

REVIEW ARTIKEL: POTENSI TANAMAN HERBAL SEBAGAI AGEN TERAPI PENYAKIT ALZHEIMER

Maitsa Alya Fakhirah*, Patihul Husni

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang Km. 21 Jatinangor 4536
maitsaalyafakhirah@gmail.com
diserahkan 23/05/2024, diterima 19/06/2024

ABSTRAK

Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif progresif yang menyebabkan kerusakan sel-sel otak dan penyebab utama demensia, yang ditandai dengan penurunan kemampuan kognitif. Alzheimer terjadi karena adanya reduksi asetilkolin (ACh) oleh enzim asetilkolinesterase (AChE). AChE dengan cepat menghidrolisis ACh di celah sinaptik, melepaskan asetat dan kolin. Tujuan dari *review* artikel ini adalah untuk memberikan informasi tentang beberapa tanaman herbal yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif sebagai *inhibitor* AChE untuk Alzheimer karena terapi yang saat ini digunakan memiliki efek samping. Seluruh data diperoleh dari Scopus, PubMed, dan Google Scholar dengan melihat nilai IC₅₀ yang diperoleh dari uji *in vitro* dengan metode Ellman. Selain itu, artikel dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang ditentukan. Berdasarkan hasil penelusuran diperoleh sebanyak 14 tanaman herbal yang memiliki aktivitas sebagai *inhibitor* AChE yang diuji secara *in vitro*. Senyawa *Columbamine* yang diperoleh dari ekstrak metanol *Dichocarpum auriculatum* memiliki potensi terbaik sebagai *inhibitor* AChE dengan nilai IC₅₀ sebesar 0.24 μ M.

Kata Kunci: Alzheimer, tanaman herbal, *inhibitor* asetilkolinesterase.

ABSTRACT

Alzheimer's is a progressive neurodegenerative disease that damages brain cells and is a leading cause of dementia, characterized by a decline in cognitive abilities. Alzheimer's disease occurs due to acetylcholine (ACh) reduction by the enzyme acetylcholinesterase (AChE), which rapidly hydrolyzes ACh in the synaptic cleft, releasing acetate and choline. This review article aims to provide information about several herbal plants that can be used as alternative treatments for Alzheimer's by acting as AChE inhibitors, addressing the side effects of current therapies. Using the Ellman's method, data were collected from Scopus, PubMed, and Google Scholar, focusing on the IC₅₀ values obtained from in vitro tests. Articles were selected based on specific inclusion and exclusion criteria. The search results identified 14 herbal plants with in vitro AChE inhibitory activity. Among these, the compound Columbamine, obtained from the methanol extract of Dichocarpum auriculatum, showed the highest potential as an AChE inhibitor with an IC₅₀ value of 0.24 μ M.

Keywords: Alzheimer, herbal plants, acetylcholinesterase inhibitor.

PENDAHULUAN

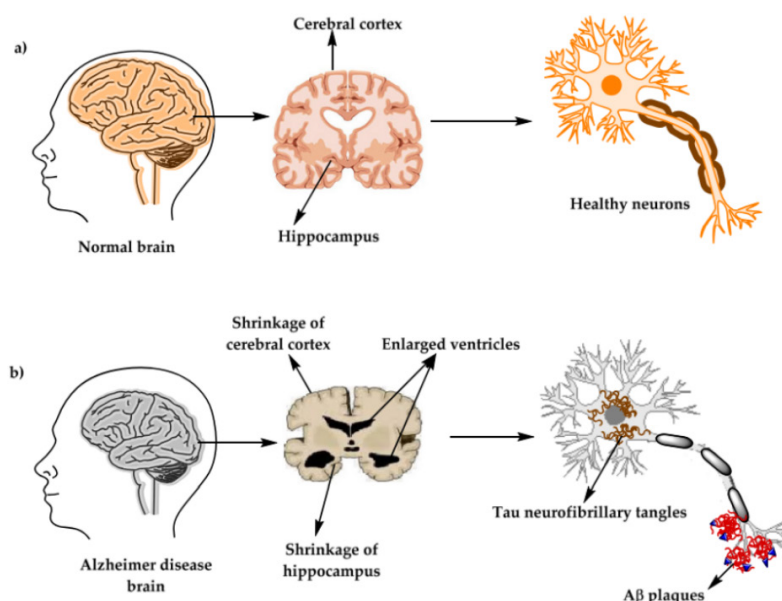
Alzheimer merupakan penyakit neurodegeneratif progresif yang menyebabkan kerusakan sel-sel otak dan merupakan faktor utama penyebab demensia, yang ditandai dengan penurunan kemampuan kognitif dan kemandirian dalam aktivitas pribadi sehari-hari (Breijyeh dan Karaman, 2020; DeTure dan Dickson, 2019).

Data WHO tahun 2023 menunjukkan bahwa terdapat lebih dari 55 juta jiwa yang mengalami demensia di seluruh dunia, akan bertambah 10 juta kasus baru setiap tahunnya, dimana sebanyak 60-70% kasus tersebut merupakan Alzheimer (WHO, 2023). Sementara itu, data Kemenkes tahun 2023 menunjukkan bahwa prevalensi Alzheimer di Indonesia termasuk tinggi (>20%) yaitu 27,9%, serta lebih dari 4,2 juta penduduk menderita demensia (Kemenkes, 2023).

Alzheimer dianggap sebanyak penyakit yang disebabkan oleh multifaktorial, tetapi terdapat dua hipotesis utama yang diyakini sebagai penyebab terjadinya Alzheimer, yaitu hipotesis kolinergik dan amiloid. Menurut hipotesis kolinergik, Alzheimer terjadi karena adanya reduksi asetilkolin (ACh) oleh enzim asetilkolinesterase (AChE). AChE dengan cepat

menghidrolisis ACh di celah sinaptik, melepaskan asetat dan kolin, yang diserap kembali oleh transporter kolin afinitas tinggi (CHT1) menjadi neuron kolinergik presinaptik (Breijyeh dan Karaman, 2020; Chen *et al.*, 2022). Sedangkan, menurut hipotesis amiloid, Alzheimer terjadi karena degradasi A β , yang berasal dari protein prekursor amiloid (APP) oleh β - dan γ -sektase, menurun seiring bertambahnya usia atau karena kondisi patologis, yang menyebabkan akumulasi peptida A β (A β 40 dan A β 42). Peningkatan rasio A β 42/A β 40 menginduksi pembentukan fibril amiloid A β , mengakibatkan neurotoksisitas, induksi patologi tau, kematian sel saraf, dan degenerasi saraf (Breijyeh dan Karaman, 2020; Paroni *et al.*, 2019). Perbedaan otak normal dengan otak yang terdiagnosis penyakit Alzheimer terdapat pada Gambar 1.

Terdapat beberapa obat-obatan yang disetujui FDA untuk pengobatan Alzheimer saat ini, yaitu *inhibitor* asetilkolinesterase (AChEIs) seperti donepezil, galantamin, rivastigmin, dan antagonis N-metil-D-aspartat (NMDA), memantin (Yiannopoulou dan Papageorgiou, 2020). Namun, selain memiliki harga yang relatif mahal, obat-obatan tersebut juga hanya memiliki



Gambar 1. Perbedaan Otak Normal (a) dan Otak dengan Penyakit Alzheimer (b)

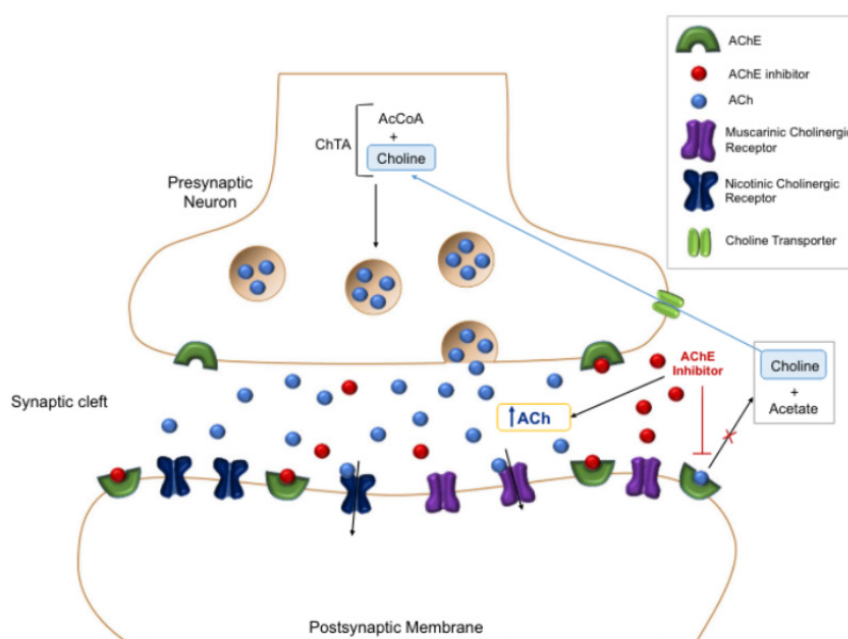
efek simptomatik, artinya obat-obatan tersebut hanya membantu meringankan gejala penyakit, dan pengobatan untuk menyembuhkan penyakit masih belum tersedia hingga saat ini (Passeri *et al.*, 2022). Selain itu, pengobatan Alzheimer yang diterapkan saat ini dilaporkan terjadi reaksi obat yang merugikan pada pasien tingkat lanjut (Ruangritchankul *et al.*, 2021). Selanjutnya, obat-obatan ini memiliki efek samping yang tidak diinginkan seperti mual, muntah, diare, penurunan berat badan, peningkatan frekuensi buang air kecil, dan lain-lain (Abraham *et al.*, 2022).

Oleh karena itu, pencarian alternatif lain penting dilakukan untuk meminimalisir efek samping dan meningkatkan efikasi dengan toksisitas yang rendah atau bahkan tidak terdapat toksisitas. Salah satu alternatif yang dapat dikembangkan adalah dengan pemanfaatan tanaman herbal. Tanaman herbal memiliki efek samping yang rendah bahkan tidak ada jika dibandingkan dengan obat konvensional. Selain itu, tanaman herbal bersifat ramah lingkungan, mudah didapatkan, dan harganya yang relatif terjangkau (Kumontoy *et al.*, 2023).

Dalam upaya mengembangkan strategi

terapi yang baru, diperlukan sebuah model yang dapat mewakili patofisiologi Alzheimer. Salah satu model yang sering digunakan dalam pengembangan pengujian dan penelitian pada Alzheimer adalah dengan melihat aktivitas penghambatan enzim AChE, yang berperan penting dalam fungsi otak (menjadi enzim kunci sistem saraf kolinergik) (Breijyeh dan Karaman, 2020; Chen *et al.*, 2022). Alasan lain yang mendukung enzim AChE digunakan sebagai model dalam penelitian Alzheimer adalah karena representasi fisiologis yang dianggap para peneliti lebih realistis dibandingkan dengan model lain, serta pengukuran aktivitas enzim ini dapat diukur dengan mudah menggunakan berbagai metode (Reubun *et al.*, 2020). Selain itu, model ini banyak digunakan pada studi *in vitro* dalam pencarian agen *inhibitor* asetilkolinesterase. Mekanisme penghambatan enzim asetilkolinesterase terdapat pada gambar Gambar 2.

Dengan demikian, tujuan dari penulisan *review* artikel ini adalah untuk memberikan informasi terkait beberapa tanaman herbal yang memiliki potensi sebagai terapi alternatif untuk Alzheimer dengan mengulas komponen bioaktif



Gambar 2. Skema Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase

pada tanaman herbal tersebut yang berperan sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase pada Alzheimer secara *in vitro*.

METODE

Metode penelitian dilakukan dengan studi literatur pada beberapa jurnal penelitian yang telah dipublikasi. Pengumpulan data dilakukan dengan menelusuri pustaka jurnal melalui *database* elektronik di internet berupa Scopus, PubMed, dan Google Scholar. Penelusuran dilakukan dengan menggunakan kata kunci “herbal plants” atau “tanaman herbal”, “acetylcholinesterase *inhibitor*” atau “*inhibitor* asetilkolinesterase”, “Alzheimer”, “IC50”. Sumber data utama yang digunakan berasal dari jurnal internasional dan nasional yang dipublikasikan pada tahun 2014-2024, kemudian dilakukan skrining terhadap jurnal-jurnal yang diperoleh dengan kriteria inklusi berupa artikel *original research* yang melakukan uji praklinis *in vitro* tanaman herbal yang memiliki aktivitas sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase pada Alzheimer dan disertai dengan nilai IC50. Selanjutnya, kriteria eksklusi ditentukan yaitu artikel yang tidak tersedia dalam *full text*. Kriteria eksklusi lainnya ditentukan yaitu artikel berupa *review* dan artikel yang tidak mencantumkan nama senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelusuran pustaka melalui *database* elektronik di internet, tanaman herbal yang memiliki aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase untuk penyakit Alzheimer ditinjau dari uji *in vitro* dengan melihat nilai IC50 (*inhibition concentration*) terdapat pada Tabel 1.

Uji aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase dapat dilakukan dengan

metode Ellman. Metode Ellman atau Ellman's method merupakan sebuah metode fotometrik untuk menentukan aktivitas asetilkolinesterase ekstrak suatu jaringan, homogenat, suspensi sel, dan lain-lain. Aktivitas enzim diukur dengan mengikuti peningkatan warna kuning yang dihasilkan dari tiokolin bila bereaksi dengan ion *dithiobisnitrobenzoate* (DTNB). Prinsip metode ini adalah mengukur laju produksi tiokolin saat asetiltiokolin dihidrolisis (Ellman, 1961).

Pada pengujian aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase ini, parameter utama yang dianalisis adalah nilai IC50. Nilai IC50 (konsentrasi penghambatan setengah maksimal) adalah ukuran konsentrasi suatu obat atau senyawa yang diperlukan untuk menghambat proses biologis atau biokimia tertentu sebesar 50% (Ugwu dan Conradie, 2023). Semakin kecil nilai IC50 maka konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menghambat enzim asetilkolinesterase semakin sedikit pula sehingga semakin baik aktivitas penghambatannya. Sebaliknya, semakin besar nilai IC50 maka konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menghambat enzim asetilkolinesterase semakin besar sehingga kurang baik aktivitas penghambatannya. Ekstrak dianggap sebagai penghambat AChE yang kuat jika memiliki nilai IC50 <20 µg/mL, sementara menunjukkan *inhibitor* sedang jika 20 < IC50 < 200 µg/mL, dan *inhibitor* lemah jika 200 < IC50 < 1.000 µg/mL (Wardhani *et al.*, 2023).

Sebanyak 56 artikel dilakukan skrining dan diperoleh sebanyak 14 artikel yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yaitu tanaman herbal yang memiliki potensi terhadap penghambatan enzim asetilkolinesterase untuk penyakit Alzheimer. Pertama, *Euonymus laxiflorus* Champ. merupakan tanaman yang tumbuh di daerah Vietnam, China, Cambodia, India, dan Myanmar. Tanaman ini diuji aktivitas penghambatan enzim

Tabel 1. Tanaman Herbal sebagai *Inhibitor* Asetilkolinesterase pada Alzheimer dengan Metode Pengujian Ellman (Ellman's Method) secara In Vitro

Nama Tanaman	Bagian Tanaman	Nama Senyawa	IC50	Referensi
<i>Euonymus laxiflorus</i>	Kulit batang	Apigetrin	0.332 mg/mL (ekstrak MeOH)	(Nguyen <i>et al.</i> , 2023)
<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i>	Batang	3,3',4-tri-O-methylellagic acid	10.1 µM (ekstrak MeOH)	(Oh <i>et al.</i> , 2021)
<i>Salvia cerinopruinosa</i>	Daun	Dihydrotanshinone I	1.50 µg/mL (ekstrak EtOH)	(Kocakaya <i>et al.</i> , 2020)
<i>Tinospora cordifolia</i>	Tangkai	Palmatine	0.66 µg/mL (ekstrak MeOH)	(Balkrishna <i>et al.</i> , 2019)
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Bunga	β-Sitosterol-3-O-β-D-Glucopyranoside	5.22 µM (ekstrak MeOH)	(Ali <i>et al.</i> , 2017)
<i>Phellodendron chinense</i>	Kulit batang	Berberine	0.44 µM (ekstrak EtOH)	(Kim <i>et al.</i> , 2017)
<i>Cassia obtusifolia</i>	Biji	Emodin	29.2 µg/mL (ekstrak MeOH)	(Jung <i>et al.</i> , 2016)
<i>Coptis chinensis</i>	Akar	Berberine, Coptisine, dan Palmatine	0.031 µg/mL (ekstrak MeOH)	(Kaufmann <i>et al.</i> , 2016)
<i>Amaryllis belladonna</i>	Daun	Acetylcaranine	11.7 µM (ekstrak MeOH)	(Sibanyoni <i>et al.</i> , 2020)
<i>Dichocarpum auriculatum</i>	Akar	Columbamine	0.24 µM (ekstrak MeOH)	(Li <i>et al.</i> , 2019)
<i>Anthocleista vogelii</i>	Daun	Swertisin	32.09 µg/mL (ekstrak MeOH)	(Ajayi <i>et al.</i> , 2018)
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	Polong	Asam kafeat dan p-kumarat	893.86 µg/ml (ekstrak EtOH)	(Nuria <i>et al.</i> , 2019)
<i>Macaranga gigantea</i>	Daun	Schweinfurthin C dan Macagigantin	39.89 µg/mL (ekstrak MeOH)	(Johari <i>et al.</i> , 2020)

asetilkolinesterasenya menggunakan metode Ellman termodifikasi. Ekstrak dalam metanol dicampur dengan larutan enzim 0,5 mM dan *buffer* fosfat, dan reaksi dipertahankan pada suhu 25°C selama 15 menit. Aktivitas penghambatan enzim dihitung menggunakan persamaan penghambatan AChE (%) = (AC - AE)/AC × 100. Berberin klorida, penghambat AChE komersial, dilarutkan dalam dimetilsulfoksida dan dielusi pada konsentrasi yang berbeda, didapatkan nilai IC50 0.332 mg/mL (Nguyen *et al.*, 2023). Nilai tersebut termasuk derajat inhibisi lemah.

Castanopsis cuspidata var. *sieboldii* memiliki potensi sebagai agen penghambat asetilkolinesterase yang diukur dengan melakukan preinkubasi enzim dengan *inhibitor*

selama 15 menit sebelum menambahkan substrat dan DTNB. Aktivitas monoamin oksidase A (MAO-A) dan monoamin oksidase B (MAO-B) ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri kontinu. Pengujian β-sekretase (BACE-1) dilakukan dengan menggunakan kit deteksi aktivitas pada panjang gelombang eksitasi dan emisi masing-masing 320 dan 405 nm, dan 7-methoxycoumarin-4-acetyl-[Asn670,Leu671]-amyloid β/Fragmen protein A4 sebagai substrat. Nilai IC50 dari ekstrak metanol tanaman ini adalah 10.1 µM yang menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap enzim asetilkolinesterase yang kuat (Oh *et al.*, 2021).

Berikutnya, *Salvia cerinopruinosa* Rech., yang juga dilakukan uji in vitro dengan metode

Ellman dan melihat nilai IC₅₀ sebagai parameter utama. Dari hasil pengujian diperoleh bahwa senyawa *Dihydrotanshinone I* yang diisolasi dari tanaman ini memiliki aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase dengan nilai IC₅₀ 1.50 µg/mL dalam ekstrak etanol (Kocakaya, 2020). Nilai tersebut menunjukkan bahwa aktivitas inhibisi enzim asetilkolinesterase kuat.

Selain itu, *Tinospora cordifolia* (Bratawali) memiliki potensi sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase dengan dilakukan uji in vitro untuk menentukan nilai IC₅₀. Ekstrak tanaman dalam metanol diencerkan dalam *buffer* untuk menyiapkan konsentrasi akhir, dan enzim diinkubasi terlebih dahulu dengan 10 µL ekstrak/kontrol positif. Setelah inkubasi, ditambahkan 10 µL larutan asetiltiokolin klorida (ATCC), dan campuran diinkubasi kembali selama 20 menit. Hidrolisis ATCC dipantau pada 412 nm menggunakan pembaca pelat multimode EnVision. Aktivitas penghambatan dihitung menggunakan rumus dan IC₅₀ ditentukan menggunakan GraphPad Prism 7, diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 0.66 µg/mL (Balkrishna *et al.*, 2019). Nilai tersebut menunjukkan bahwa aktivitas inhibisi enzim asetilkolinesterase kuat.

Crataegus oxyacantha merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase yang ditentukan menggunakan metode Ellman dengan *Galantamine* sebagai senyawa pembanding. Prosedur ini melibatkan degradasi katalitik substrat seperti asetiltiokolin iodida dan butiriltiokolin iodida oleh enzim asetilkolinesterase (AChE) dan butirilkolinesterase (BChE), membentuk anion 5-tio-2-nitrobenzoat dan dikomplekskan dengan DTNB untuk membentuk senyawa kuning. Senyawa ini dapat dideteksi oleh sinar UV dan diukur dari waktu ke waktu. Absorbansi senyawa diukur pada 412 nm, dan aktivitas penghambatan

dihitung berdasarkan laju penyerapan dan penghambatan enzim. Nilai IC₅₀ sebesar 5.22 µM, artinya tanaman ini memiliki aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase yang kuat (Ali *et al.*, 2017).

Tanaman herbal lain yang memiliki aktivitas sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase pada penyakit Alzheimer adalah *Phellodendron chinense* dengan melakukan uji aktivitas metode kolorimetri Ellman termodifikasi. Hasil pengujian menyatakan bahwa nilai IC₅₀ sebesar 0.44 µM dalam ekstrak etanol, yang artinya aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterasenya kuat (Kim *et al.*, 2017).

Cassia obtusifolia merupakan tanaman herbal China yang memiliki potensi sebagai penghambat enzim asetilkolinesterase yang diukur dengan metode spektrofotometer yang dikembangkan dengan metode Ellman. Campuran reagen termasuk *buffer* natrium fosfat, larutan sampel uji, dan larutan AChE atau BChE. Reaksi dimulai dengan penambahan DTNB dan asetilkolin (ACh) atau butirilkolin (BCh). Hidrolisis ACh atau BCh dipantau menggunakan spektrofotometer lempeng mikro. Persen penghambatan dihitung sebagai $(1-S/E) \times 100$. Hasil pengujian diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 29.2 µg/mL dalam ekstrak metanol, termasuk aktivitas inhibisi enzim asetilkolinesterase yang sedang (Jung *et al.*, 2016).

Potensi *inhibitor* asetilkolinesterase tanaman herbal lainnya adalah ekstrak tanaman *Coptis chinensis* dalam metanol yang dianalisis menggunakan metode Ellman di 96-well plates. Mastermix dibuat dengan asetiltiokolin iodida, asam ditionitrobenzoat, dan *buffer* fosfat. Kontrol positif adalah *physostigmine* dan *galantamine*, sedangkan DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Pengukuran dicatat pada 450 nm menggunakan pembaca pelat EL808. Setelah

inkubasi, 25 µL asetilkolinesterase ditambahkan ke masing-masing sumur, dan aktivitas penghambatannya dihitung. Hasil yang diperoleh tanaman ini memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0.031 µg/mL, inhibisi enzim asetilkolinesterasenya kuat (Kaufmann *et al.*, 2016).

Amaryllis belladonna L. merupakan tanaman herbal selanjutnya yang memiliki potensi penghambatan asetilkolinesterase. Penelitian ini menggunakan metode kolorimetri kuantitatif (Ellman) untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak terhadap AChE. Ekstrak dicampur dalam lempeng mikro 96 sumur, dan serapannya diukur. Asetilkolinesterase ditambahkan ke masing-masing sumur, dan persentase penghambatannya dihitung. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan pengenceran serial setiap zat uji, dan data dianalisis menggunakan Excel. IC₅₀ untuk setiap zat uji dihitung dengan memplot persentase penghambatan enzim sebagai fungsi dari konsentrasi zat uji, diperoleh nilai IC₅₀ 11.7 µM. Nilai tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap enzim asetilkolinesterase tingkat kuat (Sibanyoni *et al.*, 2020).

Dichocarpum auriculatum (Franch.) memiliki potensi untuk terapi Alzheimer melalui aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase. Uji Ellmann digunakan untuk mengukur aktivitas AChE di pelat 96-well plates. Reaksi dimulai dengan ATCI dan DTNB, dan pembacaan akhir dicatat pada 405 nm. Aktivitas penghambatan dihitung dibandingkan dengan reaksi sampel relatif terhadap sampel kosong. Persentase penghambatan dihitung dengan rumus: laju penghambatan = $(A - A_1) / A \times 100$. Nilai IC₅₀ ekstrak dihitung dengan memplot persentase penghambatan terhadap konsentrasi ekstrak, diperoleh sebesar 0.24 µM dimana nilai tersebut menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas penghambatan enzim asetilkolinesterase

yang sangat kuat (Li *et al.*, 2019).

Berikutnya, tanaman *Anthocleista vogelii* juga dapat menghambat enzim asetilkolinesterase sehingga berpotensi untuk terapi Alzheimer. Ekstrak metanol tanaman ini diuji aktivitas penghambatannya terhadap enzim asetilkolinesterase menggunakan metode *microplate assay* (Ellman). Sampel dilarutkan dalam larutan stok 2% Tween 20 dalam *buffer*. Kontrol positif adalah garam *physostigmine hemisulfate* (eserine). Sampel dicampur dengan berbagai konsentrasi sampel uji dan enzim. Campuran reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Laju hidrolisis ATChI ditentukan secara spektrofotometri. Persentase penghambatan masing-masing sampel dan kontrol positif (eserine) dihitung dengan rumus $I (\%) = [(V_o - V_i)/V_o] \times 100$. Hasil yang diperoleh berupa nilai IC₅₀ sebesar 32.09 µg/mL, artinya aktivitas inhibisi enzim asetilkolinesterase sedang (Ajayi *et al.*, 2018).

Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim asetilkolinesterase yang diuji secara *in vitro* menggunakan metode Ellman. Uji aktivitas ini menggunakan Penelitian ini menggunakan *microplate 96-well* dan spektrofotometer untuk menganalisis aktivitas enzim. Enzim asetilkolinesterase (AChE) menghidrolisis substrat asetiltiokolin iodida (ATCI), menghasilkan tiokolin. Enzim dibuat dari belut listrik dan disimpan pada suhu -20°C. Reaksi enzim dimulai dengan 20 µL ATCI 15 mM, memungkinkan enzim berikatan dengan substrat. Pyridostigmin digunakan sebagai kontrol, dan hasilnya dibandingkan selama tiga hari. Persentase penghambatan dihitung dengan menggunakan rumus Persen Inhibisi (%) = $[(A - E)/A] \times 100$ dimana A adalah aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak dan E adalah aktivitas

enzim dengan penambahan ekstrak. Nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 893.86 µg/ml, aktivitas inhibisi enzim lemah (Nuria *et al.*, 2019).

Terakhir, dari hasil penelusuran pustaka, tanaman herbal yang memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim asetilkolinesterase adalah *Macaranga gigantea* (Rechb.f. & Zoll.) Studi ini menggunakan metode spektroskopi Ellman *et al.* untuk menganalisis tiokolin yang dihasilkan oleh asetilkolinesterase, berwarna kuning dengan 5, 5'-dithiobis(asam 2-nitrobenzoat) sebagai kontrol positif. Pelat 96 sumur dirancang, dan substrat ditambahkan. Intensitas warna produk diukur, dan persentase aktivitas penghambatan AChE dihitung, diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 39.89 µg/mL (Johari *et al.*, 2020). Nilai tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan enzimnya sedang.

Hasil yang ditunjukkan dari beberapa artikel yang telah dibahas, tanaman herbal yang memiliki aktivitas sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase untuk penyakit Alzheimer bervariasi, dari yang memiliki efek inhibisi lemah, sedang, sampai kuat. Ekstrak metanol dari *Dichocarpum auriculatum* dengan senyawa *Columbamine* memiliki aktivitas inhibisi terbaik karena semakin rendah nilai IC₅₀ semakin baik aktivitas inhibisinya terhadap enzim asetilkolinesterase. Berdasarkan hal tersebut, beberapa tanaman herbal yang memiliki nilai IC₅₀ rendah dapat digunakan sebagai pengembangan terapi alternatif penyakit Alzheimer melalui mekanisme penghambatan enzim asetilkolinesterase.

SIMPULAN

Tanaman herbal yang diuji secara *in vitro* menggunakan metode Ellman dengan nilai IC₅₀ paling rendah merupakan tanaman herbal yang memiliki potensi terbaik untuk dijadikan agen terapi penyakit Alzheimer melalui mekanisme

penghambatan enzim asetilkolinesterase, yaitu senyawa *Columbamine* yang diperoleh dari ekstrak metanol *Dichocarpum auriculatum* dengan nilai IC₅₀ sebesar 0.24 µM. Tanaman herbal lain seperti *Euonymus laxiflorus*, *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii*, *Salvia cerinopruinosa*, *Tinospora cordifolia*, *Crataegus oxyacantha*, *Phellodendron chinense*, *Cassia obtusifolia*, *Coptis chinensis*, *Amaryllis belladonna*, *Anthocleista vogelii*, *Psophocarpus tetragonolobus*, dan *Macaranga gigantea* juga memiliki potensi sebagai terapi alternatif untuk Alzheimer melalui mekanisme sebagai *inhibitor* asetilkolinesterase.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, J. S., Maharifa, H. N. S., & Hemalatha, S. (2022). In Silico Molecular Docking Approach Against Enzymes Causing Alzheimer's Disease Using *Borassus fabellifer* Linn. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(1), 1804-1813. doi:10.1007/s12010-021-03779-3
- Ajayi, O. S., Aderogba, M. A., Obuotor, E. M., & Majinda, R. R. T. (2018). Acetylcholinesterase Inhibitor from *Anthocleista vogelii* Leaf Extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 231(1), 503-506. doi:10.1016/j.jep.2018.11.009
- Ali, M., Muhammad, S., Shah, M. R., Khan, A., Rashid, U., Farooq, U., Ullah, F., Sadiq, A., Ayaz, M., Ali, M., Ahmad M., & Latif, A. (2017). Neurologically Potent Molecules from *Crataegus oxyacantha*; Isolation, Anticholinesterase Inhibition, and Molecular Docking. *Front. Pharmacol*, 8(1), 327. doi: 10.3389/fphar.2017.00327
- Balkrishna, A., Pokhrel, S., Tomer, M., Verma, S., Kumar, A., Nain, P., ... Varshney, A. (2019). Anti-Acetylcholinesterase Activities of Mono-Herbal Extracts and

- Exhibited Synergistic Effects of the Phytoconstituents: A Biochemical and Computational Study. *Molecules*, 24(22), 4175. doi:10.3390/molecules24224175
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24), 5789. doi:10.3390/molecules25245789
- Chen, Z., Huang, J., Yang, S., & Hong, F. (2022). Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 27(6), 1816. doi:10.3390/molecules27061816
- DeTure, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The Neuropathological Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14(1), 1-18. doi:10.1186/s13024-019-0333-5
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9
- Johari, M. S. M., Ahmat, N., Kamarozaman, A. S., & Hafiz, Z. Z. (2020). Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of The Methanol Extract and Phytochemical Study of The Leaves of *Macaranga gigantea* (Rchb.f. & Zoll.). *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 24(4), 495-502.
- Jung, H. A., Ali, M. Y., Jung, H. J., Jeong, H. O., Chung, H. Y., & Choi, J. S. (2016). Inhibitory activities of major anthraquinones and other constituents from *Cassia obtusifolia* against β -secretase and cholinesterases. *Journal of Ethnopharmacology*, 191(1), 152-160. doi:10.1016/j.jep.2016.06.037
- Kaufmann, D., Kaur Dogra, A., Tahrani, A., Herrmann, F., & Wink, M. (2016). Extracts from Traditional Chinese Medicinal Plants Inhibit Acetylcholinesterase, a Known Alzheimer's Disease Target. *Molecules*, 21(9), 1161. doi:10.3390/molecules21091161
- Kemenkes Direktorat Jenderal Pelayanan Kesehatan. (2023). *Mengenal Demensia Alzheimer*. https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/2819/mengenal-demensia-Alzheimer.
- Kim, Y., Lim, H.-S., Kim, Y., Lee, J., Kim, B.-Y., & Jeong, S.-J. (2017). Phytochemical Quantification and the In Vitro Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of *Phellodendron chinense* and Its Components. *Molecules*, 22(6), 925. doi:10.3390/molecules22060925
- Kocakaya, S. O., Ertas, A., Yener, I., Ercan, B., Oral, E. V., Akdeniz, M., Kaplaner, E., Topcu, G., & Kolak, U. (2020). Selective in-vitro Enzymes' Inhibitory Activities of Fingerprints Compounds of *Salvia* Species and Molecular Docking Simulations. *Journal of Pharmaceutical Research*, 19(2), 187-198.
- Kumontoy, G. D., Deeng, D., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal sebagai Obat Tradisional untuk Kesehatan Masyarakat di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Holistik*, 16(3), 1-16. ISSN: 1979-0481
- Li, P., Liu, S., Liu, Q., Shen, J., Yang, R., Jiang, B., ... Xiao, P. (2019). Screening of acetylcholinesterase inhibitors and characterizing of phytochemical constituents from *Dichocarpum auriculatum* (Franch.) W.T. Wang & P. K. Hsiao through UPLC-MS combined with an acetylcholinesterase inhibition assay in vitro. *Journal of*

- Ethnopharmacology*, 245(1), 112185. doi:10.1016/j.jep.2019.112185
- Nguyen, V. B., Wang, S., L., Phan, T. Q., Doan, M. D., Phan, T. K. P., Phan, T. K. T., Pham, T. H. T., & Nguyen, A. D. (2023). Novel Anti-Acetylcholinesterase Effect of *Euonymus laxiflorus* Champ. Extracts via Experimental and In Silico Studies. *Life*, 13(6), 1281. <https://doi.org/10.3390/life13061281>
- Nuria, M. C., Sukandarm E. Y., Suganda, A. G., & Insanu, M. (2019). Aktivitas Inhibisi Asetilkolinesterase Empat Jenis Sayuran secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 16(1), 43-50.
- Oh, J. M., Jang, H. J., Kang, M. G., Song, S., Kim, D., Y., Kim, J., ... Kim, H. (2021). Acetylcholinesterase and monoamine oxidase-B inhibitory activities by ellagic acid derivatives isolated from *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii*. *Scientific Reports*, 11(1), 13953. doi:10.1038/s41598-021-93458-4
- Paroni, G., Bisceglia, P., & Seripa, D. (2019). Understanding the Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 68(2), 493-510. doi:10.3233/JAD-180802
- Passeri, E., Elkhoury, K., Morsink, M., Broersen, K., Linder, M., Tamayol, A., Malaplate, C., Yen, F. T., & Arab-Tehrany, E. (2022). Alzheimer's Disease: Treatment Strategies and Their Limitations. *Int. J. Mol. Sci.*, 23(22), 13954. doi:<https://www.mdpi.com/1422-0067/23/22/13954#>
- Reubun, Y. T. A., Kumala, S., Setyahadi, S., & Simanjuntak, P. (2020). Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase dari Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) URB), Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) dan Kombinasinya. *Jurnal Pharmacy*, 17(2), 451-458. doi:10.30595/pharmacy.v17i2.9052
- Ruangritchankul, S., Chantharit, P., Srisuma, S., & Gray, L. C. (2021). Adverse Drug Reactions of Acetylcholinesterase Inhibitors in Older People Living with Dementia: A Comprehensive Literature Review. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 17(1), 927-949. doi:10.2147/TCRM.S323387
- Sibanyoni, M. N., Chaudhary, S. K., Chen, W., Adhami, H. R., Combrinck, S., Maharaj, V., ... Viljoen, A. (2020). Isolation, in vitro evaluation and molecular docking of acetylcholinesterase inhibitors from South African Amaryllidaceae. *Fitoterapia*, 146(1), 104650. doi:10.1016/j.fitote.2020.104650
- Ugwu, D. I., & Conradie, J. (2023). Anticancer properties of complexes derived from bidentate ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 246(1), 112268. doi:10.1016/j.jinorgbio.2023.112268
- Whardhani, S. K., Abdillah, S., & Djamil, R. (2023). Acetylcholinesterase Inhibition and Determination of Quality Parameters Polyherbal and Combination Extracts from *Moringa oleifera* Lam., *Phyllanthus niruri* L., and *Nigella sativa* L. *Health Science Journal of Indonesia*, 14(2), 57-64. doi:10.22435/hsji.v14i2.6495
- World Health Organization. (2023). *Dementia*. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/dementia>
- Yiannopoulou, K. G., & Papageorgiou, S. G. (2020). Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12(1), 1-12. doi:10.1177/1179573520907397