

Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Flavonoid dari Buah Delima (*Punica granatum L.*) sebagai Inhibitor Lipase Pankreas

Halimatus Sa'diyah¹, Muntholib¹, Subandi^{1*},

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang,

*E-mail: subandi.fmipa@um.ac.id

Abstrak: Obesitas telah menjadi masalah global, karena dapat memicu berbagai macam penyakit kronis seperti diabetes mellitus, penyakit jantung dan sebagainya. Salah satu obat anti obesitas ialah orlistat yang bekerja sebagai inhibitor lipase pankreas. Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa senyawa flavonoid juga mampu menghambat lipase pankreas, sementara buah delima juga kaya akan flavonoid. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis flavonoid dalam buah delima serta mengetahui daya inhibisinya terhadap lipase pankreas secara *in vitro*, relatif terhadap orlistat.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, meliputi: (1) ekstraksi, partisi dan isolasi flavonoid dari buah delima, (2) uji flavonoid (4) uji aktivitas inhibisi terhadap lipase pankreas, (5), identifikasi senyawa flavonoid dengan spektrofotometri UV-Vis, FT-IR, dan LC-MS,

Hasil penelitian menunjukkan bahwa salah satu senyawa aktif dalam isolat flavonoid dari buah delima adalah Kuersetin dengan daya inhibisi 103,8 kali dibanding Orlistat pada massa yang sama.

Kata kunci: inhibitor lipase pankreas, flavonoid buah delima, kuersetin, anti obesitas

Abstract: Obesity has become a global problem, because it can trigger various chronic diseases such as diabetes mellitus, heart disease and so on. One anti-obesity drug is orlistat which works as a pancreatic lipase inhibitor. Previous research has proven that flavonoid compounds can also inhibit pancreatic lipase, while pomegranates are also rich in flavonoids. Therefore this study aims to isolate and identify the type of flavonoids in pomegranates and determine their inhibitory power against pancreatic lipase *in vitro*, relative to orlistat.

This research consists of several stages, including: (1) extraction, partitioning and isolation of flavonoids from pomegranates, (2) flavonoid tests (4) tests of inhibitory activity against pancreatic lipase, (5), identification of flavonoid compounds by UV-Vis spectrophotometry, FT-IR, and LC-MS,

The results showed that one of the active compounds in flavonoid isolates from pomegranates was Quercetin with 103.8 times inhibitory power compared to Orlistat in the same mass.

Keywords: pancreatic lipase inhibitor, flavonoid pomegranate, quercetin, anti obesity

Obesitas merupakan kondisi kelebihan lemak dalam tubuh yang dapat memicu berbagai penyakit. Menurut data WHO pada tahun 2014, lebih dari 200 juta pria dan 300 juta wanita mengalami obesitas. Obesitas dapat menjadi penyebab penyakit hipertensi, jantung koroner, diabetes melitus, penyakit pernafasan, dan penderita sering mengalami gangguan emosional (Khomsan, 2010: 90).

Salah satu cara mengobati obesitas yaitu mengkonsumsi Orlistat yang berfungsi menghambat penyerapan lemak oleh enzim lipase pankreas. Orlistat merupakan inhibitor

yang bersifat irreversible terhadap enzim lipase. Orlistat ini akan membentuk ikatan kovalen dengan situs serin aktif di lambung dan pankreas lipase, sehingga dapat menghambat aktivitas mereka dan mencegah lemak makanan dihidrolisis dan diserap. Akan tetapi dalam jangka panjang, konsumsi Orlistat menyebabkan efek samping seperti mual, diare, dan sering buang air besar (Mhatre, dkk., 2016). Adanya efek samping tersebut menyebabkan perlu dicari alternatif lain dalam menghambat enzim lipase pankreas.

Banyak penelitian yang telah dilakukan mengenai inhibitor lipase pankreas yang berasal dari bahan alam. Beberapa bahan alam yang dapat menurunkan berat badan antara lain Kedelai Hitam Varietas Detam 1 dan Daun Jati Belanda (Hidayat, dkk., 2014), mesokarp semangka (Subandi & Langitsari, 2011), dan ekstrak rimpang jahe (Han, dkk., 2005). Berbagai penelitian ini mendukung data mengenai berbagai macam bahan alam yang berpotensi sebagai inhibitor lipase pankreas.

Salah satu senyawa yang dapat menghambat enzim lipase pankreas adalah flavonoid. Flavonoid dapat ditemukan pada buah-buahan, salah satunya adalah buah delima. Ekstrak buah delima (jus), minyak biji, dan ekstrak bunga memiliki efek antidiabetes, anti-inflamasi, dan antioksidan (Al-Muammar & Khan, 2012). Menurut Viuda-Martos, dkk., (2010), jus buah delima mengandung katekin dan kuersetin, sedangkan pada kulit buahnya mengandung luteolin dan kuersetin.

METODE

Desain penelitian ini adalah deskripsi laboratories. Sampel yang digunakan adalah buah delima putih. Peralatan yang digunakan yaitu blender, Erlenmeyer 100 mL, kertas saring halus, neraca analitik Shimadzu ATX224 (0,0001 g), *autoclaf*, *rotary evaporator* (Büchi Rotavapor R-114), *sentrifuge*, spatula, batang pengaduk, tabung reaksi, corong pisah 100 mL, corong kaca, pipet tetes, plat tetes, gelas beaker 50 mL, gelas ukur 10 mL, labu takar 50 mL; 100 mL; 500 mL; 1000 mL, *micro pipet* 100 μ L–1000 μ L, *microtipe* 100 μ L, *microtube* 1,5 mL, mikroburet, pipa kapiler, *vortex*(Dragon Lab mx-s), *shaker*, *chamber*, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis), FT-IR (Shimadzu Type IR Prestige-21), LC-MS/MS (MassLynx 4.1 SCN 884 Xevo G2-S QToF/Xevo G2-S Tof), *software* PyMol (*Python Molecular Viewer*), PyRx 0,8 dan *Discovery Studio* 4,1. Bahan-bahan yang digunakan yaitu buah delima putih, etanol 70%, akuades, n-heksana *pa*, kloroform *pa*, etil asetat *pa*, HCl 37%, pH meter, minyak zaitun (Mustika Ratu), kapsul Orlistat 120 mg generik (Xenical), plat *silica gel* G₆₀F₂₅₄ (Merck), lipase pankreas babi (Sigma-Aldrich), indikator pp, NaOH *pa*, CaCl₂*pa*, gum arabik, NaH₂PO₄*pa*, Na₂HPO₄*pa*, asam oksalat *pa*, dan metanol *pa*.

Ekstraksi buah delima, dimulai dengan sari buah dan biji diblender dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dan air. Sampel dimaserasi selama 2x24 jam disertai pengadukan berkala menggunakan *shaker*. Setelah proses maserasi selesai, larutan disaring menggunakan corong *Buchner*. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak kental buah delima.

Partisi Ekstrak. Ekstrak kental hasil rotavapor kemudian diambil 5 mL untuk dipartisi menggunakan larutan n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Hasil dari partisi ini diperoleh ekstrak etanol termurnikan.

Isolasi senyawa aktif dengan KLT. Ekstrak etanol termurnikan diisolasi dengan metode KLT (kualitatif dan preparativ) dengan eluen yang sesuai. Pada KLT kualitatif menggunakan pelarut etil asetat:metanol (0,1:0,7) (v/v). Sedangkan pada KLT preparativ juga menggunakan pelarut sama dengan perbandingan (6:42) (v/v). Noda yang tampak pada plat KLT dapat diamati dengan menggunakan lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₅ nm. Noda yang diperoleh selanjutnya dikerok, ditimbang dan dilarutkan dalam metanol. Hasil larutan kemudian *divortex* dan disentrifugasi. Filtrat yang didapat selanjutnya dikeringkan, ditimbang, lalu dilarutkan kembali dalam metanol, kemudian dibagi 5 dan masing-masing dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FT-IR, dan LC-MS/MS, serta diuji inhibisi secara *in vitro*.

Uji Inhibisi secara *in vitro*, dilakukan dengan **membuat substrat** terlebih dahulu, yaitu substrat minyak dan substrat air. Pembuatan dilakukan dengan cara mencampurkan 2,5 mL minyak zaitun dan 22,5 mL larutan gum arabik 10%, dihomogenkan selama 10 menit. Setelah homogen, larutan ditambahkan dengan 20 ml aquades, 15 ml larutan CaCl₂ 0,075 M, dan 10 mL larutan NaCl 3 M serta dihomogenkan kembali. Hasil larutan yang telah homogen dilakukan pengenceran pada labu takar 100 mL. Substrat air dibuat dengan langkah yang sama yaitu dengan mengganti minyak zaitun dengan 2,5 mL air.

Uji aktivitas lipase pankreas tanpa inhibitor. Pengujian dilakukan dengan cara ditambahkan substrat minyak/substrat air dimasukkan dalam Erlenmeyer sebanyak 25 mL. Ditambahkan buffer fosfat hingga pH larutan mencapai 7,5 selanjutnya ditambahkan 1 mg serbuk lipase *porcine* pankreas *type* II (Sigma). Larutan dihomogenkan selama 30 detik, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 25 menit. Reaksi dihentikan dengan dimasukkan dalam penangas air mendidih selama 10 menit serta didinginkan. Selanjutnya ditambahkan tiga tetes indikator *phenolftalein* (pp) dan dititrasi dengan larutan standar NaOH 0,1 N hingga perubahan warna menjadi merah muda yang konstan. Jika perubahan warna kurang terlihat, dikonfirmasi dengan mengukur pH larutan, yaitu sampai pH 8-10. (Volume titran NaOH substrat minyak= Vs; volume titran NaOH substrat air= Vsa). Aktivitas enzim dihitung dengan rumus berikut.

$$ALP = \frac{(V_m - V_a) \times N \times 1000}{V_s \times 25 \text{ menit}} \text{ (}\mu\text{Mol/menit)}$$

Keterangan

ALP	= aktivitas Lipase Pankreas
V _m	= volume NaOH yang dibutuhkan untuk titrasi substrat minyak (mL)
V _a	= volume NaOH yang dibutuhkan untuk titrasi substrat air (mL)
N _{NaOH}	= normalitas NaOH yang digunakan (mol/L)
1000	= faktor Konversi dari mmol ke μMol
V _s	= volume substrat yang diambil (25 mL)
25	= waktu inkubasi (menit)

Daya inhibisi suatu sampel terhadap lipase pankreas, dilakukan melalui uji aktivitas lipase pankreas dengan inhibitor itu. Prosedurnya sama seperti prosedur uji aktivitas tanpa inhibitor, tetapi dengan ditambahkan inhibitor (berupa: serbuk tablet orlistat, ekstrak atau isolat), bersamaan dengan penambahan enzim lipase pankreas. Selanjutnya daya inhibisi terhadap lipase pankreas (DILP) dihitung dengan rumus berikut.

$$DILP = \frac{ALP \text{ tanpa inhibitor} - ALP \text{ dengan inhibitor}}{ALP \text{ tanpa inhibitor}} \times 100\%$$

Sedangkan Daya Inhibisi Relativ terhadap Orlistat (DIO) dihitung dengan rumus berikut.

$$\% DIO = \frac{\text{daya inhibisi sampel}}{\text{daya inhibisi Orlistat}} \times 100\%$$

Oleh karena massa sampel inhibitor yang digunakan pada percobaan tidak sama dengan massa orlistat (120 mg), maka Daya Inhibisinya perlu dihitung pada massa yang sama dengan orlistat, menggunakan rumus berikut.

$$\text{Daya Inhibisi Orlistat} = \frac{\%DIO}{\text{massa sampel (mg)}} \times 120 \text{ mg}$$

HASIL

1. Hasil Ekstraksi dan Partisi

Hasil ekstraksi buah delima yang kemudian dilanjutkan dengan partisi menggunakan heksan, kloroform dan etil asetat dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan partisi sampai menjadi Ekstrak etanol termurnikan

Sampel	Massa Awal (g)	Ekstrak etanol hasil rotavapor		Ekstrak Etanol Termurnikan	
		Massa (g)	Persentase (%)	Massa (g)	Persentase (%)
Buah dan Biji	550,0087	48,6580	8,84	11,7746	2,14

Jadi untuk mendapatkan ekstrak etanol yang termurnikan yang diperoleh hanya sekitar 2% dari massa buah dan biji delima asalnya.

2. Hasil Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid

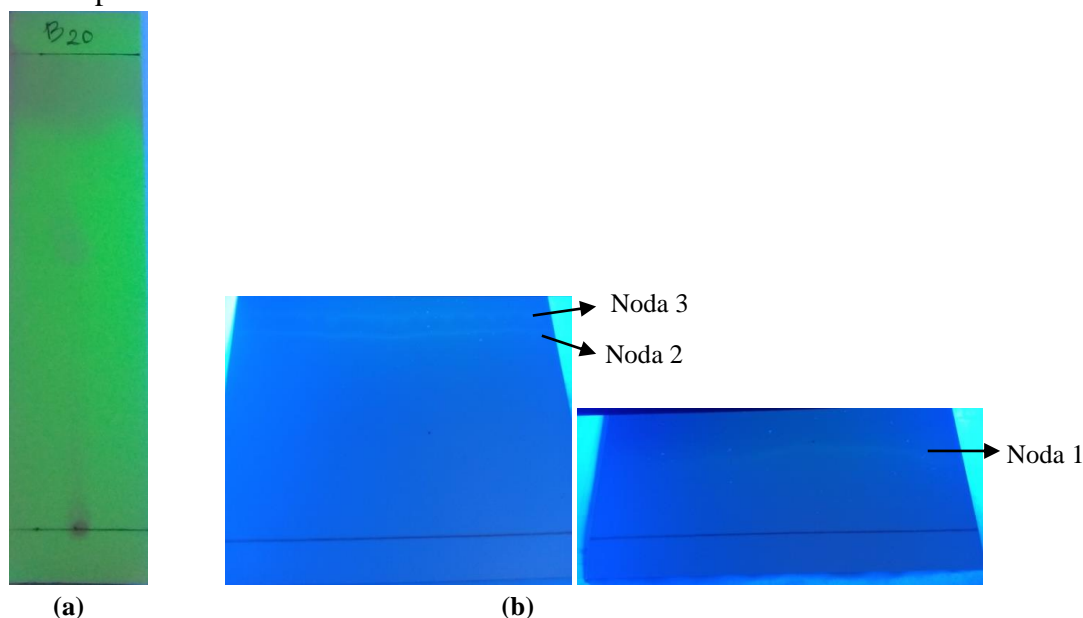
Untuk konfirmasi bahwa ekstrak yang diperoleh mengandung flavonoid, telah dilakukan uji fitokimia terhadap flavonoid, dengan hasil bahwa mulai dari ekstrak awal sampai ekstrak termurnikan, semuanya mengandung flavonoid (Tabel 2)

Tabel 2. Hasil Uji Senyawa Flavonoid

Sampel	Hasil Uji
Ekstrak encer dalam etanol	+
Ekstrak etanol hasil rotavapor	+
Ekstrak etanol termurnikan	+

3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil pemisahan senyawa menggunakan metode KLT kualitatif dan preparativ dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. (a) Hasil KLTk pada lampu UV 254 nm, (b) Hasil KLTp pada lampu UV 365 nm

4. Hasil Uji Aktivitas Inhibisi terhadap Lipase Pankreas

Hasil uji inhibisi terhadap lipase pankreas dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

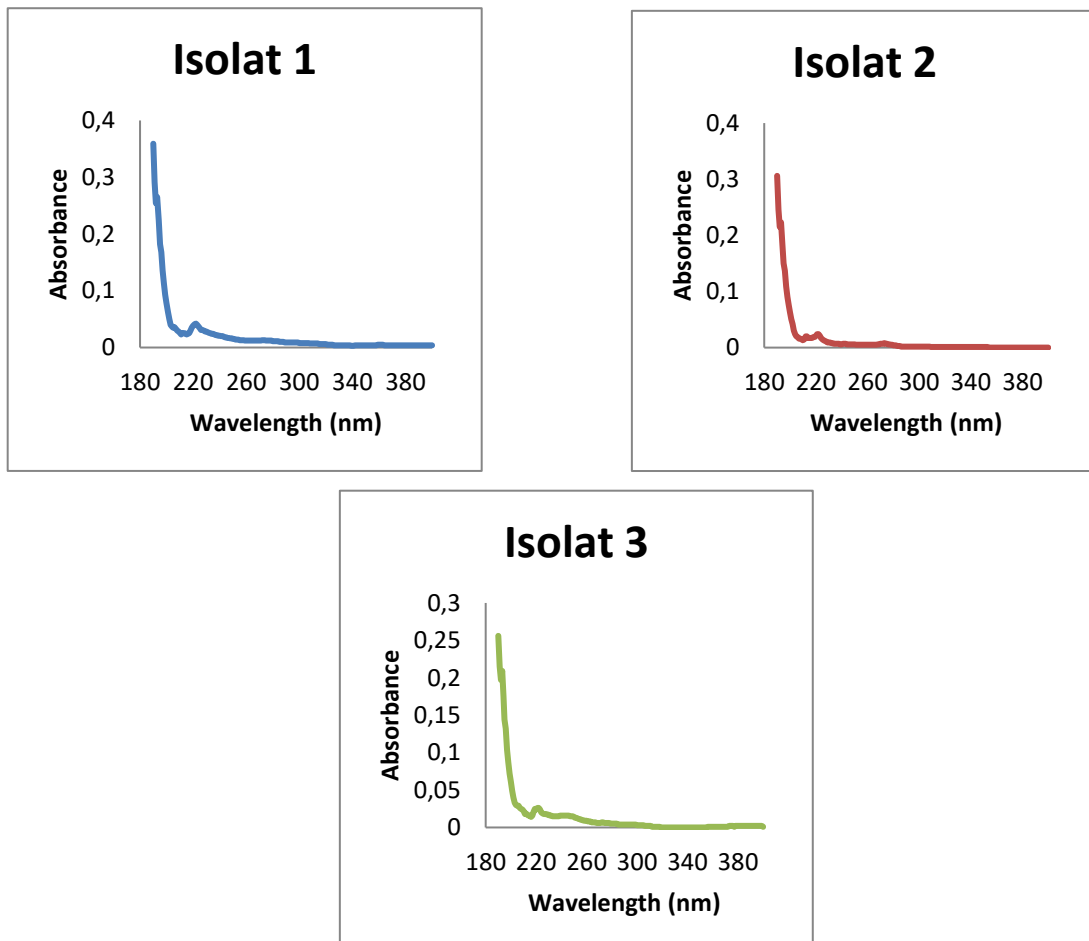
Tabel 3. Perbandingan Uji Inhibisi dari Beberapa Sampel dengan Orlistat

No	Sampel Percobaan	Rata-rata Volume NaOH untuk asam lemak yang dibebaskan (mL)	Daya Inhibisi Lipase Pankreas (%)	Daya Inhibisi relatif terhadap Orlistat (%)	Aktivitas sampel dengan massa yang sama dengan Orlistat
1	Aktivitas Lipase (tanpa inhibitor)	3,69	-	-	-
2	Aktivitas lipase + 120 mg Orlistat	0,92	74,55	100	1 kali
3	Aktivitas lipase + ekstrak etanol buah 0,243 g	2,49	32,73	43,90	0,22 kali

4	Aktivitas lipase + ekstrak etanol termurnikan 0,118 g	1,42	61,82	82,92	0,84 kali
5	Aktivitas lipase + 0,0038 g isolat 1	1,46	60,00	80,48	25,41 kali
6	Aktivitas lipase + 0,0011 g isolat 2	1,06	70,91	95,12	103,77 kali
7	Aktivitas lipase + 0,0020 g isolat 3	1,12	69,09	92,68	55,61 kali

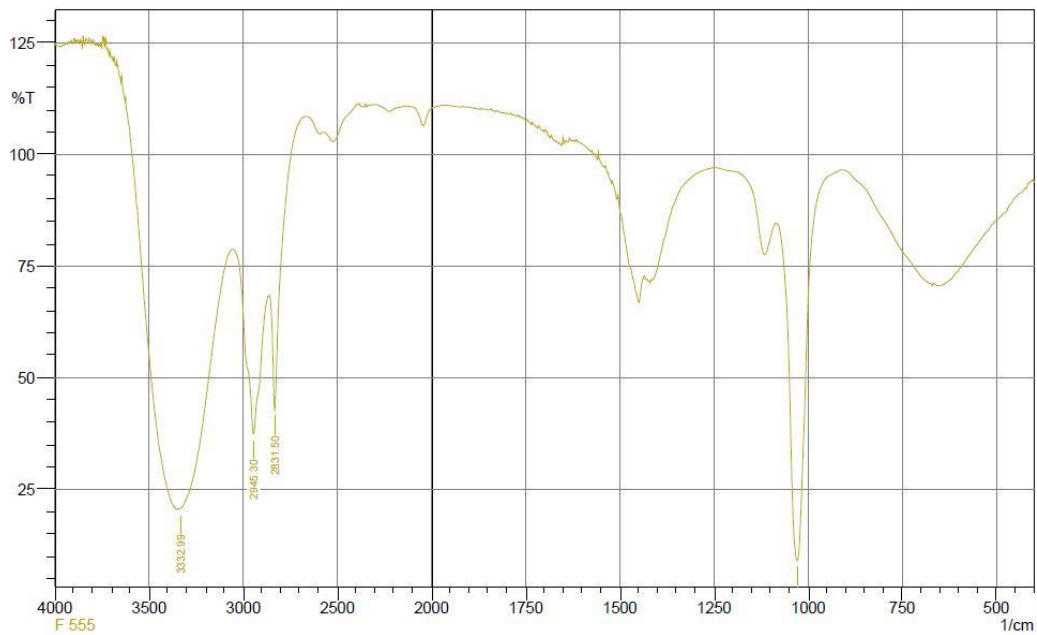
5. Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, FT-IR, dan LC-MS/MS

Identifikasi senyawa flavonoid yang terdapat pada ketiga isolat hasil KLTP menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



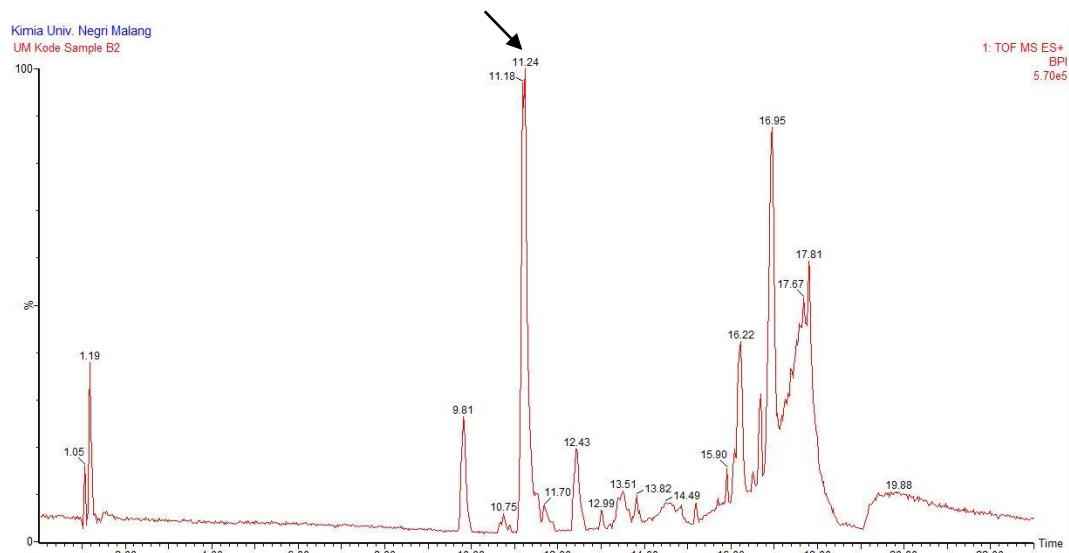
Gambar 2. Spektrum UV-Vis Ketiga Isolot

Hasil analisa spektrum IR dapat dilihat pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Hasil Spektrum FT-IR Isolat 2

Berikut hasil uji LC-MS/MS yang dapat dilihat pada Gambar 4.

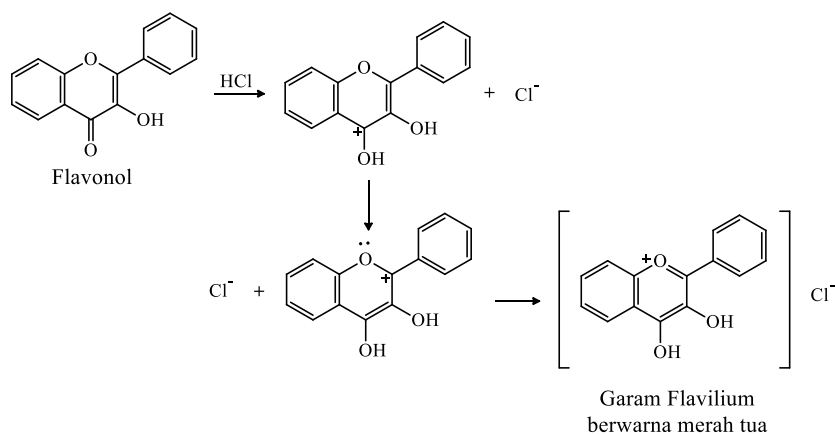


Gambar 4. Hasil Spektrum Isolat 2

PEMBAHASAN

Senyawa flavonoid dapat diidentifikasi melalui uji fitokimia. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga, dan kuning. Ketiga sampel menunjukkan positif

mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan dari perubahan warna menjadi merah muda (*pink*). Berikut Gambar 5 reaksi antara HCl dengan senyawa flavonoid.



Gambar 5. Persamaan Reaksi Uji Identifikasi Flavonoid

Sumber: Illing, dkk. (2018: 81)

Hasil uji spektrofotometer dari isolat yang diperoleh dipaparkan sebagai berikut.

Tabel 4. Hasil Analisis sampel (dalam pelarut metanol) Spektrofotometer UV-Vis

No	Sampel	Puncak spektrum Pada Panjang Gelombang (nm)		
		Puncak 1	Puncak 2	Puncak 3
1	Isolat 1	212	222	274
2	Isolat 2	213	222	273
3	Isolat 3	212	221	273

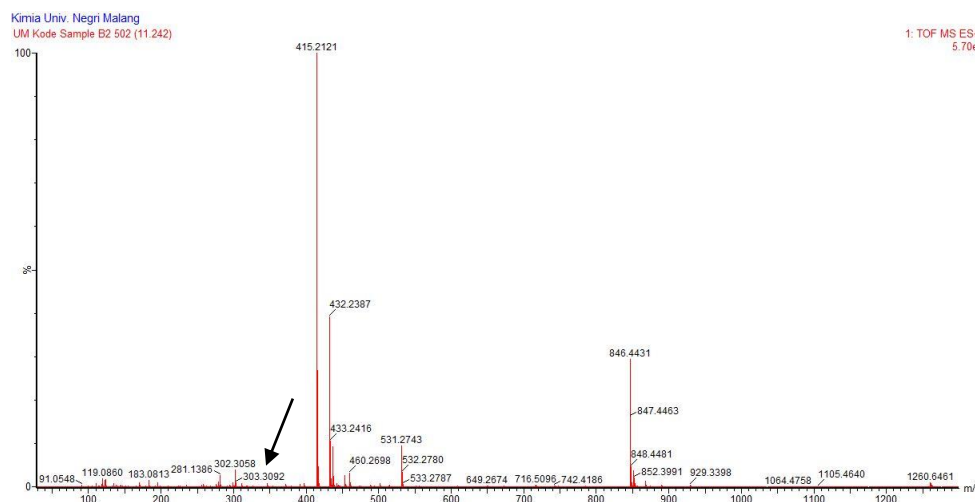
Menurut Creswell, dkk (2005), serapan pada panjang gelombang 212 nm dan 216 nm mengindikasikan transisi elektron $n \rightarrow \sigma^*$, yang terjadi akibat adanya auksokrom tidak terkonjugasi yang mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang ~ 200 nm dan mengindikasikan adanya gugus $-OH$. Pada panjang gelombang 221 nm dan 222 nm juga mengindikasikan adanya gugus $-OH$ dengan transisi $n \rightarrow \sigma^*$. Sedangkan pada panjang gelombang 273 nm dan 274 nm mengindikasikan adanya gugus $C=O$ dengan transisi $n \rightarrow \pi^*$. Senyawa karbonil menunjukkan absorpsi yang lemah pada λ 250–350 nm (Sutrisno, 2007: 118).

Tabel 5. Hasil Interpretasi Spektrum IR pada Isolat 2

Isolat	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Intensitas	Dugaan Gugus Fungsi
Kedua	3550-3200	Kuat	Vibrasi ulur gugus fungsi $-OH$
	3000-2859	Tajam	Vibrasi ulur C-H alifatik
	1300-1000	Tajam	Vibrasi tekuk gugus fungsi $-OH$

Berdasarkan interpretasi data hasil spektrum di atas, senyawa hasil isolasi mengandung gugus fungsi –OH karena memiliki intensitas yang kuat pada bilangan gelombang 3550-3200. Sedangkan pada bilangan gelombang 3000-2859 juga membuktikan bahwa isolat 2 memiliki gugus fungsi C-H alifatik. Untuk mengetahui lebih pasti struktur yang mirip dengan isolat 2 maka dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer LC-MS/MS.

Pada analisa LC-MS/MS di atas, diperoleh 18 puncak. Pada waktu retensi menit ke-11,242 di crop dan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 6. Hasil Spektrum Isolat 2 dengan m/z 303,3092

Pada Gambar 6 terdapat beberapa puncak dengan nilai m/z dan persen kelimpahannya. Berdasarkan gambar di atas, bobot molekul (m/z) yang lebih dari 600 diabaikan, hal ini dikarenakan senyawa flavonoid umumnya memiliki bobot molekul (m/z) kurang dari 600. Sedangkan kelimpahan tertinggi terdapat pada bobot molekul (m/z) 415,2121 yang kemudian diidentifikasi *elemental composition* dari senyawanya. Pada data yang ada, tidak terdapat senyawa yang mengandung flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan formula yang dapat dilihat pada Gambar 7. Ciri dari senyawa flavonoid yaitu hanya mengandung atom C, H, dan O. Sedangkan pada formula yang disarankan, tidak terdapat atom tersebut. Hal yang sama juga dilakukan pada beberapa senyawa yang memiliki bobot molekul dengan kelimpahan lebih tinggi. *Elemental composition* dari bobot molekul (m/z) 415,2121 dapat dilihat pada Gambar 7 berikut.

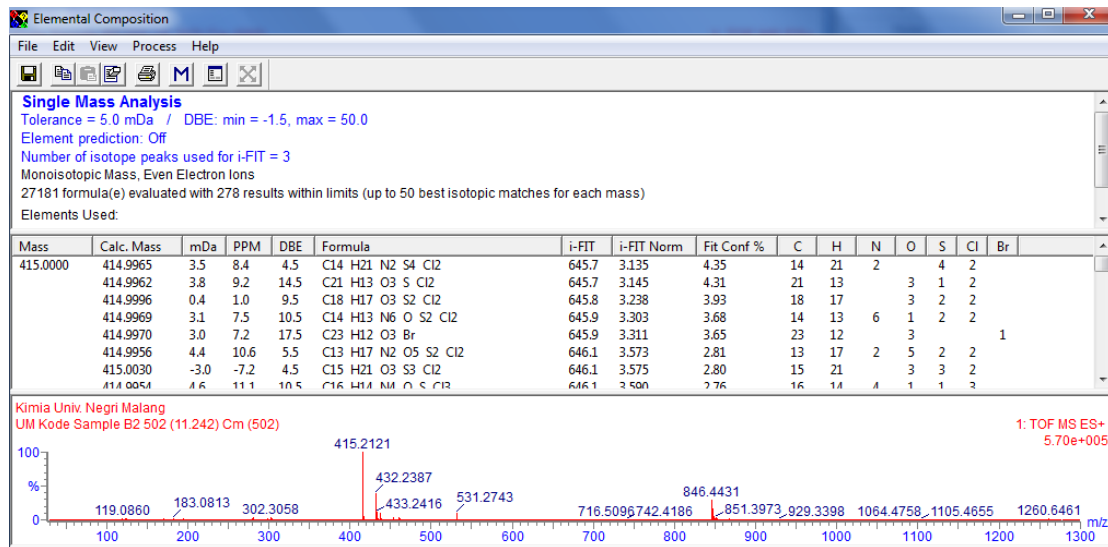
Berdasarkan interpretasi data tersebut, senyawa yang diduga flavonoid terdapat pada bobot molekul (m/z) sebesar 303,3092 dengan kelimpahan yang rendah. Rumus senyawa yang disarankan adalah $C_{15}H_{10}O_7$. Untuk meyakinkan kebenaran dari rumus senyawa tersebut dapat dilihat pada *link Human Metabolome Database (HMDB)* dengan cara mengurangi massa 1 sma (atom H) pada nilai m/z dikarenakan senyawa terionisasi positif. Berdasarkan data dari HMDB, senyawa flavonoid yang sesuai dengan bobot molekul adalah Kuersetin.

Prosiding

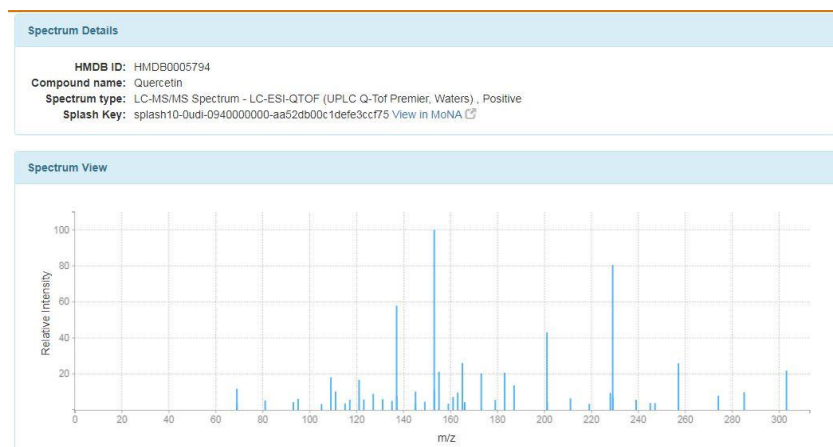
Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2019

Malang, 03 November 2019

Untuk memastikan senyawa tersebut adalah kuersetin, maka dapat dilihat pada data HMDB mengenai m/z fragmentasi dari Kuersetin yang dapat dilihat pada Gambar 8 berikut.



Gambar 7. Elemental Composition pada m/z 415,2121



Gambar 8. Fragmentasi Senyawa Kuersetin dari data HMDB

Pada Gambar 8 di atas, senyawa Kuersetin memiliki fragmentasi dengan m/z 195,0896; 217,1230; 247,5980 dan 255,0293. Berdasarkan hasil LC-MS/MS juga diperoleh hasil fragmentasi tersebut. Hal ini dapat dilihat pada data LC-MS/MS pada Gambar 10.

Prosiding

Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2019

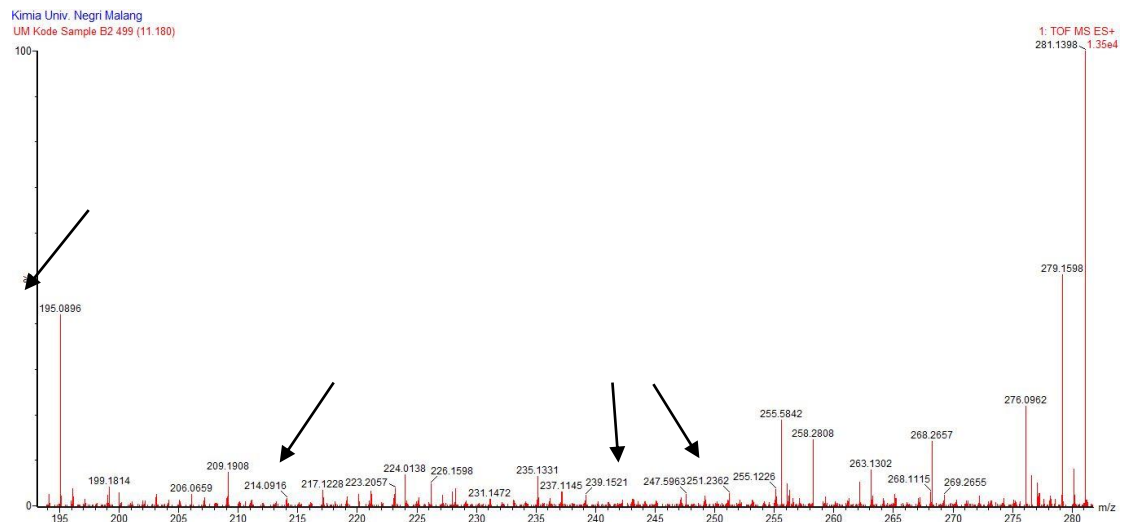
Malang, 03 November 2019

Berikut struktur senyawa dari Kuersetin yang dapat dilihat pada Gambar 9.



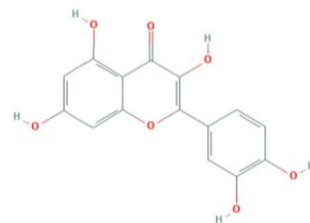
Gambar 9. Struktur Senyawa Kuersetin

Sumber: PubChem



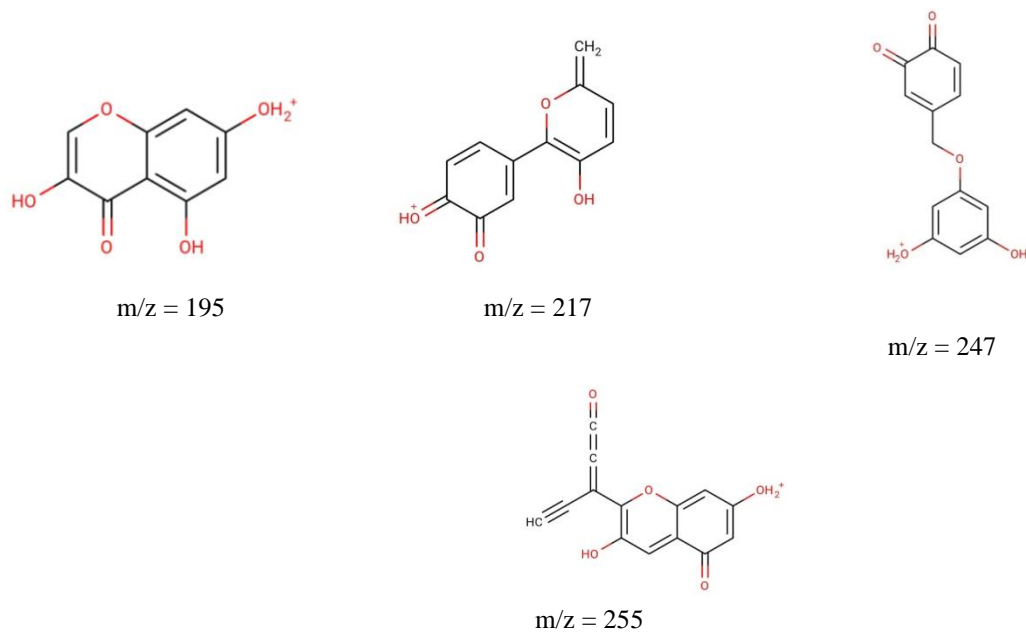
Gambar 10. Spektrum Fragmentasi Hasil LC-MS/MS

Adapun skema fragmentasi dari kuersetin menjadi fragmen-fragmen senyawa lain dapat dilihat pada Gambar 11.



M = 302,23





Gambar 11. Skema Fragmentasi dari Kuersetin (Sumber: HMDB (2019))

Hasil temuan ini sesuai dengan penelitian Viuda-Martos, dkk., (2010) bahwa, dalam jus buah delima memang terdapat senyawa kuersetin. Namun dengan penelitian ini juga terbukti bahwa kuersetin di dalam buah delima juga berkontribusi terhadap daya inhibisinya terhadap lipase pankreas, sehingga berpotensi sebagai obat anti obesitas. Disamping itu oleh karena kuersetin juga punya sifat sebagai anti oksidan (Lesjak, dkk., 2018), maka buah delima juga berpotensi sebagai inhibitor enzim golongan oksidoreduktasi, misalnya enzim xantin oksidase. Dan jika terbukti demikian maka buah delima juga berpotensi sebagai obat anti asam urat. Untuk membuktikan hal itu masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka diketahui bahwa ekstrak buah delima aktif sebagai inhibitor lipase pankreas. Isolat kedua yang memiliki aktivitas inhibisi tertinggi mengandung senyawa flavonoid jenis kuersetin. Daya inhibisi isolat 2 relatif terhadap lipase pankreas adalah 95,12% atau 103,8 kali orlistat pada massa yang sama.

Saran dari penelitian ini yaitu senyawa yang diperoleh belum murni sehingga perlu dilakukan pemurnian agar daya inhibisi yang diperoleh lebih tinggi, identifikasi senyawa dapat ditambahkan uji spektroskopi NMR dalam penentuan senyawa flavonoid, dan dilakukan uji *in vivo* dalam penentuan aktivitas inhibisi terhadap lipase pankreas.

DAFTAR RUJUKAN

Al-Muammar, M.N. & Khan, F. 2012. Obesity: The preventive role of the pomegranate (*Punica granatum*). *Nutrition*, 28(6): 595-604.DOI: 10.1016/j.nut.2011.11.013.

Prosiding

Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2019

Malang, 03 November 2019

- Creswell, C., Runquist, O.A., & Campbell, M.M. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: ITB.
- Han, L., Gong, X., Kawano, S., Saito, M., Kimura, Y., & Okuda, H. 2005. Antiobesity actions of *Zingiber officinale* Roscoe. [abstrak]. *Yakugaku Zasshi*, 125(2): 213-217.
- Hidayat, M., Soeng, S., & Prahastuti, S. 2014. Pengujian aktivitas inhibitor lipase ekstrak etanol dan hasil fraksionasi dari kedelai detam 1 dan daun jati belanda. *Chimica et Natura Acta*, 2(1): 76-82.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. 2017. Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1): 66-84.
- Khomsan, A. 2010. *Pangan dan Gizi untuk Kesehatan*. Jakarta: PT. RajaGrafindo Persada.
- Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintac, D., Majkic, T., Bekvalac, K., Orcic, D., & Mimica-Dukic, N. 2018. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods*, 40: 68-75.
- Mhatre, S.V., Bhagit, A.A., & Yadav, R.P. 2016. Pancreatic lipase inhibitor from food plant: Potential molecule for development of safe anti-obesity drug. *MGM Journal of Medical Science*, 3(1): 34-41. DOI: 10.5005/jp-journals-10036-1084.
- Morris, G.M. & Lim-Wilby, M. 2008. Molecular docking. *Methods Mol Biol*, 443: 365-382. DOI: 10.1007/978-1-59745-177-2_19.
- Nelson, D. & Cox M. 2008. *Lehninger: Principles of Biochemistry, Edisi 5*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Subandi & Langitsari, I. 2011. The effectiveness of watermelon mesocarp extract in inhibiting lipase activity relative to the hypolipidemic drugs. *Journal of Life Science*, 5: 541-545.
- Sutrisno. 2017. *Struktur Organik dari Spektromassa, UV-Vis, dan IR*. Malang: PT. Book Mart Indonesia.
- Trott, O. & Olson, A. 2009. Software news and update autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2): 455-461. DOI 10.1002/jcc.21334.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., & Perez-Alvarez, J.A. 2010. Pomegranate and its many functional components as relate to human health: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 635-654. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2010.00131.x.
- WHO. 2014. Obesity and Overweight.