

Efek pemberian ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) terhadap kinerja tikus galur Wistar pasca *restraint* stres

The effect of ethanol extract of pegagan (*Centella asiatica*) on the performance of Wistar rats after *restraint* stress

BAARID LUQMAN HAMIDI, SAMIGUN, ANIK LESTARI

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 21 Desember 2009. Revisi disetujui: 8 Februari 2009.

Abstract. Hamidi BL, Samigun, Lestari A. 2010. The effect of extract ethanol of pegagan (*Centella asiatica*) on the performance of Wistar rats after *restraint* stress. *Biofarmasi* 8: 11-16. The aim of this research was to investigate the effects of extract ethanol of pegagan (*Centella asiatica*) after treated with *restraint* stress by measuring the eight arms radial maze performance of rats. Pre-test and post-test controlled groups design was applied in this research. Male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) with the mean age of 8 weeks and the body weight of 150-200 grams which used for sample were divided randomly into 4 groups, each group consisted of 6 rats, i.e. (i) control group (without any treatment), (ii) stress group (it was given by *restraint* stress for 2 hours/day for each rat), (iii) pegagan group (it was given by 0.3 mg/g BW/day/rat extract ethanol of pegagan), and (iv) pegagan and stress group (it was given by 0.3 mg/g BW/day/rat extract ethanol of pegagan and *restraint* stress for 2 hours/day for each rat). The treatments were given for 21 days. Within 12 days for each pre-treatment and post-treatment, a test on the eight arm radial maze was conducted on individual rat to observe its performance. The assessment of rat performance in the eight arms radial maze test was conducted based on error type B. Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests with SPSS for Windows 16 version were applied to analyze statistically the difference between four groups. Kruskal-Wallis test was used to show the significant performance level difference between four groups of rats with $p=0.001$, while Mann-Whitney test was used to determine the significant difference between stress group and pegagan group ($p=0.001$), also stress group and pegagan and stress group ($p=0.001$). The result of research showed that there was no significant difference between control group and stress group ($p=0.051$), control group and pegagan group ($p=0.143$), control group and pegagan and stress group ($p=0.143$), also pegagan group and pegagan and stress group ($p=0.952$). It was concluded that extract ethanol of pegagan improved the performances of rats on the eight arms radial maze after treated with *restraint* stress.

Keywords: *Centella asiatica*, pegagan, performance, rat, *restraint* stress

PENDAHULUAN

Sejak ribuan tahun yang lalu, pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern dikenal masyarakat. Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat merupakan pengobatan yang diakui masyarakat dunia dan menunjukkan kesadaran untuk kembali ke alam (*back to nature*) untuk mendapatkan kesehatan yang optimal dan mengatasi berbagai penyakit secara alami (Wijayakusuma 2000).

Pegagan (*Centella asiatica*) telah lama dikenal sebagai salah satu obat tradisional di Asia selama ratusan tahun dan sering digunakan sebagai nutrisi otak untuk meningkatkan kemampuan belajar dan mengingat (Rahmasari 2006). Pegagan dipercaya dapat meningkatkan daya ingat dan konsentrasi pada anak yang mengalami retardasi mental (Kumar dan Gupta 2003). Khasiat pegagan ini diduga karena adanya bahan aktif yang terkandung di dalamnya, yaitu asiaticosida, madekasosida, dan asam madekasat (Sudarsono et al. 2002).

Telah dilakukan banyak penelitian yang membuktikan manfaat pegagan terhadap peningkatan dan perbaikan

memori. Dalam suatu penelitian disebutkan bahwa tanaman pegagan mampu meningkatkan biosintesis neurotransmitter, arborisasi dendrit, dan myelinisasi akson (Rao et al. 2005, 2007; Soumyanath et al. 2005). Diungkapkan juga bahwa pegagan dapat mencegah kerusakan sel-sel saraf akibat stres oksidatif (Mook-Jung et al. 1999; Kumar et al. 2003; Rao et al. 2005; Rao et al. 2007).

Salah satu penyebab penurunan kinerja memori adalah stres (Lupien et al. 1997; Kuhlman et al. 2005). Studi terkini menyebutkan bahwa respons stres berbeda-beda tergantung dengan stresornya. Stresor dapat dibedakan menjadi stresor psikogenik dan stresor neurogenik. *Restraint* stres mempunyai kedua jenis stresor tersebut. Dua kombinasi stresor tersebut dapat mengakibatkan perubahan yang luas terhadap fungsi kinerja otak (Bowman et al. 2002).

Penelitian yang dilakukan oleh Rao et al. (2005) menunjukkan bahwa terdapat peningkatan secara signifikan panjang dendrit dan titik percabangan di sepanjang neuron *amygdala* pada tikus neonatus dengan pemberian jus pegagan pada dosis 4 dan 6 ml/kg BB/hari selama 4 dan 6 minggu. Soumyanath et al. (2005)

menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol pegagan sebanyak 300-330 mg/kg BB/hari dapat meningkatkan perbaikan akson. Di samping itu, penelitian tentang *restraint* stres juga dilakukan oleh Bowman et al. (2002) yang menerapkan *restraint* stres secara kronik (6 jam/hari selama 7-28 hari) pada tikus jantan dan betina, terbukti bahwa pada penelitian tersebut stres mempengaruhi tingkat kecepatan *transmitter central* pada korteks frontal, *hippocampus*, dan *amygdala* yang berkaitan dengan jenis kelamin. Disebutkan juga bahwa *restraint* stres kronik (2 jam/hari selama 21 hari) dapat melemahkan memori nonspasial (Walesiuk et al. 2005).

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah penerapan *restraint* stres pada tikus untuk mengetahui efek ekstrak etanol pegagan terhadap kinerja tikus pada *maze* radial delapan lengan. Parameter yang digunakan juga berbeda karena pada penelitian ini digunakan parameter kesalahan tipe B untuk mengukur kinerja tikus pada *maze* radial delapan lengan. Ditinjau dari hubungan yang erat antara beberapa aspek tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol pegagan terhadap perbaikan kinerja tikus setelah diberi *restraint* stres.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol pegagan (*C. asiatica*) terhadap perbaikan kinerja pada tikus putih pasca *restraint* stress.

BAHAN DAN METODE

Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang tikus, timbangan duduk, timbangan Sartorius, spuit pencekok/oral 3 ml, pipa *restraint* stress, *stopwatch*, *maze* radial delapan lengan, dan tempat pelet tikus.

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan meliputi ekstrak etanol pegagan (*C. asiatica*), pelet, pakan tikus, etanol, dan akuades.

Bahan tanaman

Ekstrak etanol pegagan yang digunakan diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BPTOOT) Tawangmangu, Karanganyar.

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar* sebanyak 24 ekor berumur 8 minggu, dengan berat 150-200 gram yang diperoleh dari Universitas Setia Budi Surakarta. Sampel dibagi ke dalam empat kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih. Jumlah ulangan tersebut diperhitungkan menurut Rumus Federer.

$$(k-1)(n-1) \geq 15$$

Dimana: k = jumlah kelompok dan n = besar sampel per kelompok.

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium (Taufiqurrohman 2003).

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Pre-test and Post-test Controlled Groups Design*. Kelompok kontrol digunakan sebagai pembanding.

Teknik sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara *random sampling* (Budiarto 2002).

Cara kerja

Pra-perlakuan

Tikus dilatih untuk beradaptasi dengan *maze* radial delapan lengan selama 3 hari. Tikus dilatih setiap hari untuk belajar tentang lokasi makanan di semua lengan pada *Maze Radial Delapan Lengan*. Tikus dipuasakan selama 12 jam terlebih dahulu sebelum dilatih dalam *maze* radial delapan lengan.

Pada hari pertama, makanan tikus masing-masing sebanyak 4 gram diletakkan di pintu masuk, bagian tengah, dan ujung setiap lengan pada *maze* radial delapan lengan. Pada hari kedua, makanan diletakkan di bagian tengah dan ujung pada setiap lengan, dan pada hari ketiga makanan tikus diletakkan di ujung setiap lengan. Tikus diletakkan pada tabung penutup di tengah-tengah *maze* radial delapan lengan dengan arah yang berlawanan dengan arah peneliti. Tabung penutup baru dibuka 30 detik kemudian agar tikus dapat beradaptasi terlebih dahulu.

Setelah proses adaptasi, dilakukan pengukuran kinerja tikus selama 12 hari berturut-turut dengan waktu pengujian 10 menit tiap tikus dan diberi makanan tikus dalam jumlah yang sama.

Pemberian perlakuan

Perlakuan diberikan selama 21 hari dengan pembagian kelompok sebagai berikut: (i) Kelompok I (kelompok kontrol): Diberi akuades dengan dosis 0,3 mg/g BB tikus/hari. (ii) Kelompok II (kelompok stres): Diberi *restraint* stres selama 2 jam/hari. (iii) Kelompok III (kelompok pegagan): Diberi ekstrak etanol pegagan dengan dosis 0,3 mg/g BB tikus/hari. (iv) Kelompok IV (kelompok pegagan dan stres): Diberi ekstrak etanol pegagan dengan dosis 0,3 mg/g BB tikus/hari, setelah itu diberi *restraint* stres selama 2 jam/hari.

Pada tiga hari terakhir perlakuan, tikus dilatih untuk melakukan penyesuaian terhadap *maze* radial delapan lengan seperti pada latihan pra-perlakuan.

Setelah perlakuan

Setelah latihan penyesuaian terhadap *maze* radial delapan lengan, dilakukan pengukuran terhadap kinerja tikus selama 12 hari berturut-turut dengan waktu pengujian 10 menit tiap tikus, atau setelah tikus memakan semua pelet.

Penentuan dosis

Dosis ekstrak etanol pegagan yang diberikan sebesar 0,3 mg/g BB/hari (Soumyanath et al. 2005), sedangkan dosis *restraint* stres yang diberikan yaitu 2 jam/hari selama 21 hari.

Pengujian kinerja

Skala kinerja (skala rasio) ditentukan berdasarkan parameter jumlah lengan yang dimasuki dan pilihan yang salah dari delapan lengan pada *maze* radial delapan lengan (kesalahan tipe B) selama 10 menit. Kesalahan diperhitungkan apabila tikus memasuki lengan *maze* radial delapan lengan lebih dari separuh panjang lengan tetapi tidak memakan makanan (imbalan) yang disediakan (Sari 2000). Rumus penilaian yang digunakan adalah sebagai berikut:

Kesalahan tipe B:

$$\frac{\text{Memasuki lengan pada Maze Radial Delapan Lengan lebih dari separuh tetapi tidak memakan imbalan}}{\text{Jumlah lengan yang dimasuki}} \times 100\%$$

Teknik analisis data statistik

Data (skala rasio) yang terkumpul selanjutnya dianalisis secara statistik dengan Uji *Anova* dan Uji-t apabila memenuhi syarat yaitu sebaran data normal dan menghasilkan varian data yang tidak sama. Uji *Anova* digunakan untuk membandingkan perbedaan *mean* lebih dari dua kelompok (Murti 1994). Apabila tidak memenuhi syarat maka data yang terkumpul (rasio) dianalisis dengan menggunakan Uji Kruskal-Wallis (nonparametrik) untuk menggantikan Uji *One-Way Anova* (parametrik), dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney (nonparametrik) untuk menggantikan analisis *post-hoc test* pada *One-Way Anova*, untuk mengetahui perbedaan kinerja *maze* radial delapan lengan antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Pada penelitian efek pemberian ekstrak etanol pegagan terhadap kinerja *maze* radial delapan lengan pada tikus (*Rattus norvegicus*) pasca *restraint* stres ini dilakukan pada 4 kelompok, yaitu (i) kelompok kontrol, (ii) kelompok yang diberi *restraint* stres selama 2 jam/hari (kelompok stres), (iii) kelompok yang diberi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) sebanyak 0,3 mg/g BB/hari (kelompok pegagan), dan (iv) kelompok yang diberi ekstrak etanol pegagan dengan dosis yang sama yaitu 0,3 mg/g BB/hari kemudian dilanjutkan dengan *restraint* stres selama 2 jam/hari (kelompok pegagan dan stres). Semua perlakuan tersebut dilakukan selama 21 hari.

Pada penelitian ini, pengamatan dilakukan selama 24 hari, terdiri dari sebelum perlakuan (*pre-test*) selama 12 hari dan sesudah perlakuan (*post-test*) selama 12 hari. Pengamatan dilakukan pada *maze* radial delapan lengan yang telah diberi makanan tikus sebanyak 4 gram pada tiap ujung lengan. Waktu pengujian berlangsung selama 10

menit atau setelah semua makanan pada tiap ujung lengan habis. Parameter penilaian kinerja dilakukan berdasarkan kesalahan tipe B yang diperhitungkan jika tikus memasuki lengan pada *maze* radial delapan lengan lebih dari separuh panjang lengan tetapi tidak memakan makanan yang disediakan.

Gambar 1 menunjukkan kurva pengamatan kinerja *maze* radial delapan lengan pada tikus. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pada awal sebelum perlakuan banyak terjadi kesalahan tipe B, yaitu pada hari ke-1 sampai hari ke-5, dimana terdapat banyak kesalahan tipe B yang fluktuatif dengan nilai kesalahan tertinggi diperoleh pada hari ke-4 yaitu sebesar 25,67% pada kelompok yang nantinya akan diberi perlakuan ekstrak etanol pegagan. Kesalahan tipe B pada kelompok yang lain berada di bawah kelompok yang nantinya diberi ekstrak etanol pegagan. Sementara itu, pada hari berikutnya, yaitu hari ke-6 sampai hari ke-12, diperoleh hasil yang relatif sama dimana tidak muncul kesalahan tipe B.

Gambar 2 menunjukkan kurva pengamatan kinerja *maze* radial delapan lengan pada tikus. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pada kelompok stres, tikus cenderung banyak melakukan kesalahan yang terjadi secara fluktuatif. Hal ini dapat dilihat adanya kurva pada kelompok stres yang letaknya cenderung berada di atas dibandingkan dengan kelompok lain. Kesalahan tipe B pada kelompok stres paling tinggi terjadi pada hari pertama, yaitu sebesar 9,83%.

Sementara itu, kurva pada kelompok pegagan serta kelompok pegagan dan stres cenderung berada di bawah kurva kelompok kontrol dan kelompok stres, yang menunjukkan bahwa kesalahan tipe B yang dilakukan oleh kelompok pegagan serta kelompok pegagan dan stres hanya sedikit. Berdasarkan hasil pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa pada saat *post-test*, kelompok pegagan hanya melakukan kesalahan tipe B sebanyak 1 kali, yaitu pada hari ke-1 sebesar 4,17%, disamping itu kelompok pegagan dan stres juga hanya melakukan kesalahan tipe B sebanyak 1 kali, yaitu pada hari ke-2 sebesar 3,33%.

Tabel 1. Tabel pengamatan kinerja *maze radial* delapan lengan pada tikus (%).

Hari	Kontrol		Stres		Pegagan		Pegagan/Stres	
	Pre Tes	Post Tes	Pre Tes	Post Tes	Pre Tes	Post Tes	Pre Tes	Post Tes
1	6,00±7,46	1,83±4,49	15,83±8,61	9,83±5,78	3,83±6,34	4,17±6,54	0,00±	0,00±0
2	9,00±7,90	5,33±8,84	14,00±13,05	1,33±5,27	18,17±9,89	0,00±0	9,50±10,82	3,33±5,20
3	5,00±10	0,00±0	7,50±6,83	4,00±6,23	4,33±7,23	0,00±0	6,83±13,21	0,00±0
4	14,33±17,90	1,67±4,08	6,67±12,45	0,00±0	25,67±24,47	0,00±0	5,00±8,62	0,00±0
5	3,33±5,20	0,00±0	0,00±0	3,00±4,65	1,17±2,86	0,00±0	0,33±0,81	0,00±0
6	0,00±0	0,00±0	0,00±0	1,83±4,49	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0
7	0,00±0	0,00±0	0,00±0	1,67±4,08	0,00±0	0,00±0	1,83±4,49	0,00±0
8	0,00±0	5,83±9,04	0,00±0	5,33±6,12	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0
9	0,00±0	0,00±0	0,00±0	2,83±4,49	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0
10	0,00±0	0,00±0	0,00±0	2,17±5,31	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0
11	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0
12	0,00±0	0,00±0	0,00±0	1,33±5,37	0,00±0	0,00±0	0,00±0	0,00±0
rata-rata	3,14±4,67	1,22±2,15	3,67±5,92	2,78±2,70	4,43±8,46	0,35±1,20	1,96±3,29	0,28±0,96

Hasil uji kinerja dalam *Maze* radial delapan lengan antar kelompok setelah perlakuan (*post-test*)

Dalam penelitian ini diharapkan ekstrak etanol pegagan dapat meningkatkan kinerja tikus di dalam *maze* radial

delapan lengan yang diukur berdasarkan parameter kesalahan tipe B. Untuk mengetahui peningkatan atau penurunan memori spasial tikus serta faktor-faktor yang mempengaruhinya, perlu dikaji perbandingan kinerja masing-masing tikus setiap hari dan perbandingan kinerja yang dicapai antara kelompok kontrol dan kelompok yang diberi perlakuan (kelompok stres, kelompok pegagan, serta kelompok pegagan dan stres). Uji kinerja sebelum perlakuan (*pre-test*) dilakukan untuk mengetahui memori dasar tikus, sedangkan uji kinerja setelah perlakuan (*post-test*) digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kinerja tikus dalam *maze* radial delapan lengan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, perbandingan antara kelompok kontrol dan kelompok stres secara statistik tidak signifikan, hal ini diduga disebabkan karena pengaruh hormon glukokortikoid serta pengaruh hormon-hormon lain yang berkaitan dengan stres, sehingga diperoleh kurva dosis berbentuk U terbalik (*inverted U shape dose response curve*). Pada stres tingkat awal, banyak hormon yang dihasilkan sebagai respons dari stres dan mengakibatkan terjadinya penurunan kinerja, namun pada stres yang lama, hormon yang menyebabkan stres mengalami proses retensi, sehingga organ-organ yang menjadi target hormon tidak peka lagi terhadap pengaruh hormon tersebut, dalam hal ini target hormon yang diteliti difokuskan pada *hippocampus* (Gamero dan Michalowski 1999). Disamping itu, stres sangat tergantung dengan proses adaptasi individu. Paparan stres yang lama memungkinkan individu menjadi terbiasa dengan stres tersebut, sehingga tidak terlalu mempengaruhi kinerja individu tersebut.

Berdasarkan hasil Uji Mann-Whitney pada kelompok kontrol dan kelompok pegagan, maupun kelompok kontrol serta kelompok pegagan dan stres, keduanya tidak signifikan. Hal ini dapat saja terjadi, karena berdasarkan hasil penelitian Pramono dan Ajiastuti (2004), kandungan asiaticosida ekstrak herba pegagan dari Tawangmangu paling rendah dibandingkan dengan pegagan yang tumbuh di Kaliurang dan Boyolali. Hal ini juga dapat disebabkan akibat stres yang tidak terduga (*unpredictable stress*), misalnya pada saat disonde, tikus dapat mengalami stres yang tidak terduga. Dalam hal ini, tikus diduga juga mengalami stres akibat efek pemberian ekstrak etanol pegagan yang kurang maksimal. Alvarez et al. (2002) menyebutkan bahwa stres yang tidak terduga secara kronik dapat mengganggu *long-term potentiation* pada *hippocampus area CA1* dan *gyrus dentatus* secara *in vitro*.

Perbandingan antara kelompok stres dan kelompok pegagan, maupun kelompok stres dengan kelompok pegagan dan stres menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini sesuai dengan sumber-sumber ilmiah yang menyebutkan kemampuan neurogenesis dan sinaptogenesis pegagan. Rao et al. (2005) menyatakan bahwa terjadi peningkatan yang signifikan pada panjang dendrit dan titik percabangan di sepanjang neuron *amygdala* pada tikus neonatus dengan pemberian jus pegagan pada dosis 4 dan 6 ml/kg BB/hari selama 4 dan 6 minggu. Soumyanath et al. (2005) menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol pegagan sebanyak 300-330 mg/kg BB/hari dapat meningkatkan perbaikan akson.

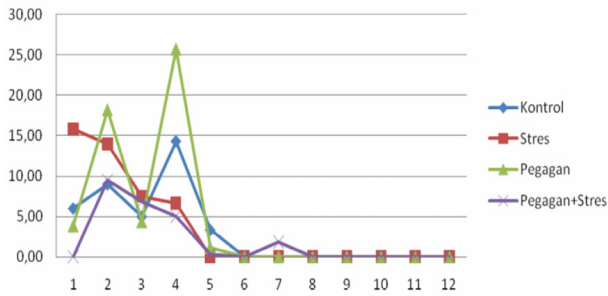
Berdasarkan hasil uji statistik, perbandingan antara kelompok pegagan dengan kelompok pegagan dan stres tidak signifikan. Hal ini menunjukkan peningkatan memori oleh ekstrak etanol pegagan disebabkan pegagan lebih bersifat neuroprotektif terhadap kematian sel. Pada dosis 1 μM , *asiatic acid* dan *asiaticoside* mampu mengurangi jumlah apoptosis yang diinduksi oleh *strusporine*, serta menurunkan kadar radikal bebas intraseluler (Mook-Jung 1999).

Hasil uji kinerja sebelum perlakuan (*pre-test*) dan setelah perlakuan (*post-test*)

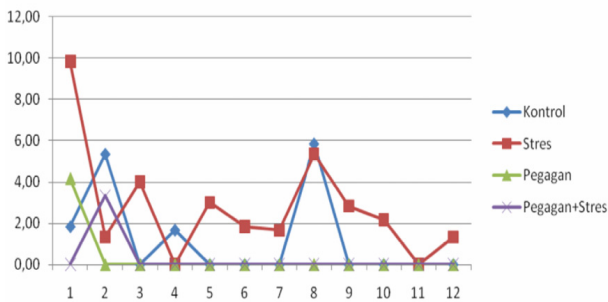
Secara keseluruhan, kesalahan tipe B yang terjadi pada tikus mengalami fluktuasi setiap harinya, baik pada saat sebelum perlakuan (*pre-test*) maupun sesudah perlakuan (*post-test*). Gambar 1 memperlihatkan kesalahan tipe B yang fluktuatif pada *pre-test* hari ke-1 sampai hari ke-5. Hal yang sama juga dapat dilihat saat *post-test* hari ke-1 sampai hari ke-4 (Gambar 2). Meskipun demikian, grafik tersebut cenderung menunjukkan terjadinya penurunan kesalahan tipe B (Gambar 2 dan Gambar 3). Kesalahan tipe B pada *post-test* juga relatif mengalami penurunan apabila dibandingkan dengan *pre-test*. Hal ini dikarenakan memori spasial adalah *working memory*, yaitu merupakan perpaduan antara perhatian (*attention*), konsentrasi, dan memori jangka pendek (Budson dan Price 2005). Memori jangka pendek hanya bertahan beberapa jam saja dan *working memory* diingat kembali (*retrieve*) hanya pada saat melakukan tugas tertentu. Oleh karena jeda waktu antara uji *maze* radial delapan lengan dengan uji *maze* radial delapan lengan berikutnya mencapai 24 jam, diduga memori jangka pendek tikus telah hilang, sehingga tikus harus mencoba memasuki *maze* radial delapan lengan tersebut dan menyimpan memori jangka pendek yang baru lagi selama beberapa jam ke depan.

Pada diagram *pre-test* dan *post-test* pada kelompok kontrol (Gambar 3) dapat diketahui bahwa pada *pre-test* hari ke-1 sampai ke-5, banyak terjadi kesalahan tipe B dengan kesalahan tertinggi pada hari ke-4 yaitu sebesar 14%. Pada hari ke-5 sampai ke-12, tidak terjadi kesalahan tipe B karena diduga tikus sudah mempunyai ingatan mengenai *maze* radial delapan lengan pada tes kinerja hari sebelumnya. Penurunan kesalahan tipe B pada hari-hari terakhir saat *pre-test* maupun *post-test* ini terjadi pada hampir semua kelompok, kecuali pada kelompok stres.

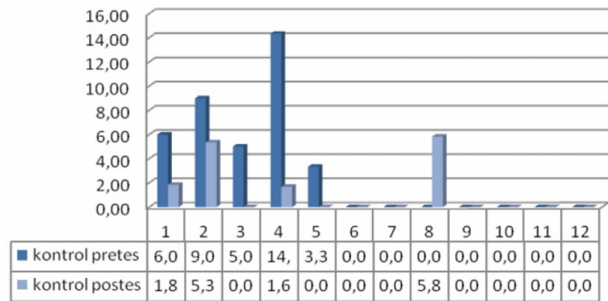
Saat *pre-test* pada hari ke-1 sampai ke-4 pada kelompok stres (Gambar 4) terjadi banyak kesalahan tipe B dimana pada hari selanjutnya tidak terjadi. Hal ini diduga terjadi karena tikus sudah mempunyai ingatan mengenai *maze* radial delapan lengan pada tes kinerja hari sebelumnya. Adapun pada saat *post-test*, kesalahan tipe B pada kelompok stres tetap terjadi. Dibandingkan dengan kelompok lainnya, kelompok stres relatif lebih banyak melakukan kesalahan tipe B saat *post-test*. Hal ini diduga disebabkan karena adanya pengaruh *restraint* stres yang diberikan. Peningkatan stres yang diukur berdasarkan kinerja tikus dalam *maze* radial delapan lengan kurang signifikan, hal ini diduga disebabkan karena stres yang terlalu lama maupun proses adaptasi dari tikus tersebut, atau gabungan keduanya.



Gambar 1. Grafik kumulatif *pre-test* kinerja *maze* radial delapan lengan pada tikus (%)



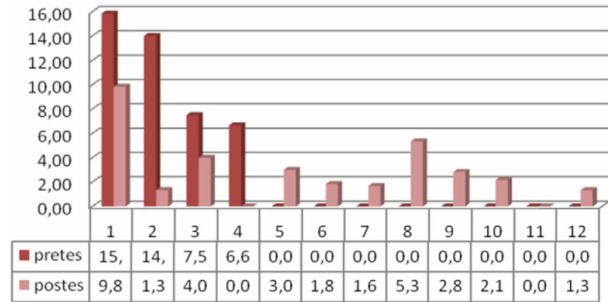
Gambar 2. Grafik kumulatif *post-test* kinerja *maze* radial delapan lengan pada tikus (%)



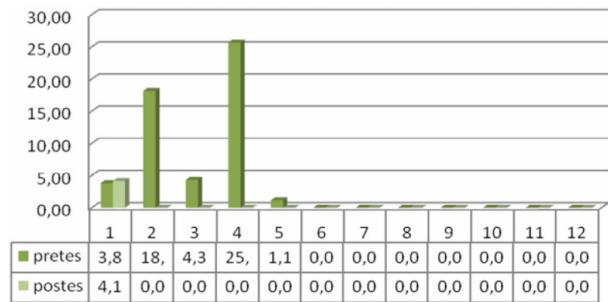
Gambar 3. Perbandingan *pre-test* dan *post-test* dalam *maze* radial delapan lengan pada kelompok kontrol

Hasil pengamatan pada kelompok pegagan (Gambar 5), menunjukkan bahwa pada *pre-test* terjadi kesalahan pada hari ke-1 sampai ke-5 dengan tingkat kesalahan tipe B yang berfluktuatif. Pada hari selanjutnya, kesalahan tersebut tidak terjadi lagi. Pada *post-test*, kesalahan tipe B hanya terjadi satu kali pada hari ke-1, yaitu sebesar 4,1%. Kesalahan yang dilakukan oleh kelompok pegagan paling sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok yang lain. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol pegagan memberikan efek pada peningkatan kinerja tikus dalam *maze* radial delapan lengan.

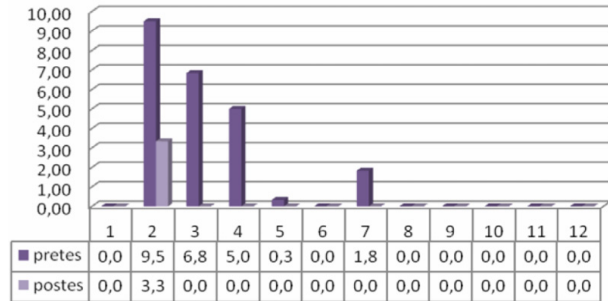
Saat *pre-test* pada kelompok pegagan dan stres (Gambar 6) terjadi kesalahan tipe B pada hari ke-2 sampai ke-4 dan hari ke-7, sedangkan pada saat *post-test*, hanya terjadi satu kesalahan tipe B pada hari ke-2, yaitu sebesar 3,3%.



Gambar 4. Perbandingan *pre-test* dan *post-test* dalam *maze* radial delapan lengan pada kelompok stress



Gambar 5. Perbandingan *pre-test* dan *post-test* dalam *maze* radial delapan lengan pada kelompok pegagan



Gambar 6. Perbandingan *pre-test* dan *post-test* dalam *maze* radial delapan lengan pada kelompok pegagan dan stress

Kesalahan yang dilakukan oleh kelompok pegagan dan stres lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok yang lain, tetapi masih di bawah kelompok pegagan yang mempunyai kesalahan tipe B paling sedikit. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol pegagan memberikan efek pada peningkatan kinerja tikus dalam *maze* radial delapan lengan.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dapat memperbaiki kinerja tikus dalam *maze* radial delapan lengan pasca *restraint* stres. Diperlukan

penelitian mengenai fitofarmaka lain, seperti *Gingko biloba* dan ginseng Jawa, sehingga dapat diketahui efeknya dan diperoleh perbandingan potensi keefektifan antara satu fitofarmaka dengan fitofarmaka yang lain. Hendaknya digunakan parameter penelitian yang bervariasi, contohnya dengan memakai parameter berdasarkan ketepatan pemilihan lengan maupun berdasarkan lamanya waktu tikus ketika memakan semua makanan di ujung lengan *maze* radial delapan lengan. Penggunaan alat ukur kinerja yang membutuhkan waktu penelitian lebih singkat dibandingkan dengan *maze* radial delapan lengan, misalnya *Morris Water Maze*, yang hanya membutuhkan waktu 5 hari. Disarankan untuk menggunakan *purposive sampling* dibanding *random sampling* sehingga dimungkinkan diperoleh sampel yang homogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfarez DN, Joël M, Krugers HJ. 2003. Chronic unpredictable stress impairs long-term potentiation in rat hippocampal CA1 area and dentate gyrus in vitro. *Eur J Neurosci* 17(9): 1928-1934.
- Bowman RE, Beck KD, Luine VN. 2002. Chronic stress effects on memory: Sex differences in performance and monoaminergic activity. *Horm Behav* 43: 48-59.
- Budiarto E. 2002. Biostatistika. EGC, Jakarta.
- Budson AE, Price BH. 2005. Memory dysfunction. *N Engl J Med* 352(7): 692-699.
- Gamaro GD, Michalowski MB. 1999. Effect of repeated restraint stress on memory in different tasks. *Braz J Med Biol Res* 32: 341-347.
- Kuhlmann S, Piel M, Wolf OT. 2005. Impaired memory retrieval after psychosocial stress in healthy young men. *J Neurosci* 25(11): 2977-2982.
- Kumar V, Gupta MH. 2003. Effect of *Centella asiatica* on cognition and oxidative stress in intracerebroventrikuler streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 74(3): 579-585.
- Lupien SJ, Gaudreau S, Tchiteya BM et al. 1997. Stress-induced declarative memory impairment in healthy elderly subjects: Relationship to cortisol reactivity. *J Clin Endocrinol Metab* 82(7): 2070-2075.
- Mook-Jung I, Shin JE, Yun SH et al. 1999. Protective effects of asiaticoside derivatives against beta-amyloid neurotoxicity. *J Neurosci Res* 59(3): 417-425.
- Murti B. 1994. Penerapan metode statistik nonparametrik dalam ilmu kesehatan. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Pramono S, Ajiastuti D. 2004. Standardisasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berdasarkan kadar asiaticosida secara KLT-densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia* 15(3): 119-123.
- Rahmasari M. 2006. Pengaruh ekstrak air daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap kemampuan belajar dan mengingat, kadar hemoglobin, dan nilai hematokrit pada tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus* L.) dewasa. Sekolah Ilmu Teknologi Hayati (SITH)-ITB, Bandung.
- Rao KGM, Rao SM, Rao SG. 2005. *Centella asiatica* (Linn.) induced behavioral changes during growth spurt period in neonatal rats. *Neuroanatomy* 4: 18-23.
- Rao KGM, Rao SM, Rao SG. 2007. Enhancement of amygdaloid neuronal dendritic arborization by fresh leaf juice of *Centella asiatica* (Linn.) during growth spurt period in rats. *eCAM* 6(2): 203-210.
- Sari DCR. 2000. Pengaruh pemberian estrogen terhadap aktivitas neuron-neuron serotonergik di *nucleus raphe cranialis* pada tikus (*Rattus norvegicus*). *Yarsi* 9(2): 62-72.
- Soumyanath A, Zhong YP, Gold SA et al. 2005. *Centella asiatica* accelerates nerve regeneration upon oral administration and contains multiple active fractions increasing neurite elongation in-vitro. *J Pharm Pharmacol* 57(9): 1221-1229.
- Sudarsono P, Gunawa D, Wahyono. 2002. Tumbuhan obat: Hasil penelitian, sifat-sifat dan penggunaan. Pusat Penelitian Obat Tradisional, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Taufiqurrohman MA. 2003. Metodologi penelitian kedokteran dan kesehatan. CSGF, Klaten.
- Walesiuk A, Trofilmiuk E, Braszko JJ. 2005. *Gingko biloba* extract diminishes stress-induced memory deficit in rats. *Pharmacol Rev* 57: 176-187.
- Wijayakusuma H. 2000. Ensiklopedi milenium tumbuhan berkhasiat obat Indonesia. Penerbit Prestasi Insan Indonesia, Jakarta.