

BAB VI

RINGKASAN

Memori merupakan satu dari beberapa fungsi kompleks otak dan banyak melibatkan bagian neuron dan banyak sistem neurotransmitter. Asetilkolin merupakan neurotransmitter penting dalam proses pembentukan memori (Kaplan *et al.*, 2001). 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* sehingga menyebabkan menurunnya fungsi kognitif seperti belajar dan memori (Li & Tsien, 2009).

Alzheimer (AD) adalah gangguan neurologis yang progresif, 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).

Asetilkolinesterase (AChE) 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 AChE dan meningkatkan asetilkolin di otak (Munoz *et al.*, 2004; Van, 2000; Xu, 2008).

Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan isolasi golongan alkaloid kuartener dari tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.) yang menunjukkan tanaman brotowali dapat menghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase secara *in vitro* dan senyawa yang mempunyai penghambatan enzim asetilkolinesterase tertinggi adalah columbamin (Yusoff *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan identifikasi serbuk simplisia batang brotowali yang meliputi pemeriksaan makroskopis menggunakan pemeriksaan organoleptis dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan pemeriksaan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta.

Pemisahan senyawa dilakukan dengan metode ekstraksi secara sokhletasi dan fraksinasi dengan menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV). Ekstrak etanol batang brotowali dibuat dengan cara sokhletasi menggunakan etanol 96% sebanyak 2,5 liter. Perlakuan fraksinasi dengan KCV menggunakan fase diam silika gel 60 G dan fase gerak *n*-heksan : etil asetat. Eluasi dimulai dengan eluen *n*-heksan (100%) yang dilanjutkan dengan seri eluen *n*-heksan : etil asetat (99,5:0,5), (99:1), (98,5:1,5), (98:2), (97,5:2,5) dan (97:3). Penggabungan fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali berdasarkan kesamaan profil noda pada plat KLT yang diamati di bawah sinar UV 254 dan 366 nm. Bercak noda yang sama diidentifikasi memiliki komponen kimia yang sama dan dapat dijadikan satu fraksi, sehingga diperoleh 3 fraksi gabungan ekstrak etanol batang brotowali.

Pada pengujian penghambatan enzim asetilkolinesterase secara *in vitro* dilakukan dengan metode Ellman menggunakan ELISA reader. Mengisi *microplate 96 wells* dengan 25 μ l larutan uji (fraksi I, II, III) dengan konsentrasi 200, 100, 50, 25 μ g/ml dan kontrol positif (neostigmin) dengan konsentrasi 500, 250, 125 μ g/ml, 50 μ l Tris-HCl *buffer* 50 mM pH 8, 25 μ l asetilkolin iodida 15 mM, 125 μ l DTNB 3 mM diukur absorbansi pada ELISA dengan panjang gelombang 405 nm sebagai blanko, ditambahkan 25 μ l larutan enzim asetilkolinesterase (0,7 unit/ml) diukur absorbansi pada panjang gelombang 405 nm dengan interval waktu satu menit sebanyak 5 kali (pada kontrol negatif 25 μ l larutan uji diganti dengan *buffer* Tris-HCl pH 8). Persentase penghambatan enzim asetilkolinesterase dianalisis dengan analisis log probit untuk memperoleh nilai IC_{50} .

Identifikasi senyawa kimia fraksi-fraksi batang brotowali dilakukan dengan KLT untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung pada masing-masing fraksi yaitu alkaloid (*Reagen Dragendorff*), flavonoid (uap amonia), steroid dan terpenoid (*Reagen Lieberman Bourchard*), tanin (warna lembayung pada UV 366 nm), saponin (anisaldehida). Kemudian fraksi teraktif dari hasil pengujian penghambatan enzim asetilkolinesterase dianalisis dengan LC-MS.

Hasil pembuatan serbuk batang brotowali diperoleh sebanyak 1 kg serbuk halus, diekstraksi dengan metode sokhletasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan serbuk : etanol (1:2,5), maka diperoleh ekstrak kental batang brotowali sebanyak 24,1766 gram. Rendemen batang brotowali diperoleh

2,4%. Rendemen dihitung berdasarkan ekstrak kering yang diperoleh terhadap berat serbuk yang diekstraksi. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mendapatkan perbandingan hasil akhir dari ekstraksi terhadap berat bahan baku awal yang digunakan.

Hasil penggabungan fraksi-fraksi nonpolar ekstrak etanol batang brotowali adalah fraksi 1 diperoleh dari eluen *n*-heksan (100%), fraksi 2 diperoleh dari eluen *n*-heksan : etil asetat (99,5:0,5), fraksi 3-8 diperoleh dari eluen *n*-heksan : etil asetat (99:1), fraksi 9 diperoleh dari eluen *n*-heksan : etil asetat (98,5:1,5), fraksi 10-12 diperoleh dari eluen *n*-heksan : etil asetat (98:2), fraksi 13-14 diperoleh dari eluen *n*-heksan : etil asetat (97,5:2,5) dan fraksi 15 diperoleh dari eluen *n*-heksan : etil asetat (97:3). Dari hasil profil noda pada plat KLT yang sama digabungkan menjadi satu fraksi, maka diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi I (fraksi 1-3) berwarna keruh sebesar 157 mg (rendemen 1,57%), fraksi II (fraksi 4-7) berwarna keruh sebesar 160 mg (rendemen 1,60%) dan fraksi III (fraksi 8-15) berwarna kuning sebesar 240 mg (rendemen 2,40%).

Berdasarkan hasil pengujian penghambatan enzim asetilkolinesterase diperoleh nilai IC_{50} fraksi I batang brotowali sebesar 384,942 $\mu\text{g/ml}$, fraksi II batang brotowali sebesar 369,088 $\mu\text{g/ml}$, fraksi III dan ekstrak etanol batang brotowali tidak dapat ditentukan ($> 400 \mu\text{g/ml}$). Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol batang brotowali dan fraksi-fraksinya menunjukkan penghambatan enzim asetilkolinesterase yang lemah sedangkan pada penelitian sebelumnya ekstrak brotowali menunjukkan penghambatan enzim yang kuat. Hal ini disebabkan karena jumlah sampel, jenis enzim dan pelarut pada proses

fraksinasi maupun saat melarutkan sampel. Penelitian yang telah dilakukan oleh (Yusoff *et al.*, 2013) dengan mengisolasi golongan senyawa alkaloid kuartener dari tanaman brotowali terhadap penghambatan enzim asetilkolinesterase menggunakan pelarut kloroform yang bersifat lebih polar sedangkan pada penelitian ini digunakan pelarut *n*-heksan bersifat nonpolar dan dapat disebabkan juga karena sampel tidak larut.

Hasil identifikasi golongan senyawa kimia fraksi-fraksi ekstrak etanol batang brotowali dengan KLT menunjukkan fraksi I, II dan III menunjukkan hasil positif mengandung steroid dan terpenoid sedangkan ketiga fraksi I, II dan III menunjukkan hasil negatif pada pengujian alkaloid, flavonoid. Berdasarkan hasil analisis LC-MS menunjukkan fraksi teraktif yaitu fraksi II ekstrak etanol batang brotowali pada pengujian penghambatan enzim asetilkolinesterase diduga mengandung senyawa kimia antara lain stigmaterol, N-trans-feruloiltiramin, borapetol, sikloeukalenon, dan oktasanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih P., 2013. *Pengaruh Fraksi Etil Asetat Batang Brotowali (Tinospora crispa (L.) Miers) Terhadap Memori dan Fungsi Kognitif Pada Mencit Jantan Galur Balb/C*, Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Anderson J.R., 1995. *Learning and Memory-An Integrated Approach*. New York: John Wiley and Sons, Inch.
- Ansel HC., 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi IV*, Jakarta: Universitas Indonesia. Hlm 605-607.
- Antignac, J., De Wasch K., Monteau F., De Brabander H., Andre F. and Le Bizec. B., 2005. The Ion Suppression Phenomenon in Liquid Chromatography–Mass Spectrometry and Its Consequences in the Field of Residue Analysis. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 529, No.1-2, pp. (129-136), ISSN 0003-2670.
- Ariel N., Ordentlich A., Barak D, Bino T., Velan B., Shafferman A., 1998. The 'aromatic patch' of three proximal residues in the human acetylcholinesterase active centre allows for versatile interaction modes with inhibitors. *Biochem. J*;335(1):95–102. [PMC free article] [PubMed]
- Bajgar J., 2004. Organophosphates/nerve agent poisoning: Mechanism of action diagnosis prophylaxis and treatment. *Adv. Clin. Chem.*, 38:151–216. [PubMed]
- Bisset NG., Nwaiwu, J., 1983. Quarternary Alkaloids of *Tinospora* species, *Planta Medica.*, vol.48 p.275-279.
- Corwin J., Elizabeth, 2009. *Buku Saku Patofisiologi Edisi 3 Revisi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal : 229-230.
- Charles N. McEwen and Richard G. McKay, 2005. A Combination Atmospheric Pressure LC/MS:GC/MS Ion Source: Advantages of Dual AP-LC/MS:GC/MS Instrumentation, *DuPont Corporate Center for Analytical Sciences, Wilmington, Delaware, USA*.
- Dalimartha, Setiawan, 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. hal. 10.5. Jakarta: Puspa Swara. ISBN 978-979-1480-18-5.
- Dan D., *et al.*, 2012. Effects of Stigmasterol to Activities of Several Enzymes of *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Scientific Research*, Vol. 4 Issue 2, p467.
- Davies P, Maloney AJ., 1976. Selective Loss of Central Cholinergic Neurons in Alzheimer's Disease. *Lancet*, 2(8000):1403-1403.

- De Ferrari GV, Canales MA, Shin I, Weiner LM, Silman I., 2001. Inestrosa NC: A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid β -peptide fibril formation. *Biochemistry*, 40:10447-10457.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik, 1979. *Farmakope Indonesia, Edisi III*, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia Jilid I* Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia hlm I.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik, 1986. *Sediaan Galenik*, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik, 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V, Depkes RI, Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Halaman 194-197, 513-520, 536, 539-540, 549-552.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik, 1995. *Medicinal Herbal Index in Indonesia*. ad. II PT. Essai, p.19.
- Dweck dan Calvin, 2007. Andawali (*Tinospora crispa*): A review. http://www.dweckdata.co.uk/Published_papers/A_List_of_published_papers.htm.
- Erwin I., Kusuma I., D., 2012. Inhibitor Asetilkolinesterase untuk Menghilangkan Efek Relaksan Otot Non-depolarisasi, CDK-193/ vol. 39 no. 5, th.
- Feldman, R.S., 1999. *Understanding Psychology*, 5thed. Boston: McGraw-Hill College.
- Gagan VD, Pradhan P, Sipahimalan AT, Banerji A., Palmatosides CF., 1996. Diterpene furan glucosides from from *Tinospora cordifolia*-Structural elucidation by 2D-NMR spectroscopy. *Indian Journal of Chemistry-Organic Medicinal Chemistry*, 35: 630-4.
- Giacobini E., 2004. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. *Pharmacol. Res*, 50:433–440. [PubMed].
- Guyton, A.C., dan Hall, J.E., 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Ed 11, EGC Media Publisher, Jakarta.
- Halliwell B., Gutteridge JMC., 2007. Cellular Responses to Oxidative Stress: Adaptation, Damage, Repair, Senescence and Death. In *Free radicals in biology and medicine*. 4th ed. London: Oxford. University Press, 187-267.
- Harborne, J.B., 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi II*, hal 4-84, Penerjemah K., Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.

- Hartman, M., 1995. Aging and Interference :Evidence From Indirect Memory Tests. *Psychology and Aging, Vol. 10, No.4, 659-669.*
- Heaton M.B., Mitchell J.J., Paiva M., 2000. Amelioration of Ethanol-Induced Neurotoxicity in the Neonatal Rat Central Nervous System by Antioxidant therapy, *Alcohol. Clin. Exp. Res., 24 (4) : 512-518.*
- Heyne K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia.*, Ed. II, Jilid II (terjemahan), Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, p.755.
- Hostettmann K., Marston A., Wolfender JL., 1995. Strategy in the search for new biologically active plant constituents, dalam : Hostettmann K, Marston A, Maillard M, Hamburger M, eds, *Phytochemistry of Plants Used in Traditional Medicine, Proceedings of the Phytochemical Society of Europe. Oxford, Oxford Science Publications, 18–45.*
- Huang YJ., *et al.*, 2007. Recombinant human butyrylcholinesterase from milk of transgenic animals to protect against organophosphate poisoning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 104(34):13603–13608. [PMC free article] [PubMed].*
- Inestrosa NC., Dinamarca MC, Alvarez A., 2008. Amyloid-cholinesterase interactions. Implications for Alzheimer's disease. *FEBS J., 275:625-632.*
- Julianto Very, B. E Magda, 2011. *The Effect of Reciting Holy Qur'an toward Short-term Memory Ability Analysed through the Changing Brain Wave.* *Jurnal Psikologi* Volume 38, NO. 1, Juni 2011: 17 – 29, Fakultas Psikologi. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Kazakevich Y., LoBrutto R., 2007. *HPLC for Pharmaceutical Scientists*, Wiley-Interscience, A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- Kenneth B. Tomer, M. Arthur Moseley, Leesa J. Deterding, Carol E. Parker, 1994. Capillary liquid chromatography/mass spectrometry, Mass Spectrometry, Reviews, Vol 13, pp 431-457.
- Khare CP., 2007. *Indian Medicinal Plants-An Illustrated Dictionary.* 1st Ed. Springer Science and Business Media LLC.
- Kraemer HC, Periyakoil VS, Noda A. *Kappa coefficients in medical research. Tutorial In Biostatistics (Internet), 2004 (cited 2012 August 3); 1 : 85-103. Available from:<http://media.johnwiley.com.au/productdata/excerpt/51/04700236/04700211.pdf>.*
- Lane RM, Potkin SG, Enz A., 2006. Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *Int. J. Neuropsychoph, 9(1):101–124. [PubMed].*

- Lee, E. Philip *et al.*, 2011. Cholinesterase Inhibitors, BCMJ, Vol. 53, No. 8, October 2011, page(s) 404-408 Articles.
- Li, F., and Tsien, J.Z., 2009. *Memory and the NMDA Receptors*. Nenglj med. 361: 302-303.
- Lipton S., 2002. *Developing Therapies to Prevent Neuronal Apoptosis*, <http://www.burnhaminst.org/FacultyAndResearch/Faculty/pdfs/Lipton.pdf>.
- Maurya R., Wazir V., Tyagi A., Kapil RS., 1995. Clerodane diterpenoids from *Tinospora cordifolia*. *Phytochemistry*, 38: 659-61.
- Maurya R., Handa SS., 1998. Tinocordifolin, a sesquiterpene from *Tinospora cordifolia*. *Phytochemistry*, 49: 1343-5.
- Massoulie J., Pezzementi L., Bon S., Krejci E., Vallette FM., 1993. Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog. Neurobiol*; 41(1):31–91. [PubMed].
- Milisav Irina, Poljsak Borut, and Suput Dusan, 2012. Adaptive Response, Evidence of Cross-Resistance and Its Potential Clinical Use, *International Journal of Molecular Sciences*; 13(9): 10771–10806.
- MimicOka J., Simic D.V., Simic T.P., 1999. Free Radicals in Cardiovascular Disease. *The Scientific Journal Facta Universitatis*, Vol. 6, No.1 : 11-12.
- Montoliu, C., Sancho-Tello, M, Azorin, I., Burgal, M., Valles, S., Renau-Piqueras, J, *et al.*, 1995. Ethanol Increases Cytochrome P4502E1 and Induced Oxidative Stress Astrocytes. *J Neurochem*, 65 (6): 2561-2570.
- Munoz-Muriedas J., Lopez JM, Orozco M, Luque FJ., 2004. Molecular modelling approaches to the design of acetylcholinesterase inhibitors: new challenges for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Pharm Design*, 10:3131-3140.
- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell VW., 2003. *Biokimia Harper*. Ed-25. Hartono A, Bani AP, Sikumbang TMN, penerjemah; Jakarta: EGC. Terjemahan dari: Harper's Biochemistry.
- Neal, M.J., 2006. *At a Glance Farmakologi Medis*, Edisi Kelima, Penerbit Erlangga. Jakarta, hal. 20-23.
- Nehlig A., 2010. Is caffeine a cognitive enhancer? *Journal of Alzheimer's Disease* 20 : S85–S94.
- Pachaly P., AZ., Adnan, G.W., 1992. Zur NMR-Spektroskopie von N-Acylaporphin-Alkaloiden aus *Tinospora crispa*., *Planta Medica*., Vol 58., P.184-187.

- Patrick Arpino, 1992. Combined liquid chromatography mass spectrometry.Part III. Applications of thermospray, *Mass Spectrometry Reviews*, Vol 11, pp 3-40 Combined liquid chromatography mass spectrometry.Part I. Coupling by means of a moving belt interface, *Mass Spectrometry Reviews*, Vol 8, 1989 pp 35-55.
- Perry E., Walker M., Grace J., Perry R., 1999. Acetylcholine in mind a neurotransmitter correlate of consciousness? *Trends. Neurosci*; 22:273–280, [PubMed].
- Rabey JM., *et al.*, 1996. Cognitive Effects of Scopolamine in Dementia. *J Neural Transm*, 103:873-881.
- Raina MH., 2011. *Ensiklopedi Tanaman Obat Untuk Kesehatan*, Absolut, Yogyakarta. Hal : 59-60.
- Rathee D., Rathee S., Rathee P., Deep A., Anandjiwala S., Rathee D., 2011. HPTLC Densitometric Quantification of Stigmasterol and Lupeol from *Ficus religiosa*, [Arabian Journal of Chemistry](#).01.021.
- Rees TM., Berson A., Sklan EH., Younkin L., Younkin S., Brimijoin S., Soreq H., 2005. Memory deficits correlating with acetylcholinesterase splice shift and amyloid burden in doubly transgenic mice. *Curr Alzheimer Res*, 2:291-300.
- Rhee IK., Van de Meent M., Ingkaninan K., Verpoorte R., 2001. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining, *Journal of Chromatography A*, 915, 217–223.
- Sarwono, J., 2009. *Statistik Itu Mudah: Panduan Lengkap untuk Belajar Komputasi Statistik Menggunakan SPSS 16*, 1-278, Yogyakarta : Penerbit Universitas Atma Jaya.
- Sastrohamidjojo Hardjono., DR., 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta : Penerbit Liberty Yogyakarta, X. Hal : 35-36.
- Silman I, Sussman JL., 2005. Acetylcholinesterase: 'classical' and 'non-classical' functions and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol*, 5:293-302.
- Singh SS, Pandey SC., Srivastava S., Gupta VS., Patro B., Ghosh AC., 2003. Chemistry and medicinal properties of *Tinospora cordifolia* (Guduchi). *Indian Journal of Pharmacology*, 35: 83-91.
- Siswandono, Soekardjo B., 2000. *Kimia Medisinal Jilid 2*, Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP), Surabaya, 357-364.
- Solso, R.L., 1995. *Cognitive Psychology*, 4th ed, Boston : Allyn dan Bacon, Inc.

- Stahl, 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopik*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan Soediro. Bandung : Penerbit ITB. Hal. 3-18.
- Sunanto H., 2009. *100 Resep Sembuhkan Hipertensi, Obesitas, dan Asam Urat*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Swaminathan K., Sinha UC., 1998. Structure of a new clerodane derivative from *Tinospora cordifolia* Miers. *Acta crystallogr, C44*: 1421-4.
- Thippeswamy G., Sheela ML., Salimath BP., 2008. Octacosanol isolated from *Tinospora cordifolia* downregulates VEG F gene expression by inhibiting nuclear translocation of NF- α and its DNA binding activity. *Eur J Pharmacol*, 588: 141-50.
- Thompson PA., Wright DE., Counsell CE., Zajicek J., 2012. Statistical analysis trial design and duration in Alzheimer's disease clinical trials: A review. *Int. Psychogeriatr*; 24:689–697. [PubMed].
- Tiwari S., Singha S., Patwardhan K., Gehlot S., Gambhir IS., 2008. Effect of centella asiatica on mild cognitive impairment (mci) and other common age-related clinical problems. *Digest Journal Of Nanomaterials And Biostructures 3* : 215 – 220.
- Van Belle D., De Maria L., Iurcu G., Wodak SJ., 2000. Pathways of ligand clearance in acetylcholinesterase by multiple copy sampling. *J Mol Biol*; 298:705-726.
- Verena KB., et al., 2013. Plant Sterol the Better Cholesterol in Alzheimer's Disease A Mechanistical Study, *The Journal Neuroscience 33*.216072-16087.
- Vinutha B. et al., 2007. Screening of Selected Indian Medicinal Plants for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity, Volume 109, *Journal of Ethnopharmacology*, pages. 359–363.
- Voet D., Voet J., 1995. *Biochemistry*. New York: John Wiley and Sons.
- Vogel Gerhard, H., 2002. *Drug Discovery and Evaluation*, Pharmacological Assays, Second Edition, Springer.
- Vohora, D., Pal, S.N., Pillai, K.K., 2000. Effect of Locomotor Activity on The Passive Avoidance Test for The Evaluation of Cognitive Function, *Indian Journal Pharmacology*, 32 : 242-245.
- Voight, 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandi, 573, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Wang R., Tang XC., 2005. Neuroprotective Effects of Huperzine A. *Neurosignals*;14:71–82. [PubMed].
- Winarsi H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*, Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Whitehouse PJ., Price DL., Clark AW., *et al.*, 1981. *Alzheimer Disease: Evidence for Selective Loss of Cholinergic Neurons in the Nucleus Basalis*. *Ann Neurol*;10:122-126.
- Whitlock JR., Heynen AJ , Shuler MG , Bear MF., 2006. Learning Induces Long-Term Potentiation In The Hippocampus. *Science* 313:1093–2097.
- Wysocki VH., Resing KA., Zhang Q., Cheng G., 2005. "Mass spectrometry of peptides and proteins". *Methods* 35 (3):211–22. doi : [10.1016/j.ymeth.2004.08.013](https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2004.08.013) . PMID15722218.
- Xu Y., Colletier JP., Jiang H, Silman I., Sussman JL., Weik M., 2008. Induced-fit or preexisting equilibrium dynamics? Lessons from protein crystallography and MD simulations on acetylcholinesterase and implications for structure-based drug design. *Protein Sci*, 17:601-605.
- Yusoff M., Hamid H., and Houghton P., 2013. Anticholinesterase Inhibitory Activity of Quaternary Alkaloids From *Tinospora crispa*, www.mdpi.com/journal/molecules. ISSN 1420-3049.
- Zakhari, S., 2006. *Overview: How is Alcohol Metabolized by Body.*, *alcohol Res. Health*, 29 (4), 245-254.

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Serbuk Simplisia Batang Brotowali



**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. : 0274-542738, 0274-649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN

No. : BF/17/Ident/Det/IV/2014

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Wahyuni W.
NIM. SBF 031210036
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
155	<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Euphorbiaceae
	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Rubiaceae
	<i>Timospora crista</i> (L.) Miens ex Hook. F. & Th. Sinonim : <i>Timospora tuberculata</i> (Lmk.) Beumee ex K. Heyne	Menispermaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 17 April 2014

Ketua












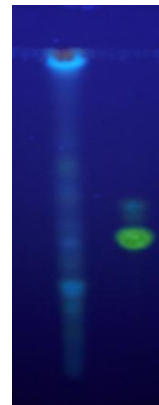









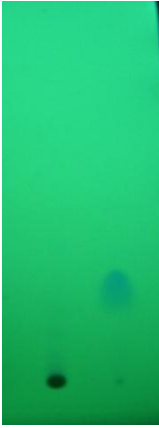
















Prof. Dr. Wahyono, SU., Apt.
NIP. 19500701197702100

Lampiran 2. Gambar Tanaman Brotowali



Lampiran 3. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Golongan Senyawa	Sebelum disinari tampak	Sebelum disemprot		Setelah disemprot Cahaya tampak	Setelah sinar tampak	
		UV 254 nm	UV 366 nm		UV 254 nm	UV 366 nm
Alkaloid						
Flavonoid						
Steroid						

Triterpen						
Tanin						
Saponin						

Lampiran 4. Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak terhadap Berat Simplisia

Kering Batang Brotowali

Tanaman	Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (% b/b)
Tanaman brotowali	1000	24,1766	2,4%

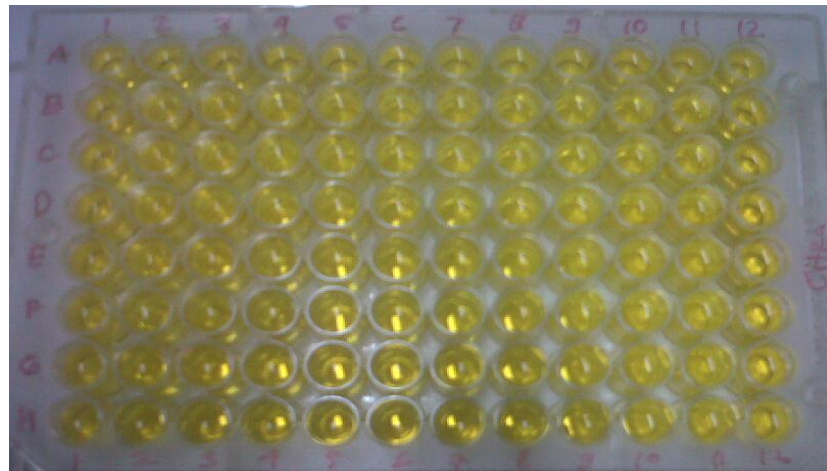
Perhitungan Rendamen :

$$\begin{aligned}\text{Rendamen (\% b/b)} &= \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (g)}}{\text{Berat Simplisia Kering (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{24,1766 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 2,4\%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Gambar Larutan Uji Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase



(a) Blanko



Lampiran 8. Analisis Log Probit Fraksi I dan II Ekstrak Etanol Batang Brotowali

A. Fraksi I Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	.015	.000	.305	-1.811	-5.715	-.516
.020	.051	.000	.674	-1.296	-4.679	-.171
.030	.107	.000	1.116	-.969	-4.021	.048
.040	.189	.000	1.631	-.723	-3.527	.213
.050	.300	.001	2.222	-.523	-3.125	.347
.060	.444	.002	2.892	-.353	-2.783	.461
.070	.625	.003	3.646	-.204	-2.483	.562
.080	.851	.006	4.486	-.070	-2.215	.652
.090	1.126	.011	5.420	.051	-1.972	.734
.100	1.457	.018	6.453	.163	-1.747	.810
.150	4.232	.151	13.353	.627	-.821	1.126
.200	9.880	.813	24.056	.995	-.090	1.381
.250	20.447	3.384	40.587	1.311	.529	1.608
.300	39.292	11.741	67.371	1.594	1.070	1.828
.350	71.971	33.961	117.983	1.857	1.531	2.072
.400	127.815	76.257	244.971	2.107	1.882	2.389
.450	222.793	134.293	616.900	2.348	2.128	2.790
.500	384.942	210.574	1704.052	2.585	2.323	3.231
.550	665.103	316.707	4907.355	2.823	2.501	3.691
.600	1159.336	470.682	14643.754	3.064	2.673	4.166
.650	2058.890	702.005	45775.878	3.314	2.846	4.661
.700	3771.274	1063.499	153052.170	3.576	3.027	5.185
.750	7246.861	1658.347	565295.022	3.860	3.220	5.752
.800	14997.568	2711.547	2429104.321	4.176	3.433	6.385
.850	35011.196	4797.764	1.332E7	4.544	3.681	7.125

.900	101734.710	9813.396	1.137E8	5.007	3.992	8.056
.910	131631.858	11661.676	1.908E8	5.119	4.067	8.281
.920	174147.129	14064.777	3.350E8	5.241	4.148	8.525
.930	236904.275	17280.668	6.222E8	5.375	4.238	8.794
.940	334076.828	21746.421	1.242E9	5.524	4.337	9.094
.950	494417.138	28260.860	2.734E9	5.694	4.451	9.437
.960	783631.745	38442.966	6.907E9	5.894	4.585	9.839
.970	1380413.970	56106.944	2.159E10	6.140	4.749	10.334
.980	2930130.736	92720.108	9.824E10	6.467	4.967	10.992
.990	9595920.381	204552.008	1.071E12	6.982	5.311	12.030

a. Logarithm base = 10.

B. Fraksi II Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	.006	.000	.191	-2.226	-7.321	-.718
.020	.022	.000	.444	-1.664	-6.088	-.353
.030	.049	.000	.757	-1.308	-5.306	-.121
.040	.091	.000	1.133	-1.040	-4.718	.054
.050	.151	.000	1.572	-.822	-4.240	.196
.060	.231	.000	2.079	-.636	-3.833	.318
.070	.336	.000	2.656	-.474	-3.477	.424
.080	.470	.001	3.310	-.328	-3.157	.520
.090	.638	.001	4.044	-.195	-2.867	.607
.100	.845	.003	4.864	-.073	-2.600	.687
.150	2.702	.032	10.499	.432	-1.497	1.021
.200	6.809	.237	19.539	.833	-.625	1.291
.250	15.046	1.308	33.828	1.177	.117	1.529
.300	30.667	5.868	57.201	1.487	.768	1.757
.350	59.323	21.718	101.044	1.773	1.337	2.005
.400	110.953	60.371	215.911	2.045	1.781	2.334
.450	203.339	118.792	615.102	2.308	2.075	2.789
.500	369.088	195.612	2037.530	2.567	2.291	3.309
.550	669.946	303.618	7160.401	2.826	2.482	3.855
.600	1227.779	463.393	26299.585	3.089	2.666	4.420
.650	2296.333	708.909	102112.814	3.361	2.851	5.009
.700	4442.137	1102.000	429465.655	3.648	3.042	5.633
.750	9053.824	1765.901	2032969.461	3.957	3.247	6.308
.800	20007.170	2975.469	1.152E7	4.301	3.474	7.061
.850	50416.399	5451.120	8.724E7	4.703	3.736	7.941
.900	161289.934	11646.533	1.117E9	5.208	4.066	9.048

.910	213593.794	13986.292	2.069E9	5.330	4.146	9.316
.920	289804.293	17062.016	4.041E9	5.462	4.232	9.607
.930	405334.399	21227.785	8.439E9	5.608	4.327	9.926
.940	589586.043	27090.203	1.921E10	5.771	4.433	10.283
.950	903953.043	35771.863	4.908E10	5.956	4.554	10.691
.960	1493483.501	49580.814	1.478E11	6.174	4.695	11.170
.970	2768667.415	74048.673	5.731E11	6.442	4.870	11.758
.980	6289608.727	126173.432	3.474E12	6.799	5.101	12.541
.990	2.292E7	292106.453	5.951E13	7.360	5.466	13.775

a. Logarithm base = 10.

Lampiran 6. Nilai Absorbansi Fraksi Ekstrak Etanol Batang Brotowali Terhadap Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase

A. Ekstrak Etanol Batang Brotowali

400 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,825	1,155	0,897	0,355	0,48	0,323	0,4
1	1,055	1,341	1,069	0,355	0,48	0,323	0,7
2	1,149	1,551	1,266	0,355	0,48	0,323	0,79
3	1,275	1,681	1,421	0,355	0,48	0,323	0,92
4	1,449	1,839	1,579	0,355	0,48	0,323	1,09

200 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,878	1,331	1,211	0,348	0,685	0,922	0,5
1	1,075	1,542	1,355	0,348	0,685	0,922	0,72
2	1,28	1,743	1,52	0,348	0,685	0,922	0,93
3	1,45	1,902	1,69	0,348	0,685	0,922	1,10
4	1,615	2,049	1,82	0,348	0,685	0,922	1,26

100 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-
0	0,936	0,929	0,899	0,34	0,308	0,293	0
1	1,153	1,139	1,05	0,34	0,308	0,293	0
2	1,337	1,334	1,218	0,34	0,308	0,293	0
3	1,484	1,522	1,391	0,34	0,308	0,293	1
4	1,653	1,714	1,568	0,34	0,308	0,293	1

50 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-
0	0,92	0,85	0,801	0,289	0,311	0,327	0
1	1,173	1,039	0,983	0,289	0,311	0,327	0
2	1,367	1,24	1,177	0,289	0,311	0,327	1
3	1,547	1,402	1,344	0,289	0,311	0,327	1
4	1,696	1,58	1,528	0,289	0,311	0,327	1

25 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,824	0,891	0,9	0,314	0,295	0,298	0
1	0,98	1,134	1,093	0,314	0,295	0,298	0,9
2	1,181	1,351	1,278	0,314	0,295	0,298	0,9
3	1,344	1,549	1,435	0,314	0,295	0,298	1,1
4	1,538	1,698	1,623	0,314	0,295	0,298	1,5

B. Fraksi I Ekstrak Etanol Batang Brotowali**400 ppm**

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,809	0,861	0,778	0,339	0,424	0,238	0,4
1	0,956	1,013	0,892	0,339	0,424	0,238	0,61
2	1,114	1,162	1,024	0,339	0,424	0,238	0,77
3	1,208	1,278	1,127	0,339	0,424	0,238	0,86
4	1,282	1,373	1,269	0,339	0,424	0,238	0,94

200 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blan
0	0,796	0,819	0,752	0,282	0,311	0,404	0,514
1	0,971	0,996	0,882	0,282	0,311	0,404	0,689
2	1,132	1,024	1,03	0,282	0,311	0,404	0,85
3	1,272	1,209	1,172	0,282	0,311	0,404	0,99
4	1,344	1,409	1,342	0,282	0,311	0,404	1,062

100 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blan
0	1,13	1,031	0,837	0,642	0,445	0,371	0,488
1	1,259	1,189	1,029	0,642	0,445	0,371	0,617
2	1,412	1,338	1,204	0,642	0,445	0,371	0,77
3	1,589	1,486	1,362	0,642	0,445	0,371	0,947

4	1,731	1,638	1,551	0,642	0,445	0,371	1,089
---	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

50 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	1,268	0,876	0,936	0,814	0,417	0,464	0,451
1	1,457	1,054	1,127	0,814	0,417	0,464	0,643
2	1,633	1,244	1,338	0,814	0,417	0,464	0,819
3	1,766	1,424	1,494	0,814	0,417	0,464	0,950
4	1,893	1,619	1,633	0,814	0,417	0,464	1,076

25 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,737	0,842	0,811	0,271	0,381	0,322	0,466
1	0,915	1,04	1,008	0,271	0,381	0,322	0,644
2	1,092	1,238	1,196	0,271	0,381	0,322	0,821
3	1,259	1,399	1,354	0,271	0,381	0,322	0,988
4	1,433	1,579	1,578	0,271	0,381	0,322	1,162

C. Fraksi II Ekstrak Etanol Batang Brotowali

400 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,734	0,756	0,712	0,505	0,552	0,504	0,229
1	0,848	0,841	0,829	0,505	0,552	0,504	0,343
2	0,936	0,981	0,935	0,505	0,552	0,504	0,431
3	1,057	1,114	1,039	0,505	0,552	0,504	0,552
4	1,165	1,201	1,152	0,505	0,552	0,504	0,660

200 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,797	0,826	0,746	0,5	0,507	0,427	0,270
1	0,945	0,975	0,912	0,5	0,507	0,427	0,418
2	1,091	1,13	1,069	0,5	0,507	0,427	0,542

3	1,236	1,267	1,207	0,5	0,507	0,427	0,7
4	1,393	1,418	1,37	0,5	0,507	0,427	0,8

100 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,536	0,614	0,57	0,305	0,327	0,29	0,23
1	0,719	0,818	0,794	0,305	0,327	0,29	0,41
2	0,905	0,952	1,007	0,305	0,327	0,29	0,6
3	1,067	1,042	1,158	0,305	0,327	0,29	0,76
4	1,195	1,215	1,271	0,305	0,327	0,29	0,8

50 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,693	0,715	0,629	0,332	0,326	0,326	0,36
1	0,859	0,921	0,781	0,332	0,326	0,326	0,52
2	1,041	1,123	0,956	0,332	0,326	0,326	0,70
3	1,189	1,28	1,094	0,332	0,326	0,326	0,83
4	1,352	1,448	1,258	0,332	0,326	0,326	1,0

25 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,882	0,67	0,712	0,456	0,306	0,399	0,42
1	1,081	0,871	0,872	0,456	0,306	0,399	0,62
2	1,263	1,063	1,046	0,456	0,306	0,399	0,80
3	1,423	1,227	1,195	0,456	0,306	0,399	0,96
4	1,586	1,399	1,348	0,456	0,306	0,399	1,1

D. Fraksi III Ekstrak Etanol Batang Brotowali**400 ppm**

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-
0	0,797	0,826	0,746	0,5	0,507	0,427	0
1	0,945	0,975	0,912	0,5	0,507	0,427	0
2	1,091	1,13	1,069	0,5	0,507	0,427	0
3	1,236	1,267	1,207	0,5	0,507	0,427	0
4	1,393	1,418	1,37	0,5	0,507	0,427	0

200 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,609	0,711	0,87	0,322	0,396	0,533	0
1	0,77	0,886	1,035	0,322	0,396	0,533	0
2	0,938	1,06	1,205	0,322	0,396	0,533	0
3	1,09	1,205	1,357	0,322	0,396	0,533	0
4	1,263	1,365	1,521	0,322	0,396	0,533	0

100 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,62	0,807	0,639	0,315	0,451	0,333	0,30
1	0,78	0,994	0,807	0,315	0,451	0,333	0,46
2	0,952	1,18	0,993	0,315	0,451	0,333	0,63
3	1,009	1,347	1,149	0,315	0,451	0,333	0,69
4	1,332	1,523	1,305	0,315	0,451	0,333	1,01

50 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,882	0,67	0,712	0,456	0,306	0,399	0,42
1	1,081	0,871	0,872	0,456	0,306	0,399	0,62
2	1,263	1,063	1,046	0,456	0,306	0,399	0,80
3	1,423	1,227	1,195	0,456	0,306	0,399	0,96
4	1,586	1,399	1,397	0,456	0,306	0,399	1,13

25 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Bl
0	0,609	0,66	0,555	0,363	0,323	0,281	0,246
1	0,771	0,862	0,738	0,363	0,323	0,281	0,408
2	0,942	1,086	0,808	0,363	0,323	0,281	0,579
3	1,1	1,284	1,1	0,363	0,323	0,281	0,737
4	1,312	1,443	1,297	0,363	0,323	0,281	0,949

E. Kontrol Positif (Neostigmin)**500 ppm**

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,373	0,378	0,352	0,345	0,355	0,346	0,025
1	0,38	0,389	0,354	0,345	0,355	0,346	0,03
2	0,391	0,402	0,357	0,345	0,355	0,346	0,04
3	0,402	0,413	0,359	0,345	0,355	0,346	0,05
4	0,41	0,422	0,361	0,345	0,355	0,346	0,06

250 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,346	0,398	0,4	0,321	0,34	0,368	0,025
1	0,379	0,52	0,43	0,321	0,34	0,368	0,058
2	0,404	0,612	0,457	0,321	0,34	0,368	0,083
3	0,436	0,732	0,485	0,321	0,34	0,368	0,115
4	0,463	0,898	0,518	0,321	0,34	0,368	0,142

125 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,461	0,72	0,76	0,425	0,652	0,326	0,03
1	0,498	0,759	0,786	0,425	0,652	0,326	0,07
2	0,529	0,798	0,824	0,425	0,652	0,326	0,10
3	0,559	0,865	0,872	0,425	0,652	0,326	0,13
4	0,578	0,904	0,895	0,425	0,652	0,326	0,15

62,5 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
0	0,451	0,866	0,496	0,298	0,709	0,295	0,15
1	0,483	0,919	0,534	0,298	0,709	0,295	0,18
2	0,515	0,979	0,568	0,298	0,709	0,295	0,21
3	0,546	1,051	0,6	0,298	0,709	0,295	0,24
4	0,57	1,069	0,647	0,298	0,709	0,295	0,27

31,25 ppm

Menit	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Abs 1-Blanko
-------	--------------	--------------	--------------	----------	----------	----------	--------------

0	0,608	0,746	0,649	0,342	0,389	0,373	0,266
1	0,653	0,805	0,697	0,342	0,389	0,373	0,311
2	0,699	0,856	0,721	0,342	0,389	0,373	0,357
3	0,746	0,904	0,788	0,342	0,389	0,373	0,404
4	0,795	0,967	0,798	0,342	0,389	0,373	0,453

Lampiran 7. Hasil Standar Deviasi Ekstrak Etanol, Farksi I , Fraksi II, Fraksi III

Ekstrak Etanol Batang Brotowali dan Kontrol Positif (Neostigmin)

A. Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Konsentrasi	Slope Enzim	Slope 1	Slope 2	Slope 3	Persen 1	Persen 2	Persen 3	Pers
400	0,251	0,146	0,17	0,171	41,83267	32,27092	31,87251	35
200	0,251	0,184	0,179	0,155	26,69323	28,68526	38,24701	31
100	0,251	0,176	0,195	0,167	29,88048	22,31076	33,46614	28
50	0,251	0,192	0,182	0,181	23,50598	27,49004	27,88845	26
25	0,251	0,179	0,199	0,178	28,68526	20,71713	29,08367	26

B. Fraksi I Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Konsentrasi	Slope Enzim	Slope 1	Slope 2	Slope 3	Persen 1	Persen 2	Persen 3	Pe
400	0,251	0,119	0,128	0,121	52,5896	49,004	51,7928	1
200	0,251	0,135	0,138	0,147	46,2151	45,0199	41,4343	4
100	0,251	0,153	0,151	0,176	39,0438	39,8406	29,8805	1
50	0,251	0,155	0,185	0,176	38,247	26,2948	29,8805	1
25	0,251	0,173	0,183	0,188	31,0757	27,0916	25,0996	1

C. Fraksi II Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Konsentrasi	Slope Enzim	Slope 1	Slope 2	Slope 3	Persen 1	Persen 2	Persen 3
400	0,251	0,107	0,116	0,109	57,3705	53,7849	56,5737
200	0,251	0,148	0,147	0,154	41,0359	41,4343	38,6454
100	0,251	0,166	0,142	0,176	33,8645	43,4263	29,8805

50	0,251	0,164	0,182	0,157	34,6614	27,49	37,4502
25	0,251	0,175	0,181	0,159	30,2789	27,8884	36,6534

D. Fraksi III Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Konsentrasi	Slope Enzim	Slope 1	Slope 2	Slope 3	Persen 1	Persen 2	Persen 3	Per
400	0,251	0,148	0,147	0,154	41,03586	41,43426	38,64542	40
200	0,251	0,162	0,162	0,162	35,45817	35,45817	35,45817	35
100	0,251	0,165	0,178	0,167	34,26295	29,08367	33,46614	32
50	0,251	0,175	0,181	0,169	30,27888	27,88845	32,66932	30
25	0,251	0,173	0,198	0,184	31,0757	21,11554	26,69323	26

E. Kontrol Positif (Neostigmin)

Konsentrasi	Slope Enzim	Slope 1	Slope 2	Slope 3	Persen 1	Persen 2	Persen 3
500	0,251	0,009	0,011	0,002	96,414	95,618	99,203
250	0,251	0,029	0,021	0,029	88,446	91,633	88,446
125	0,251	0,029	0,047	0,035	88,446	81,275	86,056
62,5	0,251	0,030	0,053	0,036	88,048	78,884	85,657
31,25	0,251	0,048	0,054	0,038	80,876	78,486	84,861

