

**UJI AKTIVITAS MINYAK ATSIRI RIMPANG KUNYIT (*Curcuma Longa* Linn)  
Pada TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* MODEL DEMENSIA  
(Kajian Penghambat Aktivitas Asetilkolinesterase)**

**Safwan, Sapto Yuliani, Suwidjiyo Pramono**

Program Pascasarjana Farmasi Klinik Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta  
Safwan\_afan@yahoo.com

**ABSTRAK**

Demensia merupakan istilah pada penyakit yang berkaitan dengan penurunan fungsi memori. Memori merupakan proses penyimpanan dan pengambilan kembali informasi melalui sinyal-sinyal saraf di otak oleh senyawa asetilkolin (ACh). Senyawa ACh menjadi tidak aktif oleh aktivitas enzim asetilkolinesterase (AChE). Aktivitas AChE yang tinggi dapat menggambarkan terjadinya demensia. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas AChE dapat menggambarkan potensi sebagai obat anti demensia. Tanaman yang berpotensi mengandung senyawa tersebut adalah kunyit (*Curcuma longa* Linn). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi minyak atsiri rimpang kunyit (*Curcuma longa* Linn) dalam menghambat aktivitas AChE pada tikus model demensia yang diinduksi trimetiltin (TMT). Minyak atsiri diperoleh dari hasil destilasi menggunakan metode destilasi uap air kemudian dianalisis komponen senyawa yang terkandung menggunakan metode GC-MS. Uji penghambatan aktivitas AChE dilakukan pada tikus *Sprague dawley* jantan umur  $\pm 2$  bulan. Hewan uji dibagi dalam 6 kelompok. Kelompok I, II, III (normal, kontrol dan citicoline) dan kelompok IV, V, VI (diberi minyak atsiri dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB). Perlakuan dilakukan selama 29 hari. Pemberian TMT i.p dosis 8 mg/kg BB dilakukan pada hari ke-8 kecuali kelompok normal. Otak tikus diambil dan dipreparasi hingga diperoleh supernatan. Penetapan aktivitas AChE menggunakan reagen kit (katalog #K764-100). Analisis data menggunakan ANOVA dengan Post Hoc LSD. Komponen utama pada minyak atsiri rimpang kunyit hasil analisis GC-MS yaitu ar-tumerone (49,47%), alpha tumerone (19,91%), dan alpha phellandrene (4,24%). Hasil uji penghambatan aktivitas AChE pada kelompok kontrol berbeda tidak bermakna ( $P > 0.05$ ) dibandingkan kelompok normal. Penurunan aktivitas AChE kelompok pemberian citicoline berbeda bermakna ( $P < 0.05$ ) terhadap kelompok kontrol. Penurunan aktivitas AChE otak pada kelompok MARK dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB berbeda bermakna ( $P < 0.05$ ) dibandingkan kelompok kontrol namun berbeda tidak bermakna pada dosis 100 mg/kgBB. Pemberian minyak atsiri rimpang kunyit mulai dosis 200 mg/kg BB dapat menghambat aktivitas enzim AChE pada tikus model demensia yang diinduksi TMT.

**Kata kunci :** Demensia, Asetilkolinesterase (AChE), Minyak Atsiri Rimpang Kunyit.

**PENDAHULUAN**

Demensia merupakan istilah umum yang menggambarkan berbagai penyakit dan kondisi ketika sel-sel saraf di otak mati atau tidak lagi berfungsi secara normal tanpa disertai gangguan kesadaran. Demensia merupakan sindrom penyakit yang bersifat kronik/progresif yang mempengaruhi fungsi-fungsi dasar tubuh seperti daya ingat, daya pikir, daya orientasi, daya pemahaman, berhitung, kemampuan belajar, bahasa, dan kemampuan menilai (Hales *et al.*, 2010). Prevalensi demensia semakin meningkat

dengan bertambahnya usia. Prevalensi demensia sedang hingga berat bervariasi pada tiap kelompok usia. Pada kelompok usia di atas 65 tahun prevalensi demensia sedang hingga berat mencapai 5%, sedangkan pada kelompok usia di atas 85 tahun prevalensinya mencapai 20 hingga 40% (Weuve *et al.*, 2013). Hampir seluruh pasien demensia menunjukkan gangguan memori pada awal gejala timbulnya penyakit.

Memori adalah suatu proses penyimpanan dan pengeluaran kembali informasi yang didapat dari proses belajar. Penyimpanan dan

pemanggilan kembali informasi yang telah disimpan terjadi melalui sinyal-sinyal syaraf yang dijalankan melalui neuron ke neuron berikutnya melalui batas antar neuron (*interneuronal junction*) yang disebut sinaps (Lynch, 2004). Sinyal-sinyal diantaraneuron dihantar oleh senyawa neurotransmitter, salah satu neurotransmitter adalah asetilkolin (ACh). Asetilkolin disekresi sebagian besar di daerah otak. Penyakit Alzheimer merupakan salah satu akibat dari gangguan fungsi asetilkolin. Asetilkolinesterase (AChE) merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalisator pada pemecahan asetilkolin (ACh) menjadi bentuk tidak aktif yaitu asetat dan kolin. Pengukuran aktivitas enzim AChE dapat menggambarkan akumulasi ACh dalam tubuh (Shah *et al.*, 2009). Hasil penelitian Park *et al.*, (2004) menunjukkan pada penderita demensia aktivitas enzim asetilkolinesterase lebih besar. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas AChE dapat menggambarkan potensi sebagai obat anti demensia. Tanaman yang berpotensi mengandung senyawa tersebut adalah kunyit (*Curcuma longa* Linn).

Bagian tanaman kunyit yang paling berpotensi sebagai obat adalah rimpang. Rimpang kunyit mengandung senyawa fenolik salah satunya yaitu kurkumin. Hasil penelitian Lim *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa kurkumin memiliki kemampuan untuk menghambat inflamasi dan kerusakan oksidatif pada tikus model Alzheimer. Selain senyawa kurkumin, pada rimpang kunyit juga mengandung minyak atsiri. Berdasarkan penelitian oleh Rathore *et al.*, (2008) menyatakan bahwa, minyak atsiri rimpang kunyit dosis 250 mg/kg BB, dapat menghambat apoptosis sel otak dengan menurunkan aktivitas kaspase-3 pada tikus model demensia (Rathore *et al.*, 2008).

Potensi tanaman yang mengandung senyawa penghambat aktivitas AChE, dapat menjadi alternatif dalam menurunkan patogenesis dan pengobatan demensia. Oleh sebab itu, maka perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas penghambat aktivitas AChE oleh senyawa yang terkandung pada minyak atsiri rimpang kunyit pada tikus model demensia serta komponen senyawanya.

## METODE

**Desain Penelitian.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental (*true experimental*) dengan desain studi *post test control group design*, dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dan laboratorium penelitian dan pengujian terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta selama tiga bulan, mulai dari bulan April sampai dengan Juni 2014. Populasi yang diteliti adalah tikus Sprague dawley jantan yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Penentuan besar sampel berdasarkan rumus WHO yaitu jumlah sampel minimal lima ekor tiap kelompok yang diambil secara acak. Penelitian ini menggunakan enam ekor tikus tiap kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 36 ekor dengan kriteria inklusi adalah tikus Sprague dawley jantan, umur 2-2,5 bulan, berat badan 150-300 gram, kondisi badan sehat (aktif dan tidak cacat), sedangkan kriteria inklusinya adalah tikus sakit, berat badan menurun hingga kurang dari 150 gram atau tikus mati selama penelitian berlangsung.

Sampel yang digunakan adalah potongan rimpang kunyit yang diperoleh dari CV. Merapi Farma, Kaliurang Yogyakarta.

**Isolasi Minyak Atsiri Rimpang Kunyit.** Rimpang kunyit segar dicuci bersih, diiris dengan ketebalan  $\pm 0,2$  cm, kemudian dikeringkan dengan cara dibiarkan di tempat terbuka yang tidak terkena sinar matahari langsung dan dimasukkan dalam ketel suling dan ditutup dengan rapat. Steam dari boiler dialirkan ke ketel suling dengan tekanan selama 7 jam. Cairan yang keluar dari kondenser diamkan selama 2 jam untuk memisahkan air dan minyak. Pada tahap pemurnian, minyak atsiri rimpang kunyit ditambahkan dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  diaduk selama 1 jam, kemudian diamkan selama 15 menit.

**Analisis Komposisi Senyawa dengan Metode Gas Chromatography–Mass Spectrometry.** Minyak atsiri yang telah diperoleh diamati komposisinya dan dihitung % rendemennya dengan menggunakan

adalah GC-MS QP2010SE SHIMADZU dengan kolom Rastek Rxi-5MS.

Kondisi operasi dari GC-MS tersebut adalah:

Jenis Pengion : EI (Electron Impact)

Jenis Kolom : Cp sit 5 CB

Panjang : 30 meter

Suhu Kolom : 70 °C (5 menit) sampai dengan 270 °C

Gas Pembawa : Helium 10 kpa

Injektor Mode : Split 1 : 80 suhu 300 °C

Suhu Detektor : 300 °C

**Pembuatan Larutan Trimethyltin Chloride (TMT).** Larutan TMT dibuat dengan dosis 8 mg/kgBB dilarutkan dalam sejumlah ml minyak jagung sehingga diperoleh larutan dengan dosis yang sesuai untuk masing-masing hewan uji.

**Perlakuan Hewan Uji.** Hewan uji berupa tikus Sprague Dawley, jantan, umur 2- 2,5 bulan dengan berat badan 150-200 g, dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan masing-masing 6 ekor. Sebelum mendapat perlakuan, tikus diadaptasikan selama 1 minggu dengan kondisi laboratorium pada suhu kamar. Hewan uji mendapatkan siklus paparan cahaya 12 jam terang dan gelap dengan mendapat pakan dan minum ad libitum.

Hewan uji dibagi menjadi enam kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Semua kelompok diberi perlakuannya masing-masing selama 6 hari dan pada hari ke-7 semua kelompok kecuali kelompok VI (kontrol sehat) diberi induksi larutan TMT dengan dosis 8 mg/kg BB. Selanjutnya semua kelompok diberi perlakuannya masing-masing selama 28 hari setelah pemberian TMT. Kelompok I (kontrol sehat) dan kelompok II (kontrol sakit) diberi larutan parafin cair secara peroral. Kelompok III (kontrol obat) diberi larutan *citicoline* dosis 200 mg/kg BB. Kelompok I, II, dan III diberi minyak atsiri masing-masing dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB yang terlarut dalam parafin. Pada hari ke-28 setelah induksi TMT hewan uji dikorbankan. Otak tikus diambil dan diuji aktivitas asetilkolinesterase.

## Pengukuran Aktivitas Asetilkolinesterase.

- 1. Pengukuran kurva standar asetilkolinesterase.** Pengukuran kurva standar asetilkolinesterase berdasarkan reaksi kit kit AChE katalog # K764-100 produksi Biovision. Larutan standar asetilkolinesterase 50 mM diencerkan menjadi 0,5 mM dengan mengambil 10 µl dan ditambahkan 990 µl larutan assay buffer. Dari larutan standar asetilkolinesterase 0,5 mM diambil masing-masing 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 µl dan dimasukkan dalam tabung Eppendorf kemudian ditambah larutan assay buffer sampai volume 50 µl sehingga dihasilkan dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 nmol. Masing-masing larutan yang telah dibuat, kemudian ditambah campuran campuran 45 µl assay buffer, 2 µl *Choline Oxidase Enzyme Mix*, 2 µl *AChE Probe*, dan 1 µl *AChE Substrat* dan diaduk rata kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20-30 menit dan ukur absorbansinya menggunakan *plate reader* pada panjang gelombang 570 nm. Hasil absorpsi kemudian dibuat kurva standar AChE sehingga dihasilkan persamaan linear hubungan absorbansi dengan konsentrasi larutan.
- 2. Pengukuran aktivitas AChE pada sampel jaringan otak tikus.** Pengukuran aktivitas asetilkolinesterase berdasarkan reaksi kit AChE katalog # K764-100 produksi Biovision. Jaringan otak dengan berat 25 mg dihomogenkan dengan 0,1 ml aquadest kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10000 x g selama 15 menit. Supernatant diambil dan dikumpulkan. Sebanyak 5 µl supernatan dimasukkan dalam tabung eppendorf dan ditambah larutan buffer asetilkolin sampai 50 µl. Sebanyak 5 µl larutan ditambahkan kedalam campuran 45 µl assay buffer, 2 µl *Choline Oxidase Enzyme Mix*, 2 µl *AChE Probe*, dan 1 µl *AChE Substrate* dan diaduk rata kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 20-30 menit dan ukur absorbansinya menggunakan *plate reader* pada λmaks 570 nm. Aktivitas

enzim asetilkolinesterase dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{AChE aktivitas } (\mu\text{U/mg protein}) = (\text{B}/\Delta\text{T} \times \text{V} \times \text{Kadar protein} \times 1000) \times \text{FP}$$

Keterangan :

$\Delta\text{T}$  = selisih waktu pembacaan pertama dan kedua ,

B = X (nmol),

V = Volume yang bereaksi (ml) = 0,001ml,

FP = Faktor Pengenceran.

### Pengukuran Kadar Protein Otak Tikus

Pengukuran kadar protein berdasarkan metode biuret.

#### 1. Pengukuran kurva standar albumin.

Larutan standar albumin dibuat dengan 15,00 mg albumin ditambah 10,00 ml aquadest. Dari larutan standar, diambil masing-masing 150, 120, 100, 80, 60, 40, 20, 0  $\mu\text{l}$  dan dimasukkan dalam tabung eppendorf kemudian ditambah aquadest sampai volume 150  $\mu\text{l}$  sehingga dihasilkan seri konsentrasi 1,5, 1,2, 1,0 0,8, 0,6, 0,4, 0,2, 0,0 mg/ml. Masing-masing larutan yang telah dibuat, kemudian ditambah reagen biuret 100  $\mu\text{l}$  dan diaduk rata kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan ukur absorbansinya menggunakan *plate reader* pada  $\lambda$  maks 540 nm. Hasil absorbansi kemudian dibuat kurva standar albumin dan dihasilkan persamaan linear dari hubungan absorbansi dengan konsentrasi larutan.

#### 2. Pengukuran Kadar Protein Pada Sampel Jaringan Otak Tikus.

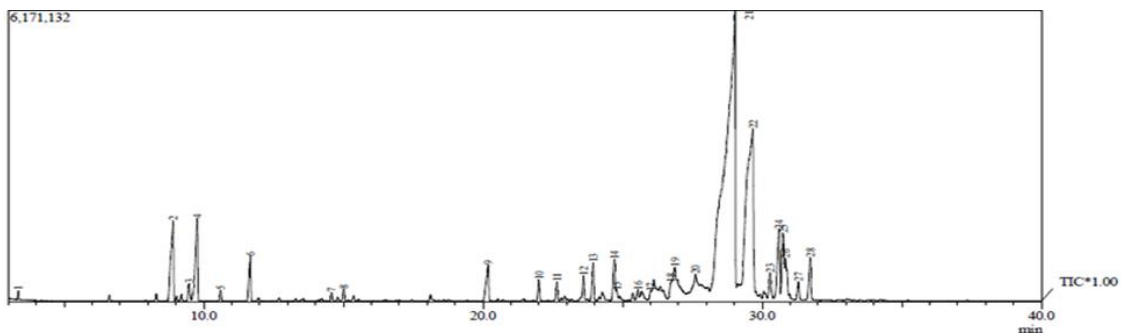
Jaringan otak dengan berat 100 mg dihomogenkan dengan 0,4 ml aquadest kemudian

disentrifugasi pada kecepatan 8000 x g selama 15 menit. Supernatant diambil dan dikumpulkan. Sebanyak 40  $\mu\text{l}$  supernatant dimasukkan dalam tabung eppendorf dan ditambah aquadest sampai volume 150  $\mu\text{l}$  dan ditambah larutan reagen 100  $\mu\text{l}$ . Diaduk rata kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan ukur absorbansinya menggunakan *plate reader* pada  $\lambda$  maks 540 nm.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian ini diperoleh 28 komponen utama dengan 3 fraksi relatif yang dominan, yaitu *ar-tumerone* (49,47 %), *alpha tumerone* (19,91 %), dan *alpha phellandrene* (4,24 %). Telah dilaporkan bahwa teknik analisis GCMS telah digunakan dalam penentuan dan pemisahan senyawa aktif minyak atsiri *Curcuma caesia roxb* (Araujo et al, 2001) dan minyak atsiri *Rhizoma ligustici* (Liang et al., 2006).

Terdapat dua puluh delapan komponen utama di dalam minyak atsiri kunyit berdasarkan teknik pemisahan GCMS. Berdasarkan hasil analisis GCMS seperti pada kromatogram (Gambar 1), terdapat enam komponen utama minyak atsiri kunyit sesuai persentase fraksi relatifnya, diketahui senyawa *ar-turmeron* 49,47 % merupakan komponen yang dominan yang diduga menjadi senyawa aktif minyak volatil kunyit. Senyawa aktif *ar-turmeron* diketahui mampu menurunkan kematian sel (apoptosis) pada tikus yang mengalami stroke emboli (Dohare et al., 2008).



Gambar 1. Kromatogram minyak atsiri kunyit dengan dua puluh delapan komponen utama pengukuran aktivitas asetilkolinesterase

Pembuatan kurva baku AChE, untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan standar AChE dengan serapan. Dari konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 nmol diperoleh serapan 0,092 ; 0,201 ; 0,273 ; 0,312 ; 0,403 ; 0,455 ; 0,534 ; 0,610 diperoleh persamaan  $y = 0,070 x + 0,112$  ( $r = 0,9931$ ). Menurut teori, untuk  $n = 7$  dengan taraf kepercayaan 95% maka harga  $r$  tabel = 0,666, kesimpulannya  $r = 0,9931 > r = 0,666$  ini berarti telah memenuhi persyaratan, sehingga dapat disimpulkan bahwa persamaan garis yang diperoleh menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar AChE dengan absorbansi.

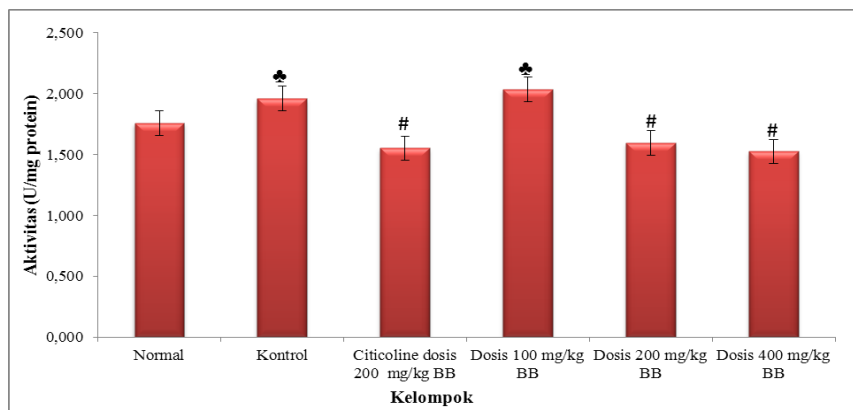
Data aktivitas AChE otak tikus terdistribusi normal  $p=0,982$  ( $p>0,05$ ) dan homogen  $p=0,728$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji ANOVA menunjukkan berbeda bermakna  $p=0,008$  ( $p<0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan menyebabkan perbedaan aktivitas AChE otak tikus pada masing-masing kelompok perlakuan. Kadar rata-rata dan histogram aktivitas AChE otak tikus masing-masing terlihat pada Tabel 1 dan dan Gambar 2.

Tabel 1. Rerata  $\pm$  SEM Aktivitas AChE Otak Tikus

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Aktivitas (U/mg protein)
Normal	-	1,759 $\pm$ 0,050
Kontrol	-	1,959 $\pm$ 0,123 ♣
Citicoline	200	1,552 $\pm$ 0,123 #
Minyak atsiri	100	2,036 $\pm$ 0,132♣
Minyak atsiri	200	1,596 $\pm$ 0,043 #
Minyak atsiri	400	1,524 $\pm$ 0,121 #

Keterangan: Perbedaan bermakna, # $p<0,05$  terhadap kelompok normal, \* $p<0,05$  terhadap kelompok kontrol, dan ♣ $p<0,05$  terhadap kelompok *citicoline*.

Berdasarkan analisis statistik, peningkatan aktivitas AChE pada kelompok kontrol berbeda tidak bermakna ( $P>0,05$ ) dibandingkan kelompok normal. Penurunan aktivitas AChE kelompok pemberian *citicoline* berbeda bermakna ( $P<0,05$ ) terhadap kelompok kontrol. Penurunan aktivitas AChE otak pada kelompok MARK dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB berbeda bermakna ( $P<0,05$ ) dibandingkan kelompok kontrol namun berbeda tidak bermakna pada dosis 100 mg/kgBB.



Gambar 2. Histogram aktivitas AChE otak tikus

Keterangan : Perbedaan bermakna, # $p<0,05$  terhadap kelompok normal, \* $p<0,05$  terhadap kelompok kontrol, dan ♣ $p<0,05$  terhadap kelompok *citicoline*

Aktivitas AChE rata-rata pada kelompok normal lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol, ini menunjukkan pemberian TMT 8 mg/kgBB dapat menaikkan aktivitas AChE otak tikus namun uji lanjut dengan uji LSD didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) antara kedua kelompok tersebut. Berdasarkan hasil uji LSD juga didapatkan

perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok *citicoline* yang menunjukkan pemberian *citicoline* dapat menghambat aktivitas AChE. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok minyak atsiri dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB namun tidak ada perbedaan bermakna dengan kelompok 100 mg/kgBB. Pemberian minyak

atsiri dosis 400 mg/kgBB dapat menurunkan aktivitas AChE lebih besar dibandingkan dengan dosis 200 mg/kgBB namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara dua kelompok tersebut, hal ini menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri rimpang kunyit dosis 200 mg/kgBB dapat menghambat aktivitas AChE pada tikus model demensia dan peningkatan dosis lebih dari 200 mg/kgBB tidak dapat menurunkan aktivitas AChE secara signifikan.

Pada penelitian ini, pemberian TMT tidak mampu meningkatkan aktivitas AChE secara signifikan, hal ini kemungkinan karena jarak pemberian TMT dengan hewan uji dikorbankan terlalu singkat yaitu 21 hari. Hasil ini didukung hasil penelitian oleh Kim *et al.*, (2011) dimana jarak pemberian TMT dengan hewan uji dikorbankan yaitu selama 48 hari. TMT merupakan senyawa organotoksin dengan efek neurotoksik kuat yang sangat berguna untuk mempelajari respon terhadap cedera otak karena pola yang berbeda dari degenerasi saraf di otak tikus (Jung *et al.*, 2013). TMT dapat menyebabkan gangguan pada fungsi memori. Gangguan memori ini sesuai dengan mekanisme TMT yang dapat menyebabkan perubahan dalam neurotransmisi kolinergik melalui gangguan reseptor muskarinik dan menyebabkan penurunan aktivitas AChE di otak (Kim *et al.*, 2011). ACh dilepaskan dalam otak selama pembelajaran dan sangat penting untuk pembentukan memori baru sehingga bila terjadi penurunan ACh maka akan terjadi gangguan memori (Buchanan *et al.*, 2011).

Pemberian *citicoline* 200 mg/kgBB secara signifikan dapat meningkatkan memori tikus. Hasil tersebut dapat dilihat dari data uji penghambatan aktivitas AChE. *Citicoline* menunjukkan kemampuan untuk meningkatkan kemampuan kognitif, terutama kemampuan orientasi spasial pada penderita *Alzheimer's disease* (Anonim, 2008). Pada penelitian ini, pemberian minyak atsiri rimpang kunyit dosis 200 mg/kg BB secara signifikan dapat menghambat aktivitas AChE. Penghambatan aktivitas asetilkolinesterase otak telah menjadi target terapi dalam meningkatkan kadar ACh pada penderita demensia (Lane *et al.*, 2006). Keseimbangan kadar ACh otak merupakan tujuan dalam menghambat aktivitas

asetilkolinesterase pada penderita demensia (Amoo *et al.*, 2012). Asetilkolinesterase merupakan enzim yang memecah asetilkolin menjadi bentuk tidak aktif (Lane *et al.*, 2006). Donepezil, rivastigmine dan galantamine merupakan obat penghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase yang telah digunakan di Amerika Serikat dan telah direkomendasi oleh *Food and Drug Administration* (FDA) (Lukiw, 2012; Salomone *et al.*, 2012).

## KESIMPULAN

Pemberian minyak atsiri rimpang kunyit dosis 200 mg/kg BB dapat menghambat aktivitas enzim AChE pada tikus model demensia yang diinduksi TMT. Komponen utama pada minyak atsiri rimpang kunyit hasil analisis GC-MS yaitu *ar-tumerone* (49,47%), *alpha tumerone* (19,91%), dan *alpha phellandrene* (4,24%).

## DAFTAR PUSTAKA

- Amoo, S. O., Aremu, A. O., Moyo, M., & Van Staden, J. (2012). Antioxidant and acetylcholinesterase-inhibitory properties of long-term stored medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 87. doi:10.1186/1472-6882-12-87
- Anonim. (2008). Citicoline. Retrieved from <http://www.biomedsearch.com/article/Alzheimers-disease-amnestic-mild-cognitive/181714351.html>
- Araujo CAC, Leon LL, Biological activities of Curcuma loga L, *J Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96(5):723-728.
- Buchanan, K.A., Petrovic, M.M., Chamberlain, S.E., Marrion, N.V., Mellor, J.R., 2011, Facilitation of long-term potentiation by muscarinic M1 receptors is mediated by inhibition of SK channels, *Neuron.*, 69, 1037.
- Hales, Robert E., Stuart C. Yudofsky, Glen O. Gabbard, and Eric D. 2010. *Essentials of Psychiatry*. American Psychiatric Pub.
- Kim, J.K., Choi, S.J., Bae, H., Kim, C.R., Cho, H.Y., Kim, Y.J., Lim, S.T., Kim, C.J., Kim, H.K., Peterson, S., And Shin,

- D.H., 2011, Effects of Methoxsalen from *Poncirus trifoliata* on Acetylcholinesterase and Trimethyltin-Induced Learning and Memory Impairment, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75, 1984-89.
- Lane, R. M., Potkin, S. G., & Enz, A. (2006). Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 9(1), 101-124.
- Liju, Vijayastelter B., Kottarapat Jeena, dan Ramadasan Kuttan. 2011. "An Evaluation of Antioxidant, Anti-inflammatory, and Antinociceptive Activities of Essential Oil from *Curcuma Longa*. L." *Indian Journal of Pharmacology* 43 (5): 526-31.
- Lukiw, W. J. (2012). Amyloid beta (A $\beta$ ) peptide modulators and other current treatment strategies for Alzheimer's disease (AD). *Expert Opinion on Emerging Drugs*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3399957/>
- Jung, E.-Y., Lee, M.-S., Ahn, C. J., Cho, S.-H., Bae, H., & Shim, I. (2013). The Neuroprotective Effect of Gugijihwang-Tang on Trimethyltin-Induced Memory Dysfunction in the Rat. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2013. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3687724/>
- Lim, Giselle P., Teresa Chu, Fusheng Yang, Walter Beech, Sally A. Frautschy, and Greg M. Cole. 2001. "The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative Damage dan Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse." *The Journal of Neuroscience* 21 (21): 8370-77.
- Liang YZ, Guo FQ. Analysis of volatil oil in *Rhizoma ligustici chuanxiong-radix paeoniae rura* by gas chromatography-mass spectrometry and chemometric resolution 1. *J. Acta Phar Si* 2006; 27(4):491-498.
- Lynch, M. A. 2004. "Long-Term Potentiation and Memory." *Physiological Reviews* 84 (1): 87-136.
- Park, Sang Eun, Nam Deuk Kim, and Young Hyun Yoo. 2004. "Acetylcholinesterase Plays a Pivotal Role in Apoptosome Formation." *Cancer Research* 64 (8): 2652-55.
- Rathore, Priyanka, Preeti Dohare, Saurabh Varma, Aparajita Ray, Uma Sharma, N R Jagannathan, N R Jaganathanan, and Madhur Ray. 2008. "Curcuma Oil: Reduces Early Accumulation of Oxidative Product and Is Anti-apoptogenic in Transient Focal Ischemia in Rat Brain." *Neurochemical Research* 33 (9): 1672-82.
- Salomone, S., Caraci, F., Leggio, G. M., Fedotova, J., & Drago, F. (2012). New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: focus on disease modifying drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 73(4), 504-517.
- Smart, J., 2006, Curcumin: A Powerful Brain Protection Supplement, Available from: URL:<http://accelerating.org/articles/curcumin.html>.
- Shah, Nirish, Sandeep Khurana, Kunrong Cheng, and Jean-Pierre Raufman. 2009. "Muscarinic Receptors and Ligands in Cancer." *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 296 (2): C221-C232.
- Weuve, Jennifer, Paul A Scherr, Denis A Evans, and liesi Hebert. 2013. "Alzheimer Disease in the United States (2010-2050) Estimated Using the 2010 Census." *Neurology* 80 (19): 1778-83.