

## **BAB VI**

### **RINGKASAN**

*Acetylcholine* (ACh) adalah neurotransmitter pada sinapsis neuromuskuler, di ganglia sistem motorik visceral, dan di berbagai bagian dalam sistem saraf pusat. 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). ACh berperan dalam pengaturan fungsi kognitif terutama pembentukan memori baru. Gangguan fungsi kognitif merupakan suatu proses neurodegeneratif dan dapat menyebabkan gangguan pembentukan memori baru.

Saat ini, terapi masih identik dengan intervensi obat-obatan salah satunya penghambat kolinesterase. Penggunaan obat-obatan sintetis tidak terlepas dari efek samping yang merugikan sehingga obat alternatif mulai menjadi pilihan di antaranya antioksidan dan beberapa obat tradisional. Ekstrak etanol buah mengkudu telah diteliti memiliki kemampuan penghambatan enzim AChE baik secara *in vivo* maupun *in vitro*.

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu : identifikasi serbuk simplisia buah mengkudu, pemisahan senyawa, pengujian penghambatan enzim AChE secara *in vitro* dan identifikasi senyawa kimia. Identifikasi serbuk simplisia dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Gadjah Mada maupun di

Laboratorium Taksonomi Universitas Setia Budi. Identifikasi meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Pemisahan senyawa dilakukan dengan ekstraksi dan KCV. Ekstrak etanol buah mengkudu dibuat dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Fraksinasi dengan KCV menggunakan fase diam silika gel 60 G dan fase gerak *n*-heksan:etil asetat. Elusi dimulai dengan eluen *n*-heksan (100 %) kemudian dijalankan secara gradien dengan seri eluen *n*-heksan:etil asetat 99 : 1, 98 : 2, 97 : 3, 96 : 4, 95 : 5, 94 : 6, 93 : 7, 90 : 10, 88 : 12, 87 : 13, 86 : 14, dan 84 : 16. Pengelompokan fraksi-fraksi nonpolar-semipolar ekstrak etanol buah mengkudu dilakukan berdasarkan kesamaan profil bercak pada KLT.

Pengujian penghambatan aktivitas enzim AChE dilakukan dengan metode Ellman dikombinasi dengan metode yang dikembangkan Rhee *et. al.* (2003). *Microplate 96 wells* diisi dengan, 25 µl larutan uji (ekstrak dan fraksi dengan konsentrasi 2000, 1000, 500, 250, 125µg/ml dan neostigmin dengan konsentrasi 62,5, 31,25, 15,625, 7,812 dan 3,906 µg/ml), 50 µl Tris-HCl buffer 50mM pH 8, 25 µl larutan enzim AChE (0,2 unit/ml) diinkubasi pada temperatur 25<sup>0</sup>C selama 10 menit, ditambahkan 125 µl DTNB 3 mM diukur absorbansi pada panjang gelombang 405 nm sebagai blanko, ditambahkan 25µl ACTI 15 mM diukur absorbansi pada panjang gelombang 405 nm dengan interval waktu satu menit sebanyak 5 kali (pada kontrol negatif 25µl larutan uji diganti dengan buffer tris HCl pH 8). Persentase penghambatan enzim AChE dianalisis dengan analisis log-probit untuk memperoleh nilai IC<sub>50</sub>.

Identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan KLT senyawa kimia dengan KLT dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi-fraksi buah mengkudu sehingga dapat diketahui golongan senyawa yang terkandung pada masing-masing fraksi antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, fenolik, antrakuinon dan kumarin. Fraksi teraktif dianalisis dengan LC-MS.

Serbuk simplisia yang diserahkan ke Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada diidentifikasi sebagai dengan *Morinda citrifolia* L famili rubiaceae. Berdasarkan pengujian mikroskopik serbuk simplisia memiliki fragmen pengenal buah mengkudu. Ekstraksi 1 kg serbuk simplisia buah mengkudu menghasilkan ekstrak kental dengan warna merah kecoklatan dan berminyak sebesar 77,435 gram (rendemen 7,74%). Berdasarkan hasil fraksinasi 20 g ekstrak etanol buah mengkudu diperoleh 3 fraksi. Fraksi I berbentuk minyak dengan warna jingga kecoklatan sebesar 1703 mg (rendemen 8,51 %). Fraksi II dalam bentuk minyak berwarna jingga sebesar 959 mg (rendemen 4,79 %). Fraksi III memiliki konsistensi kental, berminyak, berwarna jingga pekat sebesar 636 mg (rendemen 3,18 %).

Berdasarkan pengujian penghambatan aktivitas enzim AChE diperoleh Nilai  $IC_{50}$  fraksi I dan fraksi II buah mengkudu secara berturut-turut sebesar 972,893 dan 1970,604  $\mu\text{g/ml}$  sedangkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol dan fraksi III tidak dapat ditentukan ( $>2000 \mu\text{g/ml}$ ). Nilai  $IC_{50}$  ekstrak mengkudu dan fraksi-fraksinya menunjukkan penghambatan enzim yang lemah sedangkan pada penelitian sebelumnya (Pachauri *et. al.*, 2012) ekstrak mengkudu dan fraksi-fraksinya menunjukkan penghambatan sedang hingga kuat. Hal-hal yang menyebabkan

perbedaan hasil dapat terjadi di antaranya enzim yang digunakan, perbandingan jumlah sampel dan enzim serta pelarut pada proses fraksinasi. Pachauri *et. al.* (2012) menggunakan enzim dari homogenat otak mencit sebanyak 25  $\mu\text{L}$  diinkubasi ke dalam 1mL sampel uji sedangkan pada penelitian ini digunakan enzim asetilkolinesterase dari *electric eel* sebanyak 25  $\mu\text{L}$  diinkubasi bersama 25  $\mu\text{L}$  sampel uji. Pelarut nonpolar yang digunakan Pachauri *et. al.*, (2012) adalah kloroform sedangkan pada penelitian digunakan n-heksan. Selain itu juga, dapat disebabkan karena sampel kurang terlarut.

Faksi-fraksi ekstrak etanol buah mengkudu diidentifikasi dengan menggunakan KLT. Hasil identifikasi golongan senyawa dengan KLT menunjukkan Fraksi I menunjukkan hasil positif pada pengujian terpenoid dan fenolik. Fraksi II menunjukkan hasil positif pada pengujian terpenoid, steroid fenolik dan kumarin. Fraksi 3 menunjukkan hasil positif pada pengujian terpenoid, steroid, fenolik, antrakuinon dan flavanoid. Ketiga fraksi menunjukkan hasil negatif pada pengujian alkaloid. Berdasarkan analisis LC-MS, Fraksi teraktif dalam pengujian penghambatan aktivitas enzim AChE (fraksi I) diduga mengandung senyawa 3,3-bisdemetilpinoresinol dan pinoresinol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnan M. 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta : Penerbit ANDI.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta : UI Press.
- Bachtiar A., Soediro I, Soetarno S. 2007. Isolasi dan Identifikasi Kandungan Daun, Buah dan Kulit Akar Mengkudu Padang (*Morinda Tinctoria* Roxb.). [Tesis]. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Barker MJ, Greenwood KM, Jackson M, Crowe SF. 2004. Cognitive effects of long-term benzodiazepine use. *CNS Drugs* 18 : 37-48.
- Bohn P *et al.* 2009. Rational design of central selective acetylcholinesterase inhibitors by means of a “bio-oxidisable prodrug” strategy. *Org. Biomol. Chem* 7 : 2612-2618.
- Boonantananasarn K *et al.* 2012. *Morinda citrifolia* leaf enhances in vitro osteogenic differentiation and matrix mineralization by human periodontal ligament cells. *Dentistry* 2 : 1-7.
- Bostrom N, Sandberg A. 2009. Cognitive enhancement: methods, ethics, regulatory challenges. *Sci Eng Ethics* 15: 311–341.
- Cammarota M *et al.* 2000. Learning-associated activation of nuclear MAPK, CREB, and ELK-1, along with FOS production, in the rat hippocampus after a one-trial avoidance learning : abolition by NMDA receptor blockade. *Mol Brain Res* 78:36–46.
- Chearskul S *et al.* 2004. *Morinda citrifolia* has very weak estrogenic activity in vivo. *Thai Journal Of Physiological Sciences* 17 : 22-29.
- Deng S *et al.* 2007. Lipoxigenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. *J. Nat. Prod* 70 : 859-862. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np0605539>. [15 Januari 2014].
- Devi K, Krishna G. 2013. Phytochemical screening, antibacterial, antifungal and anthelmintic activity of *Morinda citrifolia* stem. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2 : 115-117.
- Ding A, Ouyang M, Liu X, Wang R. 2012. Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Flavonoids from the Leaves of Ginkgo biloba against Brown Planthopper. *Journal of Chemistry*. Abstr

- Ditjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia III*. Jakarta : Depkes RI.
- Ditjen POM. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia Jilid I*. Jakarta : Depkes RI
- Ditjen POM. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta : Depkes RI.
- Ditjen POM. 1989. *MMI Jilid V*. Jakarta Depkes RI.
- Ditjen POM. 2008. *Farmakope Herbal*. Jakarta : Depkes RI
- Doty L. 2007. Mild cognitive impairment (MCI). *Memory Disorder Clinic Appointments* 352 : 265-8408.
- Droge W, Schipper H. 2007. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. *Aging Cell* 6 : 361–370.
- El Hassan A *et al.* 2003. Bioactive constituents of *Leptadenia arborea*. *Fitoterapia* 74 : 184-187.
- Ganguli M *et al.* 2004. Mild cognitive impairment, Amnesic Type: an Epidemiologic Study. *Neurology*. 63:115-21.
- Guyton AC, Hall JE. 1996. *Textbook of Medical Physiology, 9<sup>th</sup> edition*. USA : WB Saunders Co.
- Hadijah H, Ayub MY, Zaridah H, Normah A. 2008. Hypolipidemic activity of an aqueous extract of *Morinda citrifolia* fruit in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.* 36 : 77– 85.
- Harborne. I.B., 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan K. Radmawinata dan I. Soediso. Bandung : ITB.
- Hasselmo ME. 2006. The Role of Acetylcholine in Learning and Memory. *Curr Opin Neurobiol* 16 :710-715.
- 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.
- Izquierdo I *et al.* 2006. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci* 29 : 496–505.

- Izquierdo I , Medina H. 1997. Memory formation : the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem* 68: 285–316.
- Jung M, Park M. 2007. Acetylcholinesterase Inhibition by Flavonoids from *Agrimonia pilosa*. *Molecules* 12 : 2130-2139
- Kartikasari A. 2013. Pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap memori dan fungsi kognitif mencit galur Balb/C berdasar *passive avoidance test*. [Skripsi]. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Kazakevich Y, LoBrutto R. 2009. *HPLC for Pharmaceutical Scientist*. New Jersey : John Wiley & Sons Inc.
- Kharis Z, Hawariah LPA, Normah A, Aishah R. 2010. *Morinda citrifolia* extract inhibits proliferation of non-small human lung cancer cell line NCI-H23 via apoptosis by modulating the Bax:Bcl-2 ratio. *J Trop. Agric. and Fd. Sc.* 38 : 203– 209.
- Lin CF, Ni CL, Huang YL, Sheu SJ, Chen CC. 2007. Lignans and anthraquinones from the fruits of *Morinda citrifolia*. *Nat Prod Res* 21 : 1199-1204. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17987501>. [15 Januari 2014].
- Lindsay C, Golden KD. 2012. *Morinda citrifolia*: amino acid and lipid content of the noni fruit at various stages of maturity. *Journal of Scientific Research* 4 : 467. Abstrak.
- Lohani M. 2010. Immunomodulatory properties of noni (*Morinda citrifolia*) [Thesis]. South Carolina : Clemson University.
- Lu YF, Kandel ER, Hawkins RP. 1999. Nitric oxide signaling contribute to late-phase LTP and ERB phosphorylation in the hippocampus. *J. Neuroscience* 23 : 10250.
- Lynch MA. 2004. Long-term potentiation and memory physical. *Rev* 84 : 87-136.
- Mandukhail SR, Aziz N, Gilani AH. 2010. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. *Lipids in Health and Disease* 9 : 1-7.
- Menkes. 2010. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 263/Menkes/SK/II/2010 Tentang Pedoman Rehabilitasi Kognitif. Jakarta : Menteri Kesehatan Republik Indonesia.

- Milliana M *et al.* 2005. Drug-induced oxidative stress in rat liver from toxicogenomics perspective. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207 : S171 – S178.
- Mursito B. 2003. *Ramuan Tradisional untuk Pelangsing Tubuh*. Depok : Penebar Sawadaya.
- Nagalingam S, Sasikumar CS, Cherian KM. 2005. Extraction and preliminary phytochemical screening of active compounds in *Morinda citrifolia* fruit. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research* 5 : 179-181.
- Nehlig A. 2010. Is caffeine a cognitive enhancer? *Journal of Alzheimer's Disease* 20 : S85–S94.
- Pachauri SD *et al.* 2012. Protective effect of fruits of *Morinda citrifolia* L. on scopolamine induced memory impairment in mice: a behavioral, biochemical and cerebral blood flow study. *Journal of Ethnopharmacology* 139 : 34–41.
- Pachauri SD *et al.* 2013. Ameliorative effect of noni fruit extract on streptozotocin-induced memory impairment in mice. *Behavioural Pharmacology* 24 : 307–319.
- Pitt JJ. 2009. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *The Clinical Biochemist Reviews* 30 : 19-34.
- Praveen K. Ramamoorthy, Bono A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. 2007. *Journal of Engineering Science and Technology* 2 : 70 – 80.
- Purves D *et al.* 2001. *Neuroscience. 2nd edition*. USA : Sinauer Associates.
- Rahman M, Shahdaat M, Haque A, Hassan M, Islam SMA. Phytochemical screening, Antioxidant, Anti-Alzheimer and Anti-diabetic activities of *Centella asiatica*. *J. Nat. Prod. Plant Resour* 2 : 504-511
- Rao V & Lyketsos C. 2000. Neuropsychiatric Sequelae of traumatic brain injury. *Psychosomatics* 41: 95–103.
- Rasal VP, Sinnathambi A, Ashok P, Yeshmaina S. 2008. Wound healing and antioxidant activities of *Morinda citrifolia* leaf extract in rats. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics* 7 : 49-52.



- 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
- Rivera A *et al.* 2012. Bioactive constituents in ethanolic extract leaves and fruit juice of *Morinda citrifolia*. *Annals of Biological Research* 3 :1044-1049.
- Roberts RO, *et al.* 2008. The Mayo clinic study of aging: design and sampling, participation, baseline measures and sample characteristics. *Neuroepidemiology*. 30 : 58-69.
- Saladin KS. 2006. *Anatomy and Physiology : the Unity of Form and Function*, 4<sup>th</sup> edition. Newyork : McGraw hill.
- Sastrohamidjoyo H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Shenoy JP *et. al.* 2011. An evaluation of diuretic activity *Morinda citrifolia* (linn) fruit juice in normal rats. *Int J Pharm Sci* 3 : 119-121.
- Shiddiqui BS, Sattar FA, Ahmad F, Begum S. 2007. Isolation and structural elucidation of chemical constituents from the fruits of *Morinda citrifolia* Linn. *Arch Pharm Res*. 30 : 919-23.
- Shiddiqui BS, Sattar FA, Ahmad F, Begum S. 2008. Isolation and structure determination of two new constituents from the fruits of *Morinda citrifolia* Linn. *Nat Prod Res* 22 : 1128-1136. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18855212>. [15 Januari 2014].
- Siege A, Sapru HN. 2005. *Essential Neuroscience 1<sup>st</sup> edition*. Philadelphia : Lippicot william adn wilkins.
- Singh S. 2013. Phytochemicals in plant parts of noni (*Morinda citrifolia* L.) with special reference to fatty acid profiles of seeds [Abstrak]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; India.
- Silva RH *et al.* 2004. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology* 46 : 895–903.
- Srikanth J, Kavimani S, Reddy CUM. 2012. In silico docking study of active constituents identified in *Morinda citrifolia* Linn as enzyme targets of alzheimer's disease. [http://scholar.google.co.in/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=en&user=ZnR0TfcAAAAJ&citation\\_for\\_view=ZnR0TfcAAAAJ:zYLM7Y9cAGgC](http://scholar.google.co.in/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=ZnR0TfcAAAAJ&citation_for_view=ZnR0TfcAAAAJ:zYLM7Y9cAGgC)

- Stahl E. 1969. *Thin Layer Chromatography, alaboratory handbook*, 2nd ed. New York : Springer Verlag.
- Sullivan EV & Pfefferbaum A. 2005. Neurocircuitry in alcoholism: A substrate of disruption and repair. *Psychopharmacology (Berl)* 180 : 583-594 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15834536>. [17 Januari 2014].
- Sunanto H. 2009. *100 Resep Sembuhkan Hipertensi, Obesitas, dan Asam Urat*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Thoo' YY et al., 2013. Optimal binary solvent extraction system for phenolic antioxidants from mengkudu (*Morinda citrifolia*) fruit. *Molecules* 18 : 7004-7022.
- Timotius KH. 2003. Komposisi minyak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Teknologi dan Industri pangan* 14 : 262-265.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta : Gramedia Hlm 434.
- Unverzagt FW et. al. 2001. Prevalence of cognitive impairment: Data from the Indianapolis Study of Health and Aging. *Neurology* 57 : 1655-1662.
- Utami P, Tim Lentera. 2003. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Rematik dan Asam Urat*. Depok : Agromedia pustaka.
- Vogel H. G. 2002. *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays. Second Completely Revised, Updated, and Enlarged Edition*. New York : Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Wagstaff LR, Mitton MW, Arvik BM, Doraiswamy PM. 2003. Statin-associated memory loss: analysis of 60 case reports and review of the literature. *Pharmacotherapy* 23 : 871-80.
- West BJ, White LD, Jensen CJ, Palu AK. 2009. A double-blind clinical safety study of noni fruit juice. *Pacific Health Dialog* 15 : 21-32.
- West BJ, Su CX, Jensen CJ. 2009. Hepatotoxicity and subchronic toxicity test of *Morinda citrifolia* (noni) fruit. *The Journal of Toxicological Science* 34 : 583-585.
- West BJ, Palmer SK, Deng S, Palu AK. 2012. Antimicrobial activity of an iridoid rich extract from *Morinda citrifolia* Fruit. *Curr. Res. J. Biol. Sci.* 4 : 52-54.

- Wu D and Cederbaum AI. 2003. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research & Health* 27 : 277-284.
- Yang J, Gadi R, Thomson T. 2011. Antioxidant capacity, total phenols, and ascorbic acid content of noni (*Morinda citrifolia*) fruits and leaves at various stages of maturity. *Micronesica* 41:167–176.
- Ying WM *et al.* 2002. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacol Sin* 23 : 1127-1141.
- Yoshikawa T and Naito Y. 2002. What is oxidative stress? *JMAJ* 45 : 271–276.
- Yuen EY *et al.* 2012. Repeated Stress Causes Cognitive Impairment by Suppressing Glutamate Receptor Expression and Function in Prefrontal Cortex. *Neuron* 73 : 962–977.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Identifikasi Serbuk Simplisia Buah Mengkudu



**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>Tinospora crispa</i> ( L. ) Miers ex Hook. F. & Th. Sinonim : <i>Tinospora tuberculata</i> ( Lmk. ) Beumee ex K. Heyne	Menispermaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 17 April 2014

Ketua

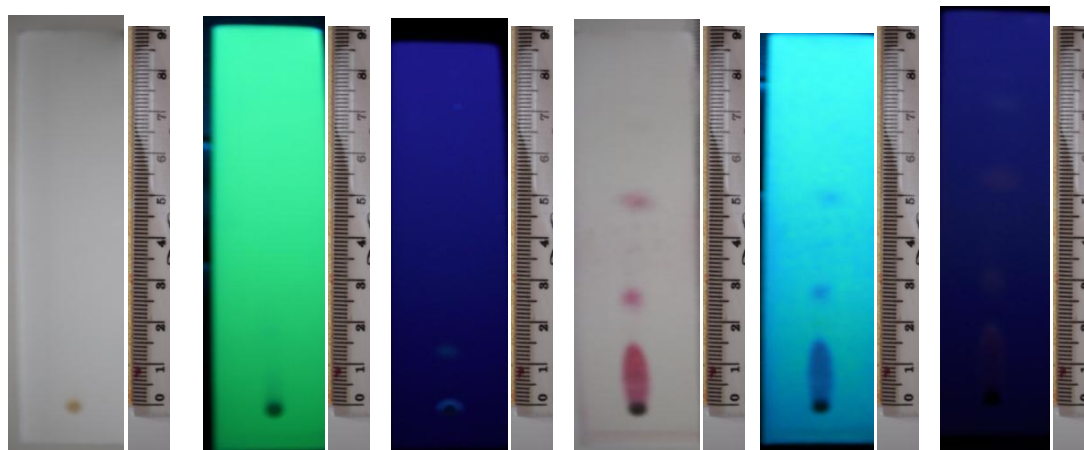


Prof. Dr. Wahyono, SU., Apt  
NIP. 19500701197702100

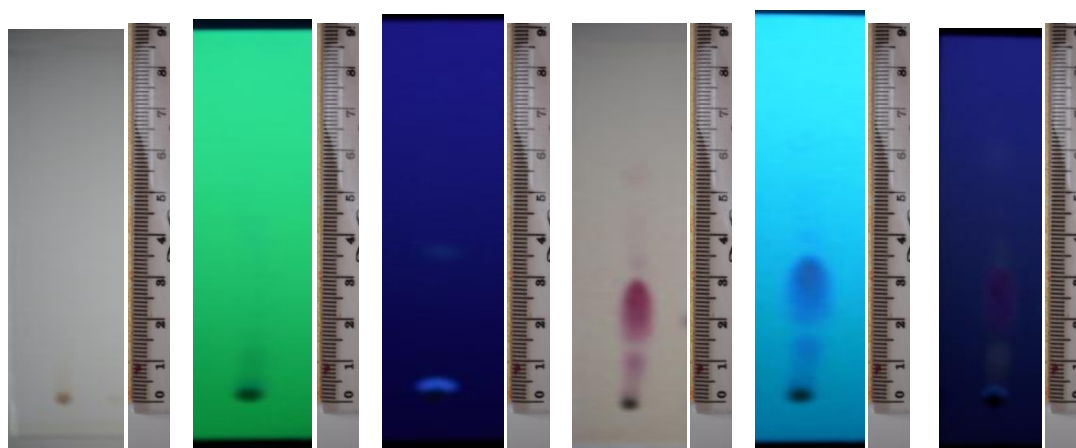
## Lampiran 2. Optimasi Fase gerak Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm
--	---	---	--	---	---

a)



b)



Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 1 cm

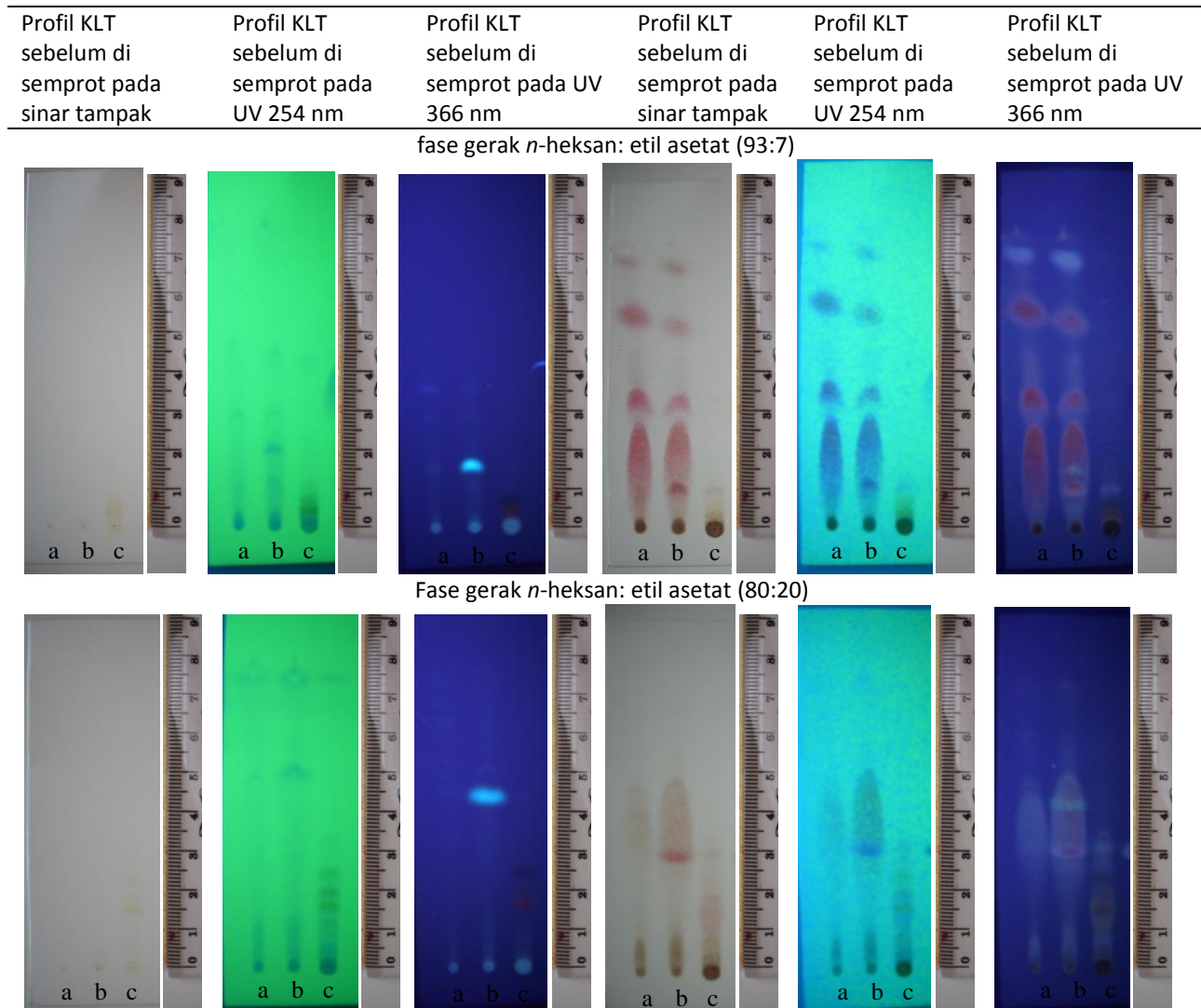
Fase gerak : *n*-heksan : etil asetat a) 93:7 b) 8 : 2

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Jumlah noda : a) terdapat 4 noda dengan nilai  $r_f$  0,059 (berekor);  
0,294; 0,559; dan 0,765

a) terdapat 7 noda dengan nilai  $r_f$  0,029 (berpendar  
di bawah sinar UV 366 nm); 0,117 (berekor);  
0,294 (berekor); 0,416; 0,453; 0,662 dan 0,734

### Lampiran 3. Profil KLT Fraksi I, Fraksi II dan Fraksi III Ekstrak Etanol Buah Mengkudu



Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 3 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Deteksi : Liebermann-Burchard

Nilai rf : fase gerak *n*-heksan: etil asetat (93:7)

fraksi I : 0,059; 0,147 (berekor); 0,353; 0,411; 0,588; 0,764; dan 0,853

fraksi II : 0,059; 0,117; 0,147 (berekor) ; 0,18; 0,353; 0,411; 0,588; 0,764 dan 0,853

fraksi III 0,059 dan 0,117

Fase gerak *n*-heksan: etil asetat (80:20)

fraksi I : 0,059; 0,411(berekor); 0,588; 0,647; 0,676; 0,853

fraksi II : 0,059; 0,117; 0,294; 0,353; 0,411 (berekor); 0,5; 0,588; 0,647; 0,676; 0,853

fraksi III 0,059; 0,176; 0,253; 0,294; dan 0,353

a = fraksi I

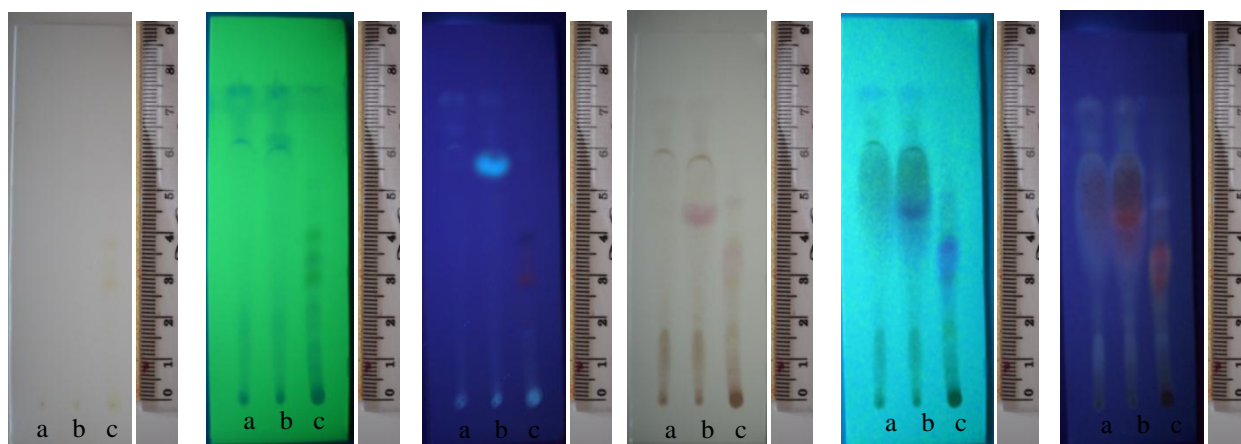
b = fraksi II

c = fraksi III

### Lanjutan Lampiran 3.

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm
--	---	---	--	---	---

*n*-heksan: etil asetat (70:30)



**Keterangan :**

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 3 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Deteksi : Liebermann-Burchard

Nilai *r<sub>f</sub>* : fraksi I : 0,117; 0,411(berekor); 0,559; (berekor);  
0,706 dan 0,853  
fraksi II : 0,117; 0,232; 0,529; 0,559 (berekor);  
0,764; 0,853  
fraksi III 0,117; 0,176; 0,353 (berekor); 0,529  
(berekor); dan 0,559.

a = fraksi I

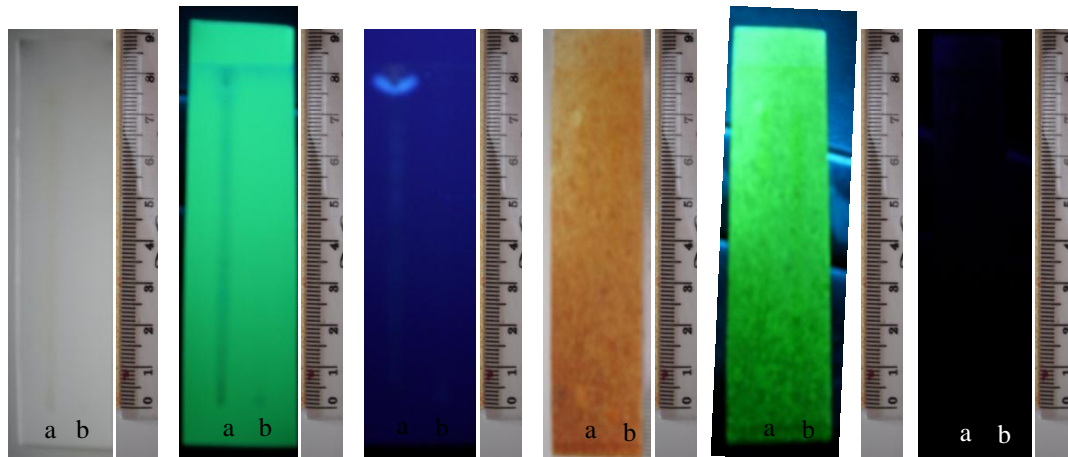
b = fraksi II

c = fraksi III

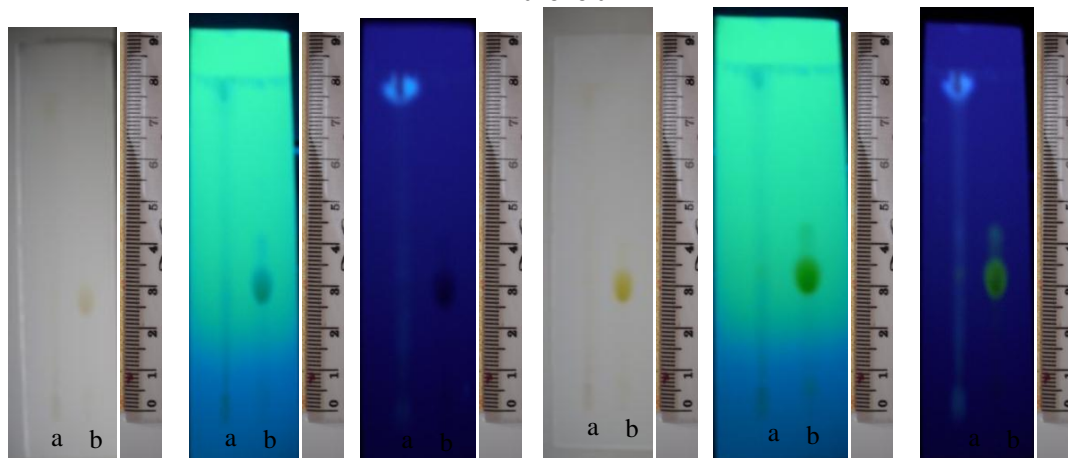
#### Lampiran 4. Identifikasi KLT Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm
---	--	--	---	--	--

##### Alkaloid



##### Flavonoid



##### Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 2 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Fasegerak : alkaloid = Toluene: etilasetat:dietilamin (7:2:1)

flavonoid =

etil asetat:asam formiat:asam asetat glassial:air  
(100:11:11:27)

Pembanding : alkaloid = kuinin 10mg / 1ml etanol (rf = 0,235)

flavonoid = rutin 10mg / 1ml etanol (rf = 0,353)

Deteksi : alkaloid = Dragendorf

flavonoid = sitroborat

Nilai rf : alkaloid : 0,176 (warna coklat jingga)

Flavanoid : 0,353 (warna kuning)

a = ekstrak

b = pembanding



### Lanjutan Lampiran 4.

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT setelah di semprot pada sinar tampak	Profil KLT setelah di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT setelah di semprot pada UV 366 nm
<b>Terpenoid</b>					
<b>Steroid</b>					

Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 2 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Fase gerak : terpenoid = *n*-heksan: etil asetat (93:7)

steroid = *n*-heksan: etil asetat (4:1)

Pembanding : terpenoid = stigmasterol 10mg / 1ml etanol (rf = 0,235)5

steroid = timol 10mg / 1ml etanol (rf = 0,294)

Deteksi : terpenoid = Liebermann-Burchard

steroid = Liebermann-Burchard

Nilai rf : terpenoid = 0,059 (berekor); 0,294; 0,559; dan 0,765

semua noda berwarna merah

steroid = 0,117 (berekor); 0,294 (berekor); 0,416;

0,453; dan 0,662

a = ekstrak

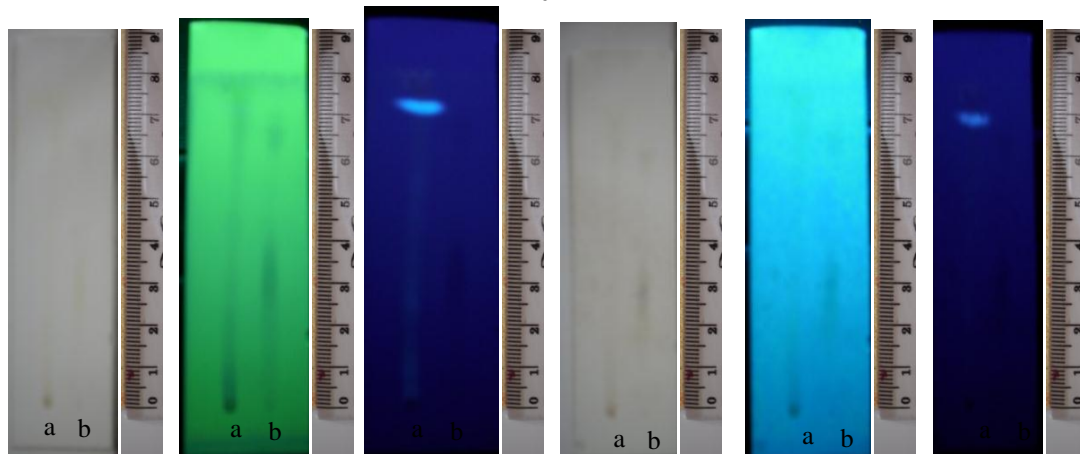
b = pembanding

semua noda berwarna merah

#### Lanjutan Lampiran 4.

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT setelah di semprot pada sinar tampak	Profil KLT setelah di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT setelah di semprot pada UV 366 nm
--	---	---	--	---	---

Tanin



Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 2 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Fasegerak : etil asetat:asam Formiat:toluen:air (6:1,5:3:0,5)

Pembanding : katekin 10mg/1ml etanol

Deteksi :  $\text{FeCl}_3$

Nilai rf : hasil negatif tanin

a = ekstrak

b = pembanding

### Lampiran 5. Identifikasi KLT Golongan Senyawa Kimia Fraksi I, II dan III Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm
Alkaloid					
Flavonoid					

**Keterangan :**

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 4 cm

Fase diam : alkaloid = silika gel 60 GF 254

Flavonoid = selulosa

Fasegerak : alkaloid = Toluene: etilasetat:dietilamin (7:2:1)

flavonoid = BAW (415)

Pembanding : alkaloid = kuinin 10mg / 1ml etanol (rf = 0,235)

flavonoid = kuersetin 10mg / 1ml etanol (rf = 0,647)

Deteksi : alkaloid = Dragendorff

flavonoid = sitroborat

Nilai rf : alkaloid = pengujian negatif

flavonoid = 0,706 (berekor warna jingga)

a = fraksi I

b = fraksi II

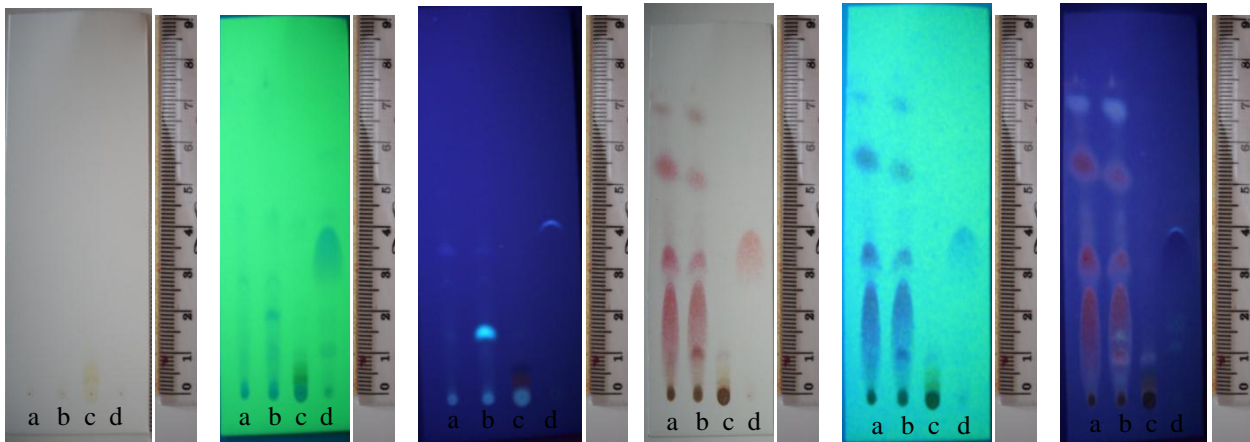
c = fraksi III

d = pembanding

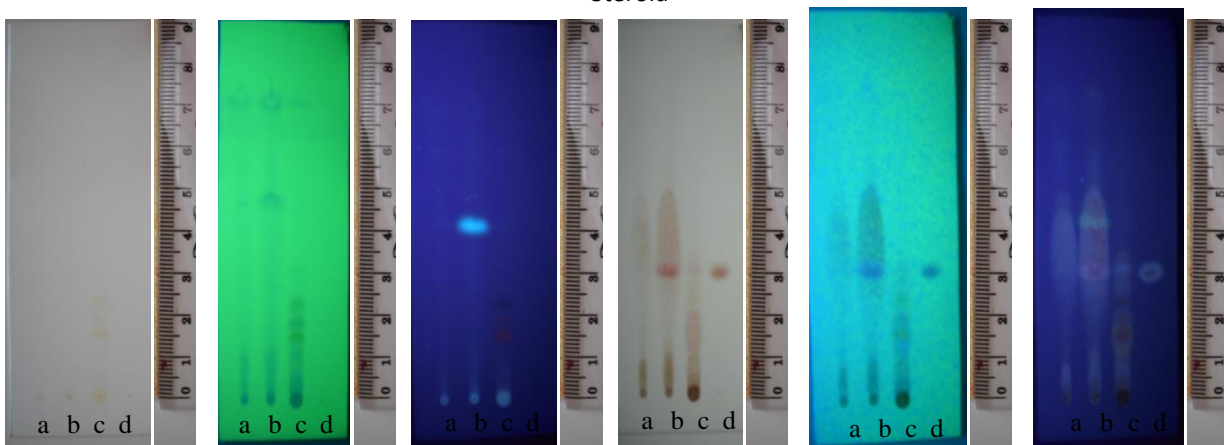
### Lanjutan Lampiran 5.

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm
--	---	---	--	---	---

#### Terpenoid



#### Steroid



#### Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm

Lebar plat KLT : 4 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Fasegerak : terpenoid = *n*-heksan: etil asetat (93:7)  
steroid = *n*-heksan: etil asetat (4:1)

Pembanding : terpenoid = stigmasteryl 10mg / 1ml etanol (rf = 0,353)  
steroid = timol 10mg / 1ml etanol (rf = 0,411)

Deteksi : terpenoid = Liebermann-Burchard  
steroid = Liebermann-Burchard

Nilai rf : terpenoid warna merah

fraksi I : 0,294 (berekor); 0,382; 0,588; 0,764

fraksi II : 0,235; 0,294 (berekor); 0,382; 0,588; 0,764

fraksi III 0,059

steroid warna merah (fraksi II dan III : 0,353)

a = fraksi I

b = fraksi II

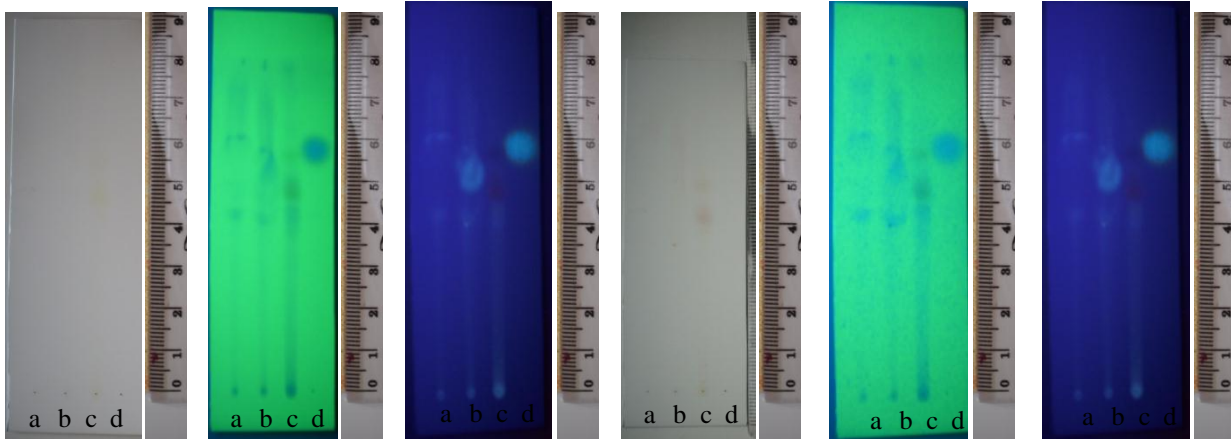
c = fraksi III

d = pembanding

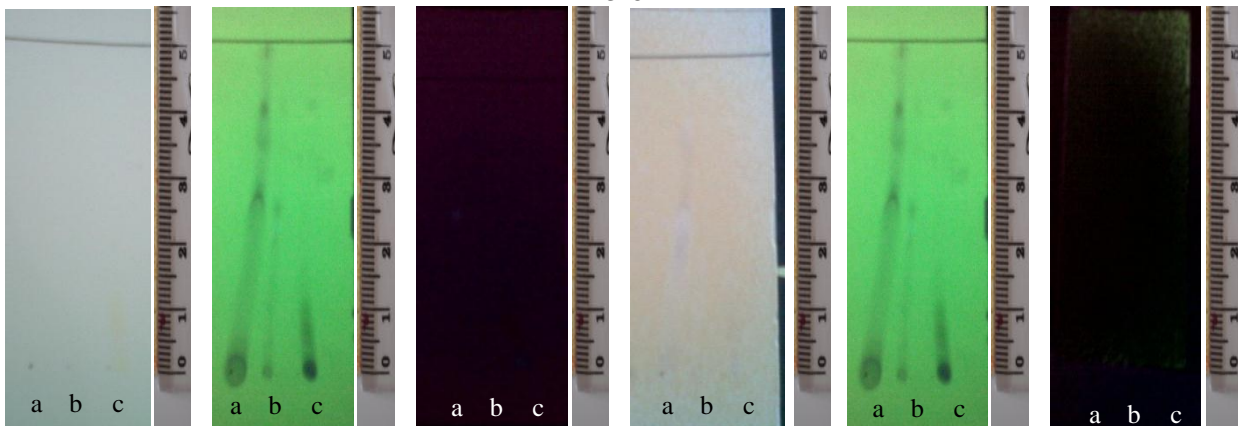
### Lanjutan Lampiran 5.

Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada sinar tampak	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 254 nm	Profil KLT sebelum di semprot pada UV 366 nm
--	---	---	--	---	---

#### Kumarin dan Antrakuinon



#### Fenolik



#### Keterangan :

Tinggi plat KLT : 10 cm (kumarin dan antrakuinon) dan 6,5 cm (fenolik)

Lebar plat KLT : 4 cm

Fase diam : silika gel 60 GF 254

Fase gerak : kumarin dan antrakuinon

dietileter: asamasetat: gliserol 12% (5:5:5)

fenolik = *n*-heksan: etil asetat (4:1)

Pembanding : kumarin = kumarin 10mg / 1ml etanol (rf = 0,647)

Deteksi : kumarin dan antrakuinon = KOH etanolik

Fenolik = FeCl<sub>3</sub>

Nilai rf : kumarin = fraksi II (0,618 biru muda berpendar)

Antrakuinon = fraksi III (0,429 dan 0,5)

fenolik = fraksi I 0,3 (berekor), 0,5

fraksi II 0,2

fraksi III 0,1

a = fraksi I

b = fraksi II

c = fraksi III

d = pembanding

**Lampiran 6. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Neostigmin**

62,5 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,337	0,37	0,358	0,319	0,352	0,324	0,018	0,018	0,034
1	0,347	0,382	0,367	0,319	0,352	0,324	0,028	0,03	0,043
2	0,356	0,394	0,375	0,319	0,352	0,324	0,037	0,042	0,051
3	0,367	0,406	0,383	0,319	0,352	0,324	0,048	0,054	0,059
4	0,378	0,421	0,392	0,319	0,352	0,324	0,059	0,069	0,068

31,25 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,372	0,378	0,389	0,356	0,362	0,364	0,016	0,016	0,025
1	0,391	0,401	0,411	0,356	0,362	0,364	0,035	0,039	0,047
2	0,416	0,423	0,432	0,356	0,362	0,364	0,06	0,061	0,068
3	0,432	0,441	0,455	0,356	0,362	0,364	0,076	0,079	0,091
4	0,45	0,456	0,48	0,356	0,362	0,364	0,094	0,094	0,116

15,625 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,503	0,412	0,479	0,464	0,407	0,449	0,039	0,005	0,03
1	0,528	0,435	0,503	0,464	0,407	0,449	0,064	0,028	0,054
2	0,559	0,458	0,526	0,464	0,407	0,449	0,095	0,051	0,077
3	0,582	0,48	0,548	0,464	0,407	0,449	0,118	0,073	0,099
4	0,605	0,509	0,579	0,464	0,407	0,449	0,141	0,102	0,13

Keterangan : A = absorbansi

### Lanjutan Lampiran 6.

7,8 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,366	0,395	0,629	0,355	0,393	0,572	0,011	0,002	0,057
1	0,397	0,419	0,663	0,355	0,393	0,572	0,042	0,026	0,091
2	0,429	0,442	0,691	0,355	0,393	0,572	0,074	0,049	0,119
3	0,465	0,466	0,719	0,355	0,393	0,572	0,11	0,073	0,147
4	0,49	0,495	0,743	0,355	0,393	0,572	0,135	0,102	0,171

3,906 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,435	0,361	0,465	0,405	0,348	0,442	0,03	0,013	0,023
1	0,473	0,384	0,493	0,405	0,348	0,442	0,068	0,036	0,051
2	0,502	0,407	0,521	0,405	0,348	0,442	0,097	0,059	0,079
3	0,531	0,434	0,544	0,405	0,348	0,442	0,126	0,086	0,102
4	0,567	0,465	0,581	0,405	0,348	0,442	0,162	0,117	0,139

Keterangan : A = absorbansi

**Lampiran 7. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Ekstrak Etanol Buah Mengkudu.**

<b>2000 µg/ml</b>									
<b>Menit</b>	<b>A 1</b>	<b>A 2</b>	<b>A 3</b>	<b>Blanko 1</b>	<b>Blanko 2</b>	<b>Blanko 3</b>	<b>A 1-blanko 1</b>	<b>A 2-blanko 2</b>	<b>A 3-blanko 3</b>
0	1,113	1,169	1,26	0,667	0,75	0,932	0,446	0,419	0,328
1	1,174	1,233	1,322	0,667	0,75	0,932	0,507	0,483	0,39
2	1,221	1,287	1,352	0,667	0,75	0,932	0,554	0,537	0,42
3	1,275	1,33	1,388	0,667	0,75	0,932	0,608	0,58	0,456
4	1,331	1,38	1,427	0,667	0,75	0,932	0,664	0,63	0,495

<b>1000 µg/ml</b>									
<b>Menit</b>	<b>A 1</b>	<b>A 2</b>	<b>A 3</b>	<b>Blanko 1</b>	<b>Blanko 2</b>	<b>Blanko 3</b>	<b>A 1-blanko 1</b>	<b>A 2-blanko 2</b>	<b>A 3-blanko 3</b>
0	1,124	1,146	1,101	0,491	0,567	0,526	0,633	0,579	0,575
1	1,201	1,212	1,179	0,491	0,567	0,526	0,71	0,645	0,653
2	1,264	1,263	1,242	0,491	0,567	0,526	0,773	0,696	0,716
3	1,32	1,315	1,297	0,491	0,567	0,526	0,829	0,748	0,771
4	1,346	1,361	1,355	0,491	0,567	0,526	0,855	0,794	0,829

<b>500 µg/ml</b>									
<b>Menit</b>	<b>A 1</b>	<b>A 2</b>	<b>A 3</b>	<b>Blanko 1</b>	<b>Blanko 2</b>	<b>Blanko 3</b>	<b>A 1-blanko 1</b>	<b>A 2-blanko 2</b>	<b>A 3-blanko 3</b>
0	1,063	1,084	1,082	0,544	0,552	0,619	0,519	0,532	0,463
1	1,13	1,143	1,166	0,544	0,552	0,619	0,586	0,591	0,547
2	1,19	1,195	1,222	0,544	0,552	0,619	0,646	0,643	0,603
3	1,243	1,264	1,283	0,544	0,552	0,619	0,699	0,712	0,664
4	1,313	1,335	1,336	0,544	0,552	0,619	0,769	0,783	0,717

Keterangan : A = absorbansi



### Lanjutan Lampiran 7.

250 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	1,048	1,12	1,072	0,446	0,503	0,539	0,602	0,617	0,533
1	1,116	1,199	1,149	0,446	0,503	0,539	0,67	0,696	0,61
2	1,176	1,263	1,212	0,446	0,503	0,539	0,73	0,76	0,673
3	1,232	1,323	1,277	0,446	0,503	0,539	0,786	0,82	0,738
4	1,291	1,395	1,342	0,446	0,503	0,539	0,845	0,892	0,803

125 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	1,1	1,028	1,139	0,474	0,452	0,619	0,626	0,576	0,52
1	1,192	1,099	1,24	0,474	0,452	0,619	0,718	0,647	0,621
2	1,262	1,156	1,296	0,474	0,452	0,619	0,788	0,704	0,677
3	1,325	1,216	1,356	0,474	0,452	0,619	0,851	0,764	0,737
4	1,401	1,314	1,416	0,474	0,452	0,619	0,927	0,862	0,797

Keterangan : A = absorbansi

**Lampiran 8. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Fraksi I Ekstrak Etanol Buah Mengkudu.**

2000 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	1,071	0,841	0,838	0,793	0,516	0,533	0,278	0,325	0,305
1	1,108	0,891	0,889	0,793	0,516	0,533	0,315	0,375	0,356
2	1,132	0,931	0,933	0,793	0,516	0,533	0,339	0,415	0,4
3	1,157	0,971	0,972	0,793	0,516	0,533	0,364	0,455	0,439
4	1,181	1,013	1,017	0,793	0,516	0,533	0,388	0,497	0,484

1000 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,914	0,845	0,743	0,519	0,515	0,471	0,395	0,33	0,272
1	0,974	0,893	0,798	0,519	0,515	0,471	0,455	0,378	0,327
2	1,021	0,932	0,839	0,519	0,515	0,471	0,502	0,417	0,368
3	1,069	0,972	0,88	0,519	0,515	0,471	0,55	0,457	0,409
4	1,117	1,012	0,924	0,519	0,515	0,471	0,598	0,497	0,453

500 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,843	0,955	0,726	0,487	0,489	0,474	0,356	0,466	0,252
1	0,893	1,032	0,771	0,487	0,489	0,474	0,406	0,543	0,297
2	0,931	1,096	0,81	0,487	0,489	0,474	0,444	0,607	0,336
3	0,971	1,129	0,846	0,487	0,489	0,474	0,484	0,64	0,372
4	1,048	1,162	0,915	0,487	0,489	0,474	0,561	0,673	0,441

Keterangan : A = absorbansi

**Lanjutan Lampiran 8.**

250 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	1,02	0,795	0,836	0,591	0,466	0,482	0,429	0,329	0,354
1	1,089	0,848	0,897	0,591	0,466	0,482	0,498	0,382	0,415
2	1,137	0,892	0,946	0,591	0,466	0,482	0,546	0,426	0,464
3	1,179	0,939	0,988	0,591	0,466	0,482	0,588	0,473	0,506
4	1,23	0,987	1,085	0,591	0,466	0,482	0,639	0,521	0,603

125 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,886	0,902	0,8	0,481	0,416	0,408	0,405	0,486	0,392
1	0,942	0,979	0,863	0,481	0,416	0,408	0,461	0,563	0,455
2	0,988	1,039	0,917	0,481	0,416	0,408	0,507	0,623	0,509
3	1,033	1,099	0,969	0,481	0,416	0,408	0,552	0,683	0,561
4	1,081	1,142	1,024	0,481	0,416	0,408	0,6	0,726	0,616

Keterangan : A = absorbansi

**Lampiran 9. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Fraksi II Ekstrak Etanol Buah Mengkudu.**

2000 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,956	0,962	1,042	0,669	0,692	0,835	0,287	0,27	0,207
1	1,005	1,013	1,091	0,669	0,692	0,835	0,336	0,321	0,256
2	1,043	1,057	1,13	0,669	0,692	0,835	0,374	0,365	0,295
3	1,081	1,103	1,168	0,669	0,692	0,835	0,412	0,411	0,333
4	1,125	1,154	1,208	0,669	0,692	0,835	0,456	0,462	0,373

1000 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,771	0,549	0,76	0,487	0,501	0,547	0,284	0,048	0,213
1	0,836	0,591	0,818	0,487	0,501	0,547	0,349	0,09	0,271
2	0,888	0,638	0,86	0,487	0,501	0,547	0,401	0,137	0,313
3	0,936	0,68	0,9	0,487	0,501	0,547	0,449	0,179	0,353
4	0,991	0,752	0,955	0,487	0,501	0,547	0,504	0,251	0,408

500 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,752	0,994	0,746	0,476	0,468	0,512	0,276	0,526	0,234
1	0,812	1,026	0,811	0,476	0,468	0,512	0,336	0,558	0,299
2	0,858	1,073	0,863	0,476	0,468	0,512	0,382	0,605	0,351
3	0,904	1,143	0,915	0,476	0,468	0,512	0,428	0,675	0,403
4	0,954	1,201	0,997	0,476	0,468	0,512	0,478	0,733	0,485

Keterangan : A = absorbansi

### Lanjutan Lampiran 9.

250 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,757	0,733	0,713	0,488	0,493	0,494	0,269	0,24	0,219
1	0,829	0,803	0,788	0,488	0,493	0,494	0,341	0,31	0,294
2	0,883	0,855	0,846	0,488	0,493	0,494	0,395	0,362	0,352
3	0,934	0,906	0,897	0,488	0,493	0,494	0,446	0,413	0,403
4	0,991	0,96	0,965	0,488	0,493	0,494	0,503	0,467	0,471

125 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,838	0,789	0,695	0,467	0,45	0,485	0,371	0,339	0,21
1	0,915	0,862	0,773	0,467	0,45	0,485	0,448	0,412	0,288
2	0,976	0,926	0,832	0,467	0,45	0,485	0,509	0,476	0,347
3	1,035	0,988	0,89	0,467	0,45	0,485	0,568	0,538	0,405
4	1,099	1,053	0,953	0,467	0,45	0,485	0,632	0,603	0,468

Keterangan : A = absorbansi

**Lampiran 10. Absorbansi Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE Fraksi III Ekstrak Etanol Buah Mengkudu.**

2000 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,594	0,636	0,596	0,484	0,469	0,502	0,11	0,167	0,094
1	0,631	0,721	0,672	0,484	0,469	0,502	0,147	0,252	0,17
2	0,662	0,785	0,733	0,484	0,469	0,502	0,178	0,316	0,231
3	0,696	0,827	0,771	0,484	0,469	0,502	0,212	0,358	0,269
4	0,811	0,871	0,843	0,484	0,469	0,502	0,327	0,402	0,341

1000 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,691	0,695	0,52	0,478	0,509	0,455	0,213	0,186	0,065
1	0,759	0,749	0,616	0,478	0,509	0,455	0,281	0,24	0,161
2	0,811	0,797	0,681	0,478	0,509	0,455	0,333	0,288	0,226
3	0,864	0,842	0,735	0,478	0,509	0,455	0,386	0,333	0,28
4	0,923	0,959	0,755	0,478	0,509	0,455	0,445	0,45	0,3

500 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,694	0,661	0,582	0,502	0,466	0,478	0,192	0,195	0,104
1	0,758	0,734	0,664	0,502	0,466	0,478	0,256	0,268	0,186
2	0,812	0,794	0,73	0,502	0,466	0,478	0,31	0,328	0,252
3	0,865	0,853	0,793	0,502	0,466	0,478	0,363	0,387	0,315
4	0,938	0,916	0,862	0,502	0,466	0,478	0,436	0,45	0,384

Keterangan : A = absorbansi

### Lanjutan Lampiran 10.

250 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,703	0,729	0,559	0,483	0,595	0,47	0,22	0,134	0,089
1	0,792	0,795	0,646	0,483	0,595	0,47	0,309	0,2	0,176
2	0,86	0,846	0,71	0,483	0,595	0,47	0,377	0,251	0,24
3	0,928	0,895	0,785	0,483	0,595	0,47	0,445	0,3	0,315
4	0,953	1,005	0,836	0,483	0,595	0,47	0,47	0,41	0,366

125 µg/ml									
Menit	A 1	A 2	A 3	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	A 1-blanko 1	A 2-blanko 2	A 3-blanko 3
0	0,645	0,647	0,51	0,465	0,511	0,474	0,18	0,136	0,036
1	0,745	0,723	0,605	0,465	0,511	0,474	0,28	0,212	0,131
2	0,806	0,783	0,667	0,465	0,511	0,474	0,341	0,272	0,193
3	0,865	0,839	0,728	0,465	0,511	0,474	0,4	0,328	0,254
4	0,921	0,918	0,795	0,465	0,511	0,474	0,456	0,407	0,321

Keterangan : A = absorbansi

**Lampiran 11. Absorbansi Kontrol Negatif Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim AChE**

Menit	A 1	A 2	A 3	Total	A	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3	Total	Blanko	A - Banko
0	0,449	0,459	0,47	1,378	0,459333	0,379	0,401	0,388	1,168	0,389333	0,07
1	0,538	0,546	0,559	1,643	0,547667	0,379	0,401	0,388	1,168	0,389333	0,158333
2	0,629	0,639	0,647	1,915	0,638333	0,379	0,401	0,388	1,168	0,389333	0,249
3	0,718	0,728	0,738	2,184	0,728	0,379	0,401	0,388	1,168	0,389333	0,338667
4	0,796	0,806	0,812	2,414	0,804667	0,379	0,401	0,388	1,168	0,389333	0,415333

Keterangan : A = absorbansi



## Lampiran 11 Analisis Log-probit

Fraksi I

### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsnetrasi			95% Confidence Limits for log(konsnetrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	.001	.000	.217	-2.908	-13.869	-.664
.020	.006	.000	.567	-2.217	-11.832	-.246
.030	.017	.000	1.044	-1.779	-10.539	.019
.040	.036	.000	1.654	-1.449	-9.567	.218
.050	.066	.000	2.404	-1.181	-8.777	.381
.060	.112	.000	3.306	-.952	-8.104	.519
.070	.177	.000	4.372	-.752	-7.514	.641
.080	.267	.000	5.618	-.573	-6.986	.750
.090	.389	.000	7.057	-.410	-6.506	.849
.100	.550	.000	8.708	-.260	-6.064	.940
.150	2.298	.000	20.852	.361	-4.236	1.319
.200	7.162	.002	41.979	.855	-2.785	1.623
.250	18.995	.029	77.145	1.279	-1.544	1.887
.300	45.606	.366	135.123	1.659	-.436	2.131
.350	102.685	3.783	233.903	2.012	.578	2.369
.400	221.810	31.966	427.249	2.346	1.505	2.631
.450	467.292	184.716	1044.032	2.670	2.267	3.019
.500	972.893	509.979	5120.224	2.988	2.708	3.709
.550	2025.543	942.157	37526.743	3.307	2.974	4.574
.600	4267.257	1581.922	315597.286	3.630	3.199	5.499
.650	9217.702	2609.318	2952954.825	3.965	3.417	6.470
.700	20754.281	4351.717	3.167E7	4.317	3.639	7.501
.750	49830.411	7490.762	4.134E8	4.697	3.875	8.616
.800	132151.830	13635.340	7.265E9	5.121	4.135	9.861

.850	411913.376	27290.984	2.062E11	5.615	4.436	11.314
.900	1722004.935	65097.050	1.393E13	6.236	4.814	13.144
.910	2432651.523	80273.033	3.857E13	6.386	4.905	13.586
.920	3540657.890	100780.807	1.166E14	6.549	5.003	14.067
.930	5349530.539	129407.450	3.934E14	6.728	5.112	14.595
.940	8481826.936	171064.242	1.531E15	6.928	5.233	15.185
.950	1.435E7	235132.234	7.211E15	7.157	5.371	15.858
.960	2.661E7	341613.880	4.455E16	7.425	5.534	16.649
.970	5.685E7	540578.416	4.180E17	7.755	5.733	17.621
.980	1.560E8	994653.854	8.201E18	8.193	5.998	18.914
.990	7.655E8	2598847.565	8.946E20	8.884	6.415	20.952

a. Logarithm base = 10.

## Lanjutan Lampiran 11.

### Fraksi II

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for konsnetrasi			95% Confidence Limits for log(konsnetrasi) <sup>a</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.059	.000	1.355	-1.227	-5.482	.132
	.020	.201	.000	3.039	-.697	-4.384	.483
	.030	.436	.000	5.076	-.361	-3.688	.706
	.040	.780	.001	7.472	-.108	-3.165	.873
	.050	1.253	.002	10.237	.098	-2.739	1.010
	.060	1.874	.004	13.389	.273	-2.377	1.127
	.070	2.669	.009	16.948	.426	-2.060	1.229
	.080	3.663	.017	20.936	.564	-1.776	1.321
	.090	4.884	.030	25.382	.689	-1.518	1.405
	.100	6.366	.052	30.315	.804	-1.280	1.482
	.150	19.066	.502	63.558	1.280	-.299	1.803
	.200	45.592	2.991	115.701	1.659	.476	2.063
	.250	96.319	13.581	196.951	1.984	1.133	2.294
	.300	188.545	50.906	329.631	2.275	1.707	2.518
	.350	351.335	157.688	583.478	2.546	2.198	2.766
	.400	634.182	371.450	1245.046	2.802	2.570	3.095
	.450	1122.985	667.904	3302.568	3.050	2.825	3.519
	.500	1970.604	1058.160	9699.226	3.295	3.025	3.987
	.550	3458.000	1604.124	29769.637	3.539	3.205	4.474
	.600	6123.292	2401.584	94840.391	3.787	3.380	4.977
	.650	11052.945	3608.275	317288.504	4.043	3.557	5.501
	.700	20596.008	5508.207	1139643.217	4.314	3.741	6.057
	.750	40316.676	8659.643	4547824.199	4.605	3.938	6.658
	.800	85174.254	14288.340	2.130E7	4.930	4.155	7.328
	.850	203671.351	25549.764	1.292E8	5.309	4.407	8.111

.900	609989.530	52957.471	1.251E9	5.785	4.724	9.097
.910	795033.798	63133.434	2.164E9	5.900	4.800	9.335
.920	1060195.951	76408.505	3.929E9	6.025	4.883	9.594
.930	1454892.633	94238.841	7.567E9	6.163	4.974	9.879
.940	2071740.031	119099.945	1.574E10	6.316	5.076	10.197
.950	3100328.651	155533.468	3.628E10	6.491	5.192	10.560
.960	4978463.880	212784.327	9.681E10	6.697	5.328	10.986
.970	8911732.679	312747.015	3.236E11	6.950	5.495	11.510
.980	1.932E7	521686.577	1.610E12	7.286	5.717	12.207
.990	6.545E7	1167983.472	2.020E13	7.816	6.067	13.305

a. Logarithm base = 10.

## Lampiran 12. Spesifikasi LC-MS LIPI

Sample
Vol injection 20 ul
Flow rate 0.5 ml/min
Eluent Methanol
<b>LC-MS : Mariner Biospectrometry</b>
LC: Hitachi L 6200
<b>System ESI (Electrospray Ionisation)</b>
<b>Positive ion mode</b>
Kolom C18 (RP 18) Phenomenex
Column length : 150 mm
ID : 2 mm
Particle size : 5 $\mu$ m
Analysis by : Puspa .D. Lotulung, Pusat Penelitian Kimia – LIPI

BPI = Base Peak Intensity
BP = Base Peak
TIC = Total Ion Current
NR = NoiseRemoval
BC = Base Correction
MC = Mass Calibration
BP = Base Peak
CT = Centroiding
SM = Gaussian smooth

Temperatur kolom = temp ruangan ;

isokratik, Detector massa

Method : positive ion

### LC-MS Analysis

LC-MS analysis was performed using an Mariner Biospectrometry equipped with a binary pump. The HPLC was interfaced with a Q-tof mass spectrometer fitted with an ESI source. Full-scan mode from  $m/z$  100 to 1200 was performed with a source temperature of 140 °C. HPLC column (Phenomenex 5 $\mu$  C18, 150  $\times$  2 mm i.d., ) was used for the analysis. Solvent was Methanol with 0.3% acetic acid. Solvents were delivered at a total flow rate of 0.5 mL/min. The solvent running by isocratic elution