

**UJI AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF ISOLAT
ANDROGRAFOLID SECARA *IN VITRO* MELALUI
PENGHAMBATAN ENZIM *ASETILKOLINESTERASE* (AChE)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE ELISA**

SKRIPSI

**DILLA NUR YULIANI
A 211 009**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF ISOLAT
ANDROGRAFOLID SECARA *IN VITRO* MELALUI
PENGHAMBATAN ENZIM *ASETILKOLINESTERASE* (AChE)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE ELISA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**DILLA NUR YULIANI
A 211 009**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

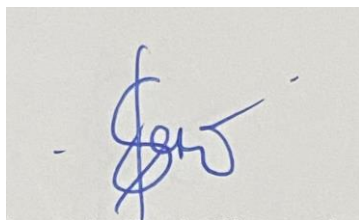
**UJI AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF ISOLAT
ANDROGRAFOLID SECARA *IN VITRO* MELALUI
PENGHAMBATAN ENZIM *ASETILKOLINESTERASE* (AChE)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE ELISA**

**DILLA NUR YULIANI
A 211 009**

September 2025

Disetujui oleh:

Pembimbing

A handwritten signature in blue ink on a light gray background. The signature is stylized and appears to be 'Seno'.

Apt. Seno Aulia Ardiansyah, M.Si

Pembimbing

A handwritten signature in blue ink on a light gray background. The signature is stylized and appears to be 'Dytha'.

Dr. Apt. Dytha Andri Deswati, M.Si

Kutipan atau saduran baik sebagian maupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Terimakasih kepada Ayah dan Mamah yang telah memberikan *support* baik dukungan moral dan moril kepada penulis hingga berada pada tahap ini.

ABSTRAK

Penyakit neurodegeneratif, termasuk Alzheimer, ditandai dengan penurunan progresif fungsi kognitif akibat kerusakan sel saraf. Salah satu mekanisme terapi Alzheimer adalah penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) yang berperan dalam degradasi asetilkolin. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas neuroprotektif isolat andrografolid dari tanaman *Andrographis paniculata* (sambiloto) melalui penghambatan enzim AChE secara *in vitro* menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Isolat andrografolid diuji pada konsentrasi 0,1; 1; 10; dan 100 ppm, dengan kontrol positif donepezil (0,08 μ M). Hasil uji menunjukkan bahwa isolat andrografolid mampu menghambat aktivitas AChE dengan persentase inhibisi yang tinggi pada seluruh konsentrasi uji. Nilai absorbansi menurun signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif, yang menunjukkan efektivitas penghambatan enzim oleh isolat. Dengan demikian, isolat andrografolid berpotensi sebagai kandidat agen neuroprotektif alami untuk terapi penyakit Alzheimer.

Kata Kunci: Alzheimer, Asetilkolinesterase, Andrografolid, Metode ELISA

ABSTRACT

*Neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease, are characterized by a progressive decline in cognitive function caused by neuronal damage. One therapeutic mechanism for Alzheimer's disease is the inhibition of acetylcholinesterase (AChE), an enzyme responsible for the degradation of acetylcholine. This study aimed to evaluate the neuroprotective activity of andrographolide isolated from *Andrographis paniculata* (sambiloto) through AChE inhibition in vitro using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. The andrographolide isolate was tested at concentrations of 0.1, 1, 10, and 100 ppm, with donepezil (0.08 μ M) as the positive control. The results showed that the andrographolide isolate was able to inhibit AChE activity with a high percentage of inhibition at all tested concentrations. The absorbance values significantly decreased compared to the negative control, indicating effective enzyme inhibition by the isolate. Therefore, the andrographolide isolate has potential as a natural neuroprotective candidate for Alzheimer's disease therapy.*

Keywords: Alzheimer's disease, Acetylcholinesterase, Andrographolide, ELISA method

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“Uji Aktivitas Neuroprotektif Isolat Andrografolid Secara *In Vitro* Melalui Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase (AChE) Dengan Menggunakan Metode Elisa”**

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing apt. Seno Aulia Andriansyah, M.Si dan Dr. apt. Dhyta Andri Deswati, M.Si. atas ilmu, arahan, nasihat dan motivasi yang diberikan. Segenap doa dan rasa terima kasih yang tak terhingga penulis panjatkan dan ucapkan atas segala bantuan dan dukungan kepada pihak – pihak berikut:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
2. apt. Anggi Restiasari, M.Hkes.,M.S.Farm. Selaku wali dosen yang telah memberikan arahan kepada penulis
3. Seluruh jajaran dosen, asisten dosen, staf dan karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
4. Keluarga penulis: Ayah, Mamah, Kakak dan Sodara yang tiada hentinya memberi semangat.
5. Teman-teman angkatan 2021 yang telah sama-sama berjuang menyelesaikan studi di tahun ini.
6. Semua pihak yang peduli penulis.

Terima kasih banyak atas segala kebaikan yang diberikan kepada penulis, semoga Allah SWYT membalasnya. Demikian yang dapat penulis sampaikan sebagai pengantar dari tugas akhir ini. Penulis menyadari bahwa naskah ini masih jauh dari sempurna. Maka dari itu, penulis dengan rendah hati menerima segala masukan baik berupa kritik maupun saran yang membangun. Semoga naskah tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Bandung, September 2025

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Sambiloto	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Sambiloto	5
2.1.3 Khasiat dan Kandungan Tanaman Sambiloto	5
2.2 Andrografolid.....	5
2.2.1 Kandungan Kimia	6
2.2.2 Khasiat Andrografolid.....	6
2.3 Neurodegeneratif.....	7
2.4 Alzheimer	7
2.6 Enzim <i>Asetilkolinesterase</i>	8
2.7 Donepezil.....	8
2.8 Metode ELISA.....	9
BAB III TATA KERJA.....	11
3.1 Alat	11
3.2 Bahan.....	11
3.2.1 Bahan Uji	11
3.2.2 Bahan Kimia	11
3.3 Metode penelitian	11
3.3.1 Uji Aktivitas Andrografolid Dalam Menghambat Enzim AChE.....	11
3.3.2 Uji Aktivitas Inhibitor <i>Asetilkolinesterase</i>	12
3.3.3 Analisis Data.....	12
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	13
4.1 Penyiapan Larutan Uji	13
4.2 Uji Aktivitas Inhibitor Enzim <i>Asetilkolinesterase</i>	14
4.3 Analisis Data.....	16
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	18
5.1 Simpulan.....	18

5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	18
DAFTAR PUSTAKA	19

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Absorbansi dan % inhibisi Isolat Andrografolid pada Enzim AChE.....	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	4
2.2 Struktur Molekul Andrografolid	6
2.3 Struktur Enzim AChE.....	8
2.4 Alat Elisa.....	9
4.1 Grafik Penghambatan Enzim ACchE.....	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Certificate of Analysis.....	22
2. Hasil Uji <i>Asetilkolinesterase</i> dengan Metode Elisa	26
3. PERHITUNGAN LARUTAN ENZIM.....	27
4. PERHITUNGAN LARUTAN SUBSTRAT	28
5. PERHITUNGAN REAGEN	29
6. PERHITUNGAN KONSENTRASI	30
7. PERHITUNGAN NILAI IC ₅₀	31

DAFTAR ISI

- Aguila, M.-E. R., Rebbeck, T., Mendoza, K. G., De La Peña, M.-G. L., & Leaver, M. (2015). Definitions and participant characteristics of frequent recurrent headache types in clinical trials: A systematic review. *Cephalalgia*, 333102417706974.
- Alkandahri, M. Y., Subarnas, A., & Berbudi, A. (2018). Aktivitas Immunomodulator Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Farmaka*, 16(3), 16–20.
- Crowther, J. R. (2001). *The ELISA Guidebook*. Humana Press Inc. Dalimunthe, A. 2009. Interaksi Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Depasrtemen Farmakologi Fakultas Farmadi Uiversitas Sumatera Utara*. Medan. P-34-45.
- Da'I, M., et al. 2015. Uji Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Elephantopus schaber l., Ocimum basilicum L.forma citratum Back., Graptophyllum pictum, dan Gynura procumbens Merr. dengan Metode DPPH (1,1-Difenil- 2-pikril Hildrazil) serta Penetapan Kadar Fenolik Totalnya. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol.13, No.2.
- Fakhirah, M. A., Banowati, N. D., Nurjanah, Y., Nurulaini, S. N., Athaya, S., Muchtaridi, M., Rusdin, A., & Mardisanutol, H. T. (2023). In Silico Study of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Bioactive Compounds as Acetylcholinesterase (AChE) Enzyme Inhibitors in Alzheimer's Disease. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy* , 3(2), 106–119.
- Gemiralda. R. K., dan Marlaokta, M. (2019) Efek Neuroprotektif Kunyit Pada Pasien Alzheimer. *Jurnal Ilmu Keperawatan Jiwa*. 2(2): 171- 178.
- Indrayani, S., Megantara, & Saputri. (2020). Review : Sintesis Turunn Andrografolid. *Jurnal Pharmascience*, 07(02), 1-11.
- Jo, et al. (2014). GABA from reactive astrocytes impairs memory in mouse models of Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 20(8), 886-896.
- Kitphati, W., Wattanakamolkul, K., et al. 2012, Anticholinesterase of essential oil and their constituents from Thai medicinal plants purified and selular enzymes, *JAASP*, 1: 58 – 6
- Lu, J., Ma, Y., Wu., J., Huang, H., Wang, X., Chen, Z., Chen, J., He, H., dan Huang, C., (2019). A revies for the neuroprotective effects of andrographolide in the central nervous system. *Biomedical and Pharmacotherapy*. 117: 1-10.
- McHardy SF, Wang HL, McCowen SV, Valdez MC. Kemajuan terkini dalam Inhibitor dan Reaktivator asetilkolinesterase pembaruan pada literatur paten (2012-2015). *Expert Opin Ther Pat* 2017 Apr, 27 (4): 455-476
- Mishra, V., Pal, S., Singh, P., Tripathi, P., & Tiwari, A. K. (2018). In Vitro and In Silico evaluation of *Andrographis paniculata* for anti- Alzheimer activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 215, 135-146.
- Nada Farida, Dinna Rakhmina, Tini Elyn Herlina, et all. 2022. Perbandingan Sensitifitas, Sensitivitras, Spesifisitas Metode Elisa dan Ict pada Diagnosis Labolatorium Igm, Igc SARS-coV-2. *Poltekkses Kemkes Banjarmasin* vol.15

- Nugroho, A.E., Andrie, M., Warditiani, N.K., Siswanto, E., Pramono S., Lukitaningsih E. 2012. "Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and andrographolide in high-fructose-fat-fed rats," *Indian J Pharmacol.* 44(3)
- Prapanza, Ivan, Adi Marianto, Lukito. 2003. *Sambiloto Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta : Agromedia Pustaka
- Ratu, A.P. 2016. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif fraksi etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) sebagai penghambatan asetilkolinesterase. Tesis. Jakarta: Universitas Pancasila.
- Roberson ED. Penyakit Alzheimer. Pengobatan gangguan degeneratif sistem saraf pusat. Dalam Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollman BC, eds. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. Edisi ke-13. New York: McGraw-Hill, 2018, hlm. 333-5.
- Rudolf M. L. 2005. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry* Vol. 51 No. 12 pp. 2415–2418.
- Sabila, R. Megantara, S. and Amelia Saputri, F. (2015) Review : 'Sintesis Senyawa Turunan Andrografolid dengan Modifikasi pada Gugus Hidroksil C-14', *Journal of Pharmacy Science and Practice* I, 55– 63.
- Santosa, B. (2020). Teknik Elisa: Metode Elisa Untuk Pengukuran Protein Metallothionein Pada Daun Padi Ir Bagendit. In Unimus Press, Semarang. (Issue 18).
- Serrano , FG., Rojas, C. T. Carvajal, F. J., Hancke, J., Cerpa, W., dan Inestrosa, N. C. (2014). Andrographolide reduces cognitive impairment in young and mature AβPPswe/PS-1 mice. *Molecular Neurodegeneration*. 9(61): 1-18.
- Smith, John A. *Understanding Neurodegenerative Diseases in the Elderly*. New York: Academic Press, 2022.
- Sri, Indah. 2012. *Khasiat Sambiloto*. Surabaya: Tibbun Media. Utami, Prapti. 2012. *Antibiotik Alami Untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka.
- Widaryanto E, Azizah N. *Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat*. Malang: UB Press; 2018. *World Alzheimer Report*. 2018. The state of the art of dementia research: New frontiers. Alzheimer's Disease International. London.
- World Health Organization*. (2017). *Global Status Report on the Public Health Response to Dementia*.
- Yanti, Y.N., Mitika, S., 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J. Ilm. Ibnu Sina JIIS Ilmu Farm. Dan Kesehat.* 2, 158–168.
- Yuhernita, Juniarti. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun surian (*Toona sinensis*) dan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains*.
- Yulanri, D. 2018, Uji aktivitas anti Alzheimer secara in vitro dengan penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) oleh ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.), Skripsi, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.

- Yunita, E. (2021) 'Senyawa Antioksidan', *Herb-medicine Journal*, 4, 43–56.
- Zein, R. H et al. (2021) 'Pengaruh Latihan Fisik Terhadap Peningkatan Kadar PGC 1 Alpha Pada Otak Mencit Jantan', *Jurnal Ilmiah Fisioterapi*, 4(01), 11–17.