya, yaitu *G. kola* mengandung senyawa aktif biflavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan (Harborne. 1987). Asam gelugur baik dalam bentuk kering, ekstrak air, maupun ekstrak etanol tidak terdeteksi adanya flavonoid. Jenis tanaman yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan kandungan senyawa

metabolit sekundernya walaupun masih dalam satu marga. Perbedaan ini juga dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat tanaman tersebut tumbuh. Jumlah flavonoid yang sangat sedikit dalam ekstrak dapat menyebabkan flavonoid tidak terdeteksi pada uji kualitatifnya.

Uji fitokimia terhadap rimpang lengkuas (Tabel 2) dan kencur (Tabel 3) menunjukkan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam lengkuas dan kencur yang terekstrak dengan etanol lebih banyak daripada yang terekstrak dengan air secara kualitatif. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa lengkuas kering mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan kuinon.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia rimpang lengkuas

Golongan senyawa	Lengkuas kering	Ekstrak	
		Air	Etanol
Alkaloid	+	+	+
Saponin	++	+++	++
Tanin	-	-	-
Flavonoid	+++	++	+++
Triterpenoid	+	-	-
Steroid	-	-	+
Kuinon	+	+	-

Tabel 3. Hasil uji fitokimia rimpang kencur

Golongan senyawa	Kencur kering	Ekstrak	
		Air	Etanol
Alkaloid	+	-	+
Saponin	++++	++++	-
Tanin	-	-	-
Flavonoid	++	-	+
Triterpenoid	-	-	-
Steroid	++	-	++
Kuinon	+	+	+

Hasil uji fitokimia tersebut sejalan dengan yang dikemukakan BPOM (2004) bahwa lengkuas mengandung flavonoid dan terpenoid yang berupa minyak atsiri. Flavonoid lengkuas terdiri atas kaemferol, galangin, kuersetin dan mirisetin. Uji steroid menunjukkan hasil yang negatif pada serbuk lengkuas kering, akan tetapi positif pada ekstrak etanolnya. Hal ini dapat terjadi karena jumlah steroid yang merupakan salah satu jenis triterpenoid dalam lengkuas sangat sedikit dan jenis steroid tersebut bersifat cenderung nonpolar sehingga tidak terekstrak oleh air melainkan oleh etanol.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, serbuk kencur kering mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan kuinon. Saponin kencur terekstrak baik oleh air karena sifatnya yang polar. Busa yang

dihasilkan dari hasil uji saponin pada ekstrak air kencur dan serbuk keringnya lebih banyak dan stabil dibandingkan dengan ekstrak contoh lainnya sehingga diduga kencur mengandung saponin dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan kelima ekstrak lainnya secara kualitatif.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui bioaktivitas dan toksisitas dari setiap ekstrak sebelum dilakukan uji aktivitas. Uji ini dilakukan menggunakan larva udang karena lebih ekonomis dan cukup akurat sebagai uji toksisitas awal. Hasil uji toksisitas berupa nilai konsentrasi letal 50% (LC₅₀) akan digunakan untuk menentukan batas konsentrasi ekstrak pada uji aktivitasnya sebagai inhibitor lipase pankreas. Nilai LC₅₀ ekstrak contoh tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai LC₅₀ ekstrak air dan etanol contoh terhadap larva udang

Contoh	Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
Asam gelugur	Air	117.63
	Etanol	103.64
Lengkuas	Air	547.23
	Etanol	1445.5
Kencur	Air	1142.7
	Etanol	47.974

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak etanol kencur memiliki kemungkinan kandungan bioaktivitas yang paling tinggi karena memiliki nilai LC₅₀ yang paling rendah, yaitu 47.974 ppm. Suatu ekstrak tanaman dapat dikatakan memiliki bioaktivitas yang tinggi apabila memiliki nilai LC₅₀ < 1000 ppm (Meyer *et al.* 1982). Hubungan antara nilai LC₅₀ terhadap aktivitas (daya inhibisi) suatu ekstrak.

Uji *in Vitro* Ekstrak sebagai Inhibitor Aktivitas Lipase Pankreas

Metode uji inhibisi yang digunakan mengacu pada metode yang digunakan oleh Han *et al.* (2005) dengan beberapa modifikasi. Uji aktivitas ini dilakukan pada kondisi optimum kinerja lipase pankreas, yaitu pada pH 8, suhu 40 °C, dan waktu inkubasi selama 45 menit. Aktivitas lipase ditentukan dengan mengukur laju asam oleat yang dihasilkan dari hidrolisis minyak wijen yang dinyatakan dalam µmol asam oleat/L menit dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 435 nm.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah Xenical[®] yang merupakan produk pelangsing komersial yang banyak digunakan masyarakat. Xenical[®] digunakan karena mempunyai kandungan utama orlistat (tetrahidrolipstatin) yang merupakan salah satu inhibitor lipase pankreas yang bersifat selektif irreversibel yang pertama kali ditemukan (Hadvary

*et al.*1988). Selain itu, telah diketahui bahwa orlistat menghambat lipase pankreas melalui mekanisme inhibisi nonkompetitif (Cariere *et al.* 2001). Uji inhibisi ini menggunakan lima ragam konsentrasi yang sama untuk semua ekstrak yaitu dari 100-300 ppm dengan interval 50 ppm. Ragam konsentrasi ini dimaksudkan untuk melihat hubungan penambahan konsentrasi ekstrak terhadap daya inhibisi yang dicapai. Bagi beberapa ekstrak diketahui ragam konsentrasi tersebut melebihi nilai LC₅₀nya. Hal ini dilakukan karena hubungan antara nilai LC₅₀ dengan nilai daya inhibisi ekstrak belum diketahui secara pasti.

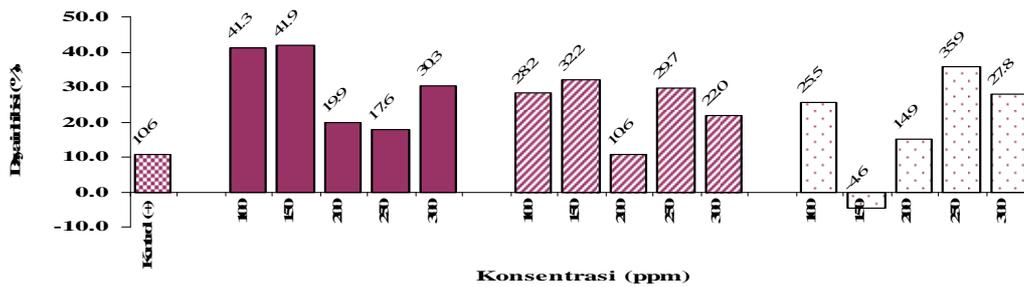
Daya inhibisi ekstrak dengan pelarut yang sama pada kelima ragam konsentrasi (Gambar 1 dan 2) memperlihatkan bahwa ekstrak etanol dan air ketiga tanaman cenderung berpotensi sebagai inhibitor aktivitas lipase pankreas karena telah dapat menghambat aktivitas lipase pankreas mulai dari konsentrasi 100-300 ppm. Kemampuan ini menyerupai kemampuan CT-II, suatu fraksi dari ekstrak air tanaman *Cassia mimosoides* yang mampu menghambat 50% aktivitas lipase pankreas porsin (0,071 mg/mL) pada konsentrasi 100 ppm (Yamamoto *et al.* 2000). Berdasarkan gambar tersebut diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi keenam ekstrak dengan daya inhibisinya terhadap aktivitas lipase pankreas tidak linier. Kenaikan konsentrasi ekstrak tidak selalu diiringi dengan kenaikan daya inhibisinya. Hal ini disebabkan ekstrak yang digunakan masih berupa ekstrak kasar yang terdiri atas beberapa golongan senyawa yang diduga memiliki respon berbeda yang saling mempengaruhi satu sama lain, baik berupa pengaruh sinergis maupun antagonis dalam menghambat aktivitas lipase pankreas pada konsentrasi tertentu.

Nilai konsentrasi ekstrak pada daya inhibisi maksimum (Tabel 5) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah asam gelugur memiliki daya inhibisi yang paling tinggi dari semua ekstrak contoh, yaitu sebesar 86.3% pada konsentrasi 150 ppm.

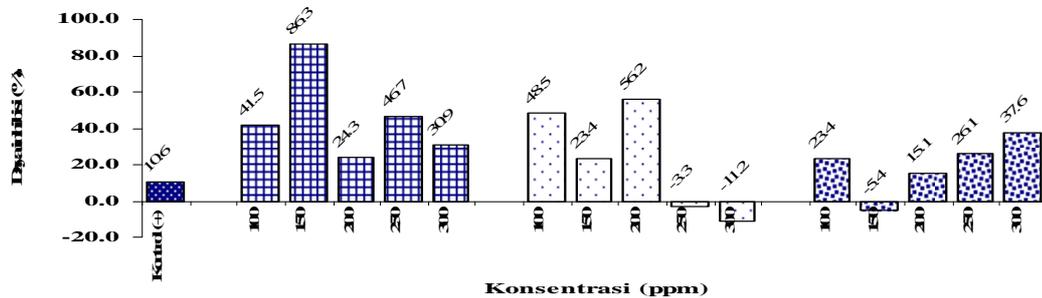
Nilai-nilai daya inhibisi tersebut lebih tinggi daripada yang dicapai oleh kontrol positif (Xenical[®]) yang hanya mampu menghambat lipase pankreas sebesar 10.6% pada konsentrasi 100 ppm.

Kadar Flavonoid Total Ekstrak

Metode ini berdasarkan pada metode yang diacu oleh Nobre *et al.* (2005) dengan beberapa modifikasi. Penentuan kadar flavonoid total ekstrak dengan daya inhibisi tertinggi didasarkan pada hasil uji fitokimia. Kadar flavonoid ini ditentukan untuk mengetahui jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang diduga berpotensi atau bahkan merupakan senyawa yang paling berperan sebagai inhibitor lipase pankreas.



Gambar 1. Grafik daya inhibisi kontrol positif, ekstrak air buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur terhadap aktivitas lipase pankreas. ▨ : kontrol positif; ▩ : ekstrak air asam gelugur; ▧ : ekstrak air lengkuas; ▤ : ekstrak air kencur.



Gambar 2. Grafik daya inhibisi kontrol positif, ekstrak etanol buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur terhadap aktivitas lipase pankreas. ▣ : kontrol positif; ▧ : ekstrak air asam gelugur; ▨ : ekstrak air lengkuas; ▤ : ekstrak air kencur.

Sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya, ekstrak etanol ketiga contoh mampu memberikan hambatan yang lebih tinggi daripada ekstrak airnya. Berdasarkan uji fitokimia ekstrak etanol asam gelugur tidak mengandung flavonoid sehingga penentuan kadar flavonoid total hanya dilakukan pada ekstrak etanol lengkuas dan kencur.

Flavonoid pada ekstrak etanol kencur memiliki absorbans 0,038 sehingga diperoleh kadar totalnya sebesar 0.04 %, lebih kecil daripada dalam ekstrak etanol lengkuas. Perolehan analat hasil analisis kuantitatif digolongkan dalam 3 kelompok, yaitu konstituen utama, minor, dan jejak atau runut (Day & Underwood. 2001). Hasil penentuan flavonoid total ekstrak etanol lengkuas dan kencur ini termasuk ke dalam konstituen minor karena memiliki kadar di antara 0.01-1%. Nilai kadar flavonoid total tersebut hampir sama dengan menggunakan teknik spektroskopi IR dan kemometrik pada tanaman tempuyung dari tiga daerah yang berbeda, yaitu antara 0.62-0.82% (Wahyuningrum. 2006). Nilai kadar flavonoid total yang diperoleh tersebut tidak menunjukkan kadar flavonoid total dari contoh sebenarnya, akan tetapi hanya kadar flavonoid total yang terekstrak oleh pelarut, yaitu etanol 70% secara maserasi.

4. KESIMPULAN

Ekstrak air dan etanol dari buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur berpotensi sebagai antiobesitas melalui inhibisi aktivitas lipase pankreas dengan daya inhibisi tertinggi dicapai oleh ekstrak etanol buah asam gelugur sebesar 86.3% pada konsentrasi 150 ppm yang diikuti oleh ekstrak etanol lengkuas 200 ppm (56.2 %) dan ekstrak etanol kencur 300 ppm (37.6 %). Daya inhibisi tersebut melebihi daya inhibisi kontrol positif (Xenical®) 100 ppm (10.6 %). Flavonoid total dalam ekstrak etanol lengkuas dan kencur yang diduga berperan dalam proses inhibisi tersebut termasuk dalam konstituen minor.

DAFTAR PUSTAKA

Alviar B *et al.* 2002, penemu; Access Business Group International LLC. 2 Juli 2002. Diet composition and method of weight management. *United States Patents* No. 6413545.
 [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Volume 1. Jakarta: Badan POM RI.

- Cariere F *et al.* 2001. Inhibition of gastro-intestinal lipolysis by Orlistat™ during digestion of test meals in healthy volunteers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 281(1): G16-G28.
- Day RA, Underwood AL. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Iis Sopyan, penerjemah. Ed ke-6. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari *Quantitative Analysis*.
- Downey M, JS Stern, Kazaks A. 2005. Future and implications of reimbursement for obesity treatment. <http://www.clevelandclinic.org/health/healthinfo/docs/2400/2451.asp?index=9472>. [21 Feb 2008].
- Hadvary P, Lengsfeld H, Wolfer H. 1988. "Inhibition of pancreatic lipase in vitro by the covalent inhibitor tetrahydroplastin". *J Biochem*, 256: 357-361.
- Han LK *et al.* 2005. "Antiobesity action of *Zingiber officinale* Roscoe". [abstrak]. *Yakugaku Zasshi* 125(2): 213-217.
- Han LK *et al.* 2006. "Reduction of fat storage in mice fed a high-fat diet long term by treatment with saponins prepared from *Kochia scoparia* fruit". [artikel]. *Phytoteraphy Research*. 20 (10): 877-882.
- Han LK *et al.* 2007. "Inhibitory effect of compounds isolated from fruit of *Juglans mandshurica* on pancreatic lipase". [abstrak]. *J of Natural Medicine*. 61(2):184-186.
- Harborne, J.B., 1987. *Phytochemical Methods*, Chapman and Hall, London., pp: 97.
- Iswantini D, Darusman LK, Gunawan E, Nurulita Y. 2003a. "Identifikasi senyawa bioaktif daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) sebagai pelangsing dengan menggunakan metode enzimatik". *Gakuryoku* 9(2):138-142.
- Iswantini D, Darusman K, Febriany S. 2003b. "Pengaruh ekstrak tunggal dan gabungan dari bangle terhadap aktivitas enzim lipase dalam kajian sebagai pelangsing". *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIV*; Bogor, 19-20 September 2003. Pusat Studi Biofarmaka LP-Institut Pertanian Bogor; 2003. 276-282.
- Jang DS *et al.* 2008. "A new pancreatic inhibitor isolated from the roots of *Actinidia arguta*". *Arc Parm Res* 31(5) :666-670.
- Meyer B *et al.* 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45:31-34.
- Nobre CP, Raffin FN, Moura TF. 2005. "Standardization of extracts from *Momordica charantia* L. (*Cucurbitaceae*) by total flavonoids content determination. *Acta Farm Bonaerense* 24(4):562-566.
- Padikkala J, Achuthan CR. 1997. "Hiperlipidemic effect of *Alpinia galanga* (Rasna) and *Kaemferia galanga* (Kachoori)". *Indian J of Chemical Biochemistry* 12(1):55-58.
- Pushpangadan P *et al.*, 2006. penemu; Council of Scientific and Industrial Research. 24 Jan 2006. Synergistic composition for treating hiperlipidemia. *United States Patents* No. 6989165.
- Rahardjo SS, Ngatijan, Pramono S. 2005. "Influence of ethanol extract of jati belanda leaves (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) on lipase enzyme activity of *Rattus norvegicus* serum". *Inovasi*. 4(17):48-53.
- Satouchi K *et al.* 1998. "Lipoxygenase-1 from soybean seed inhibiting the activity of pancreatic lipase". *JSBA*, 62(8):1498-1503.
- Wahyuningrum A. 2006. Penentuan flavonoid total tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) secara cepat dengan teknik spektroskopi IR dan kemometrik [skripsi]. Bogor: Jurusan Kimia, FMIPA, IPB.
- Xu BJ, Han LK, Zheng YN, Lee JH, Sung CK. 2005. "In vitro inhibitory effect of triterpenoidal saponins from *Platycodi radix* on pancreatic lipase". *Arch Pharm Res* 28(2):180-185.
- Yamamoto M *et al.* 2000. "Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, Nomame Herba, on rats fed a high-fat diet". *Int J of Obesity*, 24:758-764.
- Yatcilla M, Krumhar K, Thompson J, 2008. penemu; Herbalife International, Inc. 12 Feb 2008. herbal supplement to support weight loss. *US Patent* No. 7329419.