

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil determinasi tanaman beluntas

Determinasi tanaman beluntas bertujuan untuk memastikan tanaman yang digunakan adalah beluntas, selain itu determinasi juga bertujuan untuk mencocokkan morfologi tanaman dalam hal ini adalah daun beluntas sesuai dengan literatur. Determinasi tanaman beluntas dilakukan dibagian Biologi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret. Berdasarkan hasil determinasi dinyatakan bahwa daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Beluntas. Hasil determinasi tanaman beluntas dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Pengumpulan bahan dan hasil pembuatan serbuk daun beluntas

Daun beluntas yang diperoleh berasal dari daerah Desa Gemblongmulyo RT 4 RW 2 Kecamatan Pancur, Kabupaten Rembang, Jawa Tengah. Daun yang diambil sebanyak 6,16 kg daun segar ruas 1 sampai dengan 6 pada bulan Desember 2018. Setelah diperoleh, daun kemudian disortasi basah dengan tujuan untuk membersihkan daun terhadap kotoran-kotoran, setelah disortasi basah selanjutnya daun beluntas dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Daun beluntas dikeringkan dengan oven dengan suhu 55⁰C selama 4 hari. Setelah kering didapat bobot kering sebesar 1,05 kg dan dilakukan perhitungann rendemen dan LOD. Tujuan perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah untuk mengetahui persen bobot daun kering yang didapat dan persen bobot yang hilang (LOD) ketika proses pengeringan.

Rendemen bobot kering daun beluntas terhadap bobot basah diperoleh sebesar 17,045% yang menunjukkan bahwa sebanyak 17,045% bobot kering yang didapat setelah proses pengeringan dan LOD sebesar 82,95% yang menunjukkan bahwa sebanyak 82.95% bobot yang hilang ketika proses pengeringan. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun beluntas dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 1 . Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun beluntas

Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Rendemen (% b/b)	LOD (%b/b)
6160	1050	17,045	82,95

Daun beluntas yang telah dikeringkan dengan oven, kemudian digiling dan dihaluskan dengan alat penggiling serta blender, kemudian diayak sampai halus menggunakan pengayak No.40 dengan tujuan untuk memperkecil ukuran serbuk, memperluas kontak partikel dengan pelarut yang digunakan sehingga ekstraksi dapat berlangsung efektif dan senyawa yang didapat juga banyak. Setelah diayak, didapat serbuk daun beluntas 900 gram dari 1050 gram bobot kering dan diperoleh rendemen sebesar 85,72 %. Jumlah bobot serbuk yang didapat lebih kecil daripada bobot kering karena pada saat proses penggilingan dan pengayakan terjadi penyeleksian ukuran bobot daun, sehingga ada yang lolos pada saat pengayakan dan ada pula yang tidak lolos pada saat pengayakan.

Tabel 2. Hasil rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Berat Kering Daun Beluntas (g)	Berat Serbuk Daun Beluntas (g)	Rendemen (% b/b)
1050	900	85,72

C. Hasil pembuatan ekstrak daun beluntas

Serbuk daun beluntas diekstraksi dengan metode maserasi, kemudian ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dalam evaporator pada suhu 40⁰C. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun beluntas dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak daun beluntas

Berat Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
300	52,319	17,44
550	100,6301	18,30
Rata-Rata		17,87±0,61

Hasil rendemen ekstrak daun beluntas diperoleh dari proses maserasi menggunakan pelarut metanol memiliki 17,439 dan 18,296 % b/b, hasil yang didapat lebih besar daripada rendemen teoritis yaitu tidak kurang dari 9% (Kemenkes RI 2013). Organoleptis ekstrak etanol daun beluntas berwarna hijau

kehitaman, kental dan memiliki bau khas. Perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 8.

D. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun beluntas

Susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan yang dinyatakan dalam nilai persen atau sampai berat konstan yang dinyatakan sebagai nilai persen (Depkes 2000). Kadar air yang lebih dari 10% yang terdapat dalam serbuk dapat mengaktifkan enzim-enzim dalam simplisia yang berakibat rusak atau berubahnya komposisi kimia sehingga menurunkan kualitas pada simplisia tersebut. Penetapan susut pengeringan menggunakan alat *moisture balance*. Hasil susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun beluntas

	Berat (g)	Susut Pengeringan (%)	Pustaka (%)
Serbuk	2	9,5	< 10%
	2	9,0	
	2	9,5	
	Rata-rata ± SD	9,333 ± 0,289	
Ekstrak	2	2,8	< 10%
	2	3,6	
	2	1,6	
	Rata-rata ± SD	2,667 ± 1,006	

Hasil penelitian menunjukkan susut pengeringan serbuk adalah sebesar 9,33 % dan hasil susut pengeringan ekstrak adalah sebesar 2,667%. Nilai ini menyatakan jumlah maksimal senyawa yang mudah menguap atau hilang pada proses pengeringan. Nilai susut pengeringan pada daun beluntas sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10% (Depkes RI 1994).

E. Hasil penetapan kadar air serbuk daun beluntas

Kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat diantaranya cara titrasi, destilasi, atau gravimetri (Depkes 2000). Penetapan kadar air dilakukan bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air di dalam bahan, untuk mencegah terjadinya

pembusukan yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu fisik serbuk dan ekstrak. Penetapan kadar air menggunakan metode *Sterling Bidwell*. Hasil rata-rata penetapan kadar air serbuk daun beluntas adalah 9,667 %, artinya daun beluntas sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10%. Akan tetapi persentase kadar air serbuk daun beluntas lebih banyak daripada persentase susut pengeringan daun beluntas, hal ini disebabkan karena serbuk yang digunakan pada susut pengeringan berbeda dengan serbuk yang digunakan pada penetapan kadar air. Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk daun beluntas

No	Bobot Awal (g)	Volume Air (ml)	Kadar Air (%v/b)
1	10	1	10
2	10	0,9	9
3	10	1	10
Rata – rata			9,667 ± 0,577

F. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun beluntas

Identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk dan ekstrak daun beluntas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa di dalam serbuk dan ekstrak menggunakan uji tabung.

Tabel 6. Hasil identifikasi golongan senyawa daun beluntas

Kandungan Kimia	Hasil Penelitian		Hasil Interpertasi		Pustaka
	Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak	
Flavonoid	Terbentuk cincin merah pada lapisan amil alkohol	Terbentuk cincin merah pada lapisan amil alkohol	+	+	Warna merah atau jingga/kuning pada lapisan amil alkohol (Depkes RI 1978)
Saponin	Terbentuk buih	Terbentuk buih	+	+	Reaksi + bila busa masih terbentuk 1-10 cm setelah penambahan HCL 2N tidak hilang (Depkes RI 1978)
Tanin	Berwarna hijau	Berwarna hijau	+	+	Reaksi positif bila

	kehitaman	kehitaman			terbentuk kehitaman hijau kehitaman (Robinson 1995)	biru atau kehitaman
Steroid	Lapisan atas berwarna hijau	Lapisan atas berwarna hijau	+	+	Reaksi positif bila terbentuk warna ungu menunjukkan adanya golongan terpenoid atau terbentuk warna biru-hijau menunjukkan adanya golongan steroid (Marliana <i>et al.</i> 2005)	
Alkaloid	Tidak terbentuk endapan	Tidak terbentuk endapan	-	-	Terbentuk keruhan/endapan coklat pada Dragendroff dan endapan putih kekuningan pada Mayer (Depkes RI 1978)	
Keterangan : (+) : mengandung (-) tidak mengandung						

Hasil tabel 6 menunjukkan identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk dan ekstrak daun beluntas dengan menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 8. Hasil penelitian kandungan kimia dalam serbuk dan ekstrak daun beluntas menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak mengandung flavonoid, saponin, steroid dan tannin tetapi tidak mengandung alkaloid. Pada penelitian Widyawati *et al.*(2010), senyawa alkaloid tidak ditemukan pada daun beluntas ruas 1 sampai dengan 6 (Widyawati *et al.* 2010). Alkaloid tidak dapat terdeteksi karena dimungkinkan pada proses pengujian alkaloid pada sampel rusak ketika dipanaskan atau terlalu lama ketika memanaskan sampel yang larut dalam air dan HCl 2N. Menurut Robinson (1995) dalam Lantah *et al.* (2017), alkaloid memiliki sifat fisik kurang tahan panas (Lantah *et al.* 2017).

Pada senyawa flavonoid dilanjutkan uji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui senyawa pada ekstrak daun beluntas termasuk golongan flavonoid yang dapat meningkatkan daya ingat atau tidak. Fase gerak yang digunakan adalah n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan fase diamnya adalah silica gel GF₂₅₄ yang telah diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 105°C selama

1 menit (Sastrohamidjojo, 2007). Hasil KLT kemudian diangin-anginkan dan diperiksa di bawah sinar uv 254 nm dan 366 nm. Setelah itu disemprot dengan sitroborat dan di periksa kembali dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Bercak yang terbentuk dilingkari dan perhitungan nilai Rf dapat dilihat pada tabel 7 dan lampiran 11.

Nilai Rf dan bercak dapat dilihat pada tabel 7 menghasilkan 3 bercak pada ekstrak serta 1 bercak pada baku pembanding. Hasil positif mengandung rutin apabila sampel memiliki harga Rf dan warna bercak yang sama dengan baku pembanding. Pada ekstrak, bercak pertama positif mengandung rutin karena memiliki nilai Rf yang mendekati dengan baku pembanding dan warna yang dihasilkan sama dengan baku pembanding yaitu warna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak memiliki senyawa rutin yang merupakan salah satu senyawa yang dapat meningkatkan daya ingat dengan mekanisme penghambatan radikal bebas (Widyawati *et al.* 2010).

Tabel 7. Nilai Rf dan warna bercak pada hasil KLT flavonoid.

No	Nama Sampel	Kode Bercak	Rf	Sebelum Penyemprotan			Setelah Penyemrotan		
				Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	Rutin	R	0,52	Kuning	Meredam	Meredam	Kuning	Meredam	Meredam
2	Ekstrak	E1	0,53	-	Meredam	Meredam	Kuning	Meredam	Meredam
		E2	0,66	-	Meredam	Biru Floresens	-	Meredam	Biru Floresens
		E3	0,77	-	Meredam	Biru Floresens	-	Meredam	Biru Floresens

Pada senyawa steroid dilanjutkan uji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui senyawa pada ekstrak daun beluntas termasuk golongan steroid. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform:metanol (9:1) dan fase diamnya adalah silica gel GF₂₅₄ yang telah diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 105°C selama 1 menit (Sastrohamidjojo, 2007). Hasil KLT kemudian diangin-anginkan dan disemprot dengan *Lieberman Bouchardad* dan diperiksa dibawah sinar tampak, UV 254 dan 366 nm. Bercak akan berwarna ungu ketika disemprot dengan *Lieberman Bouchardad* karena adanya reaksi antara senyawa steroid dengan asam membentuk senyawa kompleks berwarna ungu apabila dipanaskan. Bercak yang

terbentuk dilingkari dan perhitungan nilai Rf dapat dilihat pada tabel 8 dan lampiran 12.

Nilai Rf dan bercak dapat dilihat pada tabel 8 menghasilkan 5 bercak pada ekstrak dan 1 bercak pada baku pembanding. Kode bercak E5 memiliki harga Rf yang hampir mirip dengan nilai Rf baku pembanding, serta warna yang dihasilkan sama dengan baku pembanding yaitu warna ungu. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak memiliki senyawa sterol yang merupakan salah satu senyawa yang dapat meningkatkan daya ingat dengan menghambat apoptosis sel otak dan meningkatkan aliran darah menuju otak (Mahadevan dan Park 2008).

Tabel 8. Nilai Rf dan warna bercak pada hasil KLT steroid.

No	Nama Sampel	Kode Bercak	Rf	Sebelum Penyemprotan			Setelah Penyemrotan		
				Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	Stigmasterol	S	0,5	-	-	-	Ungu	Meredam	Berfloresen
2		E1	0,05	-	-	-	-	-	Berfloresens
3		E2	0,09	-	-	-	-	-	Berfloresens
4	Ekstrak	E3	0,15	-	-	-	-	-	Berfloresens
5		E4	0,23	-	-	-	-	-	Berfloresens
6		E5	0,88	-	-	-	Ungu	Meredam	Berfloresens

G. Hasil Uji Peningkatan Memori Spasial Metode *Radial Arm Maze*

Pengujian aktivitas peningkatan daya ingat tikus putih jantan menggunakan metode *radial maze* dilihat dari angka kesalahan tipe B (AK) dan waktu menemukan makanan (WM). Prosedur pengujian dilakukan sesuai dengan metode yang dijelaskan sebelumnya. Sebelum pengujian tikus dipuaskan terlebih dahulu selama 12 jam agar tidak mempengaruhi parameter waktu menemukan dikhawatirkan tikus kekenyangan. Tikus secara individual ditempatkan di dalam labirin selama 10 menit. Pengamatan dilakukan selama 25 hari yaitu 1 hari sebelum pemberian dosis uji (pretest hari ke-0), 12 hari sebelum (pretest) dan sesudah (posttest) induksi timball (II) asetat. Data yang didapat, di analisis statistik menggunakan SPSS versi 24. Analisis statistik dilakukan setiap hari

untuk melihat kebermaknaan antar kelompok perlakuan selama pengamatan dan melihat *loading dose* dosis uji menimbulkan efek pada memori spasial.

Hewan yang digunakan tikus putih jantang sebanyak 25 ekor dengan berat badan 120-200 g yang diperoleh dari Pasar Burung Depok Manahan Surakarta. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yang terdiri dari kontrol positif (Ginkgo Biloba 75mg/70kgBB manusia), kontrol negatif (CMC Na), ekstrak methanol daun beluntas dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB.

1. Hasil Pengamatan Persentasi Angka Kesalahan Tipe B

Angka kesalahan tipe B (AK) adalah sebuah angka yang dihitung apabila tikus memasuki lebih dari setengah panjang lengan tetapi tidak memakan imbalan yang disediakan dibagi total lengan yang telah dimasuki dalam satuan persen (Sari *et al.* 2000). Sebelum dilakukan analisis, dilakukan validasi metode dengan cara membandingkan antara hari pertama pretest (1) dan hari pertama posttest (13) dengan uji *Friedman* dan *Wilcoxon* karena data tidak terdistribusi normal. Hasil menunjukkan bahwa hari ke-1 dan 13 memiliki probabilitas 0,001 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-1 dan hari ke-13 (lampiran 15). Kemudian data dilanjutkan dengan menganalisis setiap harinya.

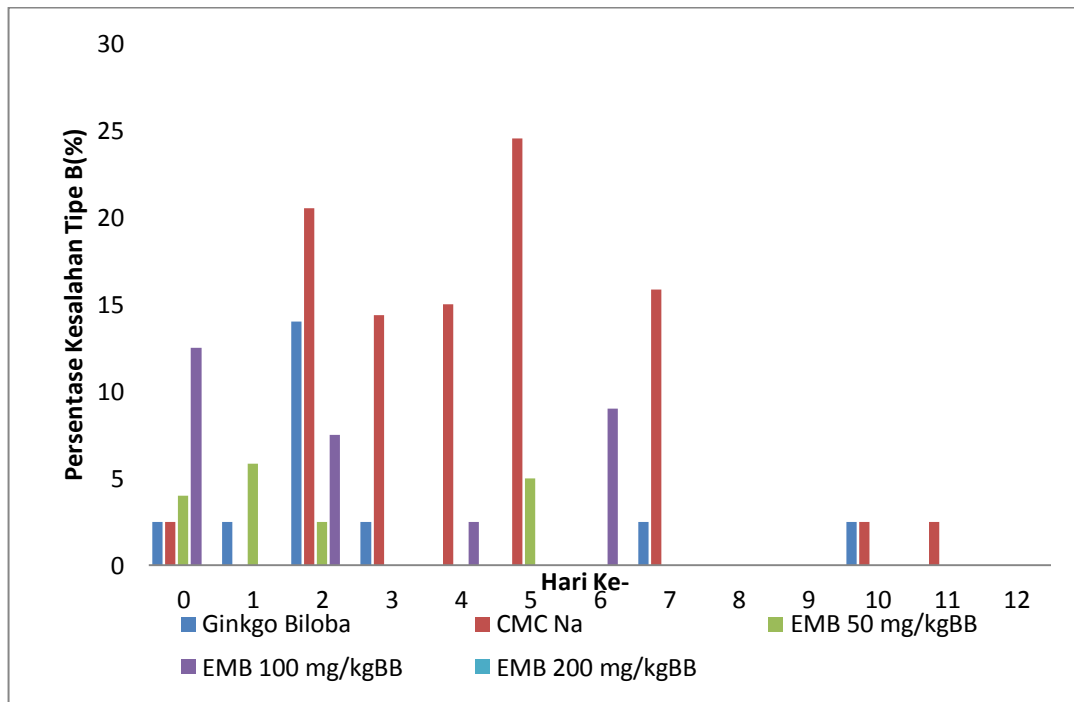
Data yang didapat merupakan data yang tidak terdistribusi normal karena memiliki probabilitas 0,00 ($p < 0,05$). Sehingga dilanjutkan analisis *Kruskall Wallis* dan *Man Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada tahap pretest, hari ke-3 dosis uji 50, 100, 200 mg/kgBB sudah menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok negative ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan kelompok dosis uji sudah mulai adanya peningkatan daya ingat dan pada hari ke-3 inilah efek obat sudah bekerja karena sebanding dengan kontrol positif ($p > 0,05$) (Lampiran 17). Persentase angka kesalahan tipe B pada tahap pretest dapat dilihat pada tabel 9 dan gambar 6.

Tabel 9. Persentase Angka Kesalahan Tipe B (%) Tahap Pretest

Hari Ke-	Ginkgo Biloba	CMC Na	EMB 50 mg/kgBB	EMB 100 mg/kgBB	EMB 200 mg/kgBB
0	2,5±5,59	2,5±5,59	4±8,94	12,5±21,65	0±0
1	2,5±5,59	0±0	5,83±8,12	0±0	0±0
2	14±12,94	20,5±23,21	2,5±5,59	7,5±11,18	0±0
3	2,5±5,59 ^a	14,375±3,25 ^{bcd}	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
4	0±0 ^a	15±16,30 ^{bce}	0±0 ^a	2,5±5,59	0±0 ^a
5	0±0 ^a	24,52±11,13 ^b	5±11,18 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
6	0±0	0±0	0±0	9±12,45	0±0
7	2,5±5,59	15,83±28,93	0±0	0±0	0±0
8	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
9	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	2,5±5,59	2,5±5,59	0±0	0±0	0±0
11	0±0	2,5±5,59	0±0	0±0	0±0
12	0±0	0	0±0	0±0	0±0

Keterangan :
a: berbeda signifikan terhadap kontrol negatif
b: berbeda signifikan terhadap kontrol positif
c: berbeda signifikan terhadap EMB 50 mg/kgBB
d: berbeda signifikan terhadap EMB 100 mg/kgBB
e: berbeda signifikan terhadap EMB 200 mg/kgBB

Akan tetapi pada hari ke-4 (Lampiran 18), kelompok dosis 100 mg/kgBB mulai tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok positif. Begitu pula pada hari ke-5 (Lampiran 19), kelompok dosis 50 dan 200 mg/kgBB sudah tidak memiliki perbedaan dengan kelompok positif. Hal ini disebabkan karena pada hari ke-4 sampai dengan ke-5 kelompok negatif sudah mulai terbiasa dengan lingkungan, sehingga hasil yang didapat tidak ada perbedaan dengan uji. Pada hari ke-6 sampai dengan hari ke-12, semua kelompok perlakuan sudah tidak memiliki perbedaan yang bermakna (Kim *et al.* 2012).



Gambar 6. Grafik Angka Kesalahan Tipe B (%) Tahap Pretest

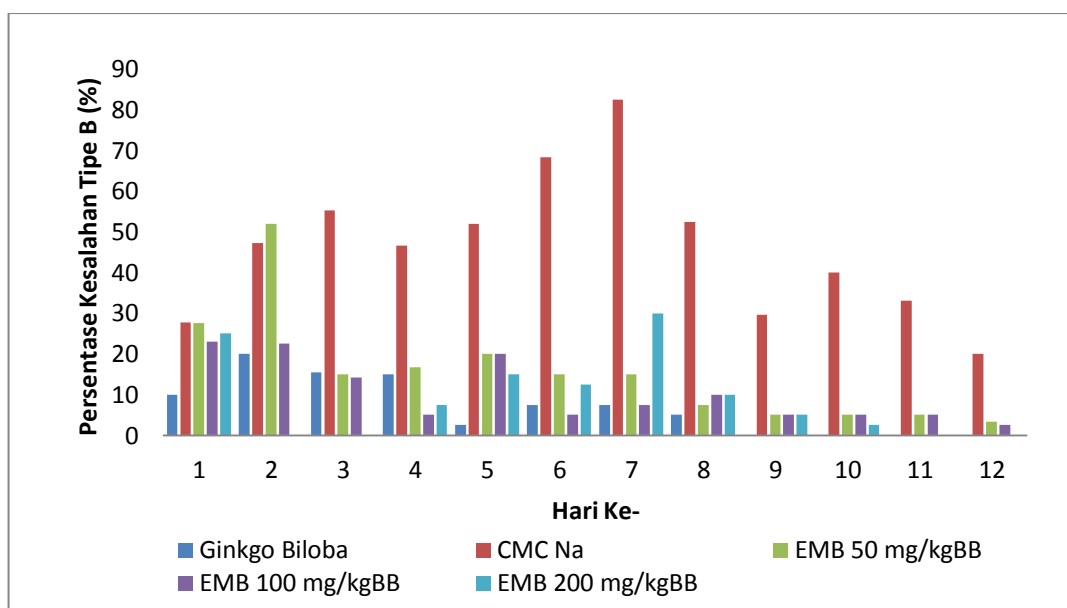
Parameter angka kesalahan merupakan data yang tidak terdistribusi dengan normal ($p < 0,05$), maka dilakukan Uji *Friedman* dan *Wilcoxon*. Uji *Friedman* dan *Wilcoxon* dilakukan untuk mengetahui pengaruh antara bertambahnya hari dengan peningkatan daya ingat. Hasil menunjukkan bahwa ada pengaruh antara bertambahnya hari dengan peningkatan memori pada tahap pretest dibuktikan dengan hasil Uji *Friedman* yang memiliki probabilitas $0,00 < 0,05$. Dan pada hasil uji *Wilcoxon*, hari ke 1 hingga 3 memiliki perbedaan antar hari yang signifikan karena probabilitas $< 0,05$ (Lampiran 24.1). Hal ini menunjukkan efek dosis uji sudah mulai bekerja dalam meningkatkan memori spasial.

Tahap posttest merupakan tahap dimana setelah pretest tikus diinduksi dengan timbal (II) asetat dan setelah 24 jam diamati kinerja tikusnya. Pada hari pertama setelah induksi, terjadi kenaikan persentase kesalahan. Hal ini menunjukkan bahwa sudah mulai adanya kerusakan pada otak oleh efek timbal (II) asetat. Pada hari ke-6, sudah mulai adanya perbaikan system saraf otak oleh dosis uji dikarenakan terdapat perbedaan yang bermakna antara dosis uji dengan kontrol negatif. Efek ini terus berlanjut hingga hari ke-24. Persentase angka kesalahan tipe B pada tahap posttest dapat dilihat pada tabel 10 dan gambar 7.

Tabel 10. Persentase Angka Kesalahan Tipe B (%) Tahap Postest

Hari Ke-	Ginkgo Biloba	CMC Na	EMB 50 mg/kgBB	EMB 100 mg/kgBB	EMB 200 mg/kgBB
1	10±10,46	27,71±23,12	27,5±25,62	23±22,8	25±43,30
2	20±22,71	47,24±9,88	52±50,20	22,5±25,62	0±0
3	15,5±17,18	55,24±43,85	15±20,54	14,17±14,91	0±0
4	15±20,54	46,67±36,13	16,67±17,92	5±6,85	7,5±11,18
5	2,5±5,59	52±18,23	20±11,18	20±18,96	15±16,30
6	7,5±11,18 ^a	68,33±31,26 ^{bcd}	15±10,46 ^a	5±6,85 ^a	12,5±12,5 ^a
7	7,5±11,18 ^a	82,5±67,08 ^{bd}	15±10,46 ^b	7,5±11,18 ^a	30±41,08 ^b
8	5±6,85 ^a	52,5±28,50 ^{bcd}	7,5±6,85 ^a	10±10,46 ^a	10±10,46 ^a
9	0±0 ^a	29.67±11.16 ^{bcd}	5±6,85 ^a	5±6,85 ^a	5±6,85 ^a
10	0±0 ^a	40±36,87 ^{bcd}	5±6,85 ^a	5±6,85 ^a	2,5±5,59 ^a
11	0±0 ^a	33±19,15 ^{bcd}	5±6,85 ^a	5±6,85 ^a	0±0 ^a
12	0±0 ^a	20±18,96 ^{bcd}	3,33±7,45 ^a	2,5±5,59 ^a	0±0 ^a

Keterangan : a: berbeda signifikan terhadap kontrol negatif
 b: berbeda signifikan terhadap kontrol positif
 c: berbeda signifikan terhadap EMB 50 mg/kgBB
 d: berbeda signifikan terhadap EMB 100 mg/kgBB
 e: berbeda signifikan terhadap EMB 200 mg/kgBB

**Gambar 7. Grafik Angka Kesalahan Tipe B (%) Tahap Postest**

Hasil uji *Mann-Whitney* pada hari ke-6 posttest menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok positif dan dosis uji yang menunjukkan pemberian timbal (II) asetat 100 mg/kgBB dapat menurunkan fungsi memori tikus. Menurut Shuto *et al.* (2009) timbal (II) asetat dapat menyebabkan degenerasi saraf dalam otak tikus melalui mekanisme stres oksidatif, sehingga bila terjadi kematian sel-sel neuron pada hippocampus dapat menyebabkan kelemahan memori (Colville dan Bassert 2002). Pada hari ke-6 ini juga sudah menunjukan perbaikan dan pencegahan oleh kontrol positif dan kelompok dosis uji. Perbaikan penurunan fungsi memori ini sejalan dengan mekanisme kerja dari *Ginkgo biloba* yaitu diantaranya sebagai neuroprotektif dan pencegah kematian neuron oleh radikal bebas (Tapas *et al.* 2008).

Nilai AUC dan %penurunan angka kesalahan tipe B merupakan hasil akhir yang digunakan untuk mengetahui khasiat yang timbulkan oleh sampel uji dengan cara membandingkan nilai AUC sampel dengan nilai AUC kontrol negatif. Semakin kecil nilai AUC maka semakin besar persen penurunan angka kesalahan tipe B dan semakin besar aktivitas sampel untuk meningkatkan memori spasial pada hewan uji. Perhitungan AUC dan % penurunan angka kesalahan tipe B pada lampiran 25.

Tabel 11. Nilai rata rata AUC_{kum} dan %penurunan angka kesalahan tipe B posttest

Kelompok perlakuan	AUC _{kum}	Nilai Signifikansi	%Penurunan angka kesalahan TipeB	Nilai Signifikansi
CMC Na	544,86±28,68	0,000 ^a	-	-
EMB 50 mg/kgBB	185.335±105.73	0,887 0,000 ^b	65.73±19.88	0,189
EMB 100 mg/kgBB	123.42±59.84	0,997 0,000 ^b	77.3483±9.95	0,863
EMB 200 mg/kgBB	97.5±67.55	0,997 0,000 ^b	81.99±12.84	0,990
Ginkgo Biloba	83±64.77	0,000 ^b	84.69±11.90	-

Keterangan : a = berbeda signifikan terhadap kelompok *Ginkgo biloba*
b berbeda signifikan terhadap kelompok CMC Na

Berdasarkan nilai AUC dan persen penurunan angka kesalahan tipe B pada tabel 11, kontrol positif dan variasi dosis uji EMB (50; 100; 200 mg/kgBB) mampu menurunkan angka kesalahan tipe B pada tikus putih jantan yang telah

diinduksi timbal (II) asetat. Ekstrak dosis 200 mg/kgBB dapat menurunkan angka kesalahan lebih besar daripada dosis lain sebesar 81,99%. Hasil *One Way Anava* (Lampiran 26) menunjukkan kelompok variasi dosis uji tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa variasi dosis uji memiliki khasiat yang sama dengan kontrol positif.

Uji *Friedman* dan *Wilcoxon* dilakukan untuk mengetahui pengaruh antara bertambahnya hari dengan perbaikan memori spasial. Hasil menunjukkan bahwa ada pengaruh antara bertambahnya hari dengan peningkatan daya ingat dibuktikan dengan hasil Uji *Friedman* memiliki probabilitas $0,00 < 0,05$. Dan hasil uji *Wilcoxon*, hari ke 8 hingga 9 memiliki perbedaan antar hari yang signifikan karena probabilitas $< 0,05$. Hal ini menunjukkan efek dosis uji sudah mulai memperbaiki memori spasial akibat kerusakan syaraf yang diakibatkan oleh timbal (II) asetat (Lampiran 24.2).

2. Hasil Pengamatan Waktu Menemukan Makanan

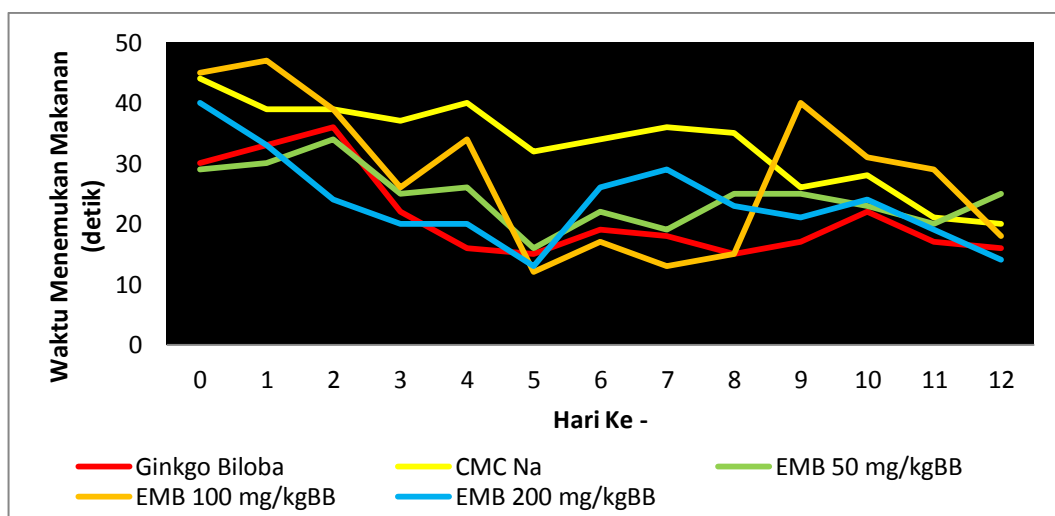
Waktu menemukan makanan (WM) adalah waktu yang dibutuhkan tikus untuk menemukan makanan dalam satuan detik. Data yang didapat merupakan data yang terdistribusi normal karena memiliki probabilitas 0,683 ($p > 0,05$). Sehingga dilanjutkan analisis *Lavenes test* untuk melihat ada tidaknya variasi data dan *One Way Anova* untuk melihat perbedaan antar kelompok.

Dosis *Ginkgo biloba* sudah menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif pada hari ke-4 tahap pretest (Lampiran 23.3). Hal ini menunjukkan memori spasial pada tikus mengalami kenaikan karena berhasil menemukan makanan dengan cepat dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif pada hasil uji *One Way Anova*. Pada hari ke-5 pretest (Lampiran 23.4) dosis uji sudah mulai menunjukkan aktivitas peningkatan daya ingat karena memiliki perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif. Akan tetapi pada hari ke-7 (Lampiran 23.5) dan 8 (Lampiran 23.6) hanya kelompok kontrol positif dan dosis 100 mg/kg yang masih menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif. Data waktu menemukan makanan pada tahap pretest dapat dilihat pada tabel 10 dan gambar 8.

Tabel 12. Waktu Menemukan Makanan (detik) Tahap Pretest

Hari Ke-	Ginkgo Biloba	CMC Na	EMB 50 mg/kgBB	EMB 100 mg/kgBB	EMB 200 mg/kgBB
0	30±7	44±19	29±14	45±6	40±15
1	33±6	39±11	30±15	47±11	33±14
2	36±11	39±8	34±8	39±11	24±16
3	22±9	37±12	25±16	26±15	20±14
4	16±5 ^a	40±16 ^b	26±12 ^b	34±18 ^b	20±5 ^b
5	15±6 ^a	32±7 ^{bde}	16±14 ^b	12±8 ^a	13±7 ^a
6	19±10	34±12	22±12	17±9	26±8
7	18±9	36±15 ^d	19±10	13±9 ^a	29±10
8	15±6 ^a	35±8 ^{bd}	25±8	15±9 ^a	23±10
9	17±4	26±12	25±16	40±16	21±4
10	22±6	28±14	23±7	31±5	24±8
11	17±15	21±13	20±11	29±7	19±12
12	16±13	20±12	25±16	18±7	14±12

Keterangan :
a: berbeda signifikan terhadap kontrol negatif
b: berbeda signifikan terhadap kontrol positif
c: berbeda signifikan terhadap EMB 50 mg/kgBB
d: berbeda signifikan terhadap EMB 100 mg/kgBB
e: berbeda signifikan terhadap EMB 200 mg/kgBB

**Gambar 8. Grafik Waktu Menemukan Makanan (detik) Tahap Pretest**

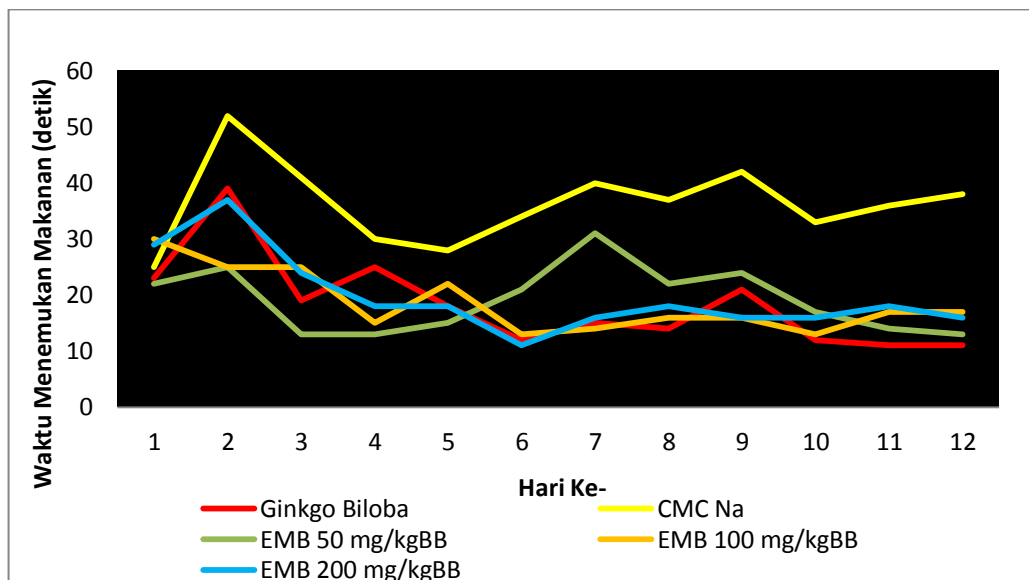
Uji *Two Way Anova* dilakukan untuk mengetahui pengaruh antara bertambahnya hari dengan perbaikan memori spasial. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh antara bertambahnya hari dengan peningkatan daya ingat dibuktikan dengan hasil Uji *Two Way Anova* memiliki probabilitas $1,00 > 0,05$ (Lampiran 24.3).

Pada hari keenam setelah posttest (Lampiran 23.7), kelompok *Ginkgo biloba* Dosis 100, 200 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negative. Hal ini menunjukkan pada hari keenam sudah ada mulai perbaikan kerusakan sel saraf yang timbul akibat timbal (II) asetat. Dari hari keenam sampai dengan hari keduabelas tahap posttest (Lampiran 23.13), dosis 100 mg/kgBB merupakan dosis yang efektif karena adanya perbedaan yang signifikan dengan kontrol negative secara konsisten hingga akhir pengujian daripada dosis uji yang lain. Uji *Two Way Anova* menunjukkan hari dan dosis uji tidak saling mempengaruhi karena probabilitas $> 0,05$.

Tabel 13. Waktu Menemukan Makanan (detik) Tahap Posttest

Hari Ke-	Ginkgo Biloba	CMC Na	EMB 50 mg/kgBB	EMB 100 mg/kgBB	EMB 200 mg/kgBB
1	23±6	25±6	22±7	30±8	29±24
2	39±15	52±33	25±17	25±14	37±21
3	19±7	41±25	13±9	25±11	24±10
4	25±9	30±12	13±6	15±11	18±13
5	18±5	28±13	15±11	22±10	18±4
6	12±1 ^a	34±12 ^{bde}	21±12 ^b	13±9 ^a	11±9 ^a
7	15±4 ^a	40±16 ^{bde}	31±11 ^b	14±11 ^a	16±10 ^b
8	14±5 ^a	37±10 ^{bd}	22±13 ^b	16±14 ^a	18±4 ^b
9	21±6 ^a	42±12 ^{bde}	24±14 ^b	16±5 ^a	16±10 ^a
10	12±5 ^a	33±11 ^{bde}	17±5 ^a	13±9 ^a	16±10 ^a
11	11±5 ^a	36±11 ^{bde}	14±6 ^a	17±7 ^a	18±6 ^a
12	11±5 ^a	38±16 ^{bde}	13±18 ^a	17±6 ^a	16±13 ^a

Keterangan :
 a: berbeda signifikan terhadap kontrol negatif
 b: berbeda signifikan terhadap kontrol positif
 c: berbeda signifikan terhadap EMB 50 mg/kgBB
 d: berbeda signifikan dengan EMB 100 mg/kgBB
 e: berbeda signifikan dengan EMB 200 mg/kgBB



Gambar 9. Grafik Waktu Menemukan Makanan (detik) Tahap Postest

Dosis Ekstrak metanol daun beluntas memiliki pengaruh dalam meningkatkan memori spasial tikus putih jantan menggunakan metode maze radial delapan lengan dengan dilihat dari adanya perbedaan bermakna ($\text{sig.} < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Nilai AUC dan %peningkatan kecepatan waktu menemukan makanan merupakan hasil akhir yang digunakan untuk mengetahui khasiat yang timbulkan oleh sampel uji dengan cara membandingkan nilai AUC sampel dengan nilai AUC kontrol negatif. Semakin kecil nilai AUC maka semakin besar persen peningkatan kecepatan waktu menemukan makanan dan semakin besar aktivitas sampel untuk meningkatkan memori spasial pada hewan uji. Perhitungan AUC dan %peningkatan kecepatan waktu menemukan makanan pada lampiran 25.

Tabel 14. Nilai rata-rata AUC_{kum} dan %peningkatan kecepatan waktu menemukan makanan

Kelompok perlakuan	AUC _{kum}	Nilai Signifikansi	%Peningkatan kecepatan waktu menemukan makanan	Nilai Signifikansi
CMC Na	402.80±77.92	0,000 ^a	-	-
EMB 50 mg/kgBB	222.9±66.43	0,999 0,000 ^b	41.56±24.61	0,996
EMB 100 mg/kgBB	214.6±29.82	1,000 0,000 ^b	44.22±17.33	1,000
EMB 200 mg/kgBB	208.1±42.40	1,000 0,000 ^b	47.49±10.41	0,991
Ginkgo Biloba	214.7±30.04	0,000 ^a	44.16±17.16	-

Keterangan : a = berbeda signifikan terhadap kelompok *Ginkgo biloba*
b berbeda signifikan terhadap kelompok CMC Na

Berdasarkan nilai AUC dan persen peningkatan kecepatan waktu menemukan makanan pada tabel 14, kontrol positif dan dosis uji EMB (50; 100; 200 mg/kgBB) mampu mempercepat waktu menemukan makanan pada tikus putih jantan yang telah diinduksi timbal (II) asetat. Ekstrak dosis 200 mg/kgBB dapat meningkatkan waktu menemukan makanan lebih cepat daripada dosis lain sebesar 47,49%. Hasil *One Way Anava* (Lampiran 26) menunjukkan kelompok variasi dosis uji tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa variasi dosis uji memiliki khasiat yang sama dengan kontrol positif. Berdasarkan parameter angka kesalahan dan menemukan makanan, dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis efektif karena sebanding dengan kontrol positif dan berbeda makna dengan kontrol negatif serta memiliki % peningkatan kecepatan menemukan makanan dan % penurunan angka kesalahan yang lebih besar daripada dosis uji lainnya.

Hasil AUC_{kum} baik parameter angka kesalahan tipe B maupun waktu menemukan makanan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun belunas dapat meningkatkan daya ingat tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi timbal (II) asetat. Hal ini disebabkan karena ekstrak daun beluntas memiliki senyawa flavonoid dan steroid yang dibuktikan dengan hasil positif uji tabung dan uji KLT. Beluntas merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan kuat karena banyak mengandung senyawa fenolik salah

satunya golongan flavonoid. Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan adalah merubah radikal bebas menjadi senyawa stabil dengan mendonorkan atom hidrogennya, sehingga dapat menangkal radikal bebas dan mencegah serta memperbaiki kerusakan sel saraf pada otak (Tapas *et al.* 2008). Mekanisme kerja lainnya dari flavonoid yaitu berperan dalam mengendalikan penyimpanan memori dalam area hipokampus dan korteks limbic melalui interaksi penghantaran sinyal atau sensitasi pada system syaraf (Spencer 2009). Beluntas juga memiliki senyawa steroid yang dapat meningkatkan memori spasial dengan menghambat apoptosis sel otak dan meningkatkan aliran darah menuju otak (Mahadevan dan Park 2008).