

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL BUAH MENKUDU  
(*Morinda citrifolia* L.) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN  
AKTIVITAS ENZIM ASETILKOLINESTERASE**

*TESIS*

*Diajukan untuk memenuhi sebagian prasyarat mencapai  
derajat Sarjana Strata 2  
Program Studi Ilmu Farmasi  
Minat Farmasi Sains*



**Oleh:**

**Shela Puzi Dina  
SBF 031210033**

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

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL BUAH MENKUDU  
(*Morinda citrifolia* L.) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN  
AKTIVITAS ENZIM ASETILKOLINESTERASE**

*TESIS*

*Diajukan untuk memenuhi sebagian prasyarat mencapai  
derajat Sarjana Strata 2  
Program Studi Ilmu Farmasi  
Minat Farmasi Sains*



**Oleh:**

**Shela Puzi Dina  
SBF 031210033**

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

**PENGESAHAN TESIS**

berjudul

**IDENTIFIKASI FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL BUAH MENGGKUDU  
(*Morinda citrifolia* L.) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN  
AKTIVITAS ENZIM ASETILKOLINESTERASE**

Oleh:

**Shela Puzi Dina**

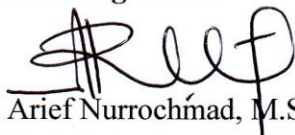
**SBF 031210033**

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. Octari, SU, MM.,  
M.Sc., Apt.)

**Pembimbing Utama**



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

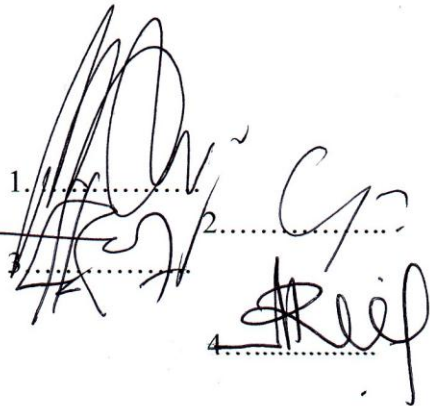
**Pembimbing Pendamping**



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. ....
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. ....
4. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt. ....



## HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Karena sesungguhnya bersama setiap kesulitan ada kemudahan, Sesungguhnya bersama setiap kesulitan ada kemudahan.*

*(QS. Al-Insyirah 5-6)*

Dengan Mengucapkan Syukur Alhamdulillah Kepada Allah SWT

Tesis ini kupersembahkan untuk orang-orang dekat yang saya sayangi :

**Abah H. Nurullah Budi**

**Mama tercinta Hj. Husnul Khatimah**

sebagai Motivator Terbesar di kehidupanku

*Wahai Tuhanku, kasihilah mereka keduanya, sebagaimana mereka*

*berdua telah mendidik aku waktu kecil.*

*(QS. Al Israa': 24)*

Buat adik-adikku tercinta Ahmad Zikri dan Muhammad Syaihun Amin yang

memberikan semangat terbesar dalam hidupku. Keluargaku yang tak henti-

hentinya memberikan dukungan sampai aku menyelesaikan kuliah....

Citra, Yuni, Matias dan teman-teman seperjuangku di S-2 Sains Angkatan III dan

Apoteker Angkatan XXIV USB.

Agama, Almamater, Bangsa, dan Negara .

## PERNYATAAN

Saya menyatakan 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 atau tesis orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 27 September 2014



Shela Puzi Dina

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi junjungan kita Muhammad SAW, yang telah diutus Allah AWT sebagai *rahmatan lil'alam* dan kepada keluarga beliau, sahabat-sahabatnya dan semua orang yang mengikuti mereka dengan baik hingga hari akhir, termasuk kita semua insyiah Allah, Amin.

Syukur Alhamdulillah penulis memperoleh kesehatan, kekuatan, semangat dan kemampuan untuk menyelesaikan tesis yang berjudul “IDENTIFIKASI FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM ASETILKOLINESTERASE” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar strata 2 pada Program Studi S2 minat Farmasi Sains Universitas Setia Budi.

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

1. Winarso Suryolegowo, SH., MPd. selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A., Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

3. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt. selaku ketua Program Pascasarjana Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dan sekaligus selaku Tim Penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberi masukan kepada penulis dalam menyempurnakan tesis ini.
4. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt. selaku Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dan memberikan pengarahan yang sangat bermanfaat bagi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis ini.
5. Dr. Rina Herowati M.Si., Apt. selaku Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dan memberikan pengarahan yang sangat bermanfaat bagi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis ini.
6. Prof. Agung Endro Nugroho, M.Sc., Ph.D., Apt. selaku Tim Penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberi masukan kepada penulis dalam menyempurnakan tesis ini.
7. Seluruh Dosen Pascasarjana Fakultas Farmasi Minat Farmasi Sains yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis selama di bangku kuliah.
8. Bapak dan Ibu tercinta serta keluarga yang telah memberikan semangat dan dorongan materi, moril dan spiritual kepada penulis selama perkuliahan, penyusunan tesis hingga selesainya studi S2 minat Farmasi Sains di Universitas Setia Budi.

9. Wahyuni, Citra dan Matias sebagai patner penelitian sekaligus sahabat yang selalu ada dalam keadaan apapun.
10. Sahabat dan teman-teman kuliah S2 Ilmu Farmasi minat Framasi Sains Angkatan III, Apoteker Angkatan XXIV yang ikut memberikan dukungan, semangat dan kerjasama selama penyusunan tesis ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang diberikan dalam upaya penyempurnaan penulisan tesis ini. Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang telah penulis persembahkan dalam karya ini akan berguna secara khusus bagi penulis serta secara umum bagi para pembaca.

Surakarta, Agustus 2013

Penulis,

Shela Puzi Dina



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
INTISARI.....	xvi
<i>ABSTRACT</i> .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Kegunaan Penelitian .....	5
E. Keaslian Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
A. <i>Acetylcholine</i> (ACh) .....	7
B. Fungsi Kognitif dan Memori .....	8
C. Hubungan ACh dan Fungsi Kognitif .....	12
D. Intervensi Fungsi Kognitif dan Memori .....	13
E. Mengkudu .....	15
1. Klasifikasi tanaman.....	15
2. Deskripsi tanaman.....	16

3. Kandungan tanaman.....	16
4. Manfaat tanaman.....	22
	Halaman
5. Kandungan tanaman terkait kemampuan penghambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase.....	24
F. Simplisia dan Metode Pemisahan .....	25
1. Pelarut .....	25
2. Ekstraksi.....	26
3. Kromatografi cair vakum.....	28
G. Pengujian Kemampuan Penghambatan Aktivitas Enzim Acetylcholinesterase (AChE) Secara <i>In vitro</i> .....	30
H. Identifikasi senyawa kimia .....	30
1. Identifikasi senyawa kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	30
2. Identifikasi senyawa kimia dengan <i>Liquid Chromathography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS).....	32
I. Landasan Teori.....	33
J. Hipotesis .....	35
BAB III METODE PENELITIAN.....	36
A. Populasi dan Sampel .....	36
B. Variabel Penelitian .....	36
1. Identifikasi variabel utama.....	36
2. Klasifikasi operasional variabel utama .....	36
3. Definisi operasional variabel utama.....	37
C. Bahan dan Alat .....	38
1. Alat.....	38
2. Bahan .....	38
D. Jalannya Penelitian .....	38
1. Determinasi serbuk buah mengkudu.....	38
2. Pemisahan senyawa .....	39
3. Penyiapan larutan uji.....	40
4. Pengujian penghambatan aktivitas enzim AChE secara <i>in vitro</i> .....	40
5. Identifikasi senyawa kimia .....	41
E. Analisis Data.....	41
F. Prosedur Penelitian .....	41
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	44
A. Determinasi Serbuk Buah Mengkudu .....	44
1. Pemeriksaan makroskopik .....	44

2. Pemeriksaan mikroskopik .....	44
B. Pemisahan Senyawa .....	46
1. Ekstraksi .....	46
2. Fraksinasi .....	46
C. Pengujian aktivitas penghambatan enzim AChE secara <i>in vitro</i> .....	49
	Halaman
D. Identifikasi Senyawa Kimia .....	54
1. Identifikasi Senyawa Kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis ....	54
2. Hasil Identifikasi senyawa kimia dengan <i>Liquid Chromathography-Mass Spectrometry</i> .....	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	60
A. Kesimpulan .....	60
B. Saran .....	60
BAB VI RINGKASAN .....	61
DAFTAR PUSTAKA .....	65
LAMPIRAN .....	72

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Bobot Molekul dan Struktur Kimia Kandungan Senyawa Mengkudu.....	18
2. Metode Ionisasi .....	32
3. Hasil Uji Organoleptis Serbuk Simplisia Buah Mengkudu .....	44
4. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Serbuk Simplisia Buah Mengkudu .....	45
5. Kinetika Reaksi Hidrolisis ACh Oleh Enzim AChE .....	51
6. Nilai IC <sub>50</sub> Penghambatan Neostigmin, Ekstrak Etanol Buah Mengkudu dan Fraksi-fraksinya terhadap Enzim AChE.....	53
7. Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Buah Mengkudu dengan Metode KLT .....	55
8. Dugaan Senyawa pada Buah Mengkudu yang Memiliki Bobot Molekul (Setelah Penambahan Ion Positif) Mirip dengan Spektra <i>Mass Spectrometry</i> .....	58

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sintesis dan Hidrolisis ACh .....	7
2. Struktur AChE-ACh Dan Obat-Obat Penghambat Kolinesterase.....	14
3. Mengkudu .....	16
4. Skema Kerja Pembuatan Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	42
5. Skema Kerja Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Secara <i>In Vitro</i> .....	42
6. Hasil Optimasi Fase Gerak Terbaik Ekstrak Etanol Buah Mengkudu.....	47
7. Profil KLT Fraksi Nonpolar-semipolar Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	48
8. Struktur Kimia DTNB.....	49
9. Mekanisme Reaksi Metode Ellman .....	50
10. Persentase Penghambatan Enzim AChE oleh Neostigmin .....	52
11. Persentase Penghambatan Enzim AChE oleh Ekstrak Etanol, Fraksi I, Fraksi II Dan Fraksi III Buah Mengkudu.....	52
12. Profil LC Dan KLT Fraksi 1 Ekstrak Etanol Buah Mengkudu.....	56
13. Spektra MS Fraksi 1 Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	57

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Identifikasi Serbuk Simplisia Buah Mengkudu.....	72
2. Optimasi Fase Gerak Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	73
3. Profil KLT Fraksi I, Fraksi II dan Fraksi III Ekstrak Eyanol Buah Mengkudu..	74
4. Identifikasi KLT Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Buah Mengkudu ..	76
5. Identifikasi KLT Golongan Senyawa Kimia Fraksi I, Fraksi II dan Fraksi III Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	79
6. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Neostigmin .....	82
7. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	84
8. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Fraksi I Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	86
9. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Fraksi II Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	88
10. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Fraksi III Ekstrak Etanol Buah Mengkudu .....	90
11. Absorbansi Kontrol Negatif Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE	92
12. Analisis log-probit .....	93
13. Spesifikasi LC-MS LIPI .....	97

## DAFTAR SINGKATAN

ACh	: <i>Acetylcholine</i>
AChE	: <i>Acetylcholinesterase</i>
ACTI	: <i>Acetylthiocholine Iodide</i>
APCI	: <i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>
BChE	: <i>Butyrylcholinesterase</i>
CA	: <i>Cornu Ammonis</i>
CAT	: <i>Choline Acetyltransferase</i>
CI	: <i>Chemical Ionization</i>
CoA	: <i>Coenzyme A</i>
DI	: <i>Desorption Ionization</i>
DESI	: <i>Desorption Electrospray Ionization</i>
DTNB	: <i>5,5-dithiobis [2-,nitrobenzoic acid]</i>
E-LTP	: <i>Early Long-term Potentiation</i>
EI	: <i>Electron Impact</i>
ESI	: <i>Electrospray Ionization</i>
GC-MS	: <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
IA	: <i>Inhibitory avoidance</i>
IC <sub>50</sub>	: <i>The half maximal inhibitory concentration</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
KCV	: <i>Kromatografi Cair Vakum</i>
KLT	: <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
LC-MS	: <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>

LIPI	: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
LTP	: <i>Long-term Potentiation</i>
L-LTP	: <i>Late Long-term Potentiation</i>
MCI	: <i>Mild Cognitive Impairment</i>
MVD	: <i>Molegro Virtual Docking</i>
NMDA	: <i>N-methyl D-aspartate</i>
TBI	: <i>Traumatic Brain Injury</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>



## INTISARI

**SHELA, P.,D., 2014, IDENTIFIKASI FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L. ) DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM ASETILKOLINESTERASE, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

*Acetylcholine* merupakan neurotransmitter pada sinapsis neuromuskuler, di ganglia sistem motorik visceral, dan di berbagai bagian dalam sistem saraf pusat. *Acetylcholine* dihidrolis oleh enzim *acetylcholinesterase*. *Acetylcholine* berperan dalam pengaturan fungsi kognitif terutama pembentukan memori baru. Penurunan jumlah *Acetylcholine* dapat menyebabkan gangguan pada pembentukan memori. Mengkudu merupakan tanaman yang banyak terdapat di Indonesia dan telah teruji memiliki kemampuan penghambatan aktivitas enzim *acetylcholinesterase*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan penghambatan aktivitas enzim *acetylcholinesterase* fraksi-fraksi nonpolar-semipolar ekstrak etanol buah mengkudu dan senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif dari ekstrak etanol buah mengkudu.

Pemisahan senyawa dilakukan melalui dua tahap yaitu ekstraksi menggunakan metode maserasi dan fraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum. Pengujian penghambatan enzim AChE dilakukan dengan metode Ellman (kolorimetri). Identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dan *liquid chromatography-mass spectrometry*.

Nilai  $IC_{50}$  fraksi I dan fraksi II buah mengkudu secara berturut-turut sebesar 927,893 dan 1976,604  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol dan fraksi III buah mengkudu tidak dapat ditentukan ( $>2000 \mu\text{g/ml}$ ). Identifikasi dengan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi I mengandung senyawa golongan terpenoid, fenolik, fraksi II mengandung senyawa golongan terpenoid, steroid, fenolik, kumarin dan fraksi III mengandung senyawa golongan terpenoid, steroid, fenolik, flavanoid, antrakuinon. Fraksi I merupakan fraksi teraktif dan diduga mengandung 3,3-bisdemetilpinoresinol dan pinoresinol.

---

Kata kunci : *acetylcholine*, *acetylcholinesterase inhibitor*, fungsi kognitif, memori, mengkudu, *Morinda citrifolia* L.

## ABSTRACT

**SHELA, P.,D., 2014, PHYTOCHEMICALS IDENTIFICATION OF ETHANOLIC EXTRACT OF NONI FRUIT (*Morinda citrifolia* L. ) AND ABILITY OF ENZYME ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY INHIBITORY, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Acetylcholine (ACh) is the neurotransmitter at neuromuscular junctions, visceral ganglia motoric system, and various parts of the central nervous system. Acetylcholine hydrolysis by the enzyme acetylcholinesterase (AChE). Acetylcholine plays a role in the regulation of cognitive functions, especially in encoding of new memories. Noni is widely available in Indonesia and had been proven to have the ability of AChE enzyme inhibition. This study aimed to determine the ability of nonpolar-semipolar fractions of ethanol extract of noni fruit to inhibits the enzyme acetylcholinesterase activity and chemical compounds in the active fraction of the ethanol extract of noni fruit.

Separation of chemical compounds was done through a two-stage extraction using maceration method and fractionated using vacuum liquid chromatography. AChE enzyme inhibition testing conducted by the Ellman's method (colorimetric method). Identification of chemical compounds was conducted by thin layer chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry.

IC<sub>50</sub> value of the fraction I and fraction II of noni fruit showed respectively at 927,893 and 1976,60 µg / ml. IC<sub>50</sub> value of the ethanol extract and fraction III of noni fruit can not be determined (> 2000 ug / ml). Thin layer chromatography skринing showed fraction I contained terpenoid and phenolic groups, fraction II countained terpenoid, steroid, phenolic, coumarin groups and fraction III countained terpenoid, steroid, phenolic, flavanoid, anthraquinon groups. Fraction I is active fraction and expected contained 3,3-bisdemethylpinoresinol and pinoresinol.

---

Keyword : *acetylcholine, acetylcholinesterase inhibitor, cognitive function, memory, noni, Morinda citrifolia L*

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

*Acetylcholine* (ACh) adalah neurotransmitter pada sinapsis neuromuskuler, di ganglia sistem motorik visceral, dan di berbagai bagian dalam sistem saraf pusat (Purves *et al.*, 2001). Fungsi kognitif dapat didefinisikan sebagai proses pengaturan informasi oleh organisme. Pengaturan informasi meliputi kegiatan memperoleh informasi (persepsi), memilih (perhatian), mewakili (pemahaman) dan mempertahankan (memori) informasi, serta menggunakannya untuk memandu perilaku (penalaran dan koordinasi motorik output) (Bostrom & Sandberg, 2009). ACh berperan dalam pengaturan fungsi kognitif terutama pembentukan memori baru. Gangguan fungsi kognitif merupakan suatu proses neurodegeneratif dan dapat menyebabkan gangguan pembentukan memori baru. Salah satu gangguan kognitif yang menyebabkan kehilangan memori jangka pendek yaitu *Mild Cognitive Impairment* (MCI). MCI terkait usia sering dihubungkan dengan demensia atau *Alzheimer's disease* (Doty, 2007).

Estimasi prevalensi tahunan MCI di US sekitar 3-4% dalam 8 dekade pada populasi umum (Ganguli *et al.*, 2004). Estimasi prevalensi Afrika-Amerika sekitar 19,2% (65-74 tahun), 27,6% (75-84 tahun) dan 38% ( $\geq$  85 tahun). Peningkatan prevalensi terjadi dengan meningkatnya usia (Unverzagt, 2001). Prevalensi 10% pada usia 70-79 tahun dan 25% pada usia 80-89 tahun (Roberts *et al.*, 2008). Angka kejadian demensia di Indonesia sebesar 7,2% dari populasi usia 60 tahun

ke atas (menurut profil data kesehatan yang dilaporkan oleh Kementerian Kesehatan tahun 1998) memang belum ada data pasti tentang prevalensi kasus demensia (Menkes, 2010).

Gangguan fungsi kognitif tidak hanya terjadi pada usia lanjut, tetapi juga dapat terjadi dalam berbagai tingkat usia tergantung penyebabnya. Penyebab penurunan fungsi kognitif dan memori bervariasi, di antaranya penuaan (Droge & Schipper, 2007), konsumsi alkohol (Wu & Cederbaum, 2003), obat-obatan (Milliana *et al.*, 2005), stres (Yuen *et al.*, 2012), dan trauma fisik (Rao & Lyketsos, 2000).

Intervensi dapat dilakukan untuk meningkatkan fungsi kognitif dengan tujuan memperbaiki patologi atau cacat pada subsistem kognitif. Intervensi tersebut meliputi obat-obatan, diet, edukasi, pengendalian lingkungan, *mental training*, *Transcranial Magnetic Stimulation*, modifikasi secara genetik, dan berbagai metode lainnya (Bostrom & Sandberg, 2009). Saat ini, terapi masih identik dengan intervensi obat-obatan. Penggunaan obat-obatan sintesis tidak terlepas dari efek samping yang merugikan sehingga obat alternatif mulai menjadi pilihan di antaranya antioksidan (Silva *et al.*, 2004) dan beberapa obat tradisional. Penelitian menunjukkan bahwa beberapa tanaman tradisional memiliki aktivitas terhadap fungsi kognitif dan memori terutama dalam penghambatan aktivitas enzim *acetylcholinesterase* (AChE) di antaranya *Ginkgo biloba* L. (Ding *et al.*, 2013), pegagan (*Centella asiatica* L.) (Rahman *et al.*, 2012), dan mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Pachauri *et al.*, 2012, 2013).

Mengkudu merupakan tanaman yang banyak terdapat di Indonesia. Penelitian praklinis (uji toksisitas kronis dan sub kronis) (West *et al.*, 2009<sup>a</sup>) dan klinis (*double blind trial* pada 96 probandus) (West *et al.*, 2009<sup>b</sup>) menunjukkan bahwa buah mengkudu aman dikonsumsi. Penelitian Praveen *et al.* (2007) menunjukkan ekstrak buah dan daun mengkudu memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Ekstrak etanol buah mengkudu juga dapat menghambat aktivitas enzim AChE baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Pachauri *et al.*, 2012).

Penelitian Pachauri *et al.* (2012) telah mencapai tahap fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair, dimana fraksi yang berasal dari pelarut kloroform memiliki kemampuan penghambatan aktivitas enzim AChE lebih besar dibandingkan dengan fraksi yang berasal dari pelarut dengan kepolaran lebih tinggi (etil asetat dan *n*-butanol). Senyawa-senyawa yang terlarut dalam fraksi kloroform diperkirakan adalah senyawa-senyawa dengan kepolaran rendah namun dapat juga berasal dari golongan alkaloid. Alkaloid memiliki penghambatan kuat terhadap aktivitas enzim AChE karena memiliki kemiripan dengan substrat (ACh) yaitu adanya gugus nitrogen. Studi secara *in silico* dengan metode ligan *docking* terhadap 22 senyawa aktif buah mengkudu dengan target enzim AChE telah dilakukan Srikant *et al.* (2012). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diperoleh masing-masing lima senyawa yang memiliki afinitas lebih baik daripada obat penghambat kolinesterase terhadap enzim AChE yaitu (+)-3,3'-bisdemetiltanegool, 3,3'-bisdemetilpinoresinol, (-)-pinoresinol, asam isoamericanoat A, kuersetin.

Senyawa-senyawa pada mengkudu yang berperan dalam penghambatan enzim AChE diperkirakan dapat berasal dari golongan senyawa nonpolar, alkaloid, lignan dan flavonoid sehingga fraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan seri eluen nonpolar hingga semipolar. Fraksi aktif diperoleh dengan pengujian penghambatan aktivitas enzim AChE secara *in vitro*. Identifikasi senyawa pada fraksi paling aktif dilakukan dengan menggunakan *Liquid Chromathography-Mass Spectrometry* (LC-MS).

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas, maka dapat disusun permasalahan meliputi :

1. Apakah fraksi-fraksi nonpolar-semipolar ekstrak etanol buah mengkudu dapat menghambat aktivitas enzim AChE secara *in vitro*?
2. Senyawa apa yang terkandung dalam fraksi teraktif ekstrak etanol buah mengkudu?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian adalah :

1. Mengetahui kemampuan fraksi-fraksi nonpolar-semipolar ekstrak etanol buah mengkudu dalam menghambat aktivitas enzim AChE secara *in vitro*.
2. Mengetahui senyawa yang terkandung dalam fraksi teraktif ekstrak etanol buah mengkudu.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk mendukung pemanfaatan buah mengkudu sebagai terapi alternatif dalam peningkatan fungsi kognitif dan memori.

#### **E. Keaslian Penelitian**

Penelitian pengujian penghambatan aktivitas enzim AChE dari tanaman mengkudu telah dilakukan baik secara *in vivo* pada mencit yang diinduksi skopolamin maupun secara *in vitro*. Pengujian *in vivo* pada tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol buah mengkudu dapat menghambat enzim AChE secara berturut-turut pada dosis 50mg/kgbb, 50mg/kgbb, 100mg/kgbb, 100mg/kgbb sedangkan pengujian *in vitro* menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol buah mengkudu dalam menghambat enzim AChE secara berturut-turut 138,4µg/ml, 78,114µg/ml, 486,24µg/ml dan 486,94µg/ml (Pachauri *et al.*, 2012).

Ekstrak etanol buah mengkudu telah diidentifikasi menggunakan GC/MS mengandung 16 senyawa yaitu asam heksanoat, siklopropil karbinol, asam oktanoat, 2-furankarboksaldehid, asam n-dekanoat, d-manitol, 2-karbamil, Vitamin d3, alantoin, asam pentadekanoat, asam n-heksadekanoat, asam 9,12-oktadekanoat, *Cyclododecyne*, 1,5-*Cyclodecadine*, dan 5. *alpha-Androstan*. (Rivera, *et al.*, 2012)

Penelitian ini mengenai identifikasi fitokimia ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya yang diperoleh dengan KCV terkait kemampuan penghambatan enzim AChE secara *in vitro*. Fraksi dengan nilai IC<sub>50</sub> paling rendah akan dilanjutkan

dengan analisis LC/MS sehingga dapat diperkirakan senyawa pada buah mengkudu yang bertanggung jawab dalam penghambatan aktivitas enzim AChE. Penelitian ini belum dilakukan sebelumnya.