*Mutiara Medika*
*Vol. 11 No. 2: 67-78, Mei 2011*

# Pengaruh Durasi Pemberian Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica sp.*) terhadap Memori Spasial Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pascastres Listrik

## *The Effect of Centella Asiatica Ethanolic Extract's Administration Duration on Spatial Memory in Rat (Rattus norvegicus) after Electric-Stress Induced*

**Dwi Cahyani Ratna Sari[1], Reza Satria Pratama[2], Soedjono Aswin[1], Sri Suharmi[3]**
[1]Bagian Anatomi, Embriologi dan Antropologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
[2]Asisten Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
[3]Farmasi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
*Email:* ratnasaride@yahoo.co.id

**Abstrak**

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan kemampuan pegagan sebagai neurotropik dan neuroprotektif. Tujuan penelitian ini untuk mengungkapkan pengaruh durasi pemberian ekstrak etanol pegagan dalam peningkatan memori spasial tikus putih pascastres. Pada penelitian ini, 21 tikus jantan, usia delapan minggu dibagi dalam tiga kelompok: dua kelompok perlakuan (K1 dan K2) dan satu kelompok kontrol (KN). Kelompok perlakuan menerima ekstrak ethanol pegagan sebesar 150 mg/kgBB/ml secara oral selama empat(K1) dan enam(K2) minggu. Kelompok kontrol akan 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. Kesimpulannya adalah pegagan mampu meningkatkan memori spasial tikus putih pascastres dan pemberian ekstrak etanol pegagan 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 Centella asiatica ethanolic extract's administration duration on spatial memory in rat after electric-stress induced. Eight weeks male rats (n=21) were devided 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 Centella 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 Centella 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. Pegagan hidup liar dan subur di seluruh wilayah Indonesia. Klasifikasi Pegagan 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 pegagan telah lama digunakan sebagai obat tradisional di India, Cina dan Indonesia karena memiliki banyak sekali khasiat.[2] Salah satu khasiat pegagan yang paling populer adalah mampu meningkatkan dan memperbaiki daya ingat. Berbagai penelitian telah membuktikan pengaruh pegagan terhadap peningkatan maupun perbaikan memori. Efek perbaikan memori oleh pegagan tersebut terjadi melalui peran faktor neuroprotektif dan neurotropik yang terkandung dalam pegagan. Kandungan senyawa aktif utama pegagan adalah asiatic acid, madecassid acid, asiaticoside dan madecassoside yang merupakan saponin triterpenoid. Kandungan saponin triterpenoid yang lain dalam pegagan 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.*[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 subjek 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]

Untuk menginduksi stres pada tikus dalam penelitian ini, digunakan uji stres listrik dengan mengunakan 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 pararel mampu merefleksikan kuantitas DA yang disintesis.[13] Aktivitas DA yang berlebih dapat mengganggu fungsi memori kerja spasial oleh korteks mesofrontal pada tikus.[14]

Untuk membuktikan anggapan bahwa tanaman pegagan 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 pegagan dan induksi stres listrik.

## BAHAN DAN CARA

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 21 ekor galur Wistar, umur delapan minggu dan berat badan berkisar antara 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, tahun 2007. Bahan penelitian adalah tanaman pegagan Pegagan diperoleh dari Perkebunan Tanaman Obat Sari Jatra, Kalibawang, Kulonprogo. Kemudian tanaman pegagan dideterminasi terlebih dahulu di Laboratorium Galenika, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, untuk memastikan bahwa tanaman tersebut adalah pegagan (*Centella asiatica sp.*).

Pembuatan ekstrak etanol pegagan dalam penelitian ini menggunakan kaidah maserasi yang tertulis dalam buku Farmakope Indonesia.[15] Pertama-tama, pegagan disortir dan dibersihkan dengan cara dicuci. Kemudian digunakan almari pengering dengan suhu 50°C untuk mengeringkan pegagan. Pegagan yang telah kering digiling di mesin penggiling hingga menjadi serbuk. Serbuk pegagan 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 pegagan 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 pegagan diberikan dengan menggunakan sonde lambung sesuai dosis yang telah ditentukan sebelumya dilarutkan dalam propilen glikol 10%/tikus. Dalam penelitian ini terdapat variasi waktu pemberian ekstrak etanol pegagan, yaitu selama 28 hari (empat minggu) 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 pegagan, 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 homogenesitas 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 pegagan 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 dipuasakan 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 etanol pegagan dengan dosis 150 mg/kg BB selama empat minggu (K1) dan enam minggu (K2). Pada kelompok kontrol (KN), tikus diberi akuades.

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 mengunakan 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

Ketepatan pemilihan lengan masuk dan makan tersebut dihitung apabila tikus memasuki salah satu lengan dan memakan imbalan yang telah tersedia di ujung lengan. Terdapat satu buah imbalan di setiap lengan, dengan demikian, seluruhnya terdapat delapan buah imbalanan dalam *maze* radial delapan lengan. Nilai 100% (seratus persen) diberikan apabila tikus mampu menyelesaikan delapan imbalan dalam delapan lintasan lengan, sedangkan nilai 0% (nol persen) 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.

**Tabel 1. Kinerja tiap-tiap kelompok (%) 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 |

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

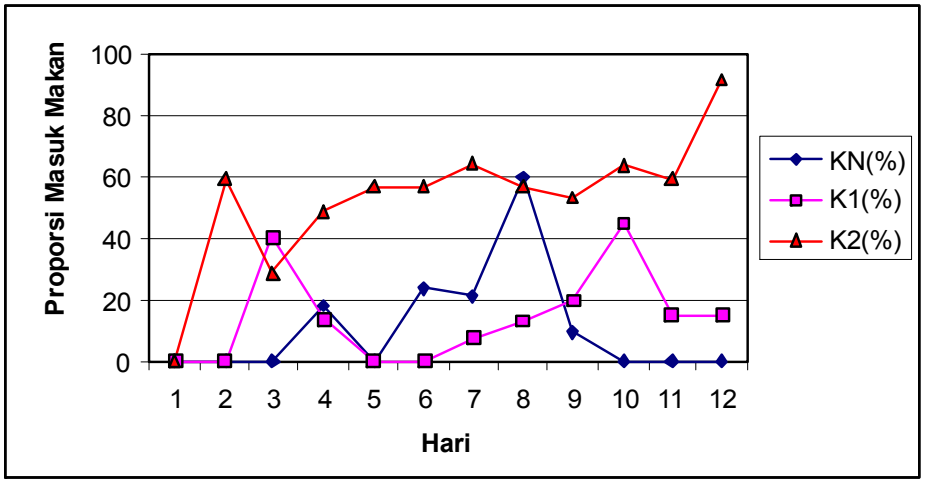
| Hari ke | Kelompok | | |
|---|---|---|---|
| | KN(%) | K1(%) | K2(%) |
| 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 0,00 | 0,00 | 59,43 |
| 3 | 0,00 | 40,4 | 28,57 |
| 4 | 17,9 | 13,8 | 48,71 |
| 5 | 0,00 | 0,00 | 56,86 |
| 6 | 23,6 | 0,00 | 57,14 |
| 7 | 21,4 | 7,2 | 64,29 |
| 8 | 60 | 13,2 | 57,14 |
| 9 | 9,43 | 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 |

Keterangan :
KN (Kelompok Kontrol) : akuades 1 ml/hari
K1 (Kelompok Coba 1) : ekstrak etanol pegagan 150 mg/kgBB selama 4 minggu ( 28 hari)
K2 (Kelompok Coba 2) : ekstrak etanol pegagan 150 mg/kgBB selama 6 minggu ( 42 hari)

Hasil kinerja ketiga kelompok tikus (KN, K1 dan K2) pada UMR 1 dan 2 masing-masing dapat dilihat pada Tabel 1 dan 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. Gambaran fluktuasi kinerja tiap kelompok tikus dapat dilihat pada Gambar 1.




**Gambar 1. Nilai Kinerja Tikus pada UMR2 Selama 12 hari**

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 paramaterik, melainkan harus 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 tersaji pada Tabel 2.

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ketepatan pemilihan lengan yang nyata di antara ketiga kelompok tersebut (terdapat minimal satu dari ketiga kelompok tidak identik). Hal ini ditunjukkan dengan nilai stastitik hitung lebih besar dari nilai statistik tabel dan nilai signifikansi kurang dari 0,05. Diperoleh nilai statistik hitung 75,824 dan nilai statistik tabel 5,991 (75,824>5,991). Selain itu, kesimpulan di atas diperjelas oleh nilai signifikansi sebesar 0,000 (p<0,05).

Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan nilai kinerja tiap kelompok. Hasil uji ini tersaji pada Tabel 3, Tabel 4 dan Tabel 5, disertai dengan rangkuman tabel-tabel tersebut pada Tabel 6. Data pada Tabel 4 menunjukkan terdapat perbedaan yng bermakna antara KN dan

**Tabel 3. Hasil Uji Kruskal-Wallis**

| | proporsi_masuk_makan |
|---|---|
| Chi-Square | 75,824 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | 0,000 |

**Tabel 4. Hasil uji Mann-Whitney antara KN dengan K1**

| | proporsi_masuk_makan |
|---|---|
| Mann-Whitney U | 1976,500 |
| Wilcoxon W | 5546,500 |
| Z | -2,766 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | 0,006 |

K1, dengan nilai signifikansi 0,006 (p<0,05). Data pada Tabel 5 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara KN dan K2, dengan nilai signifikansi 0,000 (p<0,05). Data pada Tabel 6 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara K1 dan K2, dengan nilai signifikansi 0,000 (p<0,05)

Pada Tabel 7 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 antarkelompok secara terperinci, dilakukan uji Mann-Whitney antarkelompok per hari sebagaimana terlihat pada Tabel 8.

**Tabel 5. Hasil uji Mann-Whitney antara KN dengan K2**

| | proporsi_masuk_makan |
|---|---|
| Mann-Whitney U | 1272,000 |
| Wilcoxon W | 4842,000 |
| Z | -7,743 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | 0,000 |

**Tabel 6. Hasil uji Mann-Whitney antara K1 dengan K2**

| | proporsi_masuk_makan |
|---|---|
| Mann-Whitney U | 990,500 |
| Wilcoxon W | 2820,500 |
| Z | -6,389 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | 0,000 |

**Tabel 7. 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)
KN (Kelompok Kontrol): akuades 1 ml/hari
K1 (Kelompok Coba 1): ekstrak etanol pegagan 150 mg/kgBB selama 4 minggu
K2 (Kelompok Coba 2): ekstrak etanol pegagan 150 mg/kgBB selama 6 minggu

**Tabel 8. Hasil uji Mann-Whitney antar kelompok per hari selama 12 hari**

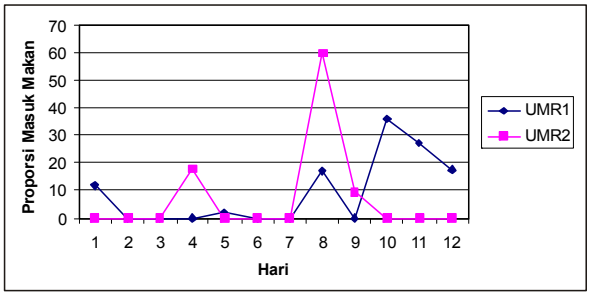
| Hari | Hasil Uji Mann-Whitney | | |
|---|---|---|---|
| | KN-K1 | KN-K2 | K1-K2 |
| 1 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| 2 | 1,000 | 0,001* | 0,003* |
| 3 | 0,003* | 0,209 | 0,455 |
| 4 | 1,000 | 0,082 | 0,098 |
| 5 | 1,000 | 0,003* | 0,009* |
| 6 | 0,110 | 0,138 | 0,022* |
| 7 | 0,526 | 0,046* | 0,019* |
| 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)

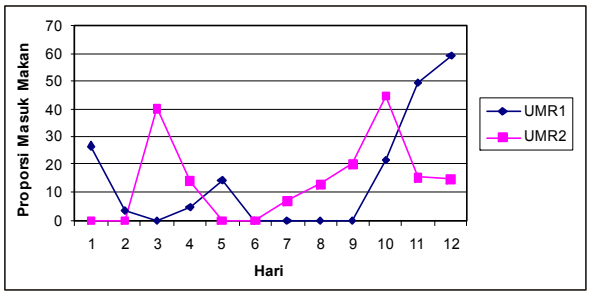
Pada Tabel 8 terlihat bahwa pasangan kelompok yang berbeda secara bermakna adalah pasangan kelompok KN-K1 pada hari ke-3,10,11 dan 12. Pasangan kelompok KN-K2 berbeda secara bermakna pada hari ke-2,5,7,10, dan 12. Pasangan K1-K2 berbeda secara bermakna pada hari ke-2,5,6,7,8,9,11 dan 12.

Setelah diketahui perbandingan antarkelompok dalam ketepatan pemilihan lengan pada UMR2, selanjutnya akan diketahui adanya perubahan memori dasar tikus setelah diberi perlakuan dengan menilai kinerja tikus pada UMR1 kemudian membandingkannya dengan kinerja tikus pada UMR2. Rerata ketepatan pemilihan lengan setiap kelompok per hari pada UMR1 dapat dilihat pada Tabel 1.

Grafik kinerja KN dalam pemilihan ketepatan lengan pada UMR1 dan UMR2 dapat dilihat pada Gambar 2. 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




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

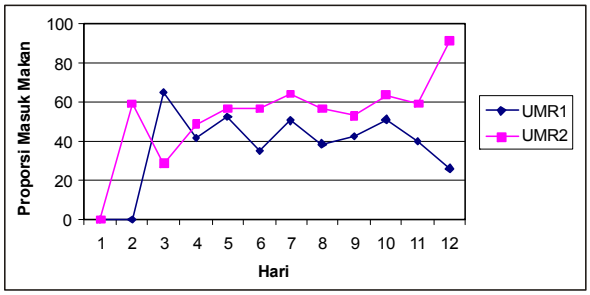



**Gambar 3. Grafik Kinerja K1 dalam Ketepatan Pemilihan Lengan pada UMR1 dan UMR2**

pada UMR 2 lebih besar dari UMR1, yakni 10,24% dan 9,31%. Gambar 4 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 4. Nilai tertinggi yang diperoleh K2 pada UMR1 adalah 65% pada hari ke-3. Sedangkan nilai tertinggi yang dicapai pada UMR2 adalah 91,71% pada hari ke-12. Rerata persentase ketepatan pemilihan lengan KN pada UMR 2 lebih besar dari




**Gambar 4. Grafik Kinerja K2 dalam Ketepatan Pemilihan Lengan pada UMR1 dan UMR2**

UMR1 yakni 53,33% dan 37,05%. Gambar 4 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 tiap kelompok dapat diketahui pada Tabel 9.

Pada Tabel 9 terlihat bahwa pada KN, K1 dan K2 terdapat peningkatan memori setelah 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.

**Tabel 9. Hasil Uji Peringkat Bertanda Wilcoxon, pada KN, K1, K2**

| | KN | K1 | K2 |
|---|---|---|---|
| Z Hitung | -0,330 | -0,304 | -5,678 |
| Nilai Signifkansi | 0,371 | 0,380 | 0,00* |

*bermakna (p<0,05)

**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 pegagan. Hal ini sejalan dengan penelitian-penilitan yang telah dilakukan sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Soumyanath (2005)[18] menunjukkan bahwa ekstrak etanol pegagan terbukti mampu mempercepat regenerasi saraf yang rusak dan meningkatkan pertumbuhan neurit dengan mekanisme regenerasi axonal dan perpanjangan neurit. Pegagan juga mampu meningkatkan arborisasi dendritik pada neuron CA3 hippocampus tikus dalam masa *growth spurt* (neonatal) dengan pemberian jus pegagan. 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 pegagan juga mampu meningkatkan arborisasi dendrit di amygdala pada tikus neonatus, selain itu pegagan juga memberikan efek ansiolitik pada tikus[20] dan manusia.[21] Pemberian pegagan juga mampu meningkatkan biosintesis neurotransmiter 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 pegagan pada tikus dewasa.

Efek neurotropik yang dimiliki pegagan ini disebabkan oleh metabolit yang dikandungnya. Metabolit yang ditemukan dalam pegagan 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 pegagan, menunjukkan aktifitas yang menonjol dalam penelitiannya pada dosis 1 mcg/mL, AA juga terbukti mampu menstimulus perpanjangan neurit.

Pegagan juga memiliki pengaruh protekif terhadap kematian sel-sel saraf (neuroprotektif). Mook-Jung (1999)[24] mengobservasi efek protektif turunan-turunan asiatikosida terhadap kematian sel saraf yang diinduksi beta-amyloid (Aß). Dari 28 turunan asiatikosida yang diobservasi, AA, AS6 dan SM2 menunjukkan efek neuroprotektif yang paling kuat. Protein beta-amyloid (Aß) merupakan komponen utama plak ekstraselular pada otak yang terjadi pada penderita Alzheimer.

Asam Asietat, Asiatikosida6 dan SM2 juga mampu menurunkan angka kematian sel saraf akibat $H_2O_2$ 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 starusporine.[24] Kumar *et al.* (2002)[25] melaporkan bahwa ekstrak air pegagan 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 pegagan yang lebih panjang, yaitu selama enam minggu. Hasil yang serupa juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Rao *et al*. (2007)[26], dalam penilitian ini dilaporkan bahwa arborisasi dendrit lebih tampak pada kelompok yang menerima jus pegagan 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 pegagan 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 manusia.[27] Dengan demikian, diduga bahwa semakin panjang durasi pemberian ekstrak etanol pega-

gan, efek terapetik yang dimunculkan oleh senyawa aktif yang dikandung dalam pegagan tersebut, dalam hal ini senyawa triterpenoid saponin asiatikosida, 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 pegagan (*Centella asiatica sp.)* selama enam minggu memberikan efek peningkatan memori yang lebih signifikan dibanding pemberian selama empat minggu.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia.* Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
2. Ramasamy I. 2005. AgriInfoTech, Inc. 166 Lawrence Road, salem NH-USA 03079 Ph:603-894-7346, 603-781-9097.Available at www.agriinfotech.com.
3. *Anon*. Centella asiatica. Bangalore, India: Natural Remedies Pvt.Ltd. 1997.
4. Mas'ud, I. 2003. *Stres Fungsional Dapat Menjadi Salah Satu Pemicu Hilangnya Memori*? *Thesis.* Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
5. Lupien, S.J., Gaudreau, S., Tchiteya, B.M., Maheu, F., Sharma, S., Nair, N.P.V., *et al*. 1997. Stres-induced declarative memory impairment in healthy elderly subjects: relationship to cortisol reactivity. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 82(7):2070-2075.
6. Simonian, N.A., Coyle, J.T. 1996. Oxidative Stress In Neurodegenerative Disorders. *Ann. Review. Pharmacol. Toxicol.* 36:83-106
7. McEwen, B.S., Sapolsky, R.M. 1995. Stress and cognitive function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5: 205-16.
8. Kerr, D.S., Campbell, L.W., Thibault, O., Landfield, P.W. 1992. Hippocampal glucocorticoid receptor activation enhances voltage-dependent $Ca^{2+}$ conductances: relevance to brain aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89:8527-31.
9. Scoville, W.B., Milner, B. 1957. Loss of Recent Memory after Bilateral Hippocampal Lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 20:11–21.
10. Poirier, G.L., Amin, E., John, P. 2008. Qualitatively Different Hippocampal Subfield Engagement Emerges with Mastery of a Spatial Memory Task by Rats. *The Journal of Neuroscience.* 28(5):1034 –1045.
11. Wong, P.T. 2007. Hippocampal long-term depression mediates acute stress-induced spatial memory retrieval impairment. *PNAS* 104(27): 11471–11476.
12. Fadda, F., Melis, M.R., Argiolas, A. 1978. 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, A.H., Argiolas, A., Fadda, F., Serra, G., Gessa, G.L. 1979. Foot-Shock Stress Accelerates Non-Striatal Dopamine Synthesis Without Activating Tyrosine Hydroxylase. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 308:155-157.

14. Pani, L., Porcella, A., Gessa, G.L. 2000. The role of stress in the pathophysiology of the dopaminergic system. *Molecular Psychiatry.* 5:14-21.
15. *Anon*. Farmakope Indonesia. Jakarta: Departermen Kesehatan Republik Indonesia. 1979.
16. Soumyanath, A., Zhong, Y.P., Gold, S.A., Yu, X., Koop, D.R., Bourdette, D., Gold, B.G. 2005. Centella asiatica accelerates nerve regeneration upon oral administration and contains multiple active fractions increasing neurite elongation in-vitro. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 57(9):1221-29.
17. Rao, K.G.M., Rao, S.M., Rao, S.G. 2006. *Centella asiatica* (L.) Leaf Extract Treatment During the Growth Spurt Period Enhances Hippocampal CA3 Neuronal Dendritic Arborization in Rats. *eCAM* 3(3):349–357.
18. Rao, K.G.M., Rao, S.M., Rao, S.G. 2007. Enhancement of amygdaloid neuronal dendritik arborization by fresh leaf juice of *Centella asiatica (Linn)* during growth spurt period in rats. *eCAM*: 1-8.
19 Bradwejn, J., Zhou, Y., Koszycki, D., Shlik, J. 2000. A double-blind, placebo-controlled study on the effects of Gotu Kola (Centella asiatica) on acoustic startle response in healthy subject. *J. Clin. Psychopharmacol.* 20(6): 680-4.
20 Rao, K.G.M., Rao, S.M., Rao, S.G. 2005. *Centella asiatica (linn)* induced behavioral changes during growth spurt period in neonatal rats. *Neuroanatomy*:4:18-23.
21 Nalini, K., Aroor, A.R., Karanth, K.S., Rao, A. 1992. Effect of Centella asiatica fresh leaf aqueous extract on learning and memory and biogenic amine turnover in albino rats. *Fitoterapia*; 63:232–8.
22 Mook-Jung, I., Shin, J.E., Yun, S.H., Huh, K., Koh, J.Y., Park, H.K., *et al.* 1999. Protective effects of asiaticoside derivates against beta-amyloid neurotoxicity*. J. Neurosci. Res.* 59(3): 417-25.
23 Kumar, M.H.V., Gupta, Y.K. 2002. Effect of different extracts of *Centella asiatica* on cognition and markers of oxidative stress in rats. 79(2): 253-260.
24 Berman, A.F. 2003. *The 5-minute Herb and Dietary Supplement Consult*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.