

Lamanya Pemberian Ekstrak Etanol *Centella asiatica* sp. Meningkatkan Memori Spasial Tikus Pasca Stres Listrik

The Duration of Ethanolic Extract of Centella asiatica Administration Improve Spatial Memory of Rat after the Electrical Stress

Dwi Cahyani Ratna Sari¹, Reza Satria Pratama², Soedjono Aswin¹, Sri Suharmi³

¹Bagian Anatomi, Embriologi dan Antropologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

²Asisten Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

³Farmasi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

*Email:

Abstrak

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan kemampuan Pegagan (*Centella asiatica*) sebagai neurotropik dan neuroprotektif. Tujuan penelitian ini untuk mengungkapkan pengaruh durasi pemberian ekstrak etanol *C. asiatica* dalam peningkatan memori spasial tikus putih pasca stres. Pada penelitian ini, 21 tikus jantan, umur delapan minggu dibagi dalam tiga kelompok: dua kelompok perlakuan (K1 dan K2) dan satu kelompok kontrol (KN). Kelompok perlakuan menerima ekstrak etanol *C. asiatica* sebesar 150 mg/kgBB/ml secara oral selama empat (K1) dan enam (K2) minggu. Kelompok kontrol menerima aquades 1 ml selama enam minggu. Semua kelompok akan diuji memori dengan menggunakan *maze* radial delapan lengan selama 12 hari sebelum dan setelah perlakuan. Uji stres listrik selama 10 menit dilakukan sebelum perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan persentase tertinggi ketepatan pemilihan lengan dalam uji *maze* radial 2 (UMR2) untuk KN, K1 dan K2 masing-masing sebesar 23,6%, 44,8% dan 91,71%, dengan rerata persentase masing-masing sebesar 10,24%, 14,12% dan 53,33%. Uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa persentase ketepatan pemilihan lengan berbeda secara bermakna antara satu kelompok dengan kelompok lainnya. Disimpulkan bahwa *C. asiatica* mampu meningkatkan memori spasial tikus putih pasca stres dan pemberian ekstrak etanol *C. asiatica* selama enam minggu memberikan efek peningkatan memori yang lebih signifikan dibanding pemberian selama empat minggu.

Kata kunci: *Centella asiatica*, stres, memori spasial, *maze* radial

Abstract

Previous studies have shown the ability of Centella asiatica in enhancing memory by mean of its neurotrophic and neuroprotective effects. The objective of this study was to reveal the effect of C. asiatica ethanolic extract's administration duration on spatial memory in rat after electric-stress induced. Eight weeks male rats (n=21) were divided randomly into three groups, i.e. two treated groups (K1 and K2) and one control group (KN). The rats were induced by 10 minutes electrical shock and given 150 mg/kgBW oral C. asiatica ethanolic extract daily for four (K1) and six (K2) weeks. Control groups received 1 mL aquadest daily. The results showed that the performance which assessed by measuring the percentage of correct-entered arm showed the maximum percentage on the accuracy of right-entering arm in radial arm maze test 2 (UMR2) of KN, K1 and K2 are respectively 23,6%, 44,8% and 91,71%, whereas the mean of percentage are 10,24%, 14,12% and 53,33%. Mann-Whitney test showed that there was significant difference among treated groups and control group (p<0,05). It is concluded that C. asiatica was able to enhance spatial memory and the effect is more prominent in the group with longer period of administration duration of Pegagan ethanolic extract.

Key words: *Centella asiatica*, electrical shock, spatial memory, radial arm maze

PENDAHULUAN

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* sp.) merupakan tanaman herbal yang hidup di daerah beriklim tropis. *C. asiatica* hidup liar dan subur di seluruh wilayah Indonesia. Klasifikasi *C. asiatica* secara taksonomi termasuk ke dalam divisi: *Spermatophyta*, sub divisi: *Angiospermae*, kelas: *Dicotyledenae*, sub-kelas: *Polypetalae*, bangsa: *Umbellales*, suku: *Umbelliferae* (*Apiaceae*), genus: *Centella* dan spesies: *asiatica*.¹

Tanaman *C. asiatica* telah lama digunakan sebagai obat tradisional di India, Cina dan Indonesia karena memiliki banyak sekali khasiat.² Salah satu khasiat *C. asiatica* yang paling populer adalah mampu meningkatkan dan memperbaiki daya ingat. Berbagai penelitian telah membuktikan pengaruh *C. asiatica* terhadap peningkatan maupun perbaikan memori. Efek perbaikan memori oleh *C. asiatica* tersebut terjadi melalui peran faktor neuroprotektif dan neurotropik yang terkandung dalam *C. asiatica*. Kandungan senyawa aktif utama *C. asiatica* adalah *asiatic acid*, *madecassid acid*, *asiaticoside* dan *madecassoside* yang merupakan saponin triterpenoid. Kandungan saponin triterpenoid yang lain dalam *C. asiatica* antara lain *oxyasiaticoside*, *centelloside*, *brahmoside*, *brahminoside*, *thankunoside* dan *isothankunoside*.³

Telah banyak literatur yang menguraikan mengenai gangguan memori yang terjadi setelah paparan stres yang berkepanjangan, misalnya pada kasus *post traumatic stres disorder*.⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Lupien *et al.* (1997),⁵ menunjukkan bahwa terjadi penurunan performa memori deklaratif pada kelompok subjek (lansia) yang sebelumnya telah diberikan tugas tertentu yang menginduksi stres (contoh: berbicara di hadapan

publik, dll), sedangkan sebaliknya tidak terjadi penurunan memori deklaratif pada kelompok subyek lain yang diberi tugas yang tidak menginduksi stres. Hipotesis yang paling dapat menjelaskan hubungan antara stres dan memori tersebut adalah bahwa stres berkepanjangan dapat menimbulkan kerusakan neuron otak khususnya pada bagian formasio hippocampi melalui fenomena *intracellular oxidative stres*.⁶ Fenomena tersebut mampu menyebabkan gangguan memori seiring dengan kerusakan struktural yang ditimbulkannya pada formasio hippocampi, seperti: atrofi dendrit, rusaknya sinaptik antarneuron, hilangnya neuron piramidal serta berkurangnya eksitabilitas neuron pada regio CA1 hippocampus yang tergantung kalsium.⁷ Fenomena ini diduga kuat difasilitasi oleh hormon glukokortikoid yang meningkat pada keadaan stres berkepanjangan.⁸ Hal ini sangat penting karena formasio hippocampi memegang peranan yang amat krusial dalam proses pembentukan memori baru,⁹ termasuk didalamnya proses *encoding* informasi spasial pada bagian girus dentatus dan proses *retrieval* pada bagian CA1.¹⁰ Fakta lain menyebutkan bahwa stres akut memfasilitasi terjadinya *long-term depression* (LTD) pada regio CA1 hippocampus tikus dewasa sehingga dapat menyebabkan gangguan dalam *spatial memory retrieval*.¹¹

Induksi stres pada tikus dalam penelitian ini menggunakan uji stres listrik dengan menggunakan alat yang disebut stresor listrik. Selain mampu mempengaruhi memori spasial melalui fenomena stres oksidatif intraseluler pada hippocampus, penelitian lain membuktikan bahwa uji stres listrik ini juga mampu menstimulasi percepatan pelepasan 3,4-dihydroxy phenylacetic (DOPAC) secara signifikan baik pada frontal cortex (sebesar 80%)

maupun di *nucleus accumbens* (sebesar 35%).¹² DOPAC merupakan metabolit primer dari dopamin (DA) yang konsentrasinya secara paralel mampu merefleksikan kuantitas DA yang disintesis.¹³ Aktivitas DA yang berlebih dapat mengganggu fungsi memori kerja spasial oleh korteks mesofrontal pada tikus.¹⁴

Pembuktian anggapan bahwa tanaman *C. asiatica* mampu memperbaiki memori setelah induksi stres, dalam penelitian ini diselidiki kinerja tikus yang dinilai dari proporsi ketepatan masuk lengan dan makan dalam uji *maze* radial setelah perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol *C. asiatica* dan induksi stres listrik.

Tujuan penelitian ini untuk mengungkapkan pengaruh durasi pemberian ekstrak etanol *C. asiatica* dalam peningkatan memori spasial tikus putih pasca stres.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* jantan sebanyak 21 ekor galur Wistar, umur delapan minggu dan berat badan 150-200 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Semua hewan coba dipelihara dalam enam kandang plastik yang ditutup kawat masing-masing berisi tiga sampai empat ekor tikus. Pakan tikus berupa pellet dan air minum diberikan setiap hari secara *ad libitum*.

Penelitian dilakukan di laboratorium Anatomi, Embriologi, dan Antropologi Fakultas Kedokteran UGM. Bahan penelitian adalah tanaman *C. asiatica* yang diperoleh dari Perkebunan Tanaman Obat Sari Jatra, Kalibawang, Kulonprogo. Tanaman *C. asiatica* dideterminasi terlebih dahulu di Laborato-

rium Galenika, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, untuk memastikan bahwa tanaman tersebut adalah *C. asiatica*.

Pembuatan ekstrak etanol *C. asiatica* dalam penelitian ini menggunakan kaidah maserasi yang tertulis dalam buku Farmakope Indonesia.¹⁵ *C. asiatica* disortir dan dibersihkan dengan cara dicuci, kemudian digunakan almari pengering dengan suhu 50°C untuk mengeringkan *C. asiatica*. *C. asiatica* yang telah kering digiling menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk. Serbuk *C. asiatica* kemudian diayak dengan derajat kehalusan tertentu.

Serbuk yang telah diayak tersebut dimaserasi dalam larutan etanol 96% selama satu hari. Setelah dimaserasi, filtrat dipisahkan dari residu dengan cara filtrasi. Untuk mendapatkan ekstrak, filtrat dibiarkan hingga etanol yang tersisa menguap seluruhnya. Ekstrak yang didapat kemudian diencerkan agar dapat diberikan secara per oral. Dalam penelitian ini, 25 gram serbuk *C. asiatica* akan menghasilkan 1,21 gram ekstrak ethanol kental (0,0484 % dari serbuk kering)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Soumyanath *et al.* (2005),¹⁶ disebutkan bahwa 300-330 mg ekstrak etanol/kgBB/hari efektif dalam proses regenerasi sel saraf otak. Berdasarkan dosis tersebut, penelitian ini menggunakan dosis 150 mg/kgBB/hari per oral selama empat minggu (28 hari) pada K1 dan enam minggu (42 hari) pada K2.

Pemberian ekstrak etanol *C. asiatica* diberikan dengan menggunakan sonde lambung sesuai dosis yang telah ditentukan sebelumnya dilarutkan dalam propilen glikol 10%/tikus. Dalam penelitian ini terdapat variasi waktu pemberian ekstrak etanol *Centella asiatica*, yaitu selama 28 hari (empat ming-

gu) dan 42 hari (enam minggu) untuk melihat apakah peningkatan waktu pemberian berkorelasi positif terhadap pengembalian memori pasca stres.

Sebelum perlakuan uji stres listrik dan pemberian ekstrak etanol *Centella asiatica*, dilakukan uji radial-*arm maze* pendahuluan selama 12 hari didahului dengan latihan uji *maze* 3 hari. Uji *maze* radial ini memiliki tujuan untuk mengetahui memori dasar tikus dan untuk mengetahui homogenitas memori tikus. Uji *maze* pertama selama 12 hari ini selanjutnya disebut UMR1

Setelah menjalani UMR1, subjek diberi stres listrik selama 10 menit/hari untuk menimbulkan efek depresi. Selama uji stres listrik, dilakukan pencatatan jumlah lintasan yang dilewati tikus, jumlah feses dan urin yang dikeluarkan tikus. Kemudian, subjek diberi ekstrak etanol *C. asiatica* dengan cara sonde lambung atau intubasi gastrik dengan dosis 150gr/kgBB sebanyak 1ml/tikus/hari.

Tahap selanjutnya adalah *post-test* selama 12 hari berturut-turut dengan radial-*arm maze*, selanjutnya disebut UMR2. Sebelum uji *maze* dilakukan, tikus dilaparkan dengan cara dipuaskan selama 12 jam. Kemudian tikus diletakkan di dalam tabung yang tersedia di tengah *maze*, tabung tersebut ditutup dengan silinder penutup untuk adaptasi tikus sebelum akhirnya dibuka 10 detik kemudian. Tikus dibiarkan bergerak ke segala arah untuk memakan imbalan dalam bentuk pelet yang diletakkan dalam wadah di tiap ujung lengan *maze* radial. Uji *maze* diakhiri 10 menit kemudian. Hasil uji *maze* selama 12 hari ini dicatat.

Hewan coba dikelompokkan menjadi 3 kelompok secara acak, yaitu 1 kelompok control (KN) dan 2 kelompok perlakuan (K1 dan K2). Dalam kelompok perlakuan, semua tikus diberi ekstrak eta-

nol *C. asiatica* dengan dosis 150 mg/kg BB selama empat minggu (K1) dan enam minggu (K2). Pada kelompok kontrol (KN), tikus diberi akuades 1 ml/hari.

Nilai kinerja tikus diperoleh dari perbandingan jumlah imbalan yang dimakan dengan jumlah total lengan yang dimasuki pada uji *maze* radial. Tikus dianggap masuk lengan apabila tikus melewati lebih dari setengah panjang lengan *maze* radial. Hasil pengamatan dalam 12 hari dicatat.

Analisis data hasil penelitian ini menggunakan uji Kruskal-Wallis untuk menguji adanya perbedaan yang signifikan di antara tiga kelompok tikus. Kemudian analisis dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat kemaknaan perbedaan antar dua kelompok.

HASIL

Kinerja tikus semua kelompok penelitian selama 12 hari. Ketepatan pemilihan lengan masuk dan makan tersebut dihitung apabila tikus memasuki salah satu lengan dan memakan imbalan yang disediakan di ujung lengan. Terdapat satu buah imbalan di setiap lengan, dengan demikian, seluruhnya terdapat delapan buah imbalan dalam *maze*

Tabel 1. Kinerja kelompok penelitian (%) ketepatan pemilihan lengan masuk dan makan pada 12 hari pengamatan pada UMR1

Hari ke	Kelompok		
	KN(%)	K1(%)	K2(%)
1	12,00	26,71	0,00
2	0,00	3,57	0,00
3	0,00	0,00	65,00
4	0,00	04,71	42,14
5	2,00	14,29	52,75
6	0,00	0,00	35,25
7	0,00	0,00	50,88
8	16,86	0,00	38,5
9	0,00	0,00	42,25
10	36,00	21,43	51,25
11	27,14	49,29	40,13
12	17,71	59,00	26,5
Rerata	9,31	14,97	37,05

KN = Kontrol; K1= ekstrak *C. asiatica* 4 minggu; K2 = ekstrak *C. asiatica* 6 minggu;

Tabel 2. Kinerja kelompok penelitian (%) ketepatan pemilihan lengan masuk dan makan pada 12 hari pengamatan pada UMR2

Hari ke	Kelompok		
	KN(%)	K1(%)	K2(%)
1	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	59,43
3	0,00	40,4	28,57
4	17,9	13,8	48,71
5	0,00	0,00	56,86
6	23,6	0,00	57,14
7	21,4	7,2	64,29
8	60	13,2	57,14
9	9,43	20	52,86
10	0,00	44,8	63,86
11	0,00	15,2	59,43
12	0,00	14,8	91,71
Rerata	11,03	14,12	53,33

KN = Kontrol; K1= ekstrak *C. asiatica* 4 minggu; K2 = ekstrak *C. asiatica* 6 minggu;

radial delapan lengan. Nilai 100% diberikan apabila tikus mampu menyelesaikan delapan imbalan dalam delapan lintasan lengan, sedangkan nilai 0% diberikan bila tikus tidak dapat menyelesaikan satupun imbalan dalam waktu 10 menit yang diberikan. Sehingga, nilai kinerja tikus dalam *maze* radial secara kuantitatif berkisar antara 0-100% yang merupakan perbandingan jumlah imbalan yang dimakan dengan jumlah total lengan yang dimasuki.

Hasil kinerja ketiga kelompok tikus (KN, K1 dan K2) pada UMR 1 dan 2 masing-masing dapat dilihat pada Tabel 1. dan Tabel 2. Selanjutnya, akan ditampilkan hasil uji *Kruskall Wallis* pada UMR2 serta uji *Mann-Whitney* antarkelompok pada UMR2 dan perincian hasil uji *Mann-Whitney* antarkelompok per hari selama UMR2. Uji *Kruskall Wallis* pada UMR2 dilakukan untuk mengetahui perbedaan diantara ketiga kelompok tersebut pada UMR2. Uji *Mann-Whitney* pada UMR2 dilakukan untuk mengetahui perbedaan memori spasial tikus antara kelompok perlakuan (K1 dan K2) dan kelompok kontrol (KN). Hasil kinerja tikus yang diperoleh pada UMR2 akan ditampilkan dalam bentuk grafik. Selain

itu, akan ditampilkan juga grafik perbandingan hasil antar UMR1 dan UMR2.

Pada Tabel 2. terlihat bahwa K2 memiliki nilai rerata persentase kinerja tikus sebesar 53,33% dan nilai persentase kinerja tikus harian maksimum sebesar 91,71% yaitu pada hari ke-12, nilai tersebut merupakan nilai rerata dan nilai harian paling tinggi di antara semua kelompok. K2 memiliki nilai harian terendah 0% yaitu pada hari pertama. KN memiliki nilai rerata sebesar 11,03%, nilai ini merupakan nilai rerata terendah diantara semua kelompok, bahkan KN memiliki nilai harian terendah 0% sebanyak tujuh kali yaitu pada hari ke-1,2,3,5,10,11 dan 12. KN memiliki nilai harian tertinggi sebesar 60% pada hari ke-8. K1 memiliki nilai rerata sebesar 14,12% dengan nilai harian tertinggi sebesar 44,8% yaitu pada hari ke-10 dan nilai harian 0% pada hari 1,2,5 dan 6.

Pada penelitian ini, tidak ada kelompok yang menunjukkan pola perkembangan kinerja (proporsi masuk lengan dan makan) yang teratur. Artinya, tidak ada kenaikan nilai kinerja yang tetap tiap harinya.

Uji *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa persebaran atau distribusi data nilai kinerja tikus pada UMR2 dalam penelitian ini adalah tidak normal. Hal ini ditunjukkan oleh nilai signifikansi atau probabilitas pada uji *Kolmogorov Smirnov* adalah $p = 0,000$ ($p < 0,05$) untuk KN, K1 dan K2. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* juga menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti distribusi data tidak normal. Hasil uji homogenitas varians (*Lavene test*) menunjukkan nilai $p=0,000$ ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil ketiga uji tersebut dapat disimpulkan bahwa uji hipotesis inferensi tidak dapat menggunakan uji parametrik, melainkan harus

Tabel 3. Hasil Uji Mann-Whitney antar Kelompok

Kelompok Tikus	Nilai Uji Mann-Whitney
KN-K1	0,006*
KN-K2	0,000*
K1-K2	0,000*

*bermakna ($p < 0,05$)

menggunakan analisis statistik nonparametrik, dalam hal ini uji *Kruskal-Wallis* dan analisis *post hoc Mann-Whitney*. Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui perbedaan hasil UMR2 pada semua kelompok.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok KN, K1, K2 dan UMR 2 ($p=0,000$). Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan nilai kinerja tiap kelompok. hasil uji tersaji pada Tabel 3.

Pada Tabel 3. terlihat bahwa kinerja pasangan kelompok tikus KN-K1, KN-K2 dan K1-K2 berbeda secara bermakna. Hal ini ditunjukkan dengan nilai signifikansi yang diperoleh secara berturut-turut adalah 0,006; 0,000 dan 0,000 ($p < 0,05$). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok secara terperinci, dilakukan uji *Mann-Whitney* antarkelompok per hari sebagaimana terlihat pada Tabel 4.

Pada Tabel 4. terlihat bahwa pasangan kelompok yang berbeda secara bermakna adalah pasangan kelompok KN-K1 pada hari ke-3, 10, 11 dan 12. Pasangan kelompok KN-K2 berbeda secara bermakna pada hari ke-2, 5, 7, 10 dan 12. Pasangan K1-K2 berbeda secara bermakna pada hari ke-2, 5, 6, 7, 8, 9, 11 dan 12.

Setelah diketahui perbandingan antar kelompok dalam ketepatan pemilihan lengan pada UMR2, selanjutnya akan diketahui adanya perubahan memori dasar tikus setelah diberi perlakuan dengan

Tabel 4. Hasil Uji Mann-Whitney antar Kelompok per Hari selama 12 Hari

Hari	Hasil Uji Mann-Whitney		
	KN-K1	KN-K2	K1-K2
1	1,000	1,000	1,000
2	1,000	0,001*	0,003*
3	0,003*	0,209	0,455
4	1,000	0,082	0,098
5	1,000	0,003*	0,009*
6	0,110	0,138	0,022*
7	0,526	0,046*	0,019*
8	0,144	0,839	0,018*
9	0,413	0,003*	0,027*
10	0,007*	0,001*	0,270
11	0,002*	0,001*	0,004*
12	0,025*	0,001*	0,003*

*bermakna ($p < 0,05$)

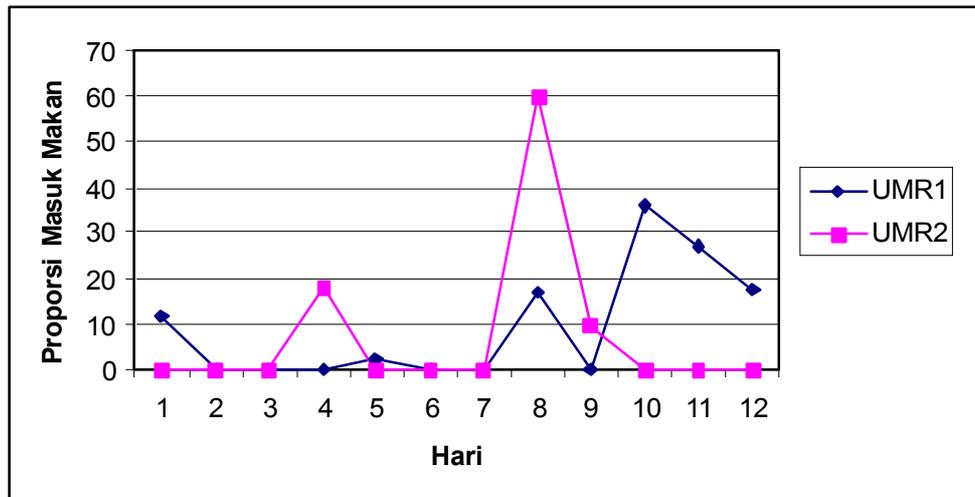
menilai kinerja tikus pada UMR1 kemudian membandingkannya dengan kinerja tikus pada UMR2.

Perbandingan kinerja antara UMR 1 dan UMR 2

Grafik kinerja KN dalam pemilihan ketepatan lengan pada UMR1 dan UMR2 dapat dilihat pada Gambar 1. Dari grafik tersebut diketahui nilai tertinggi yang diperoleh KN pada UMR1 adalah 36% pada hari ke-10, sedangkan nilai tertinggi yang dicapai pada UMR2 adalah 60% pada hari ke-8. Rerata persentase ketepatan pemilihan lengan KN pada UMR 2 lebih besar dari UMR1, yakni 10,24% dan 9,31%. Gambar 3. di bawah ini akan memperlihatkan perbandingan memori KN pada UMR1 dan UMR2.

Pada K1 didapatkan nilai tertinggi UMR1 sebesar 59% pada hari ke-12, sedangkan pada UMR2 didapatkan nilai tertinggi sebesar 44% pada hari ke-10. Rerata proporsi K1 pada UMR1 justru lebih besar dibanding rerata pada UMR2 yaitu 14,67% dan 13,83%. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.

Grafik kinerja K2 dalam pemilihan ketepatan lengan pada UMR1 dan UMR2 dapat dilihat pada Gambar 3. Nilai tertinggi yang diperoleh K2 pada UMR1 adalah 65% pada hari ke-3. Sedangkan nilai

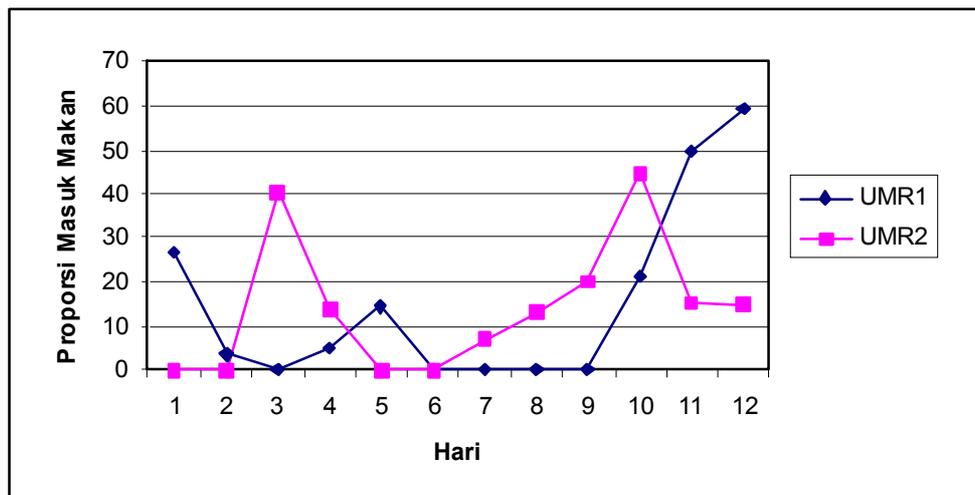


Gambar 1. Grafik Kinerja KN dalam Ketepatan Pemilihan Lengan pada UMR1 dan UMR2

tertinggi yang dicapai pada UMR2 adalah 91,71% pada hari ke-12. Rerata persentase ketepatan pemilihan lengan KN pada UMR 2 lebih besar dari UMR1 yakni 53,33% dan 37,05%. Gambar 3. di bawah ini akan memperlihatkan perbandingan memori K2 pada UMR1 dan UMR2.

Untuk mengetahui perbedaan peningkatan kinerja tikus pada UMR2 dibandingkan UMR1 dilakukan uji peringkat bertanda *Wilcoxon* pada KN, K1 dan K2. Hasil uji menunjukkan bahwa bahwa pada KN, K1 dan K2 terdapat peningkatan memori sete-

lah pemberian perlakuan. Namun, peningkatan memori spasial tiap kelompok tidaklah sama. K2 mengalami peningkatan yang paling bermakna dibandingkan K1 dan KN. Hal ini terlihat dari nilai statistik hitung K2 yang lebih besar dibandingkan KN dan K1, yaitu secara berurutan: -5,678; -0,330; -0,304. Nilai signifikansi 0,00 menunjukkan K2 mengalami peningkatan memori secara signifikan setelah perlakuan, dan nilai signifikansi KN (0,371) serta K1 (0,380) tidak menunjukkan adanya peningkatan yang bermakna.



Gambar 2. Grafik Kinerja K1 dalam Ketepatan Pemilihan Lengan pada UMR1 dan UMR2

DISKUSI

Pada Gambar 1 terlihat semua grafik kinerja kelompok tikus mengalami fluktuasi, bahkan dari ketiga kelompok tikus yang terlibat dalam penelitian, hanya K2 saja yang menunjukkan kecenderungan peningkatan kinerja yang nyata. Walaupun disertai fluktuasi pada hari sebelumnya, grafik K2 mengalami kecenderungan meningkat, peningkatan ini merupakan yang paling baik dari semua kelompok, hal ini didukung oleh hasil uji *Mann-Whitney* yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara KN dan K2, serta antara K1 dan K2. Selain itu, kelompok 2 berhasil mencapai nilai tertinggi dari semua kelompok. Peningkatan *learning* dan memori pada K2 juga tampak pada peningkatan performa K2 pada UMR2 dibandingkan pada UMR1. Peningkatan memori yang berdampak pada membaiknya kinerja K2 mungkin dicapai karena terjadi peningkatan kekuatan sinaptik antar neuron pada hippocampus tikus karena adanya plastisitas neuron terutama pada bagian girus dentatus dan CA1 hippocampus yang berperan dalam informasi spasial.¹⁰

K1 mencapai nilai tertingginya pada hari ke-10 dan menurun pada hari ke-11 dan ke-12. Meskipun terjadi penurunan yang cukup drastis, grafik K1 menunjukkan peningkatan yang gradual dimulai pada hari ke-5 sampai hari ke-10 tanpa disertai fluktuasi yang nyata. Hal ini mungkin terjadi karena *working memory* hanya bertanggungjawab terhadap informasi pada satu kali *trial* uji *maze* saja, misalkan informasi tentang lengan mana saja yang telah dimasuki sebelumnya. Memori ini akan segera terhapus menjelang uji *maze* berikutnya. Sehingga tikus harus mencoba memasuki *maze* dan membentuk *working memory* yang baru lagi, dan

dimungkinkan membuat kesalahan-kesalahan baru lagi. *Working memory* ini menurut Crusio & Scwegler (2005),¹⁷ sangat berkaitan erat dengan memori spasial. Selain itu, terdapat pula *reference memory* yang berperan dalam keseluruhan uji *maze radial*,¹⁷ misalnya informasi bahwa terdapat makanan pada ujung lengan tikus. Memori ini akan selalu terpakai dalam setiap uji *maze*. Dimungkinkan selama 24 jam jeda antar uji *maze*, *reference memory* pada tikus telah hilang pula, sehingga tikus harus membentuk memori tersebut lagi dari awal.

Pada KN, nilai tertinggi dicapai pada hari ke-8 dan menurun drastis pada hari-hari terakhir, bahkan mencapai titik terendah, yaitu 0% pada tiga hari terakhir. Gambar 1 menunjukkan bahwa kenaikan performa KN tampak pada hari ke-4 sampai ke-8 saja. Kinerja KN pada UMR2 merupakan yang terburuk dari semua kelompok. Hasil ini menunjukkan adanya kemampuan *working* dan *reference memory* tikus yang buruk serta rendahnya kemampuan pembelajaran tikus. Hal ini terjadi karena efek degradasi memori yang diakibatkan oleh stres listrik.

Uraian di atas mampu menunjukkan adanya efek perbaikan memori oleh *C. asiatica*. Hal ini sejalan dengan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Soumyanath (2005),¹⁸ menunjukkan bahwa ekstrak etanol *C. asiatica* terbukti mampu mempercepat regenerasi saraf yang rusak dan meningkatkan pertumbuhan neurit dengan mekanisme regenerasi axonal dan perpanjangan neurit. *C. asiatica* juga mampu meningkatkan arborisasi dendritik pada neuron CA3 hippocampus tikus dalam masa *growth spurt* (neonatal) dengan pem-

berian jus *C. asiatica*. Arborisasi dendritik tersebut berhubungan dengan peningkatan kemampuan *learning and memory* tikus.¹⁹ Arborisasi ini tampak pada peningkatan densitas percabangan dendrit dan kompleksitas dendrit. Pemberian jus segar *C. asiatica* juga mampu meningkatkan arborisasi dendrit di amygdala pada tikus neonatus, selain itu *C. asiatica* juga memberikan efek ansiolitik pada tikus²⁰ dan manumur.²¹ Pemberian *C. asiatica* juga mampu meningkatkan biosintesis neurotransmitter yang terlibat dalam proses *learning and memory*, seperti: asetilkolin, noradrenalin, serotonin dan dopamin.²² Nalini *et al* (1992),²³ telah melaporkan efek perbaikan memori ekstrak air *C. asiatica* pada tikus dewasa.

Efek neurotropik yang dimiliki *C. asiatica* ini disebabkan oleh metabolit yang dikandungnya. Metabolit yang ditemukan dalam *C. asiatica* dan dipercaya memiliki efek neurotropik dan neuroprotektif adalah Asiatikosida (AS) dan senyawa-senyawa turunannya, seperti: Asam Asietat (AA), Asiatikosida 6 (AS6) dan SM2. Soumyanath (2005),¹⁸ mengungkapkan bahwa AA, sebuah senyawa triterpenoid yang ditemukan dalam ekstrak etanol *C. asiatica*, menunjukkan aktifitas yang menonjol dalam penelitiannya pada dosis 1 mcg/mL, AA juga terbukti mampu menstimulus perpanjangan neurit.

C. asiatica juga memiliki pengaruh protektif terhadap kematian sel-sel saraf (neuroprotektif). Mook-Jung (1999),²⁴ mengobservasi efek protektif turunan-turunan asiatikosida terhadap kematian sel saraf yang diinduksi beta-amyloid (A β). Dari 28 turunan asiatikosida yang diobservasi, AA, AS6 dan SM2 menunjukkan efek neuroprotektif yang paling kuat. Protein beta-amyloid (A β) merupakan kom-

ponen utama plak ekstraselular pada otak yang terjadi pada penderita Alzheimer.

Asam Asietat, Asiatikosida6 dan SM2 juga mampu menurunkan angka kematian sel saraf akibat H₂O₂ dan mengurangi jumlah konsentrasi radikal bebas intraseluler, di antara ketiganya, asam asietat (AA) menunjukkan efek yang paling kuat, sedangkan SM2 mampu mengurangi jumlah apoptosis yang diinduksi statusporine.²⁴ Kumar *et al.* (2002),²⁵ melaporkan bahwa ekstrak air *C. asiatica* mampu menurunkan secara signifikan konsentrasi malonaldehid (MDA) pada otak disertai dengan peningkatan signifikan konsentrasi antioksidan glutathion tereduksi secara simultan.

Selain itu, dalam penelitian ini, peningkatan memori yang semakin tampak pada kelompok dengan durasi pemberian ekstrak etanol *C. asiatica* yang lebih panjang, yaitu selama enam minggu. Hasil yang serupa juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Rao *et al.* (2007),²⁶ dalam penelitian ini dilaporkan bahwa arborisasi dendrit lebih tampak pada kelompok yang menerima jus *C. asiatica* dengan dosis 6 ml/kgBB selama enam minggu dibandingkan pada kelompok yang menerima selama empat minggu. Selain itu, peningkatan kemampuan *learning and memory* yang ditunjukkan dengan T-maze dan *passive avoidance test* pada kelompok yang menerima jus *C. asiatica* selama enam minggu lebih memuaskan dibanding kelompok dengan durasi pemberian selama empat minggu dengan dosis yang sama.²²

Pemberian fraksi triterpenoid total dengan dosis yang kronik terbukti mampu meningkatkan konsentrasi puncak dalam plasma, memperpanjang waktu paruhnya serta meningkatkan *area under the*

curve (AUC) 0-24 jam dari senyawa tersebut pada manumur.²⁷ Dengan demikian, diduga bahwa semakin panjang durasi pemberian ekstrak etanol *C. asiatica*, efek terapeutik yang dimunculkan oleh senyawa aktif yang dikandung dalam *C. asiatica* tersebut, dalam hal ini senyawa triterpenoid saponin asiaticosida, pun akan semakin nyata.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak ethanol Pegagan (*Centella asiatica* sp.) dengan dosis 150 mg/kgBB mampu memperbaiki memori spasial tikus pascastres yang dinilai dengan menggunakan ketepatan pemilihan lengan *maze* radial delapan lengan. Selain itu, pemberian ekstrak ethanol *C. asiatica* selama enam minggu memberikan efek peningkatan memori yang lebih signifikan dibanding pemberian selama empat minggu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Syamsuhidayat, Sri S, Hutapea, Johny R. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 1991.
2. Ramasamy I.. AgriInfoTech, Inc. 166 Lawrence Road, salem NH-USA 03079 Ph:603-894-7346, 603-781-9097. 2005. Available at www.agriinfotech.com
3. Anon. *Centella asiatica*. Bangalore, India : Natural Remedies Pvt.Ltd. 1997.
4. Mas'ud I. *Stres Fungsional dapat Menjadi Salah Satu Pemicu Hilangnya Memori?*. Thesis. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang. 2003
5. Lupien SJ, Gaudreau S, Tchiteya BM, Maheu F, Sharma S, Nair NPV, et al. Stress-Induced Declarative Memory Impairment in Healthy Elderly Subjects: Relationship to Cortisol Reactivity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997; 82 (7): 2070-2075.
6. Simonian NA, Coyle JT. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Ann. Review. Pharmacol. Toxicol.* 1996; 36: 83-106
7. McEwen BS, Sapolsky RM. Stress and Cognitive Function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1995; 5 (2): 205-16.
8. Kerr DS, Campbell LW, Thibault O, Landfield PW. Hippocampal Glucocorticoid Receptor Activation Enhances Voltage-Dependent Ca²⁺ Conductances: Relevance to Brain Aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992; 89 (18): 8527-31.
9. Scoville WB, Milner B. Loss of Recent Memory after Bilateral Hippocampal Lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 1957;20 (1):11-21.
10. Poirier, GL, Amin E, John P. Qualitatively Different Hippocampal Subfield Engagement Emerges with Mastery of a Spatial Memory Task by Rats. *J Neurosci*, 2008; 28 (5): 1034-1045.
11. Wong PT. Hippocampal Long-Term Depression Mediates Acute Stress-Induced Spatial Memory Retrieval Impairment. *PNAS* 2007; 104 (27): 11471-11476.
12. Fadda F, Melis MR, Argiolas A.. Effect of Electric Foot Shock on Dopamine and 3,4-Dihydroxyphenylacetic Acid (DOPAC) in Different Brain Areas of Rats. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 1978; 54 (18): 1747-50.
13. Tissari AH, Argiolas A, Fadda F, Serra G, Gessa GL. Foot-Shock Stress Accelerates Non-Striatal Dopamine Synthesis without Activating Ty-

- rosine Hydroxylase. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1979; 308 (2): 155-157.
14. Pani L, Porcella A, Gessa GL. The Role of Stress in the Pathophysiology of the Dopaminergic System. *Mol Psychiatry*, 2000; 5 (1): 14-21.
 15. Anonim. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979.
 16. Soumyanath A, Zhong YP, Gold SA, Yu X, Koop DR, Bourdette D, et al. Centella asiatica Accelerates Nerve Regeneration Upon Oral Administration and Contains Multiple Active Fractions Increasing Neurite Elongation in-Vitro. *J Pharm Pharmacol*, 2005; 57 (9): 1221-29.
 17. Rao KGM, Rao SM, Rao SG. Centella asiatica (L.) Leaf Extract Treatment During the Growth Spurt Period Enhances Hippocampal CA3 Neuronal Dendritic Arborization in Rats. *eCAM*, 2006; 3 (3): 349-357.
 18. Rao KGM, Rao SM, Rao SG. Enhancement of Amygdaloid Neuronal Dendritik Arborization by Fresh Leaf Juice of Centella asiatica (Linn) during Growth Spurt Period in Rats. *eCAM* 2007:1-8.
 19. Bradwejn J, Zhou Y, Koszycki D, Shlik J. A Double-Blind, Placebo-Controlled Study on the Effects of Gotu Kola (Centella asiatica) on Acoustic Startle Response in Healthy Subject. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2000; 20 (6): 680-4.
 20. Rao KGM, Rao SM, Rao SG. Centella asiatica (linn) Induced Behavioral Changes During Growth Spurt Period in Neonatal Rats. *Neuroanatomy*, 2005: 4: 18-23.
 21. Nalini K, Aroor AR, Karanth KS, Rao A. Effect of Centella asiatica Fresh Leaf Aqueous Extract on Learning and Memory and Biogenic Amine Turnover in Albino Rats. *Fitoterapia* 1992; 63: 232-8.
 22. Mook-Jung I, Shin JE, Yun SH, Huh K, Koh JY, Park HK, et al. Protective Effects of Asiaticoside Derivates Against Beta-Amyloid Neurotoxicity. *J. Neurosci. Res.* 1999; 59 (3): 417-25.
 23. Kumar MHV, Gupta YK. Effect of Different Extracts of Centella asiatica on Cognition and Markers of Oxidative Stress in Rats. *J Ethnopharmacol* 2002; 79 (2): 253-260.
 24. Berman AF. *The 5-minute Herb and Dietary Supplement Consult.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2003.