

Kombinasi Ekstrak Herba Pegagan dan Daun Kelor terhadap Kerusakan Otak dengan Metode *Radial Eight-Arm Test*

Combination of *Centella asiatica* (L.) Urb. and *Moringa oleifera* Lam. for Brain Damage Using the Radial Eight-Arm Test Method

Marcus Laurentius Yudhi Purwoko^{1*}, Syamsudin¹, Partomuan Simanjuntak^{1,2}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

Jl. Srengseng Sawah Jakarta Selatan 12460, Indonesia

²Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

Jl. Raya Jakarta-Bogor KM 46, Cibinong, Bogor 16911, Indonesia

*Corresponding author email: marcus.laurentius@gmail.com

Received 26-03-2022 Accepted 22-07-2022 Available online 27-07-2022

ABSTRAK

Proses perkembangan kognisi pada manusia saat ini adalah suatu aspek yang sangat penting. Aspek ini erat kaitannya dengan tingkat intelegensi atau kecerdasan dari seseorang dalam banyak hal dimana dari kecerdasan ini munculah ide-ide dan pembelajaran. Terganggunya atau menurunnya fungsi kognisi seseorang akan berdampak pada tidak maksimalnya pertumbuhan serta perkembangan otak dimana mempunyai peran penting dalam suatu respon seseorang untuk indra penglihatan, pendengaran, logika dan analogi serta kemampuan dalam menghasilkan gerakan. Terganggunya fungsi otak maka akan mempengaruhi kualitas masa depan dari seseorang khususnya pada kecerdasan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap fungsi memori yang diujikan dengan menggunakan metode *radial eight-arm maze test* pada tikus wistar. Tahapan awal penelitian dilakukan ekstraksi herba pegagan dan daun kelor. Ekstrak kemudian dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Kandungan metabolit sekunder dari masing-masing ekstrak herba pegagan dan daun kelor diuji dengan penapisan fitokimia. *Radial eight-arm maze test* dilakukan untuk mengetahui kerusakan otak yang berdampak pada defisit intelegensi dan memori. Kombinasi herba pegagan dan daun kelor pada rasio konsentrasi 1:3 mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap perilaku pembelajaran dan memori dari hewan uji. Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak herba pegagan dan daun kelor berpotensi dalam meningkatkan fungsi memori pada otak, khususnya pada perilaku pembelajaran dan memori dari hewan coba.

Kata kunci: Daun kelor, herba pegagan, otak, *radial eight-arm maze test*.

ABSTRACT

The cognitive development process is closely related to a person's intelligence. Disruption or decreased cognitive function of a person will impact the growth and development of the brain, which has a vital role in a person's response to the senses of sight, hearing, logic and analogy, as well as the ability to move. Disruption of brain function will affect the future quality of a person, especially in intelligence. This study aims to determine the effect of the combined use of Centella asiatica (L.) Urb. extract and Moringa oleifera Lam. extract on memory function tested using the radial eight-arm maze test method on Wistar rats. The initial stage of the study was extracting C. asiatica and M. oleifera crude drugs. The extract was concentrated using a rotary evaporator and freeze-dried. The compounds in the extracts were analyzed by phytochemical screening method, and the radial eight-arm maze test was used to determine brain damage impacting intelligence and memory deficits. The combination of C. asiatica and M. oleifera at a concentration ratio of 1:3 had a significant effect on the learning and memory behavior of the test animals. Based on these results, combining C. asiatica and M. oleifera extracts can potentially improve memory function in the brain.

Keywords: Brain, Centella asiatica, Moringa oleifera, radial eight-arm maze test.

Pendahuluan

Pada anak usia dini, pengaruh pertumbuhan serta perkembangannya adalah suatu hal fundamental di awal tahun kehidupannya. Kemampuan daya rangsang pada otak yang diterima anak usia dini akan menentukan kualitas dari anak itu sendiri di masa yang akan datang. Hal itu perlu menjadi pengawasan pada orang tua karena berkaitan dengan kecerdasan dan kemampuan seseorang dalam menemukan suatu ide dan juga sebagai pembelajaran (Kemenkes RI, 2018).

Memori merupakan salah satu dari tubuh manusia yang mempunyai peran mempengaruhi fungsi kognitif yang melibatkan otak dalam hal menyimpan informasi, visual spasial, pengetahuan dan untuk mengingat informasi yang tersimpan. Memori pada

otak manusia terbentuk melalui proses belajar. Adapun dalam proses belajar ini diterima oleh sistem saraf di otak dan diubah menjadi suatu informasi yang baru dan pengetahuan serta sebagai perilaku perubahan oleh seseorang (Yuliani, 2017) Hipokampus merupakan salah satu bagian dari otak dimana mempunyai peranan dalam pembentukan memori pembelajaran serta navigasi, bagian ini merupakan salah satu dari area pada otak yang rentan terhadap reaksi oksidasi bersamaan dengan korteks otak. Kematian sel saraf yang terjadi di hipokampus disebabkan karena stres oksidasi akan berdampak pada proses pembentukan memori (Fukui, 2012).

Pemanfaatan obat bahan alam yang kaya akan antioksidan telah dibuktikan secara empiris mempunyai

potensi dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif pada anak kecil hingga manusia usia lanjut (Yuliani, 2017). Herba pegagan dan daun kelor merupakan tanaman kaya akan antioksidan serta mempunyai potensi dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif. Berbagai penelitian telah mendapatkan hasil bahwa herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) mempunyai pengaruh positif dalam meningkatkan kemampuan pada sistem saraf di otak serta memperbaiki memori, hal ini dikuatkan juga dengan kandungan seperti asiaticosida sebagai neuroprotektif dan neurotropik (Sari, 2013). Sedangkan penggunaan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam penelitian didapatkan hasil bahwa adanya peningkatan memori otak setelah pemberian ekstrak daun kelor. Daun kelor mempunyai kandungan seperti zeatin, kuersetin, beta sitosterol, serta kaempferol ini berperan dalam memperbaiki fungsi memori pada hewan coba. Kajian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa adanya hubungan antara efek pemberian ekstrak daun kelor sebagai antioksidan di daerah hipokampus otak terhadap fungsi memori pada hewan coba (Illiandri, 2010).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas kombinasi ekstrak herba pegagan dan daun kelor dalam pencegahan kerusakan memori otak dengan menggunakan metode *radial eight-arm maze test* dan uji *Mann-Whitney* sehingga hasil pengujian ini

berdampak pada perilaku *learning* dan *memory* yang diujikan kepada hewan coba.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu pengering beku (New Brunswick), rotary evaporasi (IKA Labortechnik) mikropipet (MCTP), spuit injeksi 0,1 mL (Terumo), jarum peroral menciit, *radial eight-arm maze test*, dan stopwatch (Sewan).

Bahan uji yang digunakan adalah herba pegagan dan daun kelor. Bahan lain yang digunakan adalah aquadest (Ikapharmindo), etanol 96% (Indo Acidatama), *Ginkgo biloba* (Soho Nootropics), etanol 10% (Indo Acidatama), CMC Na 0,5% (Zibo Hailan Chemical) dan buffer formalin 10% (Alfalab Chemical Indonesia), etanol 70% (Indo Acidatama), etanol 80% (Indo Acidatama), etanol 95% (Indo Acidatama), etanol 99,9% (Merck), paraffin cair (Tudapetrol), hematoxylin-eosin (Merck).

Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan dan penyediaan bahan simplisia

Tanaman herba pegagan diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu, Jawa Tengah. Simplisia daun kelor diperoleh dari Moringa Organik Indonesia, Blora, Jawa Tengah. Herba pegagan dan daun kelor dikeringkan menjadi simplisia sesuai dengan

ketentuan dari Farmakope Herbal Indonesia Determinasi tumbuhan

2. Determinasi tumbuhan

Determinasi tanaman herba pegagan dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu, Jawa Tengah. Determinasi daun kelor dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat.

3. Ekstraksi simplisia herba pegagan

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 1000 g serbuk herba pegagan dimaserasi dengan etanol 96% selama 24 jam dan disaring. Maserasi dilakukan sebanyak delapan kali hingga diperoleh filtrat yang sudah tidak mengandung zat aktif (maserasi sempurna). Filtrat hasil maserasi dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan *freeze drying* hingga didapatkan ekstrak kental yang stabil. Kemudian ekstrak ditimbang untuk dihitung rendemennya (%).

4. Ekstraksi simplisia daun kelor

Ekstraksi daun kelor dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 1000 g serbuk daun kelor dimaserasi dengan etanol 96% selama 24 jam dan disaring. Maserasi dilakukan sebanyak sebelas kali hingga diperoleh filtrat yang sudah tidak mengandung zat aktif (maserasi sempurna). Filtrat hasil maserasi dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan *freeze dry* hingga didapatkan

ekstrak kental yang stabil. Kemudian ekstrak ditimbang untuk dihitung rendemennya (%).

5. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia adalah suatu pengujian untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu ekstrak. Skrining fitokimia terdiri dari pengujian alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, fenolik, serta saponin (Rasyadi, 2018; MMI, 1995). Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloid, diambil 3 tabung reaksi, lalu ke dalamnya dimasukkan 0,5 mL filtrat. Masing-masing tabung reaksi pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning. Tabung reaksi kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Bauchardat akan terbentuk endapan coklat. Tabung reaksi ketiga ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf akan terbentuk endapan putih. Sampel dikatakan mengandung alkaloid jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan di atas. Identifikasi saponin dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika berbusa

dan tidak hilang dengan ditambahkan asam klorida 2N menunjukkan adanya kandungan saponin. Identifikasi tanin dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 1 g, dididihkan selama 3 menit dalam 100 mL air suling lalu didinginkan dan disaring. Larutan diambil 2 mL ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan menambahkan natrium hidroksida pada ekstrak. Ekstrak yang mengandung senyawa fenolik ditunjukkan dengan timbulnya warna merah. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menambahkan sebanyak 10 g ekstrak ke dalam 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam 5 mL filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Sampel disebut mengandung flavonoid jika terjadi warna merah pada lapisan amil alkohol. Identifikasi glikosida dilakukan dengan penambahan asam asetat glasial lalu ditambahkan besi (III) klorida dan ditambahkan asam sulfat pekat dan dikocok. Ekstrak dikatakan mengandung senyawa glikosida ditunjukkan dengan timbulnya cincin warna ungu. Identifikasi triterpenoid/steroid dilakukan dengan melakukan maserasi pada sebanyak 1 g ekstrak selama 2 jam dengan pelarut non

polar n heksana sebanyak 20 mL dan disaring. Filtratnya diuapkan di dalam cawan uap. Tambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann-Burchard ditambahkan ke dalam sisa filtrat. Timbulnya warna hijau menandakan adanya kandungan senyawa steroid dan warna merah atau ungu yang dikatakan mengandung senyawa triterpenoid (Materia Medika, 1989).

6. Pengujian dengan metode *radial eight-arm maze*

Pengujian dengan metode *radial eight-arm maze* adalah pengujian yang digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan otak pada hewan coba yaitu berupa penurunan fungsi memori pada pembelajaran (learning) dan memori spasial (Carter, 2015). Pada uji ini akan dinilai memori belajar dan mengingat ruang dengan melihat waktu yang dihabiskan mencari air atau makanan di ujung akhir dari kedelapan tangan (Purwoko, 2021). Pengujian dengan metode *radial eight-arm maze* sudah mendapatkan izin penelitian dari Komisi Ethical Clearance Universitas Gadjah Mada dengan nomor sertifikat 00010/04/LPPT/III/2020.

Pengujian dengan menggunakan alat ini (Gambar 1) yaitu dengan cara mencit dilakukan adaptasi yaitu dipelihara pada kondisi lingkungan yang tenang dan jauh dari kebisingan, suhu ruangan 22 – 28°C, hewan uji diberi makan dengan pakan standar berupa pellet dan minum ad libitum. Siklus gelap terang pada kandang yaitu ada pertukaran gelap dan

terang setiap 12 jam. Saat pengujian dengan menggunakan alat radial eight-arm maze, hewan uji selama 5 menit melakukan eksploitasi alat *Radial 8-arm maze test* dengan pola pintu yg terdapat makanan (R) dibuka, sedangkan pintu yang tidak ada makanannya (N) ditutup, selanjutnya bersihkan alat dengan alkohol 70% untuk menghilangkan bekas tapak mencit yang tertinggal, percobaan dilanjutkan dengan meletakkan mencit yang akan diuji pada tengah alat, lalu selama 6 menit mencit dibiarkan mengeksploitasi ruang untuk mencari makanan atau minuman yang terdapat pada ujung ke delapan tangan yang semuanya dibuka menurut pola yang ditetapkan. Adapun pola yang digunakan dalam pengujian ini adalah dengan dua pola yaitu N-R-N-R-N-R-N-R dimana pola ini berupa peletakan makanan (sebagai *reward*) yang berselang satu pada tiap tangan. dan pola kedua dengan model R-R-N-N-R-R-N-N dimana pada pola ini berupa peletakan makanan (sebagai *reward*) yang berselang dua-dua pada tiap tangan (Purwoko, 2021).



Gambar 1. Alat uji *radial eight-arm maze test*

Parameter yang diamati adalah menghitung banyaknya ruangan atau tempat yang dimasuki kembali setelah pernah dikunjungi sebagai kesalahan dan menghitung banyaknya ruangan atau tempat yang tidak terdapat makanan atau minuman sebagai kesalahan (Purwoko, 2021). Kelompok perlakuan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari 10 kelompok yaitu kontrol negatif (K1) yaitu menggunakan Etanol 10% dalam CMC Na 0.5% selama 21 hari, kontrol normal (K2) yaitu tidak diinduksi dengan Etanol 10% dalam CMC Na 0.5%, serta kontrol positif (K3) dengan menggunakan ekstrak *Ginkgo biloba* dosis 240 mg / 70 Kg BB dalam CMC Na 0.5%. Kelompok kontrol positif diinduksi dengan Etanol 10% dalam CMC Na selama 21 hari, kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak *Ginkgo biloba* selama 21 hari, kelompok ekstrak herba pegagan (K4), kelompok ekstrak daun kelor (K5), kelompok kombinasi pegagan dan kelor 1:1 (K6), kelompok kombinasi pegagan dan kelor 1:2 (K7), kelompok kombinasi pegagan dan kelor 1:3 (K8), kelompok kombinasi pegagan dan kelor 3:1 (K9), dan kelompok kombinasi pegagan dan kelor 2:1 (K10).

Hasil dan Pembahasan

Hasil maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak pegagan sebanyak 186.49 g dengan hasil rendemen 18,65%.

Sedangkan pada kelor diperoleh ekstrak sebanyak 179.88 g dengan nilai rendemennya yaitu 17.99%. Pemilihan etanol 96% dalam proses maserasi kedua simplisia ini adalah untuk menarik semua senyawa yang terkandung dalam masing-masing simplisia tersebut. Data penimbangan dan rendemen ditunjukkan di Tabel 1.

Skrining fitokimia bertujuan untuk menggolongkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak pegagan dan kelor. Hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak herba pegagan dan ekstrak daun kelor mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, steroid dan triterpenoid (Tabel 2).

Pengujian dengan metode *radial eight-arm maze test* berdasarkan total frekuensi masuk tangan hewan coba yang pernah dikunjungi sebelumnya.

Tabel 1. Hasil ekstrak kental herba pegagan

Ekstrak	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
Herba pegagan	186.49	18.65
Daun kelor	179,88	17,99

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Ekstrak pegagan	Ekstrak kelor
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Steroid	+	+
Triterpenoid	+	+

Frekuensi hewan coba masuk tangan yang tidak ada makanan dinilai sebagai kesalahan spasial memori (tidak dapat mengingat dengan baik ruang) dan *learning*. Hasil pengamatan pola 1, 2 ditunjukkan pada Tabel 3 dan 4. Pada pola 1 dan pola 2, kelompok kontrol normal mempunyai nilai kesalahan yang paling kecil.

Tabel 3. Rerata parameter kesalahan yang dilakukan mencit pada pola 1

Kelompok perlakuan	Parameter kesalahan yang dilakukan
K1	8.8±4.6
K2	5.8±4.6
K3	8.0±8.1
K4	12.6±0.9
K5	14.8±8.3
K6	16.0±6.8
K7	13.2±7.8
K8	15.6±8.2
K9	13.4±8.2
K10	13.0±7.9

Tabel 4. Rerata parameter kesalahan yang dilakukan mencit pada pola 2

Kelompok perlakuan	Parameter kesalahan yang dilakukan
K1	7.6 ± 1.9
K2	4.2±2.5
K3	7.0±6.8
K4	10.4±5.0
K5	14.6±8.8
K6	12.0±5.1*
K7	9.2±7.2
K8	15.4±3.0 **
K9	10.8±6.5
K10	10.0±6.4

Keterangan: * = Berbeda signifikan dengan kontrol normal, ** = berbeda signifikan dengan kontrol positif (dianalisis pada $p < 0.05$)

Dengan demikian, kelompok kontrol normal mempunyai memori ruang dan *learning* yang baik. Pada pengujian pola 1, tidak dapat dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA satu arah karena adanya data yang tidak terdistribusi dengan normal, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskall-Wallis* dan didapatkan hasil bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan rerata kesalahan yang dilakukan sehingga dapat dikatakan bahwa pengaruh pemberian larutan uji tidak berpengaruh signifikan pada perilaku learning dan memory. Pada pengujian pola 2 didapatkan bahwa frekuensi masuk tangan yang tidak ada makanan memiliki nilai signifikansi 0.043 (sig. < 0.05), sehingga pengujian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk membandingkan antar 2 kelompok perlakuan dan diperoleh nilai yang signifikansi 0.033 (sig.< 0.05) antara kelompok kontrol normal dengan kelompok kombinasi ekstrak herba pegagan dan daun kelor dengan perbandingan 1:1 dan nilai signifikansi 0.008 (sig. < 0.05) antara kelompok kontrol normal dengan kelompok kombinasi ekstrak dengan konsentrasi 1:3, sehingga dapat dikatakan bahwa kedua kelompok kombinasi tersebut berpengaruh signifikan pada perilaku learning dan memori. Dari hasil uji *Mann-Whitney*, diperoleh nilai signifikansi 0.015 (sig.< 0.05) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kombinasi ekstrak herba pegagan dan daun kelor dengan perbandingan 1:3, sehingga dapat

dikatakan bahwa kelompok kombinasi ekstrak herba pegagan dan daun kelor dengan perbandingan 1:3 berpengaruh signifikan pada perilaku learning dan memori.

Kesimpulan

Kombinasi ekstrak pegagan dan kelor dengan perbandingan 1:3 mempunyai pengaruh dalam mencegah kerusakan otak dimana pada pengujian menggunakan *radial eight-arm maze test* menunjukkan adanya perilaku learning dan memori pada hewan coba.

Daftar Pustaka

- Buletin Informasi Kesehatan. 2018. Situasi Balita Pendek (*Stunting*) di Indonesia. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Carter M, Shieh J. 2015. Guide to research techniques in neuroscience 2nd ed. London. Elsevier Inc.
- Direktorat Pengawas Obat Tradisional. 1989. *Materia Medika Indonesia* Jilid V. Jakarta. Badan Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Fukui M. 2012. Rapid generation of mitochondrial superoxide induces mitochondrion dependent but caspase independent cell death in hippocampal neuronal cells that morphologically resembles necroptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 262(2): 156-66.
- Illiandri O, Mintaroem K, Widjajanto E. 2010. *Moringa oleifera* meningkatkan fungsi memori pada

- tikus model kurang energi protein. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 26(1): 28-32.
- Purwoko MLY. 2021. Efek sinergis dari kombinasi ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) dan ekstrak kelor (*Moringa oleifera*) dalam meningkatkan fungsi memori mencit (*Mus musculus*). Thesis. Jakarta. Pancasila University.
- Rasyadi Y. 2018. Formulasi sediaan kumur dari ekstrak daun sukun *Artocarpus altilis* (Parkinson ex F.A.Zorn) Fosberg. Chempublish Journal. 3(2):76-85.
- Sari DCR, Pratama RS, Suharmi S. 2013. Lamanya pemberian ekstrak etanol *Centella asiatica* sp. meningkatkan memori spasial tikus pasca stres listrik. Mutiara Medika. 13(3): 151-61.
- Yuliani S, Setiani L. 2017. Pengaruh rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) pada labirin lengan radial dan uji penghindaran pasif pada tikus model induksi trimethyltin. JKK Indonesia. 8(1): 3-9.