



**PENGHAMBATAN ENZIM ASETILKOLINESTERASE
SECARA *IN VITRO* DAN IDENTIFIKASI FRAKSI
AKTIF EKSTRAK ETANOL BUAH ANDALIMAN
(*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)**

SKRIPSI

RUTH NATHANIA FELICIA

2110212027

UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL “VETERAN” JAKARTA

FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA

TAHUN 2025



**PENGHAMBATAN ENZIM ASETILKOLINESTERASE
SECARA *IN VITRO* DAN IDENTIFIKASI FRAKSI
AKTIF EKSTRAK ETANOL BUAH ANDALIMAN
(*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi (S.Farm.)**

RUTH NATHANIA FELICIA

2110212027

UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL “VETERAN” JAKARTA

FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA

TAHUN 2025

PERNYATAAN ORISINALITAS

PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya sendiri, dan semua sumber yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Ruth Nathania Felicia

NIM : 2110212027

Tanggal : 7 Juli 2025

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan saya ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Jakarta, 10 Juli 2025

Yang Menyatakan,



(Ruth Nathania Felicia)

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ruth Nathania Felicia
NIM : 2110212027
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Farmasi Program Sarjana

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta Hak Bebas Royalti Non eksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase Secara *In Vitro* dan Identifikasi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Buah Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.)

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti ini Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan Skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta

Pada tanggal: 10 Juli 2025

Yang menyatakan


(Ruth Nathania Felicia)

HALAMAN PENGESAHAN

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi diajukan oleh:

Nama : Ruth Nathania Felicia

NIM : 2110212027

Program Studi : SI Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Judul Skripsi :

Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase Secara In Vitro dan Identifikasi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Tim Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta.

Menyetujui,
Ketua Sidang



apt. Eldiza Puji Rahmi, S.Farm., M.Sc.

Penguji I



apt. Annisa Farida Muti, S.Farm., M.Sc.

Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Taufiq Hidayat Pasiak, M.Kes., M.Pd.I

Ditetapkan di: Jakarta

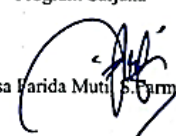
Tanggal Ujian: 10 – 06 – 2025

Penguji II



apt. Dhigna Luthfiyanti C.P, S.Farm., M.Sc.

Koordinator Program Studi Farmasi
Program Sarjana



apt. Annisa Farida Muti, S.Farm., M.Sc.

**PENGHAMBATAN ENZIM ASETILKOLINESTERASE
SECARA *IN VITRO* DAN IDENTIFIKASI FRAKSI
AKTIF EKSTRAK ETANOL BUAH ANDALIMAN
(*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)**

Ruth Nathania Felicia

Abstrak

Penyakit Alzheimer merupakan gangguan neurodegeneratif yang salah satu penandanya adalah terjadinya penurunan kadar asetilkolin di otak. Inhibitor asetilkolinesterase (AChE) berperan penting dalam mempertahankan kadar asetilkolin dan menjadi target terapi penyakit Alzheimer. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas penghambatan AChE dari ekstrak etanol 70% dan fraksi (etanol 96%, etil asetat, n-heksan) dari buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) secara *in vitro*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, diikuti dengan fraksinasi cair-cair. Analisis yang dilakukan meliputi uji fitokimia kualitatif, kadar fenolik total (KFT), uji inhibisi AChE berdasarkan metode Ellman, serta identifikasi senyawa dari fraksi aktif menggunakan LC-HRMS. Fraksi etil asetat menunjukkan kadar fenolik tertinggi (40,42 mgGAE/g) dan aktivitas penghambatan AChE terbesar (51,51%) dengan nilai IC_{50} sebesar 1784,73 ppm. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada persentase inhibisi antar kelompok, sedangkan analisis korelasi Pearson menunjukkan hubungan positif sangat kuat antara persentase inhibisi AChE dengan kadar total fenolik ($p < 0,001$). Hasil identifikasi komponen bioaktif dengan LC-HRMS pada ekstrak buah andaliman menunjukkan keberadaan golongan alkaloid, flavonoid, kumarin, asam lemak, dan amida aromatik. Hasil ini menunjukkan bahwa buah *Z. acanthopodium* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber alami inhibitor AChE untuk pengelolaan penyakit Alzheimer.

Kata Kunci: Analisis LC-HRMS, penghambatan asetilkolinesterase, penyakit Alzheimer, senyawa fenolik, *Zanthoxylum acanthopodium*

***IN VITRO* ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITION AND IDENTIFICATION OF ACTIVE FRACTIONS FROM ETHANOL EXTRACT OF *ZANTHOXYLUM ACANTHOPODIUM* FRUIT**

Ruth Nathania Felicia

Abstract

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder characterized, in part, by a decrease in acetylcholine levels in the brain. Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors play an important role in maintaining acetylcholine levels and are a primary therapeutic target for Alzheimer's disease. This study aimed to evaluate the *in vitro* AChE inhibitory activity of 70% ethanol extract and its fractions (96% ethanol, ethyl acetate, n-hexane) from andaliman fruit (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). Extraction was performed using maceration, followed by liquid–liquid fractionation. Analyses included qualitative phytochemical screening, determination of total phenolic content (TPC), AChE inhibition assay based on the Ellman method, and identification of active compounds using LC-HRMS. The ethyl acetate fraction showed the highest phenolic content (40.42 mgGAE/g) and the strongest AChE inhibitory activity (51.51%) with an IC₅₀ value of 1784,73 ppm. ANOVA results showed a significant difference ($p < 0.05$) in inhibition percentages among groups, while Pearson correlation analysis revealed a very strong positive correlation between AChE inhibition and total phenolic content ($p < 0.001$). LC-HRMS analysis of the extract revealed the presence of alkaloids, flavonoids, coumarins, fatty acids, and aromatic amides. These findings indicate that *Z. acanthopodium* fruit has potential to be developed as a natural source of AChE inhibitors for the management of Alzheimer's disease.

Keywords: Acetylcholinesterase inhibition, Alzheimer's disease, LC-HRMS analysis, Phenolic compounds, *Zanthoxylum acanthopodium*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan penyertaan-Nya dalam penulisan skripsi yang berjudul “Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase Secara *In vitro* dan Identifikasi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)” sehingga dapat selesai dengan baik. Penelitian dan penyusunan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi syarat kelulusan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak dapat selesai tanpa bantuan banyak pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. dr. H. Taufiq Fredrik Pasiak, M.Kes, M.Pd.I selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta beserta seluruh jajarannya yang telah memfasilitasi dan mendukung hingga terselesaikannya proses skripsi ini
2. Ibu apt. Annisa Farida Muti, S.Farm., M.Sc., selaku Koordinator Program Studi Farmasi, sekaligus selaku Dosen Penguji Skripsi dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan, masukan, saran serta membimbing penulis selama masa studi hingga menyelesaikan proses skripsi ini.
3. Ibu apt. Eldiza Puji Rahmi, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Utama skripsi yang senantiasa memberikan dukungan, bimbingan, arahan, masukan, nasihat serta semangat dalam setiap proses penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
4. Ibu apt. Dhigna Luthfiyani CP., S.Farm., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Pendamping skripsi yang telah memberikan dukungan, saran dan masukan selama proses penulisan skripsi ini.
5. Abdi Wira Septama, Ph.D selaku pembimbing pendamping di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang memfasilitasi, memberikan masukan dan nasihat terkait penelitian.

6. Seluruh dosen, tendik, dan civitas akademik Program Studi Farmasi FK UPN Veteran Jakarta yang tidak bisa disebutkan satu persatu, atas bantuan, dukungan, pelajaran yang diberikan baik selama masa studi penulis dan penelitian skripsi.
7. Papa (Octo Toruan), Mama (Bulan Sialagan), dan adik (Stefani) selaku keluarga tersayang penulis yang selalu senantiasa mendoakan, mendukung, memberikan motivasi setiap harinya tanpa henti sejak awal studi hingga selesainya penyusunan skripsi.
8. Karin, Detrin, Halimah, Febri, Syifa, Mardiana, Najwa, Fairuz sebagai sahabat sekaligus teman seperjuangan dalam menyelesaikan studi farmasi ini, terimakasih untuk semua hal yang sudah banyak dilalui, atas dukungan, doa, semangat, dan bantuannya selama ini.
9. Teman-teman dan rekan semua di BRIN Serpong yang selalu memberikan bantuan dan semangat selama penelitian dari awal hingga selesai
10. Kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, penulis mengucapkan banyak terimakasih atas dukungan baik dari awal proses studi di farmasi, hingga sampai pada tahap akhir penyelesaian tugas akhir ini

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar penelitian ini menjadi lebih baik dan dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Jakarta, 26 Mei 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.3.1 Tujuan Umum.....	3
I.3.2 Tujuan Khusus	4
I.4 Manfaat Penelitian	4
I.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
I.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1 Landasan Teori	6
II.1.1 Penyakit Alzheimer	6
II.1.2 Terapi Penyakit Alzheimer	15
II.1.3 Pemanfaatan Bahan Alam	16
II.1.4 Ekstraksi	23
II.1.5 Uji Inhibisi Asetilkolinesterase	30

II.2 Penelitian Terkait yang Pernah Dilakukan.....	33
II.3 Kerangka Teori.....	36
II.4 Kerangka Konsep.....	37
II.5 Hipotesis Penelitian	37
BAB III METODE PENELITIAN	39
III.1 Jenis Penelitian.....	39
III.2 Alat dan Bahan.....	39
III.3 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	40
III.4 Variabel Penelitian	40
III.4.1 Variabel Independen.....	40
III.4.2 Variabel Dependen.....	40
III.5 Definisi Operasional Variabel	41
III.6 Prosedur Kerja Penelitian	43
III.6.1 Pengajuan Kaji Etik Penelitian	43
III.6.2 Determinasi Tanaman Buah Andaliman	43
III.6.3 Ekstraksi Simplisia Buah Andaliman	44
III.6.4 Fraksinasi Ekstrak Metode Cair-Cair	44
III.6.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak dan Fraksi Buah Andaliman	45
III.6.6 Analisis Fitokimia Kualitatif Ekstrak dan Fraksi Buah Andaliman....	45
III.6.7 Analisis Kuantitatif (Kadar Fenolik Total)	46
III.6.8 Uji Inhibisi Asetilkolinesterase.....	48
III.6.9 Analisis LC-HRMS.....	52
III.6.10 Alur Penelitian	53
III.7 Analisis Data	54
III.7.1 Uji Univariat	54
III.7.2 Uji Bivariat	54
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	57
IV.1 Hasil	57
IV.1.1 Persetujuan Etik Penelitian	57

IV.1.2 Determinasi Tanaman.....	57
IV.1.3 Penyiapan Simplisia	57
IV.1.4 Ekstraksi dan Fraksinasi Tanaman Andaliman	58
IV.1.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak dan Fraksi Buah Andaliman	58
IV.1.6 Analisis Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Buah Andaliman	58
IV.1.7 Analisis Kuantitatif (Kadar Fenolik Total).....	59
IV.1.8 Uji Inhibisi Asetilkolinesterase	60
IV.1.9 Analisis Data LC-HRMS Fraksi Etil Asetat Buah Andaliman.....	62
IV.1.10 Analisis Data	64
IV.2 Pembahasan	69
IV.3 Keterbatasan Penelitian.....	80
BAB V PENUTUP	81
V.1 Kesimpulan	81
V.2 Saran	81
DAFTAR PUSTAKA.....	82
RIWAYAT HIDUP	99
LAMPIRAN.....	101

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Mekanisme peran Asetilkolinesterase	12
Gambar 2 Buah Andaliman (a), Pohon Tanaman Andaliman (b)	20
Gambar 3 Prinsip Uji Aktivitas AChE	32
Gambar 4 Kerangka Teori	36
Gambar 5 Kerangka Konsep	37
Gambar 6 Alur Penelitian.....	53
Gambar 7 Penyiapan Simplisia	57
Gambar 8 Kurva Baku Asam Galat.....	59
Gambar 9 Total Ion Chromatogram LC-HRMS Ekstrak Andaliman.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Penelitian Terkait.....	33
Tabel 2 Definisi Operasional.....	41
Tabel 3 Sistem Reaksi Inhibisi Enzim Asetilkolinesterase	49
Tabel 4 Rancangan 96- <i>well</i> Microplates	50
Tabel 5 Rancangan 96- <i>well</i> Microplates untuk Persentase Inhibisi >50%	51
Tabel 6 Nilai Rendemen Ekstrak dan Fraksi Andaliman	58
Tabel 7 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Andaliman.....	59
Tabel 8 Kadar Total Fenolik Andaliman	60
Tabel 9 Persentase Inhibisi Asetilkolinesterase Andaliman	60
Tabel 10 Persentase Inhibisi Asetilkolinesterase Fraksi Etil Asetat dan Donepezil	61
Tabel 11 Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi Etil Asetat Buah Andaliman	63
Tabel 12 Hasil Uji Normalitas Kadar Fenolik Total Ekstrak dan	64
Tabel 13 Hasil Uji Normalitas Persentase Inhibisi AChE Ekstrak	65
Tabel 14 Hasil Uji Homogenitas Kadar Fenolik Total	65
Tabel 15 Hasil Uji Homogenitas Persentase Inhibisi AChE	65
Tabel 16 Hasil Uji <i>One way</i> ANOVA Persentase Inhibisi Asetilkolinesterase Berdasarkan Ekstraksi dan Fraksinasi	66
Tabel 17 Hasil Uji <i>One way</i> ANOVA Kadar Total Fenolik Ekstrak dan Fraksi Buah Andaliman.....	66
Tabel 18 Post-hoc Test Persentase Inhibisi AChE Berdasarkan Ekstraksi dan Fraksinasi	67
Tabel 19 Post-hoc Test Kadar Fenolik Total Berdasarkan Ekstraksi dan Fraksinasi	67
Tabel 20 Korelasi Nilai Rendemen dengan Kadar Fenolik Total.....	68
Tabel 21 Korelasi Kadar Fenolik Total dengan Persentase Inhibisi AChE.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Pembebasan Persetujuan Etik Penelitian	101
Lampiran 2 Lembar Keterangan Selesai Penelitian	102
Lampiran 3 Hasil Determinasi Tanaman Andaliman	104
Lampiran 4 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi.....	105
Lampiran 5 Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Buah Andaliman	106
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Fenolik Total.....	110
Lampiran 7 Perhitungan Uji Inhibisi Asetilkolinesterase	115
Lampiran 8 Analisis Data Statistik.....	126
Lampiran 9 <i>Certificate of Analysis</i>	130
Lampiran 10 Dokumentasi Penelitian.....	131
Lampiran 11 Kartu Penelitian Skripsi.....	133

DAFTAR SINGKATAN

Ach	: <i>Acetylcholine</i>
AD	: <i>Alzheimer Disease</i>
ADI	: <i>Alzheimer 's Disease International</i>
AChE	: <i>Acetylcholinesterase</i>
AChEI	: <i>Acetylcholinesterase Inhibitor</i>
APP	: <i>Amyloid precursor protein</i>
APOE	: <i>Apolipoprotein E</i>
ATCI	: <i>Acetylthiocholine Iodide</i>
BDNF	: <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
C	: <i>Celcius</i>
ChAT	: <i>Choline Acetyltransferase</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DTNB	: <i>5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid)</i>
ESI	: <i>Electrospray Ionisasi</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
IC	: <i>Inhibitory Concentration</i>
IGT	: <i>Impaired Glucose Tolerance</i>
LC-HRMS	: <i>Liquid Chromatography– High Resolution Mass Spectrometry</i>
nAChR	: <i>Nikotinic Acetylcholine Receptor</i>
MDPL	: <i>Meter di Atas Permukaan Laut</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibition Concentration</i>
NFTs	: <i>Neurofibrillary Tangles</i>
NMDA	: <i>N-Methyl-D-aspartate</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SSP	: <i>Sistem Saraf Pusat</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>