

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MURBEI
(*Morus alba* L.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA INGAT
MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)**



Oleh:

**Ina Karina
19133927A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MURBEI
(*Morus alba* L.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA INGAT
MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Ina Karina
19133927A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MURBEI
(*Morus alba* L.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA INGAT
MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)**

Oleh:

**Ina Karina
19133927A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : Surakarta, 12 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Octari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt.
Pembimbing Pendamping

Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

Penguji

1. Dr. Jason Merari P, MM., M.Si., Apt.
2. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.
4. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt.

1.....

2.....

3.....

4.....

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Dan kebaikan apa saja yang kamu perbuat untuk dirimu niscaya kamu memperoleh balasan-Nya di sisi Allah sebagai balasan yang baik dan yang paling besar pahalanya”

(QS. Al-Muzzammil : 20)

Kupersembahkan karya kepada :

Allah AWT sebagai pedoman hidupku

Bapak dan Ibu sebagai wujud rasa hormat, bakti, dan terimakasihku

Semua keluargaku tercinta terimakasih untuk doa-doanya

Teman-teman ku seperjuangan, Mita, Resa, Endah, Eka, dan Ranin

terimakasih telah mau menjadi temanku..

Agama, Bangsa, Negara dan Almamaterku

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 12 Juni 2017



Ina Karina

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MURBEI (*Morus alba* L.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA INGAT MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)”** guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Terselesainya skripsi ini tidak terlepas dari andil banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, maka dengan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A.Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan petunjuk dan bimbingannya kepada penulis.
4. Dr.Gunawan Pamudji W.,M.Si.,. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan nasihat dan dorongan kepada penulis.
5. Bapak/ibu tim penguji skripsi, penulis mengucapkan terima kasih atas masukan, kritik, dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
6. Segenap dosen karyawan dan staff Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan sempurnanya skripsi ini.
7. Staff Perpustakaan Universitas Setia Budi.
8. Orang tua serta Adek tercinta yang selalu memberi kekuatan, cinta, doa, dukungan, semangat, dan motivasi.
9. Kakakku tersayang (Kak Susi, Kak Grace, Kak Willy, Kak Yuni, Mbak Titis) Terima kasih atas bimbingan, dukungan, doa, semangat, dan kasih sayang yang kalian berikan.

10. Teman-teman tim Rumpita (Mbak Mita, Resa, Eka, Rani dan Endah) atas kerjasama dan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman grup Sedulur (Rika, Zahrina, Yeni, Mamah Yanda dan Faiz) atas kerjasama dan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini
12. Sahabat-sahabatku: (BITCHES Resa, Rani, Eka, Endah, Jovita, Lala, Nisa, Galuh, Vekta, Meilina), Mbak Sulis, Anita, Devi, Hanifatih dan Nurfa terimakasih untuk bantuan, dukungan, doa, semangat, dan kasih sayang yang kalian berikan.
13. Sahabat-sahabatku: di Merauke Intan, Nanda, Widya, Mega, Ebhy, Dini, Siti, Devi, terimakasih untuk dukungan, doa, semangat, dan kasih sayang yang kalian berikan
14. Adek-adek kostku di kost Bu Harjo, terimakasih atas dukungan serta doanya selama ini.
15. Teman-temanku Teori 4 angkatan 2013, dan FKK 2015, terimakasih atas bantuan, kasih sayang dan kekompakannya selama ini.
16. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penulisan skripsi ini penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap segala saran dan kritik yang bersifat membangun. Penulis berharap semoga apa yang telah penulis kemukakan akan berguna baik bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya.

Surakarta, 12 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| PENGESAHAN SKRIPSI | ii |
| PERSEMBAHAN..... | iii |
| PERNYATAAN..... | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| INTISARI..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| D. Kegunaan Penelitian..... | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| A. Buah Murbei (<i>Morus alba</i> L.) | 5 |
| 1. Sistematika buah Murbei..... | 5 |
| 2. Nama lain | 5 |
| 3. Morfologi tanaman | 5 |
| 4. Kandungan kimia | 6 |
| B. Simplisia | 7 |
| 1. Pengertian simplisia | 7 |
| 2. Pengeringan | 7 |
| C. Metode Penyarian | 7 |
| 1. Ekstraksi | 7 |
| 2. Maserasi..... | 7 |
| 3. Pelarut..... | 8 |
| D. Mencit Putih | 9 |
| 1. Sistematika mencit putih | 9 |

| | | |
|---------------------------------|--|----|
| 2. | Biologi mencit | 9 |
| 3. | Karakteristik mencit | 10 |
| E. | Ingatan | 10 |
| 1. | Sistem limbik dan hipokampus | 10 |
| 2. | Jenis-jenis mengingat | 11 |
| 3. | Faktor yang dapat memicu penurunan daya ingat..... | 11 |
| F. | Demensia | 11 |
| 1. | Daya ingat (memori) | 12 |
| 2. | Intelegensia dasar (<i>Fluid intelligence</i>) | 12 |
| G. | <i>Gingko Biloba</i> | 13 |
| H. | Antioksidan..... | 14 |
| I. | Radikal Bebas | 14 |
| a. | <i>Test acquisition trial</i> | 18 |
| b. | <i>Tes porbe trial</i> | 18 |
| c. | Uji kemampuan sensorimotoris..... | 18 |
| J. | Landasan Teori | 19 |
| K. | Hipotesis | 21 |
| BAB III METODE PENELITIAN | | 22 |
| A. | Populasi dan Sampel..... | 22 |
| B. | Variabel Penelitian | 22 |
| 1. | Identifikasi variabel utama | 22 |
| 2. | Klasifikasi variabel utama | 22 |
| 3. | Definisi operasional variabel utama | 23 |
| C. | Bahan dan Alat | 23 |
| 1. | Alat | 23 |
| 2. | Bahan..... | 23 |
| 3. | Hewan percobaan | 24 |
| D. | Jalannya Penelitian | 24 |
| 1. | Determinasi tanaman | 24 |
| 2. | Penetapan susut pengeringan serbuk buah murbei..... | 24 |
| 3. | Pembuatan serbuk..... | 24 |
| 4. | Pembuatan ekstrak maserasi buah murbei..... | 25 |
| 5. | Penetapan susut pengeringan ekstrak buah murbei..... | 25 |
| 6. | Identifikasi kandungan kimia | 25 |
| 6.1. | Identifikasi antosianin | 26 |
| 6.2. | Identifikasi flavonoid | 26 |
| 6.3. | Identifikasi alkaloid | 26 |
| 6.4. | Identifikasi polifenol | 26 |
| 6.5. | Identifikasi terpenoid | 26 |
| 7. | Uji bebas alkohol..... | 26 |
| 8. | Pembuatan larutan stok CMC 1% | 26 |
| 9. | Penentuan dosis | 27 |
| 10. | Pengelompokan hewan percobaan | 27 |
| 11. | Pengujian memori dengan <i>Morris water maze</i> | 27 |
| 12. | Analisis statistik | 29 |

| | | |
|----------------|---|----|
| BAB IV | HASIL DAN PEMBAHASAN | 31 |
| A. | Hasil Determinasi Tanaman | 31 |
| B. | Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk dan Ekstrak Buah Murbei | 31 |
| C. | Hasil Ekstrak Buah Murbei | 32 |
| D. | Hasil Identifikasi Kandungan Buah Murbei | 33 |
| E. | Hasil Uji Bebas Alkohol Buah Murbei | 33 |
| F. | Hasil Uji Daya Ingat | 34 |
| 1. | Peningkatan daya ingat menggunakan <i>Morris water maze</i> | 34 |
| 2. | Hasil setelah pemberian induksi etanol dan pemberian perlakuan | 35 |
| BAB V | KESIMPULAN DAN SARAN | 38 |
| A. | Kesimpulan | 38 |
| B. | Saran | 38 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 39 |
| LAMPIRAN | | 45 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Tanaman buah murbei | 5 |
| Gambar 2. Skema alat <i>Morris water maze</i> | 19 |
| Gambar 3. Skema pengujian kelompok perlakuan | 30 |
| Gambar 4. Rata-rata <i>escape latency</i> pada setiap kelompok sebelum dan sesudah diberi perlakuan..... | 36 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah murbei | 31 |
| Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak buah murbei | 31 |
| Tabel 3. Hasil perhitungan ekstrak etanol buah murbei..... | 33 |
| Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan senyawa buah murbei..... | 33 |
| Tabel 5. Hasil tes bebas alkohol..... | 34 |
| Tabel 6. Rata-rata selisih waktu <i>escape latency</i> T1-T2 | 35 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi buah murbei..... | 46 |
| Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji | 47 |
| Lampiran 3. Foto buah buah murbei basah dan kering..... | 48 |
| Lampiran 4. Kontrol positif (Gingko Biloba) | 49 |
| Lampiran 5. Gambar ekstrak buah murbei..... | 50 |
| Lampiran 6. Gambar sediaan uji | 51 |
| Lampiran 7. Gambar alat yang digunakan dalam percobaan..... | 52 |
| Lampiran 8. Foto perlakuan hewan uji | 54 |
| Lampiran 9. Foto hasil uji kualitatif kandungan kimia ekstrak buah murbei | 55 |
| Lampiran 10. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak buah murbei..... | 56 |
| Lampiran 11. Perhitungan persen rendemen ekstrak buah murbei..... | 57 |
| Lampiran 12. Perhitungan dosis Gingko Biloba dan dosis ekstrak buah murbei | 58 |
| Lampiran 13. Hasil uji Morris water maze | 62 |
| Lampiran 14. Hasil SPSS uji Morris water maze | 63 |

INTISARI

KARINA I., 2017, PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MURBEI (*Morus alba* L.) TERHADAP PENINGKATAN DAYA INGAT PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*), SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Buah murbei (*Morus alba* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung antosianin. Antosianin telah terbukti berkhasiat sebagai antioksidan, dan dapat mencegah demensia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak buah murbei terhadap peningkatan daya ingat dan mengetahui dosis efektif ekstrak etanol buah murbei pada hewan uji dengan metode Morris water maze.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit putih yang terbagi menjadi 6 kelompok, yang terdiri dari kelompok normal, kelompok kontrol negatif (CMC 1%), kelompok kontrol positif (Gingko biloba 65 mg/kg BB), kelompok 4, 5 dan 6 diberi ekstrak buah murbei dengan dosis berturut-turut dari 7, 14, dan 28 mg/kg BB. Data waktu latensi dianalisa secara statistik dengan menggunakan ANOVA satu jalan ($p < 0,05$) dilanjutkan uji Tukey.

Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Peningkatan daya ingat dari ekstrak buah murbei dengan dosis 7; 14; dan 28 mg/kg BB berturut-turut adalah $21 \pm 9,416$; $29,7 \pm 8,01$; dan $26,2 \pm 11,3$ detik. Kesimpulan dari penelitian ini adalah dosis 7 mg/kg BB ekstrak buah murbei efektif meningkatkan daya ingat.

Kata kunci: daya ingat, buah murbei (*Morus alba* L), ekstrak etanol.

ABSTRACT

KARINA I., 2017, THE EFFECT OF ADMINISTRATION MULBERRY (*Morus alba* L.) ETHANOL EXTRACT TO INCREASE OF MEMORY IN WHITE MICE (*Mus musculus*), THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Mulberry is one of the plants containing antocianin. Antocianin has antioxidant, and anti-inflammatory activity that can prevent dementia. This study was aimed to determine the effect of mulberry ethanol extract to increase of memory and determine the effective dose of mulberry ethanol extract in test animal by Morris Water Maze method.

This study was used 30 white mice which divided into 6 groups. Normal group, negative control (CMC 1%), positive control group (gingko biloba dose of 65 mg/kg BW), groups of 4th, 5th and 6th were given extract mulberry dose of 7, 14, and 28 mg/kg BW respectively. The escape latency data were analyzed statistically using one-way ANOVA ($p < 0,05$) followed by Tukey test.

The results showed that there was significant difference between negative control with treatment groups. Increasing of memory mulberry extract at dosage 7; 14; And 28 mg / kg BW respectively is $21 \pm 9,4$; $29,7 \pm 8,0$; and $26,2 \pm 11,3$ seconds. The conclusion of this research was dose 7 mg / kg BB extract of mulberry fruit effectively improve memory of white mice.

Keywords: memory, mulberry (*Morus alba* L), ethanol extract.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Gangguan fungsi intelektual dan memori yang disebabkan oleh penyakit otak dan tidak berhubungan dengan gangguan tingkat kesadaran dapat diartikan sebagai demensia (Setiasi *et al.* 2006). Menurut Atun (2010), demensia adalah suatu gangguan fungsi daya ingat yang terjadi secara perlahan-lahan, sehingga dapat mengganggu kinerja dan aktivitas kehidupan sehari-hari. Pada penelitian Kusumoputro (2007) menyatakan bahwa demensia merupakan hilangnya kemampuan kognisi yang sedemikian berat hingga mengganggu fungsi sosial dan pekerjaan. Umumnya penyakit demensia dikarenakan adanya kerusakan sel otak yang menumpuk dapat disebabkan oleh aktivitas fisik, aktivitas kognitif maupun radikal bebas (Depkes 2001).

Prevalensi demensia meningkat dua kali setiap penambahan usia 5 tahun setelah melewati usia 60 tahun. Terdapat 7,2% populasi lansia yang berusia 60 tahun ke atas pada tahun 2010 di Indonesia. (Kemenkes RI 2010). Menurut Departemen Kesehatan tahun 1998, terdapat 7,2 % populasi usia lanjut 60 tahun keatas untuk kasus demensia. Sebanyak 5% usia lanjut 65-70 tahun menderita demensia dan akan meningkat dua kali lipat setiap 5 tahun mencapai lebih 45% pada usia diatas 85 tahun (Nugroho 2008).

Radikal bebas merupakan atom molekul yang mempunyai satu atom lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat tidak stabil dan sangat reaktif karena kehilangan pasangan elektronnya. Radikal bebas yang berlebihan dapat menyerang senyawa apa saja terutama yang rentan seperti lipid dan protein sehingga menyebabkan timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Midleton *et al.* 2000). Paparan radikal bebas yang berlebih dan secara terus menerus selain dapat menyebabkan kerusakan sel juga dapat mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi terhadap lingkungannya dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel, sehingga timbul gangguan yang berupa penyakit seperti Alzheimer, stroke dan tumor otak yang perlu diperiksa serta diobati (Talien 2007). Dampak negatif radikal bebas dapat dihambat dengan antioksidan. Antioksidan dapat

menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA.

Ginkgo biloba mempunyai khasiat dapat menyembuhkan demensia, tanaman ini dihasilkan oleh tubuh yaitu *Platelet Activating Factor* yang berperan dalam proses penyumbatan pembuluh darah. Sehingga *Ginkgo biloba* dapat memberikan nutrisi bagi peningkatan daya ingat, konsentrasi, penglihatan dan pendengaran. (Talien 2007)

Salah satu keanekaragaman hayati Indonesia yang bisa bermanfaat bagi kesehatan tubuh yakni buah murbei (*Morus alba* L.). Salah satu zat yang terkandung dalam buah murbei adalah antosianin (Aliefa & Yuniarta. 2015). Menurut Brunetti *et al.* (2013) flavonoid yang terdapat dalam tanaman dapat berfungsi sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas baik dalam tanaman maupun dalam tubuh manusia, selain itu flavonoid mampu meningkatkan neurogenesis hipokampus yang berfungsi sebagai pusat learning dan memori di otak (Wang *et al.* 2012).

Antosianin merupakan golongan flavonoid dilaporkan menunjukkan beberapa aktivitas biologi. cyanidin 3- *O* - glucoside dan cyanidin -3-rutinosida merupakan jenis antosianin yang paling dominan pada buah murbei. Secara keseluruhan 64% antosianin buah murbei merupakan cyanidin 3- *O* - glucoside dan 35% adalah cyanidin -3-rutinosida (Stefanut *et al.* 2011).

Cyanidin 3- *O* - glucoside (C3G) memiliki efek protektif sebagai spesies oksigen aktif kerusakan iskemia-reperfusion hati dan model iskemia serebral (Kang *et al.* 2006; Shin *et al.* 2006; Tsuda *et al.* 1999). Antosianin telah terbukti menjadi pelindung terhadap stres oksidatif (Heo & Lee 2005). Beberapa studi juga menyebutkan bahwa senyawa tersebut mampu mencegah obesitas dan diabetes, meningkatkan kemampuan memori otak dan mencegah penyakit neurologis, serta menangkal radikal bebas dalam tubuh (Harborne 1987).

Beberapa penelitian telah menunjukkan kemampuan dari ekstrak buah murbei sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 283,3591 µg/mL (Hilwiyah *et al.* 2015), melindungi terhadap kerusakan otak dalam berbagai kondisi

termasuk penyakit Parkinson (Kim *et al.* 2010). Penelitian Pratchaya dkk. 2013 menyatakan bahwa dosis ekstrak buah murbei sebesar 10 mg/kg BB tikus berefektif dalam demensia vaskular. Khasiat murbei sebagai antioksidan diharapkan dapat meningkatkan fungsi memori kognitif dengan baik. Oleh karena itu, perlu pengembangan penelitian untuk mengetahui seberapa besar kemampuan efektivitas murbei dalam mengatasi fungsi kognitif dengan baik.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L) dan pengaruhnya terhadap daya ingat dengan metode *Morris water maze* sebagai alat yang digunakan untuk uji kognitif yang akan dilakukan pada hewan percobaan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah terkait efek daya ingat sehingga dapat dijadikan alternatif obat untuk gangguan kognitif

B. Rumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.). pada dosis 7 mg/kg, 14 mg/kg, dan 28 mg/kg dapat meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*?

Kedua, berapakah dosis efektif ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) yang dapat meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) terhadap peningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*.

Kedua, untuk mengetahui dosis yang efektif dari ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) yang dapat meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan dan memberikan informasi kepada seluruh lapisan masyarakat bahwa ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) dapat digunakan sebagai obat herbal untuk meningkatkan fungsi memori kognitif.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Buah Murbei (*Morus alba* L.)

1. Sistematika buah Murbei



Gambar 1. Tanaman buah murbei (Sunanto 1997).

- Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisio : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Anak division : Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas : Dicotyledonae (biji berkeping dua)
Bangsa : Rosales
Suku : Moraceae
Marga : Morus
Jenis : *Morus alba* L (Sunanto 1997).

2. Nama lain

Murbei tumbuh baik pada ketinggian lebih dari 100 m dpl dan memerlukan banyak sinar matahari. Murbei memiliki banyak nama yakni: besaran (Indonesia), murbai, besaran (Jawa); kerta, kitau (Sumatera) ; sangye (Cina), maymon, dau tam (Vietnam); morus leaf, morus fruit, mulberry leaf, mulberry bark ; mulberry twigs, white mulberry, mulberry (Inggris) (Chen *et al.* 2006).

3. Morfologi tanaman

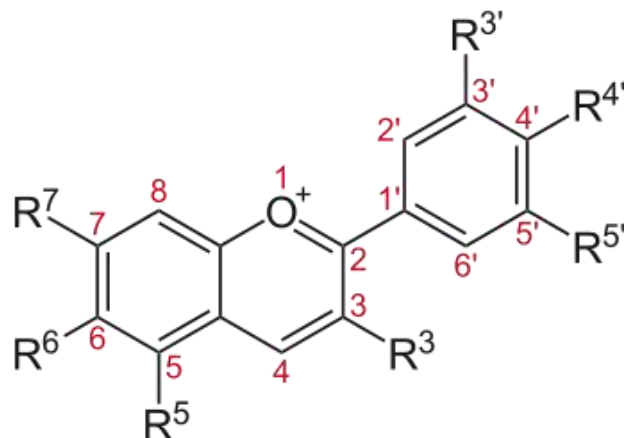
Murbei berasal dari Cina, tumbuh baik pada ketinggian lebih dari 100 m dari atas permukaan laut dan memerlukan cukup sinar matahari. Tumbuhan yang

sudah dibudidayakan ini menyukai daerah-daerah yang cukup basah seperti lereng gunung, tetapi pada tanah yang berdrainase baik. Kadang ditemukan tumbuh liar. Pohon, tinggi sekitar 10-15 m, percabangan banyak, cabang muda berambut halus. Daunnya tunggal dan tumbuh berselang-seling dengan tangkai daun yang panjangnya mencapai 4 cm dan pangkalnya tumpul. Tepi daunnya bergerigi dengan dengan ujung yang runcing dengan permukaan yang kasar baik pada bagian yang atas maupun yang bawah. Panjang daun antara 2,5-20 cm dengan lebar 1,5-12 cm dan berwarna hijau (Anonim 2011).

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada daun mengandung glikosida dan triterpenoid (Ariantari *et al.* 2012). Analisis fitokimia dari ekstrak murbei mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, dan terpenoid (Ahlan *et al.* 2015). Kandungan buah murbei diantaranya adalah cyanidin, isoquercetin, sakarida, asam linoleat, asam stearat, asam oleat dan vitamin (karoten, B1, B2 dan C) (LIPI 2009).

Antosianin merupakan golongan flavonoid dilaporkan menunjukkan beberapa aktivitas biologi. Beberapa senyawa antosianin yang terdapat dalam buah murbei adalah cyanidin 3-*O*-glucoside (C3G) (Kang *et al.* 2006; Shin *et al.* 2006; Tsuda *et al.* 1999). Aktivitas ini dikaitkan dengan sifat antioksidan Antosianin, antara lain karena kemampuan menangkal radikal bebas baik dalam tanaman maupun dalam tubuh manusia (Brunetti *et al.* 2013).



Gambar 2. Struktur Antosianin

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi yang spontan keluar dari tanaman, atau isi sel yang dikeluarkan dari selnya dengan cara tertentu atau zat yang dipisahkan dari tanamannya dengan cara tertentu yang masih belum berupa zat kimia murni (Depkes 1979).

2. Pengeringan

Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak karena terurai oleh enzim yang terdapat pada bahan baku. Enzim yang masih terkandung di dalam simplisia dengan adanya air akan menguraikan bahan berkhasiat yang ada, sehingga senyawa tersebut akan rusak. Pengeringan juga bertujuan untuk mencegah timbulnya jamur serta mikroba lainnya.

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani yang menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes 1995).

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat (Anief 1998).

2. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Proses maserasi diawali dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakan susunan sel sehingga zat-zat akan terlarut. Selanjutnya rendaman

tersebut disimpan agar terlindungi dari cahaya matahari langsung kemudian dikocok kembali (Voigt 1994).

Proses maserasi pada umumnya dapat dilakukan dengan cara : 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan dalam bejana, kemudian ditambah dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindungi dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas, sehingga sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian (Depkes 1986).

3. Pelarut

Pertimbangan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, titik didih, pelarut tidak larut dalam air, pelarut bersifat *inert*, kapasitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut tersebut. Prinsip kelarutan adalah *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar, dan pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Susanti dkk. 2012). Departemen Kesehatan merekomendasikan air, alkohol dan air dengan alkohol untuk cairan penyari ekstrak untuk keperluan bahan baku obat tradisional (Farouq 2003).

Etanol merupakan cairan jernih yang tidak berwarna dengan bau khas. Etanol dalam larutan encer, memiliki rasa agak manis, tapi dalam larutan yang lebih pekat memiliki rasa terbakar. Air merupakan cairan tidak berwarna dan tidak berbau (Shakhashiri 2009). Air merupakan pelarut yang bersifat polar. Polaritas dan titik didih pelarut merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi (Aprianto dkk. 2011). Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut nonpolar, berupa cairan jernih, mudah menguap, berbau seperti eter atau bau seperti petroleum. Praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol mutlak, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzene dan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri non polar seperti lemak steroid, triterpenoid dan karotenoid (Ditjend POM 1985). Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah menguap dan mudah terbakar, penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan cairan penyari jernih tidak

berwana, pada suhu kamar, dengan bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air bercampur etanol dan eter, titik didih 76°C. Senyawa yang dapat larut ke dalam senyawa ini adalah flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon (Harborne 1987).

D. Mencit Putih

1. Sistematika mencit putih

Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Sub Kelas : Placentalia
Bangsa : Rodentia
Suku : Muridae
Marga : Mus
Jenis : *Mus musculus* (Sugiyanto 1995).

Nenek moyang mencit berasal dari mencit liar yang mempunyai warna bulu agouti (abu-abu), sedangkan pada mencit laboratorium lainnya berwarna putih. Mencit hidup dalam daerah yang cukup luas penyebarannya, mulai dari iklim dingin, sedang, maupun panas dan dapat hidup terus menerus dalam kandang atau secara bebas sebagai hewan liar (Malole & Pramono 1989).

2. Biologi mencit

Banyak peneliti yang menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Hewan yang dibutuhkan untuk penelitian di laboratorium ataupun sebagai hewan piaraan adalah hewan yang mempunyai karakteristik produksi cepat, mudah dipelihara dengan biaya murah dan dengan cara penanganan yang mudah. Mencit (*Mus musculus*) adalah salah satu hewan yang banyak digunakan di laboratorium karena memiliki anatomi yang mirip dengan mamalia dan beberapa keunggulan dari mencit antara lain mudah dalam penanganan, siklus hidup pendek, pengadaan hewan ini tidak sulit dan dapat dipelihara dalam kandang yang terbuat dari bahan yang relatif lebih murah, meskipun hewan ini lebih rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus, kuman, jamur, dan cacingan (Malole & Pramono 1989).

3. Karakteristik mencit

Mencit termasuk ke dalam golongan hewan *omnivora*, sehingga mencit dapat memakan semua jenis makanan. Mencit juga termasuk hewan *nocturnal*, yaitu aktivitas hidupnya (seperti aktivitas makan dan minum) lebih banyak terjadi pada sore dan malam hari (Inglis 1980).

E. Ingatan

Proses mengingat terdiri dari beberapa tahap. Pertama-tama informasi diterima oleh modalitas sensorik khusus (misalnya raba, auditif atau visual) dan kemudian diregistrasi. Sekali input memori telah diterima dan diregistrasi, informasi ini disimpan sebentar di memori jangka pendek. Langkah kedua terdiri dari menyimpan dan mempertahankan informasi dalam bentuk yang lebih permanen. Langkah akhir pada proses mengingat adalah memanggil kembali informasi yang disimpan. Tiap tahapan pada seluruh proses memori bertumpu pada integritas langkah-langkah sebelumnya (Guyton 1997).

1. Sistem limbik dan hipokampus

Fungsi otak sebagai pusat penyimpanan memori sebagian besar diatur oleh satu organ yang dinamakan sistem limbik. Sistem limbik lebih merupakan gabungan fungsi. Termasuk di dalamnya bagian dari serebrum, sefalon, diensefalon dan mesensefalon. Fungsi dari sistem limbik meliputi pengaturan emosi, fungsi intelektual otak, dan memfasilitasi penyimpanan memori serta pemanggilan kembali memori tersebut. Bagian terpenting dari sistem limbik yang berhubungan dengan ingatan adalah hipokampus, badan amigdala, dan basal nuklei. Hipokampus merupakan struktur memanjang yang terdiri dari suatu modifikasi korteks serebral, terletak di dasar korteks serebral, berdekatan dengan diensefalon. Hipokampus mempunyai peranan penting dalam proses belajar, terutama dalam penyimpanan dan pemanggilan kembali ingatan jangka panjang. Kerusakan pada hipokampus akan mengakibatkan ketidakmampuan untuk mengubah ingatan jangka pendek menjadi ingatan jangka panjang walaupun ingatan jangka pendek tersebut terus diberikan secara berulang, tetapi orang masih

bisa mengingat ingatan yang disimpan menjadi ingatan jangka panjang sebelum hipokampus rusak (Noverina 2011).

2. Jenis-jenis mengingat

Ingatan sensoris adalah kemampuan untuk menyimpan isyarat sensoris di dalam daerah sensoris otak untuk interval waktu yang sangat singkat setelah pengalaman sensoris yang sebenarnya (Guyton 1997).

Ingatan jangka pendek adalah ingatan mengenai keterangan-keterangan kecil selama beberapa detik sampai satu menit atau lebih pada suatu waktu. Jenis ingatan ini biasanya terbatas dan bila keterangan-keterangan kecil baru dimasukkan ke dalam simpanan jangka pendek ini, beberapa informasi yang lebih lama digantikan (Guyton 1997).

Ingatan jangka panjang merupakan simpanan informasi di dalam otak yang dapat diingat kembali pada suatu waktu dimasa yang akan datang. Ingatan jangka panjang dibagi menjadi dua jenis yang berbeda yaitu ingatan sekunder (ingatan jangka panjang yang disimpan dengan jejak ingatan yang lemah atau hanya sedang) dan ingatan tersier (ingatan yang telah melekat dalam pikiran sehingga ingatan tersebut biasanya dapat bertahan seumur hidup) (Guyton 1997).

3. Faktor yang dapat memicu penurunan daya ingat

Banyak faktor mempengaruhi kecerdasan dan daya ingat seseorang yang dibedakan menjadi faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik diantaranya genetika dan penyakit bawaan, sedangkan faktor ekstrinsik diantaranya kebiasaan, lingkungan, makanan dan penyakit. Faktor genetika dikaitkan dengan anatomi dan fisiologi dari sistem saraf dalam tubuh apakah terjadi ketidaknormalan yang menghambat pembentukan dan penyimpanan memori atau penyakit bawaan yang merusak sistem saraf sejak lahir. Kedua hal tersebut bisa memengaruhi kemampuan sistem saraf untuk menghantarkan rangsang dan kemampuan otak untuk menyimpan dan memanggil kembali memori (Linden dkk. 2008).

F. Demensia

Demensia merupakan gejala lupa yang terjadi pada orang lanjut usia. Demensia ini termasuk gangguan otak yang kronis. Biasanya (tetapi tidak selalu) berkembang secara perlahan-lahan, dimulai dengan gejala depresi yang ringan

atau kecemasan yang kadang-kadang disertai dengan gejala kebingungan, kemudian menjadi parah diiringi dengan hilangnya kemampuan intelektual yang umum atau demensia. Jabaran demensia sekarang adalah kehilangan kemampuan kognisi yang sedemikian berat hingga mengganggu fungsi sosial dan pekerjaan (Kusumoputro 2006).

Menurut Kusumoputro (2006) orang yang mengalami demensia selain mengalami kelemahan kognisi secara bertahap, juga akan mengalami kemunduran aktivitas hidup sehari-hari (*activity of daily living/ADL*) ini pun terjadi secara bertahap dan dapat diamati. Awalnya, kemunduran aktivitas hidup sehari-hari ini adanya ketidakmampuan untuk melakukan aktivitas hidup yang kompleks (*complex activity of daily living*) seperti tidak mampu mengatur keuangan, melakukan korespondensi, bepergian dengan kendaraan umum, mengatur obat-obatan, menggunakan telepon, dan sebagainya. Lambat laun penyandang tersebut tidak mampu melakukan aktivitas hidup sehari-hari yang dasar (*basic activity of daily living*) berupa ketidakmampuan untuk berpakaian, menyisir, mandi, toileting, makan, dan aktivitas hidup sehari-hari yang dasar (*basic ADL*). Jadi proses demensia terjadi secara bertingkat dalam tahapan-tahapan yang dapat diamati dan dikenali kalau saja orang dekatnya waspada.

Akibat proses penuaan akan terjadi kemunduran kemampuan otak. Diantara kemampuan yang menurun secara linier atau seiring dengan proses penuaan (Kuntjoro, 2002):

1. Daya ingat (memori)

Berupa penurunan kemampuan penamaan (*naming*) dan kecepatan mencari kembali informasi yang telah tersimpan dalam pusat memori (*speed of information retrieval from memory*).

2. Intelegensia dasar (*Fluid intelligence*)

Penurunan fungsi otak bagian kanan berupa kesulitan dalam komunikasi non verbal, pemecahan masalah, mengenal wajah orang, kesulitan dalam pemusatan perhatian dan konsentrasi (Flavel, 1997). Penelitian Finkel dan

Pederson (2000), ditemukan bahwa ada hubungan antara bertambahnya umur dengan kecepatan untuk melakukan persepsi. Kemampuan mempersepsi (Perceptual speed) disini seperti melakukan identifikasi suatu objek atau mengingat suatu digit simbol. Kemampuan persepsi ini penting karena akan mempengaruhi kemampuan kognitif seseorang. Biasanya akan mengalami penurunan seiring bertambahnya usia. Kemenkes RI, 2010. *Pedoman rehabilitasi kognitif*. Jakarta: Kemenkes RI.

G. *Gingko Biloba*

Gingko biloba banyak digunakan untuk meningkatkan daya ingat, memiliki kandungan senyawa kimia yang berfungsi meningkatkan daya tahan tubuh dan daya ingat. Khasiat *gingko biloba* memperbaiki dan mencegah menjadi kaku, keras, dan mengendapnya lemak pembuluh darah di seluruh tubuh, termasuk pembuluh darah di otak (Talien 2007).

Uji klinis *Gingko biloba* yaitu salah satu hasil yang sangat menakjubkan dari studi terhadap *Ginkgo* ialah kemampuan tanaman ini untuk menghambat substansi yang dihasilkan oleh tubuh yang disebut *Platelet Activating Factor* (PAF). Pada tahun 1972 ditemukan bahwa PAF ini mempunyai andil sangat besar di dalam proses biologis tubuh manusia seperti penyumbatan dalam pembuluh darah yang menyebabkan serangan jantung dan stroke, serangan asma, dan penolakan tubuh atas organ yang dicangkokkan (Talien 2007). *Gingko biloba* memiliki *Platelet Activating Factor* (PAF) dan dapat menghambat agrasi trombosit dan memperbaiki fungsi kognitif dan memori (Luo 2001; Smith dan Luo 2004).

Manfaat dari *Gingko biloba* ini adalah meningkatkan daya konsentrasi dan kecerdasan, perpaduan dari flavonoida serta terpenoida yaitu kombinasi antara fungsi antioksidan membuat *Ginkgo biloba* berkhasiat sebagai pencair darah dan pembuka saluran pembuluh darah. Khususnya sirkulasi darah ke otak sehingga memberikan ekstra nutrisi yang bermanfaat dalam Peningkatan Daya Ingat, konsentrasi, penglihatan dan pendengaran. Jika aliran darah otak deras mengalir, seluruh sel otak akan cukup makan. *Gingko biloba* juga terlibat dalam

metabolisme, maupun fungsi neurotransmitter otak agar kerja otak optimal, dan tak sampai mengendur (Talien 2007).

H. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya yang ditimbulkan oleh radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif dengan memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi non radikal (Rahmatussolihat 2009). Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami. Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian mengungkapkan bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) ternyata dapat mengakibatkan keracunan pada binatang percobaan dan bersifat karsinogenik. Oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan ensimatik dan non ensimatik. Antioksidan ensimatik disebut juga antioksidan pencegah yang terdiri dari *superoxide dismutase*, *catalase* dan *glutathione peroxidase*. Antioksidan nonensimatik disebut juga antioksidan pemecah rantai yang terdiri dari vitamin C, vitamin E dan beta karotin (Chevion 2003).

I. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak semua oksidan adalah radikal bebas. Oksidan merupakan senyawa yang dapat menerima elektron dan radikal bebas merupakan atom atau gugus dengan orbital luarnya memiliki elektron tidak berpasangan (Nehlig 2010).

Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh. Hal ini terjadi melalui proses metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, maupun sebagai respons adanya radiasi sinar gama, ultraviolet (UV), polusi lingkungan dan asap rokok (Wijaya 1996). Ditambahkan Winarti (2010), faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna

sintetik, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia seperti etanol termasuk obat-obatan. Diet (pola makan sendiri) juga dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas.

Berbagai penelitian melaporkan pengaruh negatif etanol terhadap berbagai organ dan sistem, termasuk sistem gastrointestinal, sistem kardiovaskular, sistem muskuloskeletal, sistem endokrin, sistem uropetika, dan sistem saraf. Etanol dalam tubuh akan dimetabolisme menjadi asetaldehid melalui jalur alkohol dehidrogenase sebesar 80% dan sistem oksidasi etanol mikrosom sebesar 20% yang selanjutnya asetaldehid akan dimetabolisme lebih lanjut menjadi CO₂, air, dan menghasilkan energi. Etanol dapat mengakibatkan kerusakan otak akibat dari produk metabolismenya yang berupa radikal bebas (Zakhari 2006).

Studi *In vitro* menunjukkan bahwa antioksidan eksogen dapat mengurangi toksisitas β -amyloid pada pasien Alzheimer. Diet antioksidan, terutama β -karoten (serta karotenoid lainnya), vitamin C, dan vitamin E, yang terbukti menghambat peroksidasi lipid, produksi ROS, apoptosis, dan kerusakan oksidatif protein dan DNA (Beydoun *et al.* 2015).

J. Metode Uji Daya Ingat

Terdapat beberapa metode untuk menguji daya ingat dan kecerdasan pada hewan percobaan. Kebanyakan dari metode-metode tersebut didasarkan pada perhitungan waktu latensi. Waktu latensi menggambarkan fungsi kognitif penyimpanan memori dinilai dengan respon sewaktu dilakukan uji ulangan dengan kondisi yang sama dan secara pasif membiarkan subyek menentukan dan memutuskan sendiri sesuai dengan fungsi kognitifnya (Herlina 2010).

1. Metode labirin

Uji untuk mengetahui efek farmakologi sebagai peningkat daya ingat. Metode yang digunakan untuk menguji daya ingat antara lain uji labirin. Test ini menggunakan kebiasaan dari hewan mencit dan tikus. Hewan ini akan dilepaskan pada pintu masuk labirin dan dibiarkan beberapa saat untuk menemukan jalan keluar dari labirin tersebut. Tes pembelajaran dilakukan dengan membiasakan

mencit agar dapat mengingat jalan keluar setelah dimasukkan ke dalam labirin. Setelah diberi latihan mencit akan diuji pada hari berikutnya.

Radial Arm Maze merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui perkembangan fungsi kognitif, belajar dan memori tes. Labirin terdiri dari 8 lengan yang pada setiap ujung terdapat makanan. Hewan percobaan harus dapat memasuki bagian lengan agar dapat memperoleh makanan. Parameter waktu yang dibutuhkan untuk memperoleh atau mendapatkan makanan tersebut dihitung sebagai waktu tingkat cerdas. Kelemahan metode ini membutuhkan banyak sekat atau pembatas makanan dan waktu pelatihan yang lebih besar (Peter *et al.* 1997).

Y-Maze pada percobaan daya ingat mencit cenderung mengeksplorasi lengan yang dikunjungi, sehingga mencit tersebut cenderung memasuki 3 lengan secara bergantian. Untuk pergantian efisien, mencit perlu menggunakan memory kerja dan demikian mereka harus mengingat lengan terakhir yang dikunjungi dan secara menerus memperbaharui catatan ingatan tersebut (Wietrzych *et al.* 2005). Terjadi gangguan pada memori spasial dilihat dari rendahnya presentasi pergantian pada 3 lengan karena mencit tersebut tidak mengingat lengan yang baru dikunjungi (Galeano *et al.* 2014)

Rancangan Acak Kelompok (RAK) dimana setelah pemberian ekstrak selama 5 hari dilakukan tahap latihan sebagai proses belajar dan mencatat waktunya yaitu hari ke 8, 9 dan 10. Sebelum memasuki tahap pengujian, labirin disemprot dengan alkohol 70% fungsinya untuk menghilangkan jejak saat latihan. Kemudian dicatat waktunya. Data dianalisis dengan analisis varian tunggal jika signifikan dilanjutkan ke uji BNT 5%. (Christel 2008).

2. Metode *morris water maze*

Faktor berat badan, perkembangan badan, perkembangan fisik, dan usia dapat mempengaruhi kecepatan berenang. Stress mempengaruhi fungsi kognitif (Hooge *et al.* 2001). *Morris water maze* merupakan suatu uji yang menantang bagi mencit karena memerlukan proses pemikiran yang rumit, meliputi lokalisasi spasial berdasarkan petunjuk visual yang secara berurutan melibatkan peristiwa pemrosesan, konsolidasi, retensi, dan retrieval untuk bisa mencapai pada *platform*

yang tersembunyi di *water maze*. Metode *Morris water-maze* secara umum menggunakan kolam air berbentuk bulat dengan air yang dijaga suhunya sesuai suhu ruang serta memiliki *platform* yang tersembunyi di bawah permukaan air. *Platform* disembunyikan dengan cara menambahkan bahan tertentu yaitu susu atau zat pewarna yang tidak berbahaya, agar air terlihat opaque. *Platform* terbuat dari plexiglass yang bening, atau *platform* diberi cat yang sama dengan dasar dan dinding kolam. Beberapa objek gambar dengan bentuk geometri yang berbeda-beda seperti lingkaran, segitiga, persegi, dan lain-lain ditempelkan pada dinding kolam untuk menandai kuadran kolam dan dapat digunakan mencit sebagai alat bantu navigasi dalam kolam. Mencit secara individu dimasukkan dalam kolam untuk kemudian dicatat waktu dan jarak tempuh yang dibutuhkan untuk mencapai *platform*. Mencit yang menggunakan navigasi visuospatial dianggap mempunyai kontribusi yang sama pada manusia untuk penggunaan proses kognitif sehari-hari. Oleh karena itu, model uji menggunakan *Morris water-maze* dianggap relevan dengan studi pada penyakit neurodegenerative atau neuropsikiatri di mana terdapat gangguan fungsi memori (Alvin *et al.* 2009).

Morris water maze berupa kolam berbentuk drum sirkuler berukuran diameter 1,8 m dan tinggi 0,5 m. Kolam diisi air hingga kedalaman 0,2 m. *Platform* berbentuk sirkuler berwarna putih dengan diameter 13 cm dan tinggi 18 cm ditempatkan 2 cm di bawah permukaan air. Agar *platform* tidak terlihat, digunakan zat pewarna putih yang ditambahkan ke dalam air. Sebuah kamera video ditempatkan di atas kolam untuk merekam. Permukaan drum dibagi menjadi 4 kuadran A, B, C, D. Sebelum diberikan perlakuan diuji dahulu dengan *Morris water maze* metode *hidden platform test (escape latency)* selama 5 hari berturut-turut untuk dihitung waktunya mencapai *platform*. Tiap hari dilakukan 2 kali percobaan pada tiap mencit (Alvin *et al.* 2009). Tahap dalam metode *Morris water maze* yaitu tes *acquisition trial*, tes *probe trial*, dan uji kemampuan sensori motoris. Pada tahap tes *acquisition trial* merupakan tes untuk melihat latihan pembelajaran untuk pembentukan memori spasial selama 5 hari. tahap tes *probe trial* untuk melihat fungsi memori hewan uji. Pada tahap akhir dilakukan uji kemampuan sensori motoris untuk kemampuan hewan uji dalam berenang sebagai

motoris dan indra penglihatan sebagai sensoris untuk memotivasi hewan keluar dari air.

a. *Test acquisition trial*

Acquisition trial adalah tes untuk melihat fase latihan sebagai proses pembelajaran untuk pembentukan memori spasial. Fase ini dilakukan selama 5 hari berturut-turut dengan 4 latihan perhari. *Acquisition trial* dilakukan selama 5 hari. Mencit dilatih untuk menemukan *platform* yang terletak 2 cm dibawah permukaan air pada salah satu kuadran sebanyak empat kali per hari. Pada awal percobaan mencit dimasukan ke dalam kolam pada salah satu kuadran secara random. Waktu diakhiri jika mencit telah mencapai *platform*. Jika mencit tidak berhasil menemukan *platform* dan ditempatkan di atas *platform* selama 15 detik sebelum latihan berikutnya. Waktu dan jarak tempuh mencit mencapai *platform* dicatat. Waktu yang dibutuhkan mencit untuk sampai ke *platform* disebut *escape latency* (Vorhees & Williams 2006). Mencit istirahat 30 detik di *platform*, lalu dikeringkan dan dikembalikan ke dalam kandang untuk menghangatkan tubuh sebelum dilakukan percobaan lagi berikutnya. Setiap kali percobaan harus selesai dalam waktu 90 detik. Bila dalam 90 detik mencit gagal mencapai *platform*, maka mencit dituntun ke arah *platform* dan dibiarkan selama 15 detik untuk beristirahat. Setelah itu, mencit diletakkan kembali ke kandang untuk persiapan diadakan percobaan berikutnya.

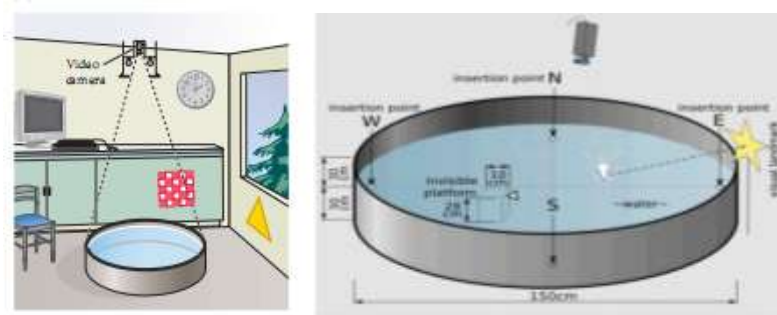
b. *Tes porbe trial*

Porbe trial adalah tes untuk melihat fungsi memori hewan uji yaitu kemampuan penyimpanan memori spasial setelah fase pembelajaran pada *acquisition trial*. *Porbe trial* dilakukan selama satu hari dengan empat kali tes. Pada *porbe trial* mencit dibiarkan berenang selama 60 detik tanpa *platform*. Kemudian dilakukan pencatatan terhadap waktu lamanya mencit berada di kuadran letak *platform*, hal ini juga dilakukan sebanyak empat kali tiap mencit (Vorhees & Williams 2006).

c. Uji kemampuan sensorimotoris

Pada uji kemampuan sesorimotoris digunakan sebagai kemampuan indra penglihatan mencit sebagai kemampuan sensoris, dan motivasi mencit untuk

keluar dari air sebagai faktor yang akan mempengaruhi kecepatan berenang mencit sehingga tidak akan menggambarkan kemampuan belajar maupun fungsi memori spasial mencit karena mencit tidak harus mencari dan mengingat letak *platform* tetapi cukup melihat tanda untuk bisa menemukan posisi *platform*. Pada uji kemampuan sesorimotoris, *platform* terletak 2 cm di bawah air diberi penanda dengan warna mencolok. Letak *platform* diubah-ubah pada kuadran yang berbeda tiap latihan. Mencit dimasukan pada salah satu kuadran kecuali pada kuadran yang ditempati *platform*. Tiap mencit dilatih empat kali, jika selama 60 detik mencit tidak mencapai *platform* maka mencit akan dibimbing untuk menemukan *platform*. Waktu tempuh mencit untuk menemukan *platform* dicatat (Vorhees & Williams 2006).



Gambar 3. Skema alat *Morris water maze* (Alvin et al., 2009)

J. Landasan Teori

Demensia adalah suatu gangguan fungsi daya ingat yang terjadi secara perlahan-lahan, sehingga dapat mengganggu kinerja dan aktivitas kehidupan sehari-hari. Umumnya penyakit demensia dikarenakan adanya kerusakan sel otak yang menumpuk dapat disebabkan oleh aktivitas fisik, aktivitas kognitif maupun radikal bebas. Kemampuan dalam mengingat yang menurun dapat disebabkan usia yang bertambah, stress, obat-obatan dan makanan. Penuaan otak ditandai dengan penurunan kognitif dan memori yang bisa menjadi hasil dari stres oksidatif dan terganggunya fungsi kolinergik (Papandreou *et al.* 2011).

Pada penelitian ini menggunakan buah murbei yang memiliki banyak kegunaan dalam kesehatan. Salah satu zat yang terkandung dalam buah murbei

adalah antosianin yang merupakan sub tipe senyawa organik dari golongan flavonoid. Flavonoid mampu meningkatkan neurogenesis hipokampus yang berfungsi sebagai pusat learning dan memori di otak (Wang et al. 2012). Senyawa antosianin memiliki kemampuan yang tinggi sebagai antioksidan karena kemampuannya menangkap radikal bebas dan menghambat peroksidasi lemak, penyebab utama kerusakan pada sel yang berasosiasi dengan terjadinya penuaan dan penyakit degeneratif (Cevallos-Casals dan Cisneros Zevallos 2002; Suda *et al.* 2003). Beberapa senyawa antosianin yang terdapat dalam buah murbei adalah cyanidin 3- *O* - glucoside (C3G) memiliki efek protektif sebagai spesies oksigen aktif kerusakan iskemia-reperfusi hati dan model iskemia serebral (Kang *et al.* 2006; Shin *et al.* 2006; Tsuda *et al.* 1999).

Antosianin telah terbukti menjadi pelindung terhadap stres oksidatif (Kang *et al.*, 2005; Heo & Lee 2005). Stres oksidatif diperkirakan menjadi salah satu faktor yang mengurangi kinerja kognitif dan motorik pada penyakit neurodegeneratif, mekanisme pertahanan oksidatif seperti katalase dan GSH menurun, kerusakan sementara terhadap molekul oksidatif seperti peningkatan radikal hidroksil dan peroxynitrite. Peningkatan aktivitas antioksidan telah dikaitkan dengan perlindungan terhadap penyakit neurodegenerative, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan dosis efektif yang terbukti mampu beraktifitas dalam peningkatan daya ingat.

Induksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol karena mempunyai pengaruh negatif terhadap berbagai organ dan sistem, termasuk sistem gastrointestinal, sistem kardiovasa, sistem musculoskeletal, sistem endokrin, sistem uropetika, dan sistem saraf. Etanol dalam tubuh akan dimetabolisme menjadi asetaldehid melalui jalur alkohol dehidrogenase sebesar 80% dan sistem oksidasi etanol mikrosom sebesar 20% yang selanjutnya asetaldehid akan dimetabolisme lebih lanjut menjadi CO₂, air, dan menghasilkan energi. Etanol dapat mengakibatkan kerusakan otak akibat dari produk metabolismenya yang berupa radikal bebas (Zakhari 2006). Dosis tinggi etanol

dapat mengganggu proses pengkodean memori dan menyebabkan amnesia *anterograde*, kondisi ini sering disebut sebagai *alcoholic blackouts*, dimana individu tersebut akan kesulitan mengingat seluruh atau sebagian pengalaman saat mengkonsumsi etanol berlebih.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Morris water maze dengan cara menghitung waktu tempuh yang dibutuhkan sampai mencapai platform untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah murbei pada hewan uji sebagai peningkat memori fungsi kognitif pada mencit. Penelitian sebelumnya (Hilwiyah *et al.* 2015) telah membuktikan bahwa buah murbei memiliki aktifitas antioksidan. Penelitian (Pratchaya *et al.* 2012) mempunyai potensi ekstrak buah murbei untuk meningkatkan efek kognitif dalam model demensia vaskular dan didapatkan hasil ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) dengan dosis efektif 10 mg/kg bb tikus atau pada mencit sebesar 14 mg/kg bb mencit maka pada penelitian ini menggunakan variasi dosis sebesar 7 mg/kg bb mencit, 14 mg/kg bb mencit, dan 28 mg/kg bb mencit diharapkan dosis yang efektif dapat mempengaruhi daya ingat untuk pengobatan penyakit demensia.

K. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah:

Pertama, pemberian ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) pada dosis 7 mg/kg, 14 mg/kg, dan 28 mg/kg dapat meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*.

Kedua, ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) dengan dosis 7 mg/kg mencit dapat meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah murbei (*Morus alba* L.) yang berbuah di daerah Malang, Jawa Timur.

Sampel yang digunakan adalah buah murbei diambil secara acak, dipilih buah yang segar, bebas dari hama, berwarna merah kehitaman jika sudah masak dapat diperoleh dari Malang, Jawa Timur pada bulan Januari 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.). Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah pengaruh pemberian ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) terhadap peningkatan daya ingat. Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah hewan uji mencit putih (*Mus musculus*) dan kondisinya. Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah metode *Morris water maze*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak etanol buah murbei.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, lingkungan hidup, jenis kelamin, galur, kondisi percobaan, laboratorium dan penelitian.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya ingat mencit jantan *Swiss* setelah diberi perlakuan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, serbuk buah murbei adalah serbuk hasil ekstraksi tanaman murbei bagian buah dari tanaman murbei yang diperoleh di daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak buah murbei dalam hasil ekstraksi dari murbei dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan pada evaporator dengan suhu 50⁰C sampai didapatkan ekstrak kental buah murbei.

Ketiga, hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit putih yang berumur 6-8 minggu dengan berat badan \pm 20 gram.

Keempat, peningkatan daya ingat adalah merupakan kemampuan mengingat kembali pengalaman yang telah berlalu atau terlewat.

Kelima, metode yang digunakan untuk peningkatan daya ingat adalah Morris water maze. *Morris water maze* merupakan suatu uji yang menantang bagi mencit karena memerlukan proses pemikiran yang rumit, meliputi lokalisasi spasial berdasarkan petunjuk visual yang secara berurutan melibatkan peristiwa pemrosesan, konsolidasi, retensi, dan retrieval untuk bisa mencapai pada *platform* yang tersembunyi di *water maze*, yang dibagi dalam kelompok uji, kontrol obat dan kontrol sakit.

C. Bahan dan Alat

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan spuit injeksi, alat - alat gelas (pyrex), magnetic stirrer, rotary evaporator Heidolph, alat moisture balance, tabung reaksi mortar, dan stamper. Alat maserasi yaitu botol gelas yang berwarna gelap berukuran 2500 ml tertutup, kain flanel corong gelas, oven, alat penimbang digunakan timbangan listrik AEG-120 Shimadzu, labu takar 50 ml, spuit insulin skala 0,01 ml dan alat uji daya ingat menggunakan metode Morris water maze, video camera, hair dryer, kain.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak maserasi buah murbei yang diperoleh dari Malang yang telah dinyatakan bebas

dari hama dan telah melalui prosedur pemanenan yang tepat dan menggunakan bahan penyari yaitu etanol 70%. *Ginkgo biloba*, CMC 1%,

3. Hewan percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) yang berumur 6-8 minggu. Pengelompokan dilakukan secara acak terdiri dari 5 ekor mencit. Pengelompokan dibagi menjadi 5 kelompok uji, kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Pemilihan mencit sebagai hewan uji didasarkan atas karakteristik mencit yang mudah ditangani, penakut, fotofobik, cenderung bersembunyi dan aktif pada malam hari (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi buah murbei yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel buah murbei yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman secara makroskopis dari buah murbei. Determinasi tanaman buah murbei dilakukan di Laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah.

2. Penetapan susut pengeringan serbuk buah murbei

Penetapan susut pengeringan serbuk buah murbei (*Morus alba* L.) dilakukan dengan cara menimbang serbuk buah murbei (*Morus alba* L.) sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam wadah, kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 105°C dan waktu yang digunakan untuk mengukur kadar air ditunggu selama 5 menit baru dibaca skala kadar airnya. Penandaan hasil analisa setelah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sebanyak 3 kali. Hasil yang bagus pengukuran kadar air kurang dari 10%.

3. Pembuatan serbuk

Buah murbei yang sudah bersih dirajang menjadi 4 bagian kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven suhu 50°C sampai kering. Tujuan dari pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air, mencegah terjadinya perubahan

kimiawi dan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu, menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri, dan memudahkan dalam proses pembuatan serbuk (Ansel 1989). Buah murbei yang sudah kering, selanjutnya dibuat serbuk menggunakan blender, kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran nomor 40. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering tertutup rapat, selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Pembuatan ekstrak maserasi buah murbei

Serbuk buah murbei (*Morus alba* L.) kering yang sudah jadi kemudian ditimbang setelah itu dimasukkan ke dalam botol tertutup berwarna gelap lalu ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Campuran tersebut ditutup kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali dikocok. Setelah 5 hari maserat disaring dengan kain flanel, ampas dicuci dengan 2,5 bagian pelarut. Ampas kemudian dimaserasi lagi dengan jumlah pelarut yang sama selama 5 hari. Sari yang diperoleh disatukan lalu dipekatkan dalam evaporator dengan suhu dibawah 50°C sampai didapatkan ekstrak kental buah murbei (*Morus alba* L.)

5. Penetapan susut pengeringan ekstrak buah murbei

Penetapan susut pengeringan ekstrak buah murbei (*Morus alba* L.) dilakukan dengan cara menimbang ekstrak buah murbei (*Morus alba* L.) sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam wadah, kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 105°C dan waktu yang digunakan untuk mengukur kadar air ditunggu selama 5 menit baru dibaca skala kadar airnya. Penandaan hasil analisa setelah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sebanyak 3 kali. Hasil yang bagus pengukuran kadar air kurang dari 10%.

6. Identifikasi kandungan kimia

Tujuan identifikasi kandungan kimia adalah untuk mengetahui zat aktif kandungan kimia pada buah murbei (*Morus alba* L.) yang dipakai dalam pengobatan. Identifikasi kandungan kimia tanaman dilakukan sesuai dengan kandungan dari tanaman tersebut. Kandungan yang terdapat dalam buah murbei meliputi; flavonoid, alkaloid, polifenol, dan terpenoid.

6.1. Identifikasi antosianin . Sebanyak 1 ml ekstrak ditambah 2 ml HCL 2 M dan dipanaskan dalam suhu 100°C selama 5 menit. Apabila terjadi perubahan warna ungu menjadi merah, berarti sampel mengandung antosianin (Koswara dan Sutrisno 2009).

6.2. Identifikasi flavonoid. Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan ekstrak dilarutkan dalam 10 ml air dipanaskan 15 menit kemudian disaring. Filtratnya ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 2 ml larutan etanol-asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran ini dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan beberapa saat agar memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes, 1979).

6.3. Identifikasi alkaloid. Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba L.*) dengan beberapa tetes reagen Mayer dan Dragendorff. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga pada reagen Dragendorff (Harborne, 1987; Kristanti *et al.* 2008).

6.4. Identifikasi polifenol. Uji fenolik dilakukan dengan mereaksikan ekstrak etanol buah murbei dengan larutan FeCl₃ 1%. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman (Harborne, 1987).

6.5. Identifikasi terpenoid. Sejumlah ekstrak ditambahkan 1 ml larutan asetat anhidrat dan 1 ml larutan asam sulfat pekat. Munculnya warna hijau sampai biru menunjukkan adanya terpenoid (Harborne, 1987).

7. Uji bebas alkohol

Masing-masing ekstrak etanol buah murbei diuji alkoholnya dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Masing-masing ekstrak alkohol tersebut ditambahkan asam sulfat pekat dan asam asetat kemudian dipanaskan. Adanya sisa alkohol ditandai dengan aroma ester yang khas.

8. Pembuatan larutan stok CMC 1%

Larutan CMC dibuat dengan konsentrasi 1% artinya ditimbang serbuk CMC sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan dalam mortir dilarutkan dengan air panas dan ditambahkan aquades hingga volume 100 ml.

9. Penentuan dosis

Penentuan dosis ekstrak buah murbei didasarkan pada dosis penelitian sebelumnya (Pratchaya *et al.* 2013) yaitu dosis buah murbei yang efektif 10 mg/kg bb tikus. Dikonversi kedalam bb mencit menjadi 14 mg/kg bb mencit, Sehingga variasi dosis yang digunakan adalah 7 mg/kg bb mencit, 14 mg/kg bb mencit, dan 28 mg/kg bb mencit.

10. Pengelompokan hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih (*Mus musculus*). Mencit mudah ditangani karena ukurannya yang kecil cara penanganannya jauh lebih mudah dan lebih ekonomis. Sebelum dilakukan percobaan mencit terlebih dahulu diakliminasi selama 1 minggu disesuaikan dengan kondisi kemudian ditimbang berat badannya. Mencit dipuaskan terlebih dahulu diberi makan dan minum. Dalam penelitian ini digunakan mencit sebanyak 30 ekor dengan 6 kelompok uji, dengan masing-masing kelompok uji terdiri dari 5 ekor mencit.

Kelompok I = Kelompok normal.

Kelompok II = Kontrol negatif diberikan Na-CMC 1%.

Kelompok III = Kontrol positif diberikan *Gingko biloba* sebagai kontrol positif.

Kelompok IV = Kelompok perlakuan I diberi ekstrak buah murbei dosis 7 mg/Kg BB

Kelompok V = Kelompok perlakuan II diberi ekstrak buah murbei dengan dosis 14 mg/kg BB

Kelompok VI = Kelompok perlakuan III diberi ekstrak buah murbei dengan dosis 28 mg/kg BB

11. Pengujian memori dengan *Morris water maze*

Morris water maze berupa kolam berbentuk drum sirkuler berukuran diameter 1,8 m dan tinggi 0,5 m. Kolam tersebut diisi dengan air hingga kedalaman 0,2 m. Terdapat pula sebuah *platform* berbentuk sirkuler berwarna putih dengan diameter 13 cm dan tinggi 18 cm ditempatkan 2 cm di bawah permukaan air. Agar *platform* tidak terlihat, digunakan zat pewarna putih yang ditambahkan ke dalam air. Sebuah kamera video ditempatkan di atas kolam untuk

merekam. Permukaan drum dibagi menjadi 4 kuadran A, B, C, D. Uji memori spasial dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan untuk membandingkan memori spasial mencit sebelum dan sesudah perlakuan pada tiap kelompok mencit. Uji *Morris water maze* terdiri dari *acquisition trial*, *probe trial*, dan uji sensorimotoris. *Acquisition trial* dilakukan selama 5 hari. Mencit dilatih untuk menemukan *platform* yang terletak 2 cm dibawah permukaan air pada salah satu kuadran sebanyak 2 kali per hari. Pada awal percobaan mencit dimasukan ke dalam kolam pada salah satu kuadran secara random. Waktu diakhiri jika mencit telah mencapai *platform*. Jika mencit tidak berhasil menemukan *platform* dan ditempatkan di atas *platform* selama 15 detik sebelum latihan berikutnya. Waktu dan jarak tempuh mencit mencapai *platform* dicatat. Waktu yang dibutuhkan mencit untuk sampai ke *platform* disebut *escape latency*. Mencit istirahat 30 detik di *platform*, lalu dikeringkan dan dikembalikan ke dalam kandang untuk menghangatkan tubuh sebelum dilakukan percobaan lagi berikutnya. Setiap kali percobaan harus selesai dalam waktu 90 detik. Bila dalam 90 detik mencit gagal mencapai *platform*, maka mencit dituntun ke arah *platform* dan dibiarkan selama 15 detik untuk beristirahat. Setelah itu, mencit diletakkan kembali ke kandang untuk persiapan diadakan percobaan berikutnya. *Probe trial* mencit dibiarkan berenang selama 60 detik tanpa *platform*. Kemudian dilakukan pencatatan terhadap waktu lamanya mencit berada di kuadran letak *platform*, hal ini juga dilakukan sebanyak 2 kali tiap mencit. Pada uji kemampuan sensorimotoris, *platform* terletak 2 cm dibawah air diberi penanda dengan warna mencolok. Letak *platform* diubah-ubah pada kuadran yang berbeda tiap latihan. Mencit dimasukan pada salah satu kuadran kecuali pada kuadran yang ditempati *platform*. Tiap mencit dilatih empat kali, jika selama 90 detik mencit tidak mencapai *platform* maka mencit akan dibimbing untuk menemukan *platform*. Waktu tempuh mencit untuk menemukan *platform* dicatat (Vorhees & Williams, 2006).

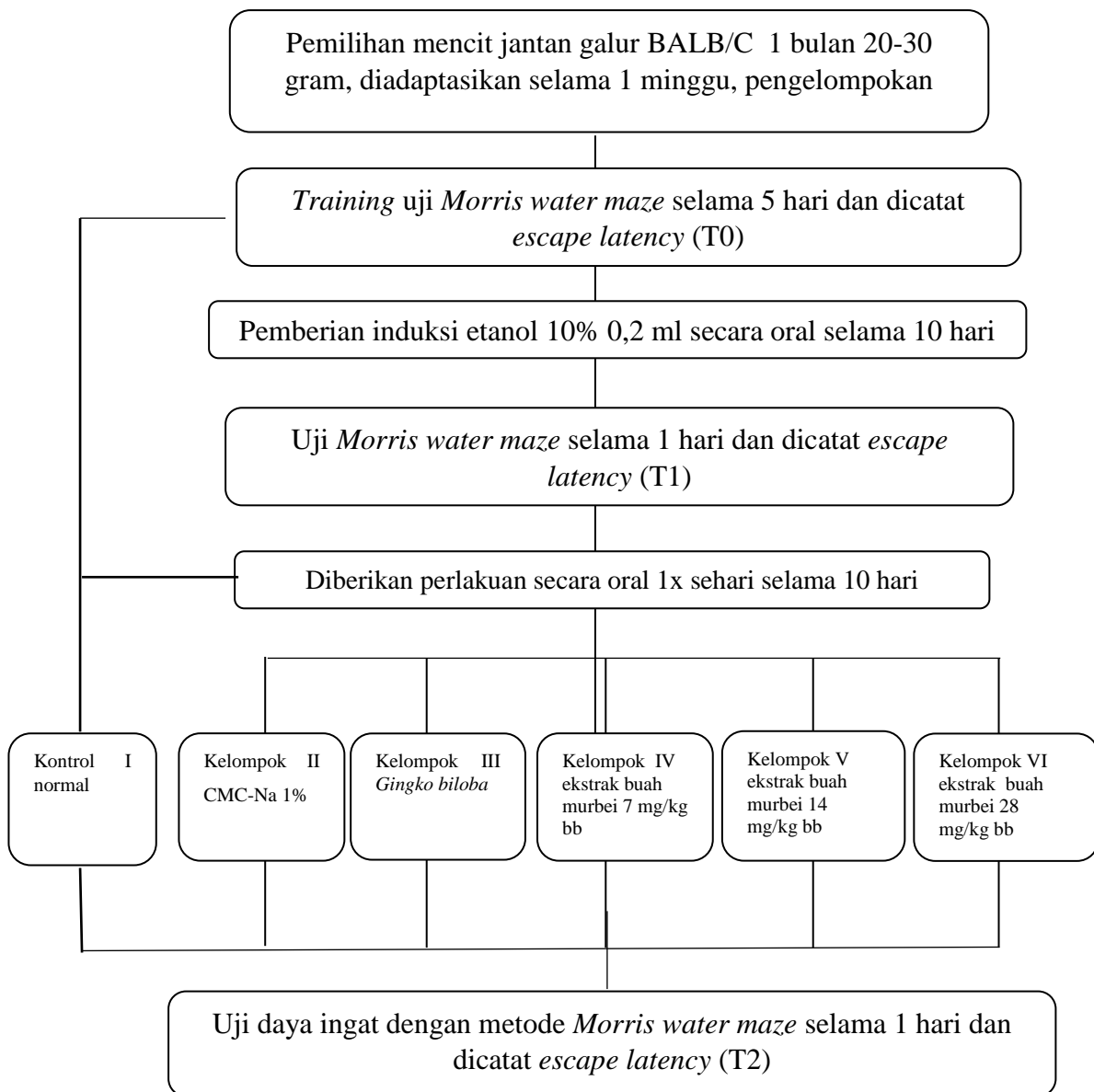
Pada hewan uji dilakukan adaptasi meliputi pakan, penekanan konsep *Morris water maze*, kebersihan kandang dan menjaga kondisi hewan agar tidak stress selama 7 hari. Pada tahap pertama hewan percobaan setelah mengalami penyesuaian terhadap lingkungan dan kondisi sekitar kemudian dilakukan uji

Morris water maze tanpa pemberian ekstrak selama 5 hari. Pada hari ke 5 menghitung nilai T0, kemudian diinduksi dengan etanol 10 % untuk mengetahui kondisi awal dari kemampuan kognitif mencit selama 10 hari lalu dilakukan uji *Morris water maze* 2 kali dalam sehari dan menghitung nilai T1 untuk setiap hewan uji dari masing – masing kelompok perlakuan.

Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, setiap kelompok masing-masing 5 ekor. Kelompok normal, Kelompok kontrol positif ekstrak *Ginkgo biloba*, kelompok kontrol negatif diberi larutan CMC 1% secara peroral. Kelompok perlakuan I diberi dosis ekstrak buah murbei (7 mg/kg BB), kelompok perlakuan II diberi dosis ekstrak buah murbei (14 mg/kg BB), kelompok perlakuan III diberi dosis buah murbei (28 mg/kg BB). Perlakuan dilakukan selama 10 hari dengan uji *Morris water maze* 2 kali dalam sehari dan menghitung nilai T2.

12. Analisis statistik

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji distribusi normal (Kolmogorov-Smirnov), jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji non parametik, sedangkan jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji parametik (ANOVA). Analisa statistik pada penelitian ini menggunakan ANOVA satu jalan. Uji dilanjutkan dengan *Post Hoc* test untuk melihat apakah terdapat perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.



Gambar 4. Skema pengujian kelompok perlakuan

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi buah murbei (*Morus alba* L) telah dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah. Determinasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Berdasarkan lampiran 1 surat determinasi nomor : 200/UN27.9.6.4/Lab/2016 dipastikan bahwa sampel yang diambil adalah *Morus alba* L.

B. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk dan Ekstrak Buah Murbei

Penetapan susut pengeringan buah murbei dapat diketahui dengan alat *moisture balance*. Tujuan mengetahui susut pengeringan adalah memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil perolehan susut pengeringan serbuk buah murbei dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah murbei

| No | Penimbangan awal (g) | Penimbangan akhir (g) | Susut pengeringan (%) |
|-----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 2 | 1,90 | 5,00 |
| 2 | 2 | 1,91 | 4,50 |
| 3 | 2 | 1,92 | 4,00 |
| Rata-rata | | | 4,50±0,5 |

Dapat dilihat pada tabel 1, hasil penimbangan serbuk buah murbei sebanyak 2 gram dihasilkan susut pengeringan sebesar 4,50%. Pengujian susut pengeringan ekstrak buah murbei dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak buah murbei

| No | Penimbangan awal (g) | Penimbangan akhir (g) | Susut pengeringan (%) |
|-----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 2 | 1,95 | 2,20 |
| 2 | 2 | 1,95 | 2,20 |
| 3 | 2 | 1,91 | 4,50 |
| Rata-rata | | | 2,96 ±1,327 |

Hasil pengujian susut pengeringan pada ekstrak buah murbei sebanyak gram adalah 2,96%. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan serbuk dan ekstrak buah murbei memenuhi syarat, yaitu tidak boleh lebih dari 10% (Depkes RI 1979). Perhitungan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 10.

C. Hasil Ekstrak Buah Murbei

Pada penelitian ini digunakan satu metode pengambilan senyawa aktif yaitu metode maserasi. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi karena mudah dilakukan alat yang digunakan sederhana, dan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang termolabil terhadap pemanasan dan biasanya digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif yang mudah larut dalam pelarut dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari (Voight R. 1994).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%, karena etanol merupakan pelarut universal, sehingga dapat menarik sebagian senyawa yang ada pada simplisia tersebut. Selain itu, pelarut etanol bersifat netral, tidak toksik dibanding metanol, absorpsinya baik, serta tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan dapat memperbaiki stabilitas bahan tanaman obat (Depkes RI 1986).

Wadah maserasi yang digunakan berkaca gelap untuk menghindari dari sinar matahari langsung. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar. Proses penguapan dilakukan dengan *rotatory evaporator*, keuntungannya agar tidak mengurangi tekanan udara pada permukaan sehingga tekanan uap pelarut menurun serta titik didih pelarut juga turun. Selain itu dapat mencegah terurai atau rusaknya senyawa aktif yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Hasil ekstrak kental etanol yang didapatkan dari 500 gram serbuk adalah 313,41 gram dengan rendemen 62,72%. Data hasil pembuatan ekstrak maserasi buah murbei dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 3. Hasil perhitungan ekstrak etanol buah murbei

| Berat awal serbuk (gram) | Berat wadah | | Bagian kental (gram) | Rendemen (%) |
|--------------------------|---------------|--------------|----------------------|--------------|
| | Kosong (gram) | + Zat (gram) | | |
| 500 | 186,59 | 500,21 | 313,62 | 62,72 |

Hasil ekstrak buah murbei siap digunakan untuk penelitian. Perhitungan hasil ekstrak etanol buah murbei terdapat pada lampiran 10.

D. Hasil Identifikasi Kandungan Buah Murbei

Sebelum digunakan dalam penelitian dilakukan identifikasi kualitatif kandungan kimia pada ekstrak dan serbuk buah murbei untuk memastikan adanya senyawa golongan flavonoid, alkaloid, polifenol, steroid.

Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan senyawa buah murbei

| Identifikasi | Pereaksi | Hasil | Pustaka |
|--------------|---|----------------------------|--|
| Antosianin | Ekstrak + HCl 2M kemudian dipanaskan 100°C selama 5 menit. | Warna merah | Terbentuk warna merah |
| Flavonoid | Ekstrak + serbuk mg, + 2ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan 5 ml pelarut amyl alkohol. Dikocok. | Larutan berwarna merah tua | Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah tua atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. |
| Alkaloid | Ekstrak + HCL 2N dipanaskan + reagen Dragendorff | Endapan jingga | Terbentuk endapan jingga. |
| Polifenol | Sampel + air panas 10 ml + FeCl ₃ 1% | Warna hijau kehitam | Terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru, atau hijau kehitaman. |
| Terpenoid | Sampel+ 1 ml larutan asetat Anhidrat + 1 ml larutan asam sulfat pekat | Warna hijau | Munculnya warna hijau sampai biru. |

Hasil identifikasi kualitatif kandungan senyawa terhadap serbuk maupun ekstrak buah murbei adalah positif sehingga menunjukkan bahwa pada buah murbei mengandung flavonoid, alkaloid, polifenol, dan terpenoid. Hal ini dapat diketahui dengan membandingkan hasil uji kualitatif yang dilakukan dengan pustaka. Foto hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak buah murbei secara kualitatif dapat dilihat pada lampiran 9.

E. Hasil Uji Bebas Alkohol Buah Murbei

Ekstrak etanol buah murbei diuji alkoholnya dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Masing-masing ekstrak alkohol tersebut ditambahkan asam

sulfat pekat dan asam asetat kemudian dipanaskan. Adanya sisa alkohol ditandai dengan aroma ester yang khas.

Tabel 5. Hasil tes bebas alkohol

| Tanaman | Tes bebas alkohol | Hasil Uji |
|----------------|--|-----------------------------------|
| Buah Murbei | Ekstrak buah murbei + asam sulfat pekat + CH ₃ COOH dipanaskan. | Tidak tercium bau ester yang khas |

Hasil uji bebas alkohol berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini benar-benar bebas dari alkohol.

F. Hasil Uji Daya Ingat

1. Peningkatan daya ingat menggunakan *Morris water maze*

Uji *Morris water maze* akan menggambarkan memori spasial pada mencit. Memori spasial pada hewan perlakuan berperan dalam menemukan lokasi yang menyediakan makanan dan keselamatan untuk mempertahankan hidup. Memori spasial pada hewan sama dengan memori deklaratif pada manusia. Memori deklaratif adalah memori tentang suatu objek yang berhubungan dengan lingkungan sekitarnya (Dogru *et al.*, 2003). *Morris water maze* merupakan suatu uji yang menantang bagi mencit karena memerlukan proses pemikiran yang rumit, meliputi lokalisasi spasial berdasarkan petunjuk visual yang secara berurutan melibatkan peristiwa pemrosesan, konsolidasi, retensi, dan retrieval untuk bisa mencapai pada *platform* yang tersembunyi di *water maze*. Beberapa objek gambar dengan bentuk geometri yang berbeda-beda seperti lingkaran, segitiga, persegi, dan lain-lain ditempelkan pada dinding kolom untuk menandai kuadran kolam dan dapat digunakan mencit sebagai alat bantu navigasi dalam kolam (Alvin *et al.*, 2009).

Perlakuan dilakukan pada 6 kelompok percobaan untuk masing-masing kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok uji tanpa diberi perlakuan induksi etanol 10% sebagai kontrol normal kelompok 2 merupakan kelompok uji yang diberikan Na-CMC 1% sebagai kontrol negatif; kelompok 3 kelompok uji yang diberikan *Gingko biloba* 65 mg/Kg BB mencit sebagai kontrol positif; kelompok 4 merupakan kelompok uji yang diberikan dosis ekstrak buah murbei 7 mg/Kg BB mencit; kelompok 5 kelompok uji yang diberikan dosis ekstrak buah murbei 14

mg/Kg BB mencit; kelompok 6 kelompok uji yang diberikan dosis ekstrak buah murbei 28 mg/Kg BB mencit. Hewan uji lebih dahulu diadaptasikan dengan lingkungan tempat uji selama 7 hari dan diberikan makanan dan minuman secara teratur. Selanjutnya penimbangan bobot hewan uji untuk disesuaikan dengan volume dosis pemberian. Data bobot hewan uji dan volume pemberian dapat dilihat pada lampiran 11.

2. Hasil setelah pemberian induksi etanol dan pemberian perlakuan

Tabel 6. Rata-rata *escape latency* T0, T1 dan T2

| Kelompok | Perlakuan | Rata-rata | | | Selisih $\Delta T1 - T2$ (detik) |
|----------|--|------------|-------------|------------|-------------------------------------|
| | | T0 (detik) | T1 (detik) | T2 (detik) | |
| I | Normal | 14±4,89 | 15,5±8,02 | 14,5±8,34 | 1±1,41 |
| II | Kontrol negatif | 8,25±6,65 | 18,25±18,25 | 20,5±4,79 | -2,25±1,5 ^b |
| III | Kontrol positif | 12±6,51 | 37,8±13,21 | 7,4±2,79 | 30,4±13,37 ^a |
| IV | Dosis ekstrak buah murbei 7 mg/Kg BB mencit | 13,75±6,29 | 32,75±11,89 | 11,75±2,75 | 21±9,41 ^a |
| V | Dosis ekstrak buah murbei 14 mg/Kg BB mencit | 14,75±7,41 | 40,75±12,84 | 11±4,83 | 29,75±8,01 ^a |
| VI | Dosis ekstrak buah murbei 28 mg/Kg BB mencit | 10,4±3,20 | 35±11,70 | 8,8±2,77 | 26,2±11,34 ^a |

Keterangan:

T0 : rata-rata *escape latency* awal pada hari ke 5

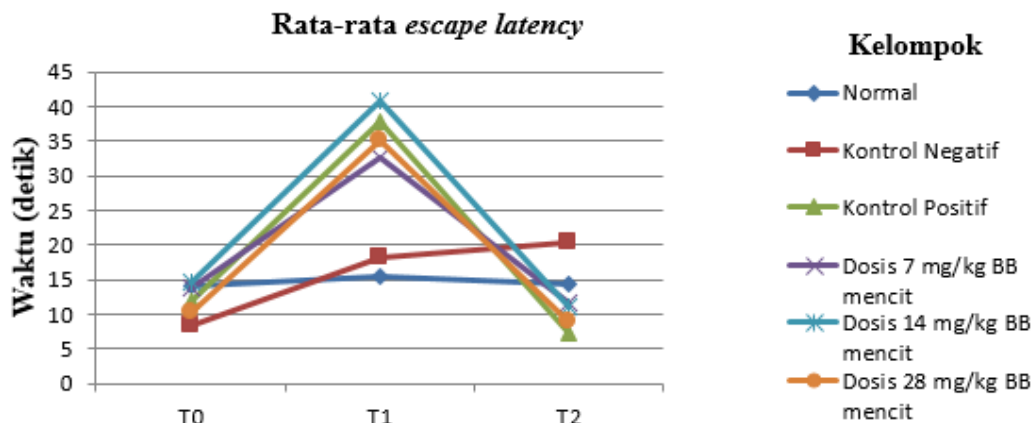
T1 : rata-rata *escape latency* setelah 10 hari pemberian etanol 10%

T2 : rata-rata *escape latency* setelah 10 hari pemberian ekstrak buah murbei

a : terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$)

b : terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel dapat dijelaskan pada kelompok dosis 7 mg/kg BB, 14 mg/kg BB, dan 28 mg/kg BB memberikan yang setara dengan kelompok kontrol positif. Pada ekstrak buah murbei dosis 7 mg/Kg BB selisih waktu yang dibutuhkan mencit untuk menemukan platform adalah 21±9,416, dosis 14 mg/Kg BB selisih waktu yang dibutuhkan mencit untuk menemukan platform adalah 29,75±8,01 Sedangkan dosis 28 mg/Kg BB selisih waktu yang dibutuhkan mencit untuk menemukan platform adalah 26,2±11,344 Maka dosis 7 mg/kg BB dinyatakan sebagai dosis yang efektif.



Keterangan:

T0 : rata-rata *escape latency* awal pada hari ke 5

T1 : rata-rata *escape latency* setelah 10 hari pemberian etanol 10%

T2 : rata-rata *escape latency* setelah 10 hari pemberian ekstrak buah murbei

Gambar 5. Rata-rata *escape latency* pada setiap kelompok sebelum dan sesudah diberi perlakuan

Dari grafik di atas menunjukkan bahwa T0 mempunyai perbedaan waktu tempuh berenang dari keenam kelompok hewan uji tanpa perlakuan yang diberi pembelajaran (*acquisition trial*) selama 5 hari yang dilakukan 2 latihan per hari. Pada hari kelima waktu yang dibutuhkan lebih cepat untuk mencapai platform.

Berdasarkan gambar 4 menunjukkan pada T1 setelah diinduksi dengan etanol dapat menurunkan fungsi memori, kecuali pada kelompok normal tanpa diberi induksi. Seperti yang dinyatakan oleh (Anderson *et al.* 2012) bahwa pemberian etanol dapat menyebabkan terjadinya penurunan fungsi memori dan penurunan kemampuan belajar karena terjadinya kerusakan hipokampus. Etanol dapat mengakibatkan kerusakan otak akibat dari produk metabolisemenya yang berupa radikal bebas (Zakhari, 2006).

Hasil dari rata-rata *escape latency* pada T2 setelah diberi perlakuan selama 10 hari, pada kelompok normal mempunyai waktu latency yang cenderung tetap. Kelompok kontrol negatif memiliki waktu paling lama mencapai *platform* dibandingkan dengan kelompok lainnya. Pada kelompok negatif pemberian etanol 10% akan menurunkan kemampuan kognitif mencit dalam menemukan *platform*. Pemberian etanol dalam tubuh dapat mengakibatkan kerusakan otak akibat dari produk metabolisemenya yang berupa radikal bebas (Zakhari 2006).

Kelompok kontrol positif dengan pemberian *Gingko biloba* lebih cepat mencapai *platform* diikuti dosis ekstrak buah murbei dengan dosis 28 mg/kg BB, 14 mg/kg BB, dan 7 mg/Kg BB. Pemberian *Gingko biloba* pada mencit lebih cepat karena *Gingko biloba* mempunyai kandungan senyawa seperti flavon, ginkgolide dan bilobalide. Pada beberapa penelitian sebelumnya bahwa flavonoid dapat melindungi membran sel dari spesies oksigen reaktif. Flavonoid menghambat xanthine oksidase yang menggunakan molekul oksigen sebagai akseptor elektron untuk menghasilkan ion superoksida dan hidrogen peroksida (Fermino *et al.* 2015).

Kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak buah murbei terdapat flavonoid, alkaloid, polifenol dan terpenoid. Antosianin merupakan golongan flavonoid, flavonoid dapat mendonorkan elektron ke radikal bebas sehingga tidak menyebabkan stress oksidatif. Stres oksidatif yang terbentuk karena ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan antioksidan endogen sehingga memicu penurunan memori. Sehingga flavonoid sebagai antioksidan eksogen mencegah produksi ROS berlebih. Antosianin terbukti menjadi pelindung terhadap stres oksidatif (Kang *et al.* 2005; Heo & Lee 2005). Senyawa alkaloid yakni indol memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi radikal bebas atau antioksidan secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama (Yuhernita & Juniarti 2011). Sedangkan pada senyawa polifenol dan terpenoid dapat memberikan efek neuroprotektif dengan cara mencegah terjadinya kerusakan pada sel-sel neuron (Aruna *et al.* 2012)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga dosis yang diujikan mempunyai efek terhadap peningkatan daya ingat. Dosis efektif ekstrak buah murbei merupakan suatu ukuran berapa banyak obat dibutuhkan untuk menghasilkan suatu respon tertentu. Makin rendah dosis yang dibutuhkan untuk suatu respon yang diberikan, makin poten obat tersebut. Maka dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dosis efektif adalah dosis 7 mg/kg BB mencit, karena tidak mengalami perbedaan yang nyata dengan kontrol positif.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Pemberian ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) pada dosis 7 mg/kg, 14 mg/kg, dan 28 mg/kg dapat meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*.
2. Ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba* L.) dengan dosis 7 mg/kg BB mencit efektif meningkatkan daya ingat pada hewan uji dengan metode *Morris water maze*.

B. Saran

Saran untuk para peneliti selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang senyawa aktif yang mempunyai aktifitas sebagai peningkatan daya ingat.
2. Penggunaan metode lain terhadap peningkatan daya ingat dengan menggunakan parameter yang berbeda dan lebih efektif.
3. Perlu penelitian lebih lanjut apakah peningkatan daya ingat dapat mempengaruhi kecerdasan seseorang.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai fraksi teraktif yang dapat meningkatkan daya ingat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson ML, Nokia MS, Govindaraju KP, Shors TJ. 2012. Moderate Drinking? Alcohol Consumption Significantly Decrease Neurogenesis in The Adult Hippocampus. *Neuroscience* 224: 202– 209.
- Aliefa Nur Azmi dan Yunianta 2015. Ekstraksi Antosianin Dari Buah Murbei (Morus Alba. L) Metode Microwave Assisted Extraction (Kajian Waktu Ekstraksi Dan Rasio Bahan: Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 3 p.835-846.
- Alvin, V., Terry, Jr. 2009. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience, 2nd edition : Chapter13 Spatial Navigation (Water Mask) Tasks. *Boca Raton (FL) : CRC Press*
- Anief M. 1998. *Ilmu Meracik Obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 169.
- Anonim, 2011. *Daun Murbei*. <http://apotekherbal.com/khasiat-hebat-daunmurbei.html>. Diakses pada tanggal 27 November 2011
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. hlm 606
- Aprianto, Pramudono B, Jos B. 2011. Ekstraksi oleoresin dari kayu manis berbantu Ultrasonik dengan menggunakan pelarut Alkohol. *Reaktor* 13:231-236.
- Ariantari, N. P., P.A.Vanadis, K.G.Y.Widyadana, L. Tumewu, A. Widyawaruyanti. (2012). In Vitro Antimalarial Activity of Methanolic Extract of Morus alba L. Leaves Against Plasmodium Falciparum 3D7. Surakarta – Indonesia. International Conference: Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine in Health Care (TCAM). In Press
- Aruna, B., P, Sachin B., N, Kshirshagar S and S, Pratapwar.(2012). *io*Vol.3, No.1, pp.98-109.
- Atun. M, 2010, *Lansia Sehat Dan Bugar*, Kreasi Wacana, Yogyakarta.
- Brunetti C, Ferdinando MD, Fini A, Pollastri S dan Tattini M. 2013. Flavonoids as Antioxidants and Developmental Regulators: Relative Significance in Plants and Humans. *International Journal of Molecular Sciences* 14:3540-3555

- Cevallos-Casals, B.A. and L.A. Cisneros-Zevallos. 2002. Bioactive and functional properties of purple sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Acta Horticulture* 583:195-203
- Christel. 2008. *Modeling Learning Mouse*. Belgia. Hasset university.
- Chen, P.N. 2006. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer Letter*.235(2):248-259
- Chen, C.C., L.K. Liu, J.D. Hsu, H.P. Huang and Yang, 2005. *Mulberry* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Food Chem.*, 91: 601-607. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.06.039
- Departmen Kesehatan RI.. Pedoman Pembinaan Kesehatan Usia Lanjut bagi Petugas Kesehatan Jakarta : Direktorat Bina Kesehatan Keluarga; 2001
- [Depkes RI]. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1, 4 dan 11.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 333-337.
- Ditjend POM. 1985. *Cara pembuatan simplisia jilid I*. Jakarta: Depkes RI.
- Farouq. 2003. Ekstrak sebagai salah satu pengembangan bentuk obat tradisional. *Seminar POKJANAS TOI XXIII*. Universitas Pancasila, Jakarta. Hal. 12.
- Fermino, B.L *et al.* 2015. Ginkgo bilobaL.: phytochemical components and antioxidant activity. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 9(38), pp. 950-955, 15 October, 2015.
- Finkel, D. & Pederson, N.L. (2000). Contribution of Age, Genes, and Environment to the Relationship Between Perceptual Speed and Cognitive Ability. *Psychology and Aging*, 15, (1), 56-64
- Flavel, J.H. (1997). *Cognitive Development*. New Jersey: Prentice Hall Inc.
- Galeano P et al. 2014. Longitudinal analysis of the behavioral phenotype in a novel transgenic rat model of early stages of Alzheimer's disease. *Frontiers in behavioral neuroscience* 8:1-15

- Guyton A.C, 1997, *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Guyton, A. C., and Hall, J., 2001. *Buku ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9, EGC, Jakarta.
- Harborne JB. 1987. *Metode fitokimia, peuntun cara modern menganalisis tumbuhan Edisi II*. Padmawinata, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB.
- Heo HJ, Lee CY. Strawberry and its anthocyanins reduce oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. *J Agric Food Chem*. 2005;53:1984–1989
- Herlina. 2010. Pengaruh triterpen total pegagan (*Centella asiatica, (L) Urb.*) terhadap fungsi kognitif belajar dan mengingat pada mencit jantan albino (*Mus musculus*). *FMIPA Universitas Sriwijaya*. (<http://jurnal.pegagan.unsri.ac.id>). [15 Maret 2011].
- Hilwiyah Ahlan, Betty L, Nugrahaningsih. 2015. skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan serta kadar total fenol - flavonoid ekstrak etanol Murbei (*Morus alba L.*). Universitas Negeri Malang
- Hooge RD, Deyn PP. 2001. Application of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Elsevier: Brain research reviews*.
- Hwang KH (2004) Promoting effect and recovery activity from physical stress of the fruit of *Morus alba*. *Biofactors* 21, 267–271.
- Inglis JK. 1980. *Introduction to laboratory animal science and technology*. Pergamon press Ltd., Oxford.
- Kaewkae Pratchaya et al 2012 mulberry fruits extract mitigate vascular dementia *American Journal of Applied Sciences*, 9 1789-1795
- Kang TH, Hur JY, Kim HB, Ryu JH, Kim SY. 2006. Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O β -d-glucopyranoside isolated from mulberry fruit against cerebral ischemia. *Neurosci Lett*; 391: 122-126.
- Kemenkes RI, 2010. *Pedoman rehabilitasi kognitif*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kim AJ & Park S (2006) Mulberry extract supplements ameliorate the inflammation-related hematological parameters in carrageenan-induced arthritic rats. *J Med Food* 9, 431–435.
- Kim, H.G., M.S. Ju, J.S. Shim, M.C. Kim and S.H. Lee et al., 2010. *Mulberry fruit protects dopaminergic neurons in toxin-induced Parkinson's disease models*. *Br. J. Nutr.*, 104: 8-16. DOI: 10.1017/S0007114510000218
- Koswara, Sustrisno. 2009. *Pewarna Alami Produksi dan Penggunaanya*. <http://www.Ebookpangan.com>

- Kristanti, A.N., Aminah, N., Tanjung, M., & Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kuntjoro, Z.S. (2002). Pengenalan Dini Demensia (Predemensia)., (diambil tgl 20 Oktober 2007), www.epsikologi.com/usia/170602.htm
- Kusumoputro, (2007). Kelemahan Kognisi Ringan sebagai Awal Pikun Alzheimer pada Lanjut Usia, (diambil tgl 20 Oktober 2007) <http://www.kompas.com/kompascetak/0307/01/opini/401780.htm>
- Linden E, dkk, 2008, *Serba-serbi Gangguan Kesehatan Pada Lanjut Usia*, Universitas Surabaya, Surabaya
- LIPI. 2009. *Pengobatan Alternatif dengan Tanaman Obat*. Balai Informasi Teknologi LIPI.
- Luo Y (2001). *Ginkgo biloba* neuroprotection: therapeutic implications in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 3(4):401-407.
- Malole MBB, Pramono CSU. 1989. Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium. Pusat antar universitas bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Midleton, E., Kandaswamim C., and Theoharis, L., 2000, The Effect of Plant Flavonoids on Mamalian Cells: Implication for Information, Heart Disease & Cancer, *Pharmacological Reviews*, 52(4), 711-722.
- Nehlig A. 2010. Is caffeine a cognitive enhancer. *Journal of Alzheimer's Disease* 20 : S85-S94.
- Noverina, A, 2011, *Pikun di usia muda*, Holistic Health Solution, Jakarta
- Nugroho, W, 2008, *Keperawatan Geronik Dan Geratrik*, EGC, Jakarta.
- Peter, R. Hunt. John, P. Aggleton. 1997 An examination of the spatial working memory deficit following neurotoxic medial dorsal thalamic lesions in rats *Behavioural Brain Research* 97 (1998) 129-141
- Purves D, Augustine JG, Fitzpatrick D, *et al.*, (2004). *Neuroscience Third Edition*. Sinauer Associates.
- Raslau DF, Klein PA, Ulmer LJ, Mathews V, Mark PL. 2014. Functional vignette capter 6: Memory overview.
- Richa, Y. 2009. Uji aktivitas penangkap radikal dari ekstrak petroleumeter, etil asetat dan etanol rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

- Setiati S, Harimurti K, Govinda A. *Proses Menua dan Implikasi Kliniknya* dalam Sudoyo, Aru W. Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta : Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006
- Suda, I., T. Oki, M. Masuda, M. Kobayashi, Y. Nishiba, and S. Furuta. 2003. Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. *JARQ* 37(3):167-173.
- Shin WH, Taman SJ, Kim EJ. 2006. Efek perlindungan dari anthocyanin di otak oklusi arteri dan reperfusi Model tengah iskemia otak pada tikus. *Hidup Sci.*; 79: 130-137.
- Smith BJ dan Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Smith JV, Luo Y (2004). Studies on molecular mechanisms of Ginkgo biloba extract. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64:465-472.
- Ștefănuț, M.N. et al., 2011. Anthocyanins HPLC-DAD and MS Characterization, Total Phenolics, and Antioxidant Activity of Some Berries Extracts. *Analytical Letters*, 44(18), pp.2843–2855. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032719.2011.582550>.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. hlm 11-12.
- Sunanto, H. 1997. *Budidaya Murbei & Usaha Pesuteraan Alam*. Kanisius. Yogyakarta.
- Susanti AD, Ardiana D, Gita GP, Yosephin GP. 2012. Polaritas pelarut sebagai pertimbangan dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi minyak bekatul dari bekatul varietas ketan (*Oryza sativa glatinosa*). *Simposium nasional RAPI XI FT UMS*. ISSN 1412-9612.
- Talien S. 2007. *Terapi Ginko*. Penerjemah Nadjamuddin BBA. Jakarta. Cetakan pertama. Prestasi Pustaka Raya.
- Tsuda T, Horio F, Kitoh J, efek Osawa T. pelindung dari cyanidin diet 3-O-beta-Dglucoside pada hati cedera iskemia-reperfusi pada tikus. *Arch Biochem Biophys*. 1999; 368: 361-366.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 564. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie*

- Vorhees VC, William TM. 2006. *Morris* water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *National Institutes of Health*
- Wang,S.W.;Wang,Y.J.;Su,Y.J.;Zhou,W.W.;Yang,S.G.;Zhang,R.;Zhao,M.;Li,Y.N.;Zhang,Z.P.;Zhan,D.W.; *et al.* Rutin inhibits β -amyloid aggregation and cytotoxicity, attenuates oxidative stress, and decreases the production of nitric oxide and proinflammatory cytokines. *Neurotoxicology* 2012, 33, 482–490.
- Wietrzych M, Meziane H, Sutter A, Ghyselinck N, Chapman PF, *et al.* 2015. Working memory deficits in retinoid x receptor gamma deficient mice. *Learn.Mem* 12:318-326
- Yuhernita, Juniarti. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak methanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Sains* 15(1).
- Zakhari S. 2006. Overview: How is alchohol metabolized by body?.*Alcohol Res. Health*, 29(4), 245-254.

l

a

m

p

i

r

a

n

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi buah murbei



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 200/UN27.9.6.4/Lab/2016
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Ina Karina
NIM : 19133927A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Morus alba L.*
Familia : *Moraceae*

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1965) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b;
804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-825b-826b-
829b-830b-831b-832b-833b-834b-1041b-1042b-1043b-1044b-1045b-1048b-1049b-1050b-1051b-1052b-
1053b-1054a-1055b-1057b-1058b-1066a-1067b-1068b-1069b-1070b-1071b-1072b-1073b-1077b-1078b-
1079a-1080b-1081b-1082b-1083b-1084a-1085b-1086b-1089b-1090b-1091b-1093b-1094b-1095b-1096b-
1097a
1b-2b-4b-6b-8b-9a-10a-11b-12b
117. *Moraceae*
2. *Morus*
Morus alba L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi 5-9 m. Akar : tunggang, bercabang-cabang, berwarna kuning kotor hingga coklat tua. Batang : bulat, berkayu, bercabang-cabang, cabang muda sedikit berambut, cabang/batang tua gundul, abu-abu gelap hingga coklat keabu-abuan. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk bulat telur hingga jantung, panjang 2,5 - 20 cm, lebar 1,5 - 12 cm, pangkal daun tumpul, tepi bergerigi, ujung meruncing, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda, pertulangan daun menyirip; tangkai daun bulat, panjang 1-4 cm. Bunga : majemuk, bunga berjumlah banyak tersusun dalam tandan, terletak di ketiak daun (aksiler); bunga jantan, bunga betina dan bunga banci terpisah; mahkota bunga berbentuk tajuk dan berwarna putih. Buah: buni, berair, pada waktu muda berwarna putih kehijau-hijauan kemudian berubah menjadi merah muda dan rasanya asam, pada saat buah telah matang, menjadi merah tua agak kehitaman dan rasanya manis. Biji : bulat memanjang, putih ketika muda dan coklat kehitaman ketika masak.

Surakarta, 23 Desember 2016

Mengesahkan
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
 √ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04, Mojosongo Kec. Jebres Surakarta, Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Ina Karina

Nim : 19133927 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Mencit Swiss

Umur : 2-3 bulan

Jenis kelamin : Jantan

Jumlah : 30 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan Boyolali

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 22 Mei 2016

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

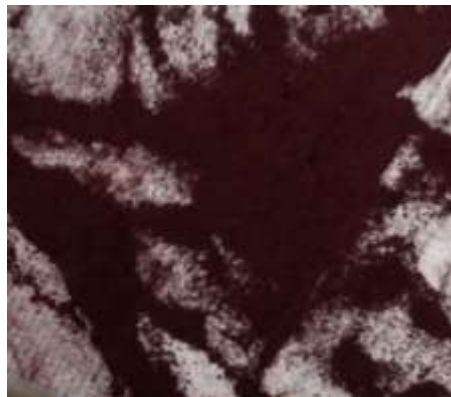
Lampiran 3. Foto buah buah murbei basah dan kering



Buah murbei



Buah murbei kering



Serbuk buah murbei

Lampiran 4. Kontrol positif (Gingko Biloba)



Gingko Biloba dalam
kemasan kapsul



Santan

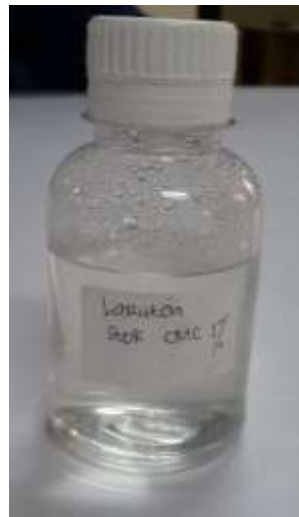
Lampiran 5. Gambar ekstrak buah murbei



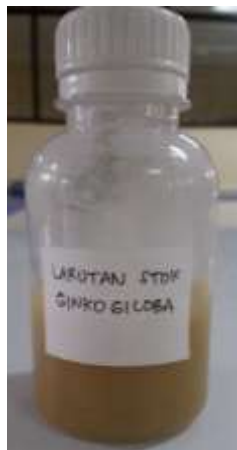
Ekstrak kental buah murbei

Lampiran 6. Gambar sediaan uji

Induksi alkohol 10%



Larutan CMC 1%



Larutan Ginkgo giloba



Larutan Ekstrak buah murbei

Lampiran 7. Gambar alat yang digunakan dalam percobaan



Blender



Moisture balance



Alat Morris Water Maze



Stopwach



Evaporator



Timbangan elektrik

Lampiran 8. Foto perlakuan hewan uji







Kelompok hewan uji



Cara perlakuan oral ke mencit

Lampiran 9. Foto hasil uji kualitatif kandungan kimia ekstrak buah murbei

| Senyawa | Uji tabung | Hasil |
|------------|---|---|
| Antosianin |  | Positif (Larutan berwarna Merah) |
| Flavonoid |  | Positif (Larutan berwarna Merah) |
| Alkoloid |  | Positif (Larutan berwarna endapan jingga) |
| Polifenol |  | Positif (Larutan berwarna hijau kehitaman) |

| | | |
|-----------|---|--|
| Terpenoid |  | Positif (Larutan berwarna hijau) |
|-----------|---|--|

Kandungan senyawa buah murbei

Lampiran 10. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak buah murbei

Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk buah murbei menggunakan alat *moisture balance* pada suhu 105⁰c

| No | Penimbangan awal (g) | Penimbangan akhir (g) | Susut pengeringan (%) |
|-----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 2 | 1,90 | 5,00 |
| 2 | 2 | 1,91 | 4,50 |
| 3 | 2 | 1,92 | 4,00 |
| Rata-rata | | | 4,50±0,5 |

Persentase rata-rata kadar air:

$$= \frac{X1 + X2 + X3}{n} = \frac{5,00 + 4,50 + 4,00}{3} = 4,50 \%$$

Jadi persentase rata-rata kadar air dengan alat Moisture Balance adalah 4,50%.

perhitungan penetapan susut pengeringan ekstrak buah murbei menggunakan alat *moisture balance* pada suhu 105⁰c

| No | Penimbangan awal (g) | Penimbangan akhir (g) | Susut pengeringan (%) |
|-----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 2 | 1,95 | 2,20 |
| 2 | 2 | 1,95 | 2,20 |
| 3 | 2 | 1,91 | 4,50 |
| Rata-rata | | | 2,96 ±1,327 |

Persentase rata-rata kadar air:

$$= \frac{X1 + X2 + X3}{n} = \frac{2,20 + 2,20 + 4,50}{3} = 2,96 \%$$

Jadi persentase rata-rata kadar air dengan alat Moisture Balance adalah 2,96%.

Lampiran 11. Perhitungan persen rendemen ekstrak buah murbei

| Berat awal serbuk (gram) | Berat wadah | | Bagian kental (gram) | Rendemen (%) |
|-----------------------------|---------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | Kosong (gram) | + Zat (gram) | | |
| 500 | 186,59 | 500,21 | 313,62 | 62,72 |

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{beratekstrak (g)}}{\text{beratserbuk (g)}} \times 100\%$$

Hasil perhitungan prosentase rendemen ekstrak buah murbei yaitu 62,72%

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental (g)}}{\text{Berat awal serbuk (g)}} \times 100 \% \\ &= \frac{313,62}{500} \times 100 \% \\ &= 62,72 \% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Dari data diperoleh ekstrak buah murbei sebesar 313,62 gram dari berat serbuk kering buah murbei yang ditimbang 500 gram, diperoleh rendemen sebesar 62,72% b/b.

Lampiran 12. Perhitungan dosis Gingko Biloba dan dosis ekstrak buah murbei

1. Larutan CMC 1% = 1 g/100 ml
= 1000 mg/100 ml

Larutan stok ekstrak akan dibuat sebanyak 100 ml dan volume pemberian untuk masing-masing mencit 20 g adalah 0,5 ml.

Volume yang diberikan = 0,5 ml

| Berat badan mencit (g) | Volume penyuntikkan (ml) |
|------------------------|---|
| 24 | $\frac{24\text{mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,60$ |
| 31,5 | $\frac{31,5\text{mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,78$ |
| 25 | $\frac{25\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,62$ |
| 32,8 | $\frac{32,8\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,82$ |
| 20,1 | $\frac{20,1\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,5$ |

2. Dosis Gingko Biloba = 0,5 gram/BB manusia 1 kapsul mengandung gingko biloba 75 mg

Dikonversikan ke mencit

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit 20 g} &= 0,0026 \times 500\text{ mg} \\ &= 1,3\text{ mg}/20\text{g BB mencit} \end{aligned}$$

$$\text{Larutan stok } \textit{gingko biloba} \text{ 0,5\%} = \frac{500\text{mg}/100\text{ml}}{5\text{mg/ml}}$$

Volume yang diambil untuk mencit 20 g adalah 1 ml

| Berat badan mencit (g) | Dosis (mg) | Volume penyuntikkan (ml) |
|------------------------|---|---|
| 25 | $\frac{25 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,625$ | $\frac{1,625 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,32$ |
| 19,7 | $\frac{19,7 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,280$ | $\frac{1,280 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,25$ |
| 20 | $\frac{20 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,3$ | $\frac{1,3 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,26$ |
| 24 | $\frac{24 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,56$ | $\frac{1,56 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,312$ |
| 21,1 | $\frac{21,2 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,371$ | $\frac{1,371 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,27$ |

1. Ekstrak Buah Murbei

Dosis ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba*. L.) yang digunakan yaitu dosis pada penelitian ekstrak etanol buah murbei (*Morus alba*. L.) sebelumnya oleh Pratchaya dkk. 2013 sebesar 0,28 mg/20 g BB mencit. Kemudian dilakukan orientasi dosis ekstrak buah murbei untuk peningkatan daya ingat dengan 3 macam variasi. Untuk 20 g berat badan mencit dosisnya sebagai berikut :

a Dosis 7 mg/kg BB mencit :

$$\begin{aligned} 7 \text{ mg/kg BB mencit} &= 7 \text{ mg}/1000 \text{ g BB mencit} \\ &= 0,14 \text{ mg}/20 \text{ g BB mencit} \end{aligned}$$

Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 0,14 mg

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok ekstrak} &= \frac{\text{Volume larutan stok}}{\text{Volume pemberian}} \times \text{dosis} \\ &= \frac{100 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} \times 0,14 \text{ mg} \\ &= 28 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, sebanyak 28 mg ekstrak buah murbei dilarutkan dalam 100 ml CMC 1%

| Berat badan mencit (g) | Volume penyuntikkan (ml) |
|------------------------|---|
| 25 | $\frac{25\text{mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,62$ |
| 23,3 | $\frac{23,3\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,58$ |
| 21,5 | $\frac{21,5\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,53$ |
| 22,5 | $\frac{22,5\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,56$ |
| 21,7 | $\frac{21,7\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,56$ |

b Dosis 14 mg/kg BB mencit :

$$\begin{aligned}
 14\text{ mg/kg BB mencit} &= 14\text{ mg}/1000\text{ g BB mencit} \\
 &= 0,28\text{ mg}/20\text{ g BB mencit}
 \end{aligned}$$

Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 0,28 mg

$$\begin{aligned}
 \text{Larutan stok ekstrak} &= \frac{\text{Volume larutan stok}}{\text{Volume pemberian}} \times \text{dosis} \\
 &= \frac{100\text{ ml}}{0,5\text{ ml}} \times 0,28\text{ mg} \\
 &= 56\text{ mg}
 \end{aligned}$$

Jadi, sebanyak 56 mg ekstrak buah murbei dilarutkan dalam 100 ml CMC1%

| Berat badan mencit (g) | Volume penyuntikkan (ml) |
|------------------------|---|
| 29,5 | $\frac{29,5\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,73$ |
| 22,7 | $\frac{22,7\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,56$ |
| 23,8 | $\frac{23,8\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,59$ |
| 24,6 | $\frac{24,6\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,61$ |
| 22,6 | $\frac{22,6\text{ mg}}{20\text{ mg}} \times 0,5\text{ ml} = 0,56$ |

c Dosis 28 mg/kg BB mencit :

$$\begin{aligned} 28 \text{ mg/kg BB mencit} &= 28 \text{ mg}/1000 \text{ g BB mencit} \\ &= 0,56 \text{ mg}/ 20 \text{ g BB mencit} \end{aligned}$$

Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 0,56 mg

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok ekstrak} &= \frac{\text{Volume larutan stok}}{\text{Volume pemberian}} \times \text{dosis} \\ &= \frac{100 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} \times 0,56 \text{ mg} \\ &= 112 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, sebanyak 112 mg ekstrak buah murbei dilarutkan dalam 100 ml CMC

1%

| Berat badan mencit (g) | Volume penyuntikkan (ml) |
|------------------------|--|
| 21 | $\frac{21\text{mg}}{20 \text{ mg}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,52$ |
| 27,5 | $\frac{27,5 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,68$ |
| 23,9 | $\frac{23,9 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,59$ |
| 20,4 | $\frac{20,4 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,51$ |
| 23,4 | $\frac{23,4}{20 \text{ mg}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,58$ |

Lampiran 13. Hasil uji Morris water maze

| Kelompok | | Escape latency | | | $\Delta T1 - T2$ |
|--------------------------------------|---|----------------|-----|----|------------------|
| | | T 0 | T 1 | T2 | |
| Normal | 1 | 20 | 25 | 23 | 2 |
| | 2 | 10 | 6 | 4 | 2 |
| | 3 | 16 | 18 | 19 | -1 |
| | 4 | 10 | 13 | 12 | 1 |
| Rata – rata $\Delta T1-T2$ | | | | | 1±1,41 |
| Kontrol Negatif (CMC) | 1 | 4 | 22 | 25 | -3 |
| | 2 | 18 | 23 | 24 | -1 |
| | 3 | 4 | 14 | 15 | -1 |
| | 4 | 7 | 14 | 18 | -4 |
| Rata – rata $\Delta T1-T2$ | | | | | -2,25±1,5 |
| Kontrol Positif <i>Gingko biloba</i> | 1 | 17 | 31 | 4 | 27 |
| | 2 | 6 | 39 | 8 | 31 |
| | 3 | 4 | 20 | 10 | 10 |
| | 4 | 15 | 44 | 5 | 39 |
| | 5 | 18 | 55 | 10 | 45 |
| Rata – rata $\Delta T1-T2$ | | | | | 30,4±13,37 |
| Dosis 7 mg/kg BB mencit | 1 | 17 | 48 | 15 | 33 |
| | 2 | 8 | 19 | 9 | 10 |
| | 3 | 9 | 31 | 10 | 21 |
| | 4 | 21 | 33 | 13 | 20 |
| Rata – rata $\Delta T1-T2$ | | | | | 21±9,41 |
| Dosis 14 mg/kg BB mencit | 1 | 17 | 22 | 4 | 18 |
| | 2 | 4 | 44 | 12 | 32 |
| | 3 | 21 | 51 | 15 | 36 |
| | 4 | 17 | 46 | 13 | 33 |
| Rata – rata $\Delta T1-T2$ | | | | | 29,75±8,01 |
| Dosis 28 mg/kg BB mencit | 1 | 7 | 32 | 5 | 27 |
| | 2 | 14 | 32 | 7 | 25 |
| | 3 | 7 | 39 | 12 | 27 |
| | 4 | 12 | 20 | 10 | 10 |
| | 5 | 12 | 52 | 10 | 42 |
| Rata – rata $\Delta T1-T2$ | | | | | 26,2±11,34 |

Lampiran 14. Hasil SPSS uji Morris water maze

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | Waktu |
|----------------------------------|----------------|----------|
| N | | 22 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 21.6818 |
| | Std. Deviation | 15.00916 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .138 |
| | Positive | .116 |
| | Negative | -.138 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .649 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .793 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kriteria ujiannya adalah bila nilai signifikansi (Asymp.sig) lebih besar dari 0,05 maka data terdistribusi secara normal. Sebaliknya, bila nilai signifikansi (Asymp.sig.) lebih kecil dari 0,05 maka data tidak terdistribusi normal. Terlihat dari tabel diatas, nilai signifikasinya (Asymp.Sig) sebesar 0,793 sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi secara normal. Maka hipotesis diuji dengan ANOVA satu jalan, karena daya ingat dipengaruhi dua faktor atau variabel yaitu kelompok perlakuan dan waktu pengamatan.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Waktu

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .934 | 4 | 17 | .468 |

ANOVA

Waktu

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 3035.273 | 4 | 758.818 | 7.608 | .001 |
| Within Groups | 1695.500 | 17 | 99.735 | | |
| Total | 4730.773 | 21 | | | |

Multiple Comparisons

Waktu
Tukey HSD

| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------------|--------------------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| CMC | Gingko biloba | -32.65000* | 6.69932 | .001 | -53.0325 | -12.2675 |
| | Dosis 7 mg/kg BB mencit | -23.25000* | 7.06170 | .031 | -44.7351 | -1.7649 |
| | Dosis 14 mg/kg BB mencit | -32.00000* | 7.06170 | .002 | -53.4851 | -10.5149 |
| | Dosis 28 mg/kg BB mencit | -28.45000* | 6.69932 | .004 | -48.8325 | -8.0675 |
| Gingko biloba | CMC | 32.65000 | 6.69932 | .001 | 12.2675 | 53.0325 |
| | Dosis 7 mg/kg BB mencit | 9.40000 | 6.69932 | .634 | -10.9825 | 29.7825 |
| | Dosis 14 mg/kg BB mencit | .65000 | 6.69932 | 1.000 | -19.7325 | 21.0325 |
| | Dosis 28 mg/kg BB mencit | 4.20000 | 6.31618 | .961 | -15.0168 | 23.4168 |
| Dosis 7 mg/kg BB mencit | CMC | 23.25000* | 7.06170 | .031 | 1.7649 | 44.7351 |
| | Gingko biloba | -9.40000 | 6.69932 | .634 | -29.7825 | 10.9825 |
| | Dosis 14 mg/kg BB mencit | -8.75000 | 7.06170 | .730 | -30.2351 | 12.7351 |
| | Dosis 28 mg/kg BB mencit | -5.20000 | 6.69932 | .934 | -25.5825 | 15.1825 |
| Dosis 14 mg/kg BB mencit | CMC | 32.00000* | 7.06170 | .002 | 10.5149 | 53.4851 |
| | Gingko biloba | -.65000 | 6.69932 | 1.000 | -21.0325 | 19.7325 |
| | Dosis 7 mg/kg BB mencit | 8.75000 | 7.06170 | .730 | -12.7351 | 30.2351 |
| | Dosis 28 mg/kg BB mencit | 3.55000 | 6.69932 | .983 | -16.8325 | 23.9325 |
| Dosis 28 mg/kg BB mencit | CMC | 28.45000* | 6.69932 | .004 | 8.0675 | 48.8325 |
| | Gingko biloba | -4.20000 | 6.31618 | .961 | -23.4168 | 15.0168 |
| | Dosis 7 mg/kg BB mencit | 5.20000 | 6.69932 | .934 | -15.1825 | 25.5825 |
| | Dosis 14 mg/kg BB mencit | -3.55000 | 6.69932 | .983 | -23.9325 | 16.8325 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Waktu

Tukey HSD^{a,b}

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|--------------------------|---|-------------------------|---------|
| | | 1 | 2 |
| CMC | 4 | -2.2500 | |
| Dosis 7 mg/kg BB mencit | 4 | | 21.0000 |
| Dosis 28 mg/kg BB mencit | 5 | | 26.2000 |
| Dosis 14 mg/kg BB mencit | 4 | | 29.7500 |
| Gingko biloba | 5 | | 30.4000 |
| Sig. | | 1.000 | .643 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,348.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.