

Penelusuran Senyawa Antioksidan dan Penghambat Lipase Pankreas Secara *In Vitro* Rimpang *Kaempferia rotunda* Linn.

Dyah Aryantini, Subagus Wahyuono, Puji Astuti, Nunung Yuniarti

Obesitas merupakan suatu keadaan kelebihan berat badan dengan BMI > 30 kg/m². Mekanisme terapi antiobesitas adalah mengurangi nafsu makan melalui stimulasi SSP dan menghambat enzim lipase pankreas menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Timbunan asam lemak bebas dalam jaringan adiposit akan memicu sintesis ROS dan terjadinya stress oksidatif. Tanaman *Kaempferia rotunda* memiliki aktivitas sebagai antiobesitas dengan mekanisme penghambat lipase pankreas pada level ekstrak dan belum dieksplorasi pada tingkat fraksi dan senyawa hasil isolasi. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi senyawa antioksidan dan penghambat enzim lipase secara *in vitro* dari ekstrak etanol *Kaempferia rotunda*.

Ekstrak etanol dihasilkan dengan maserasi dan remaserasi, proses isolasi dipandu dengan dua uji aktivitas, yaitu uji penangkapan radikal DPPH dan penghambatan enzim lipase secara *in vitro*. Prosedur pemisahan menggunakan metode ekstraksi padat-cair, KCV dan KLTP. Karakterisasi dan identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan instrumen spektroskopi. Senyawa hasil isolasi selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antioksidan dengan metode ABTS, DPPH, dan FRAP dan sebagai penghambat enzim lipase pankreas.

Hasil isolasi yang dipandu dengan uji penghambatan enzim lipase secara *in vitro* menghasilkan tiga senyawa yaitu Ea.C2, Ea.C4 dan Ea.C5 yang teridentifikasi sebagai *crotopoxide* (juga diisolasi dari uji radikal DPPH), *3-acetoxybutane-1,4-dyl dibenzoate* dan *1-acetoxyethane-1,2-dyl dibenzoate*. Konsentrasi penghambatan (IC₅₀) terhadap radikal ABTS, DPPH dan FRAP berturut-turut adalah *crotopoxide* (38,91±0,59; 47,45±0,60; 26,74±1,23 µg/mL), *3-acetoxybutane-1,4-dyl dibenzoate* (74,64±1,13; 82,02±2,13; 39,77±0,81 µg/mL), *1-acetoxthane-1,2-dyl dibenzoate* (30,13±0,89; 31,01±0,49; 23,99±0,90 µg/mL), ekstrak (176,28±9,86; 184,93±2,79; 133,47±8,68 µg/mL) dan kuersetin (7,20±0,26; 19,62±0,19; 4,16±0,18 µg/mL). Konsentrasi penghambatan (IC₅₀) lipase pankreas masing-masing isolat adalah *crotopoxide* (1206,301±41,88 µg/mL), *3-acetoxybutane-1,4-dyl dibenzoate* (20,85±2,55 µg/mL), *1-acetoxyethane-1,2-dyl dibenzoate* (56,97±11,53 µg/mL), ekstrak (1244,34 ±88,56 µg/mL) dan *orlistat* (6,12±0,40 µg/mL). Berdasarkan prediksi *Lipinski's rule of five* dan *pkCSM*, ketiga isolat dapat menjadi rujukan awal obat antiobesitas dan antioksidan oral.

Kata kunci: *bioassay guided isolation*, lipase inhibitor, ester aromatik, *Kaempferia rotunda*

Exploration of In Vitro Antioxidant And Pancreatic Lipase Inhibitory Compound *Kaempferia rotunda* Linn. Rhizome

Dyah Aryantini, Subagus Wahyuono, Puji Astuti, Nunung Yuniarti

Obesity is a condition of overweight with a BMI > 30 kg/m². The mechanism of antiobesity therapy is to reduce appetite through CNS stimulation and inhibiting the pancreatic lipase enzyme from hydrolyzing triglycerides into free fatty acids and glycerol. Accumulation of free fatty acids in adipocyte tissue will trigger ROS synthesis and oxidative stress. The *Kaempferia rotunda* plant has anti-obesity activity by inhibiting pancreatic lipase at the extract level and has not been explored at the fraction and isolated compound level. The aim of this research was to isolate antioxidant compounds and lipase enzyme inhibitors in vitro from the ethanol extract of *Kaempferia rotunda*.

Ethanol extract is produced by maceration and remaceration, the isolation process is guided by two activity tests, namely the DPPH radical scavenging test and *in vitro* inhibition of the lipase enzyme. The separation procedure uses solid-liquid extraction methods, VLC and P-TLC. Characterization and identification of the isolated compounds were carried out using spectroscopic instruments. The isolated compounds were then tested for their activity as antioxidants using the ABTS, DPPH, and FRAP methods and as lipase inhibitor.

The isolation results guided by the *in vitro* lipase enzyme inhibition test produced three compounds, namely Ea.C2, Ea.C4 and Ea.C5 which were identified as crotepoxide (also isolated from the DPPH radical test), 3-acetoxybutane-1,4-dyl dibenzoate and 1-acetoxyethane-1,2-dyl dibenzoate. Inhibitor Concentration (IC₅₀) on ABTS, DPPH and FRAP radicals respectively are crotepoxide (38.91±0.59, 47.45±0.60, 26.74±1.23 µg/mL), 3-acetoxybutane-1,4-dyl dibenzoate (74.64±1.13, 82.02±2.13, 39.77±0.81 µg/mL), 1-acetoxyethane-1,2-dyl dibenzoate (30.13±0.89, 31.01±0.49, 23.99±0.90 µg/mL), extract (176.28±9.86, 184.93±2.79, 133.47±8.68 µg/mL) and quercetin (7.20±0.2, 19.62±0.19, 4.16±0.18 µg/mL). Meanwhile, lipase inhibitor activity of each isolate was crotepoxide (1206.301±41.88 µg/mL), 3-acetoxybutane-1,4-dyl dibenzoate (20.85±2.55 µg/mL), 1-acetoxyethane-1,2-dyl dibenzoate (56.97±11.53 µg/mL), extract (1244.34 ±88.56 µg/mL) and orlistat (6.12±0.40 µg/mL)

Based on Lipinski's rule of five and pkCSM predictions, the three isolates could be initial references for anti-obesity drugs and oral antioxidants.

Key words: bioassay guided isolation, lipase inhibitor, aromatic ester, *Kaempferia rotunda*