

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA FRAKSI-FRAKSI NONPOLAR
EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.)
DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN ENZIM
ASETILKOLINESTERASE**

TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Strata-2
Program Studi S2 Farmasi
Minat Farmasi Sains*



Oleh :

**Citra Dewi
SBF 031210026**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA FRAKSI-FRAKSI NONPOLAR
EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.)
DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN ENZIM
ASETIKOLINESTERASE**

TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Strata-2
Program Studi S2 Farmasi
Minat Farmasi Sains*



Oleh :

**Citra Dewi
SBF 031210026**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN TESIS
Berjudul

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA FRAKSI-FRAKSI NONPOLAR
EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.)
DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN ENZIM
ASETLKOLINESTERASE**

Oleh :

Citra Dewi
SBF 031210026

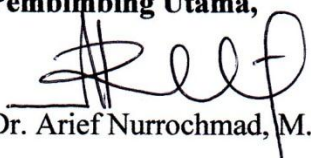
Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 27 September 2014

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

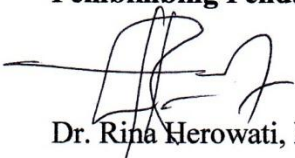


(Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.)

Pembimbing Utama,

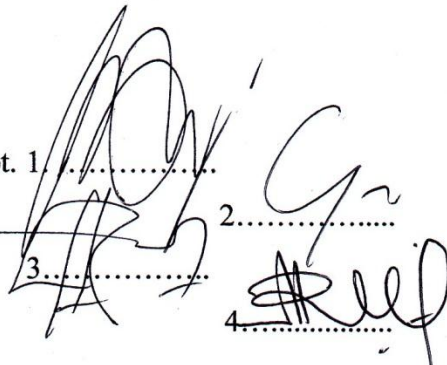

Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,


Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

Dewan Penguji

1. Prof. Agung Endro Nugroho, M.Si., Ph.D., Apt. 1.....
2. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt. 2.....
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. 3.....
4. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt. 4.....



HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan (QS. Al-Insyirah : 6).

Dengan Mengucapkan Syukur Alhamdulillah Kepada Allah SWT

Kupersembahkan TESIS ini spesial untuk orang-orang yang saya sayangi :

Ayahanda tercinta La Unge

Mama tersayang Wa Sihatu

Kakak-kakakku tersayang Busran, Mila, Amir, Anti, Awal, dan Lisna

sebagai penyemangat dan motivator terbesarku dalam menyelesaikan tesis ini.

Buat teman-temanku terbaik dan tersayang Yuni, Shela, Kiki, Dewi dan Matias yang tulus membantu dalam penelitian saya.

Teman-teman seperjuanganku di S2 Farmasi Sains Angkatan III dan Manajemen Farmasi Angkatan IX serta Almamater tercinta Universitas Setia Budi Surakarta. Terima kasih atas doa, dukungan dan segala bantuannya.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/tesis orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 27 September 2014



Citra Dewi., S.Farm., Apt.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah segala rasa syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya, penulis memperoleh kesehatan, kekuatan, semangat dan kemampuan dalam menyelesaikan tesis ini yang berjudul “**IDENTIFIKASI FITOKIMIA FRAKSI-FRAKSI NONPOLAR EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN ENZIM ASETILKOLINESTERASE**”.

Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi S2 Farmasi Sains Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan tesis ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Winarso Suryolegowo, SH., M.Pd., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt, selaku Ketua Program Pascasarjana Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

dan selaku Tim Penguji Tesis yang telah meluangkan waktu dan memberi masukan kepada penulis dalam menyempurnakan tesis ini.

4. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt, selaku Pembimbing Utama dan Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt selaku Pembimbing Pendamping yang telah tulus meluangkan waktu, tenaga, pikiran untuk membimbing dan memberikan pengarahan yang sangat bermanfaat bagi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis ini.
5. Prof. Agung Endro Nugroho, M.Si., Ph.D., Apt, selaku Tim Penguji Tesis yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberi masukan kepada penulis dalam menyempurnakan tesis ini.
6. Seluruh Dosen Pascasarjana Fakultas Farmasi Minat Sains yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penulis selama di bangku kuliah.
7. Segenap Karyawan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah banyak membantu kelancaran dalam pelaksanaan tesis ini.
8. Ibu Arsiah selaku staf Laboratorium Pusat Penelitian (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah setia dan tulus dalam membantu selama pelaksanaan penelitian tesis ini.
9. Orang tuaku tersayang serta kakak-kakakku tercinta yang selalu tulus memberikan semangat, materi, dan motivasi terbesar kepada penulis selama perkuliahan sampai selesainya penyusunan tesis ini.

10. Terkhusus sahabat perjuanganku Yuni, Shella dan Matias yang mengerti penulis dan selalu bersama dalam keadaan apapun selama pelaksanaan penelitian.
11. Teman-teman kuliah S2 Farmasi Sains Angkatan III, Apoteker Angkatan XXIV dan S1 STIFA Makassar Angkatan 2007 serta sahabatku ikong, fitra, kiki, nita dan londong yang ikut serta memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan tesis ini.
12. Terspesial buat “Ato Harianto” yang selalu memberikan semangat dan dukungannya selama perkuliahan sampai penyelesaian tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun dalam upaya penyempurnaan penulisan tesis ini. Penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak khususnya bagi penulis dan secara umum bagi para pembaca.

Surakarta, 27 September 2014

Penulis,

Citra Dewi, S.Farm., Apt.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I PENDAHULUAN.	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
E. Keaslian Penelitian.....	4
BAB I TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Asetilkolinesterase.....	6
1. Asetilkolin	6
2. Reseptor Asetilkolin (Kolinoseptor).....	9
3. Inhibitor Asetilkolinesterase.....	10
a. Inhibitor Reversibel Asetilkolinesterase.....	12
b. Inhibitor Ireversibel Asetilkolinesterase.....	13
B. Hubungan Radikal Bebas dan Stres Oksidatif Terhadap Penurunan Memori dan Fungsi Kognitif.....	14
1. Radikal Bebas	14
2. Stres Oksidatif	15
C. Brotowali.....	17
1. Klasifikasi Tanaman.....	18
2. Sinonim dan Nama Daerah	18
3. Morfologi Tanaman.....	18
4. Kandungan Kimia Tanaman.....	18

5. Efek Farmakologis	24
1. Empiris	24
2. Hasil Penelitian.....	25
D. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Kimia	26
1. Ekstraksi	26
2. Pelarut.....	28
3. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	29
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	30
E. Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS)	31
1. Pengertian LC-MS.....	31
2. Analisis Massa.....	32
3. Parameter Instrumental Efisiensi Ionisasi pada LC-MS.....	33
4. Pengaruh Komposisi Fase Gerak Efisiensi Ionisasi.....	34
F. Pengujian Aktivitas Memori dan Fungsi Kognitif Secara <i>In vitro</i>	35
G. Landasan Teori.....	35
H. Hipotesis.....	37

BAB III METODE PENELITIAN	38
A. Populasi dan Sampel	38
B. Variabel Penelitian	38
1. Identifikasi Variabel Utama	38
2. Klasifikasi Operasional Variabel Utama	38
3. Definisi Operasional Variabel Utama	39
C. Alat dan Bahan Penelitian	40
1. Alat	40
2. Bahan.....	40
D. Jalan Penelitian.....	41
1. Identifikasi Serbuk Simplisia Batang Brotowali	41
2. Pembuatan Ekstrak Etanol Batang Brotowali	41
3. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Batang Brotowali.....	41
4. Fraksinasi Ekstrak Etanol Batang Brotowali.....	42
5. Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Batang Brotowali dengan KLT	43
6. Pembuatan Sediaan Uji.....	43
7. Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim Asetilkolinesterase Secara <i>In Vitro</i>	44
8. Identifikasi Senyawa Kimia dengan LC-MS.....	44
E. Analisis Data	45
F. Prosedur Penelitian.....	46

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	48
A. Identifikasi Serbuk Batang Brotowali	48
1. Identifikasi Makroskopis	48
2. Identifikasi Mikroskopis.....	48
B. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Batang Brotowali.....	50
C. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Batang Brotowali.....	51
D. Fraksinasi Ekstrak Etanol Batang Brotowali	52
E. Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Ekstrak Etanol Batang Brotowali.....	54
F. Uji Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase secara <i>In Vitro</i>	56
G. Identifikasi Senyawa Kimia dengan LC-MS	61
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	66
A. Kesimpulan.....	66
B. Saran.....	66
BAB VI RINGKASAN.....	67
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN.....	79

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Pembentukan dan Hidrolisis Asetilkolin.....	9
Gambar 2. Mekanisme Katalisasi Asetilkolinesterase	10
Gambar 3. Struktur Umum Senyawa Karbamat	12
Gambar 4. Struktur Umum Organofosfat.....	13
Gambar 5. Struktur Kimia Kandungan Utama Brotowali.....	20
Gambar 6. Skema kerja Pembuatan Fraksi Ekstrak Etanol Batang Brotowali	46
Gambar 7. Skema Kerja Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase secara <i>In Vitro</i>	47
Gambar 8. Profil KLT Ekstrak Etanol Batang Brotowali (a) Sinar Tampak, (b) Di bawah Sinar UV 254 nm, (c) Di bawah Sinar UV 366 nm, dan (d) dengan Penampak Bercak Anisaldehyd-Asam Sulfat	52
Gambar 9. Profil KLT 15 Fraksi Ekstrak Etanol Batang Brotowali	53
Gambar 10. Skrining Fitokimia (a) Alkaloid, (b) Flavonoid, (c) Steroid dan Terpenoid	55
Gambar 11. Reaksi dengan Metode Ellman.....	56
Gambar 12. Grafik Persentase Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase oleh Ekstrak Etanol, Fraksi I, Fraksi II, dan Fraksi III Batang Brotowali	58
Gambar 13. Grafik Persentase Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase oleh Neostigmin	59
Gambar 14. Profil LC dan KLT Fraksi II Batang Brotowali	62
Gambar 15. Spektra MS Fraksi II Ekstrak Etanol Batang Brotowali (a) Waktu Retensi 2,05, (b) Waktu Retensi 2,95, (c) Waktu Retensi 3,61 (d) Waktu Retensi 4,54, dan (e) Waktu Retensi 8,2.....	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Bobot Molekul dan Struktur Kimia Kandungan Kimia Batang Brotowali	21
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Serbuk Batang Brotowali.....	48
Tabel 3. Hasil Identifikasi Mikroskopis Serbuk Batang Brotowali	49
Tabel 4. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dengan Metode KLT	51
Tabel 5. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Fraksi Gabungan.....	55
Tabel 6. Kinetika Reaksi Hidrolisis Asetilkolin oleh Enzim Asetilkolinesterase	57
Tabel 7. Nilai IC ₅₀ Penghambatan Neostigmin, Ekstrak Etanol Batang Brotowali dan Fraksi-Fraksinya terhadap Enzim Asetilkolinesterase	59
Tabel 8. Senyawa pada Batang Brotowali yang Memiliki Bobot Molekul Setelah Penambahan Ion (H ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , NH ₄ ⁺) yang Mirip dengan Spektra MS	64

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Hasil Identifikasi Serbuk Simplisia Batang Brotowali	79
Lampiran 2. Gambar Tanaman Brotowali..	80
Lampiran 3. Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Etanol Batang Brotowali	81
Lampiran 4. Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak terhadap Berat Simplisia Kering	83
Lampiran 5. Gambar Larutan Uji Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase .	84
Lampiran 6. Nilai Absorbansi Fraksi Ekstrak Etanol Batang Brotowali terhadap Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase.....	85
Lampiran 7. Hasil Standar Deviasi Ekstrak Etanol, Fraksi I, Fraksi II, Fraksi III Batang Brotowali dan Kontrol Positif (Neostigmin)...	95
Lampiran 8. Analisis Log Probit Fraksi I dan II Ekstrak Etanol Batang Brotowali	98

INTISARI

DEWI, C., 2014. IDENTIFIKASI FITOKIMIA FRAKSI-FRAKSI NONPOLAR EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN ENZIM ASETILKOLINESTERASE, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Asetilkolinesterase (AChE) merupakan enzim yang mengkatalisis hidrolisis asetilkolin. Asetilkolin yang berperan dalam pembentukan memori dan fungsi kognitif. Brotowali merupakan tanaman yang dapat digunakan meningkatkan memori dan fungsi kognitif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan penghambatan enzim asetilkolinesterase dan senyawa yang aktif dari fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali yang dapat menghambat enzim asetilkolinesterase secara *in vitro*.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah pemisahan senyawa kimia dengan ekstraksi secara sokhletasi dan fraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan menganalisis fraksi dengan LC-MS serta pengujian penghambatan enzim asetilkolinesterase menggunakan metode Ellman (kolorimetri). Parameter yang diamati nilai IC_{50} dengan dibandingkan kontrol Neostigmin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} secara berturut-turut fraksi I dan fraksi II adalah sebesar 384,942 dan 369,088 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan nilai IC_{50} ekstrak etanol dan fraksi III batang brotowali tidak dapat ditentukan ($>400 \mu\text{g/ml}$). Kontrol positif (Neostigmin) menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $<15,625 \mu\text{g/ml}$. Fraksi II merupakan fraksi teraktif dan hasil LC-MS diperoleh 5 senyawa yang berperan dalam penghambatan enzim asetilkolinesterase yaitu stigmasterol, N-trans feruloiltiramin, borapetol, sikloeukalenon, dan oktasanol.

Kata kunci : *Tinospora crispa* (L.), Ekstrak Etanol, Fraksi Nonpolar, Penghambatan Asetilkolinesterase.

ABSTRACT

DEWI, C., 2014. IDENTIFICATION PHYTOCHEMICAL NONPOLAR FRACTIONS OF BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.) ETHANOL EXTRACT AND ABILITY ENZYME OF ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITION, TESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.

Acetylcholinesterase (AChE) is an enzyme that plays a role hidrolizes acetylcholine. Acetylcholine plays a role in memory and cognitive function. Brotowali had been shown to improve memory and cognitive function. This research aims to determine the IC₅₀ value and chemical compounds from nonpolar fractions of brotowali ethanol extract that can inhibit the enzyme acetylcholinesterase *in vitro*.

The method used in this study is the separation of chemical compounds by extraction and fractionation sokhletasi using Vacuum Liquid Chromatography (KCV) and analyzed by LC-MS and inhibition of the enzyme acetylcholinesterase testing using the Ellman method (colorimetric). The parameters observed with IC₅₀ values than the control Neostigmine.

The results showed that the IC₅₀ values, respectively fraction I and fraction II is at 384.942 and 369.088 µg/ml while the IC₅₀ value of the ethanol extract and fractions III brotowali can not be determined (>400 µg/ml). Neostigmine as positive control showed IC₅₀ value of <15,625 µg/ml. Fraction II was the most active fraction and LC-MS results obtained by five compounds that play a role in the inhibition of the enzyme acetylcholinesterase that stigmasterol, N-trans feruloiltiramin, borapetol, sicloeucalenon, and octasanol .

Key words : *Tinospora crispa* (L.), Extract Ethanol, Nonpolar Fraction, Inhibition of Acetylcholinesterase.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Alzheimer (AD) adalah gangguan neurologis yang progresif, yang ditandai dengan kehilangan memori dan kemampuan kognitif lainnya yang cukup serius mengganggu kehidupan sehari-hari (Thompson *et al.*, 2012). Penyakit ini berhubungan dengan hilangnya neuron kolinergik di otak dan tingkat penurunan asetilkolin (Lane *et al.*, 2006). Target terapi utama dalam strategi pengobatan AD adalah penghambatan asetilkolinesterase di otak (Lane *et al.*, 2006; Giacobini, 2004).

Peran fisiologis asetilkolinesterase dalam transmisi saraf telah dikenal pada penelitian farmasi, menargetkan dalam pengobatan *miastenia gravis*, glaukoma, dan penyakit Alzheimer. Defisiensi kolinergik dikaitkan dengan penyakit Alzheimer (Silman, 2005). Asetilkolinesterase adalah salah satu enzim yang paling penting dalam kelompok hidrolase serin, yang mengkatalisis hidrolisis asetilkolin yang berperan dalam memori dan kognitif. Oleh karena itu, salah satu strategi terapi utama adalah menghambat aktivitas biologis asetilkolinesterase dan meningkatkan asetilkolin di otak (Munoz *et al.*, 2004; Van, 2000; Xu, 2008).

Penurunan memori dan fungsi kognitif disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya stres oksidatif. Sistem saraf sangat rentan terhadap stres oksidatif, terutama bagian *hippocampus*. Apabila kapasitas antioksidan dalam sistem saraf

rendah, akan terjadi degenerasi pada neuron *hippocampus*. Hal ini akan menyebabkan menurunnya fungsi kognitif seperti belajar dan memori (Li & Tsien, 2009). Literatur medis membuktikan bahwa stres oksidatif adalah penyebab utama penuaan dini dan timbulnya penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, Alzheimer, dan lain-lain (Nehling, 2010; Lee *et al.*, 2011).

Indonesia memiliki beranekaragam tanaman yang dapat dimanfaatkan masyarakat sebagai obat-obat tradisional maupun obat modern untuk mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu tanaman yang sering digunakan masyarakat untuk obat-obatan tradisional adalah tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.). Secara ilmiah batang brotowali telah dibuktikan mempunyai khasiat untuk meningkatkan memori dan fungsi kognitif. Penelitian sebelumnya, menunjukkan pemberian fraksi etil asetat batang brotowali dengan dosis 400 mg/kg BB mampu meningkatkan memori dan fungsi kognitif berdasarkan waktu latensi terhadap *passive avoidance test* serta profil histologi sel *lamina pyramidalis CA1 hippocampus* dimana hasil analisis korelasi menggunakan *pearson product moment correlation* menunjukkan koefisien korelasi yang positif dan signifikan (Adiningsih, 2013).

Penelitian lain, isolat bergenin dari ekstrak etanol batang brotowali memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas. Senyawa N-cis-feruloiltiramin, N-trans-feruloiltiramin, dan sekoisolarisiresinol yang diisolasi dari ekstrak dikloretan memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan metode β -karoten-linoleat (Dweck & Calvin, 2007). Berdasarkan penelitian Yusoff *et al.*, (2013), telah melakukan isolasi golongan alkaloid kuartener dari tanaman brotowali

(*Tinospora crispa* L.) dan hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman brotowali dapat menghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase serta senyawa columbamin yang memiliki aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase tertinggi.

Dalam penelitian ini, digunakan fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali untuk mengetahui golongan senyawa aktif lain yang terkandung dalam batang brotowali yang diduga berperan dalam peningkatan memori dan fungsi kognitif dengan metode penghambatan enzim asetilkolinesterase secara *in vitro* sehingga mendukung pemanfaatan batang brotowali sebagai terapi alternatif untuk mencegah penurunan memori dan fungsi kognitif serta pengembangan ilmu pengetahuan mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka perumusan masalah dalam penelitian ini dapat disusun sebagai berikut :

1. Apakah fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali dapat menghambat enzim asetilkolinesterase secara *in vitro*?
2. Senyawa apa yang terkandung dalam fraksi teraktif dari ekstrak etanol batang brotowali dalam penghambatan enzim asetilkolinesterase?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali yang dapat menghambat enzim asetilkolinesterase secara *in vitro*
2. Mengetahui senyawa yang terkandung dalam fraksi teraktif ekstrak etanol batang brotowali dalam penghambatan enzim asetilkolinesterase.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pada masyarakat mengenai manfaat batang brotowali dan sebagai pengembangan ilmu pengetahuan tentang senyawa aktif yang terkandung dari fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali yang dapat menghambat enzim asetilkolinesterase dalam meningkatkan memori dan fungsi kognitif sehingga dapat digunakan sebagai terapi alternatif untuk mencegah penurunan memori dan fungsi kognitif.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian identifikasi fitokomia fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali dengan metode penghambatan enzim asetilkolinesterase belum banyak dilakukan. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Yusoff *et al.*, 2013) pada penghambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase dari senyawa golongan alkaloid kuartener pada tanaman brotowali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa alkaloid yang berperan dalam penghambatan enzim asetilkolinesterase tertinggi adalah senyawa columbamin.

Kandungan kimia yang terdapat dalam batang brotowali antara lain zat pahit berupa senyawa flavonoid antara lain diosmetin, apigenin o-glikosida (apiin) dan pikroretosida. Komponen steroid terdiri dari giloinsterol, β -sitosterol, δ -sitosterol, 20- α -hidroksiekdison, 20- β -hidroksiekdison, ekdisteron dan makisteron (Dweck & Calvin, 2007; Depkes RI, 1978; Singh *et al.*, 2003). Komponen glikosida berupa glikosida 18-norklerodan, kardiosida, kardifoliosida A, kardifoliosida B, kardifoliosida D, kardifoliosida E, kolumbin, tinokrisposida, palmatosid C, palmatosid P1, syringin-apiosilglikosida, furanoditerpen glikosida yang berasa pahit antara lain N-trans-feruloiltiramin, N-cis-feruloiltiramin, tinotuberid, borapetosid A, borapetol, tinosporin, tinosporid, dan pikroretosid (Bisset & Nwaiwu, 1983; Depkes RI, 1995; Gagan, 1996; Pachaly, 1992; Singh *et al.*, 2003).

Komponen alifatik berupa oktakosanol, heptakosanol, nonakosan-15-on. Golongan alkaloid berupa alkaloid kuarterner; N-asetilnornusiferin, N-formil-annonain; N-formil-nornusiferin dan kolumbin (Depkes RI, 1995; Biset & Nwaiwu, 1983; Pachaly, 1992). Komponen lain yang terkandung pada batang brotowali adalah sesquiterpenoid berupa tinokordifolin dan pada seluruh bagian tanaman brotowali adalah diterpenoid lakton berupa derivat klerodan, tinosporon, tinosporida, jateirin, kolumbin (Maurya, 1998; Singh *et al.*, 2003; Swaminathan, 1998); triterpen berupa sikloeukalenon dan sikloeukalenol (Singh *et al.*, 2003).

Penelitian tentang identifikasi fitokimia fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali dan kemampuan dalam penghambatan enzim asetilkolinesterase, belum pernah dilakukan.

