

Efek Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Memori Kerja Spasial Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) Remaja yang Diinduksi Etanol

(Effects of Green Tea (Camellia sinensis) Extract on Spatial Working Memory of Ethanol-Induced Adolescent Wistar Rats (Rattus novergicus))

Prasetia Aji Ramadhan, M. Ihwan Narwanto, K. Dian Sofiana
Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail: prastrikstar@gmail.com

Abstract

Ethanol is a well-known agent causing organ damage including hippocampus. Hippocampus damage will reduce spatial memory. This study aimed to determine the effects of green tea extract on spatial memory function in adolescent rats following ethanol administration. One of catechin derivatives in green tea is EGCG which is believed to prevent hippocampal damage due to ethanol. The research was conducted on 25 rats, divided into 5 groups with 2 control groups and 3 experimental groups. A control group 1 (K1) was given 20 % ethanol with a dose of 2g/kgBW, while a control group 2 (K2) was only given with distilled water. All experimental groups (P1,P2 and P3) were given ethanol 2gr/kgBW and green tea extract with a dose of 108mg/200gBW, 216mg/200gBW, and 432mg/200gBW, respectively for P1, P2, and P3. Administration of ethanol and green tea extracts were performed for 14 days. The rats' spatial memory were tested by observation using the Radial Arm Maze (RAM) for 10 days. The number of the right arm in K1 was fewer than K2, P1, P2 and P3, but in K2 the right arm similar with P2 and higher than P1 and P2. In conclusion, the green tea extract influence the spatial memory of ethanol-induced adolescent rat.

Keywords: *Ethanol, green tea extract, Radial Arm Maze, spatial memory*

Abstrak

Etanol adalah agen yang terkenal merusak organ, salah satunya adalah hipokampus. Kerusakan pada hipokampus akan menurunkan memori spasial. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau terhadap fungsi memori spasial pada tikus remaja setelah pemberian etanol. Salah satu kandungan katekin dalam teh hijau yaitu EGCG diyakini dapat mencegah kerusakan hipokampus karena etanol. Penelitian ini dilakukan pada 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok, 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok K1 menggunakan etanol 20% dosis 2gr/kgBB, kelompok K2 menggunakan aquadest. Kelompok P dengan pemberian etanol 2gr/kgBB dan ekstrak teh hijau 108mg/200grBB, 216mg/200grBB, dan 432mg/200grBB berturut-turut untuk P1, P2, dan P3. Pemberian etanol dan ekstrak teh hijau dilakukan selama 14 hari. Setelah itu dilakukan uji memori spasial selama 10 hari dengan mengamati menggunakan *Radial Arm Maze* (RAM). Pada kelompok K1 jumlah lengan yang benar dimasuki lebih sedikit dibanding dengan kelompok K2, P1, P2, dan P3, sedangkan kelompok K2 hampir sama dengan kelompok P2 dan lebih banyak dari kelompok P1 dan P2. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak teh hijau berpengaruh terhadap memori spasial tikus remaja yang diinduksi etanol.

Kata kunci : Etanol, Ekstrak teh hijau, *Radial Arm Maze*, memori spasial

Pendahuluan

Alkohol adalah agen yang terkenal merusak berbagai organ dan menyebabkan masalah kesehatan yang serius [1]. Statistik menunjukkan bahwa tiga dari setiap empat remaja di sekolah tinggi pernah minum alkohol. *World Health Organization* memperkirakan bahwa sekitar 140 juta orang menderita alkoholisme. Di Indonesia 4,3% siswa laki-laki dan 0,8% siswa wanita setidaknya minum satu atau lebih minuman yang mengandung alkohol dalam 30 hari terakhir [2]. Telah dihipotesiskan bahwa etanol lebih berpotensi untuk mengganggu pembelajaran dan fungsi memori terkait pada tikus remaja dibandingkan dewasa. Saat ini juga ditemukan konsumsi etanol setiap hari selama dua minggu dapat mengurangi hampir 40% produksi sel di hipokampus [3]. Pada akhir-akhir ini ada beberapa pendapat bahwa sebuah teh hijau dapat memberikan efek peningkatan pada daya ingat [4]. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) pada teh hijau dapat dengan mudah melewati sawar darah otak dan mencapai parenkim otak [4]. *Epigallocatechin-3-gallate* menunjukkan bahwa dapat mengurangi ion Ca^{2+} , mengurangi kerusakan mitokondria sehingga mencegah kalsium yang berlebihan dan melindungi neuron [5]. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau terhadap fungsi memori spasial pada tikus remaja setelah pemberian etanol.

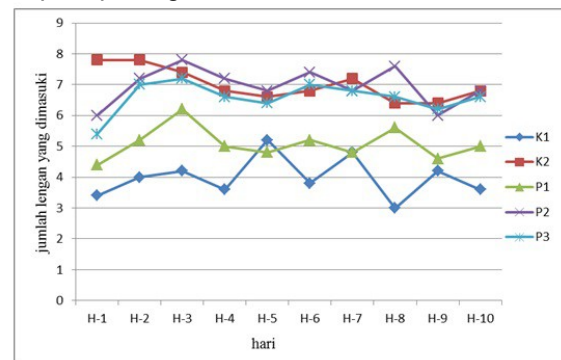
Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental design*, dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada bulan September 2013. Bahan yang digunakan adalah ekstrak teh hijau dengan pelarut etanol 70%. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) remaja sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, dan tiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus, kelompok K1 dengan pemberian etanol 20% dosis 2gr/kgBB, kelompok K2 dengan pemberian aquadest, kelompok P1 pemberian etanol 20% dosis 2gr/kgBB dan ekstrak teh hijau 108mg/200grBB, kelompok P2 etanol 20% dosis 2gr/kgBB dan ekstrak teh hijau 216mg/200grBB, kelompok P3 etanol 20% dosis 2gr/kgBB dan ekstrak teh hijau 432mg/200grBB. Pemberian etanol dan ekstrak the hijau selama 14 hari, pada 3 hari terakhir pemberian tikus diadaotasikan pada *Radial Arm Maze* (RAM) delapan lengan. Setelah itu dilakukan penilaian memori spasial pada tikus. Cara menilai memori spasial yaitu mengamati jumlah lengan RAM yang benar dimasuki tikus. Jumlah lengan yang benar

dengan kriteria yaitu tikus dimasukkan pada tengah *maze* dan dibiarkan untuk menjelajahi semua lengan. Lengan yang dimasuki dihitung dengan syarat tikus berhasil memasuki lengan jika masuk sampai ujung lengan atau masuk setengah panjang lengan, diberi waktu selama 10 menit, diakhiri jika semua lengan telah dimasuki dan lengan yang telah dimasuki namun dimasuki kembali tidak dihitung. Data yang didapat kemudian dilakukan analisis data dengan aplikasi *SPSS16 for windows*.

Hasil

Setelah dilakukan uji *Radial Arm Maze* (RAM) pada kelompok K1 jumlah lengan yang benar dimasuki lebih sedikit dibanding dengan kelompok K2 dan lebih sedikit dari kelompok P1, P2, dan P3. Sedangkan kelompok K2 jumlah lengan yang benar dimasuki hampir sama dengan kelompok P2 dan lebih banyak dari kelompok P1 dan P3. Jumlah lengan benar yang dimasuki tikus selama 10 hari bila disajikan dalam bentuk grafik didapatkan seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik jumlah lengan yang benar dimasuki oleh kelima kelompok tikus ($n = 5$ ekor tikus tiap kelompok) pada uji *Radial Arm Maze* (RAM).

Keterangan :

K1 : Kelompok yang tidak diberi etanol dan ekstrak teh hijau

K2 : Kelompok yang diberi etanol 2 gr/KgBB

P1 : Kelompok yang diberi etanol 2 gr/KgBB dan ekstrak teh hijau 108 mg/200mgBB

P2 : Kelompok yang diberi etanol 2 gr/KgBB dan ekstrak teh hijau 216 mg/200mgBB

P3 : Kelompok yang diberi etanol 2 gr/KgBB dan ekstrak teh hijau 432 mg/200mgBB

Hasil dari uji *maze* didapatkan data dengan skala ordinal, sehingga analisis data

yang digunakan menggunakan non parametrik. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada 5 kelompok digunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* dan untuk mengetahui tampilan memori kerja spasial selama 10 hari dengan membedakan dua kelompok digunakan uji *Mann-Whitney*.

Tabel 1. hasil uji *Kruskal-Wallis* harian jumlah lengan yang benar dimasuki oleh tikus (n = 5 ekor tikus tiap kelompok)

	hasil
Chi-Square	12.741
df	4
Asymp. Sig.	13

Data di analisis menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* dan didapatkan nilai *Chi. Square* 12,741 dan nilai *Asymp. Sig* 0,013, atau probabilitas dibawah 0,05 ($0,002 < 0,05$) yang berarti H_0 ditolak atau terdapat cukup bukti perbedaan dari kelima kelompok dalam memasuki jumlah lengan maze.

Tabel 2. hasil uji *Mann-Whitney* harian jumlah lengan yang benar dimasuki oleh tikus (n = 5 ekor tikus tiap kelompok)

Hari	Kelompok									
	K1-K2	K1-P1	K1-P2	K1-P3	K2-P1	K2-P2	K2-P3	P1-P2	P1-P3	P2-P3
1	0,007*	0,526	0,039	0,089	0,034*	0,032*	0,034*	0,278	0,456	0,443
2	0,009*	0,396	0,025*	0,033*	0,044*	0,189	0,189	0,197	0,279	0,991
3	0,008*	0,159	0,007*	0,008*	0,502	0,221	0,729	0,155	0,584	0,189
4	0,011*	0,233	0,007*	0,013	0,202	0,572	0,872	0,107	0,242	0,432
5	0,129	0,488	0,007*	0,129	0,130	0,822	0,914	0,014*	0,130	0,822
6	0,042*	0,289	0,011*	0,020*	0,265	0,637	0,910	0,104	0,233	0,572
7	0,032*	0,913	0,034*	0,104	0,041*	0,502	0,572	0,068	0,109	0,914
8	0,015*	0,114	0,007*	0,021*	0,914	0,092	0,747	0,156	0,665	0,238
9	0,083	0,915	0,161	0,116	0,136	0,588	0,736	0,234	0,133	0,827
10	0,017*	0,338	0,015	0,018*	0,125	0,910	0,811	0,135	0,159	0,650

Keterangan:

* = signifikansi pada tingkat kepercayaan 95%, $p < 0,05$

Hasil uji *Mann-Whitney* antara kelompok K1 dengan K2 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-6, ke-7, ke-8, dan ke-10. Antara kelompok K1 dengan P1 tidak terdapat perbedaan bermakna selama 10 hari. Antara kelompok K1 dengan P2 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6, ke-7, ke-8, dan ke-10. Antara kelompok K1 dengan P3 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-2, ke-3, ke-4, ke-6, ke-8, dan ke-10. Antara kelompok K2 dengan P1 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-1, ke-2, dan ke-7. Antara kelompok K2 dengan P2 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-1. Antara kelompok K2 dengan P3 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-1. Antara kelompok P1 dengan P3 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-5. Antara kelompok P1 dengan P3 tidak ada perbedaan bermakna sampai hari ke-10. Antara kelompok P2

dengan P3 tidak ada perbedaan bermakna sampai hari ke-10.

Pembahasan

Setelah dilihat dari hasil Uji *Maze* pada kelompok K1 yang hanya diinduksi etanol 20% secara intraperitoneal mendapatkan hasil jumlah lengan yang berhasil dimasuki paling sedikit dibandingkan K2. Hal ini membuktikan bahwa etanol mampu menurunkan memori kerja spasial dari tikus, seperti penelitian sebelumnya yang mengungkapkan adanya penurunan memori spasial pada tikus usia 2 bulan setelah pemberian etanol 20% selama 2 bulan [6].

Salah satu penyebab penurunan memori adalah kerusakan sel di hipokampus. Sedangkan pemberian etanol setiap hari ke tikus selama 2 minggu akan mengurangi

hampir 40% produksi sel di hipokampus [3]. Salah satu mekanisme kerusakan hipokampus yang diyakini berkaitan dengan toksisitas etanol adalah mekanisme fluiditas membran. Gangguan fluiditas membran ini dapat menyebabkan ion Ca^{2+} meningkat dan memacu kerusakan membran mitokondria bahkan dapat mengaktifkan jalur apoptosis [7].

Berdasarkan rata-rata jumlah lengan yang benar dimasuki oleh tikus kelompok P1, P2, dan P3 lebih besar dibandingkan dengan K1. Dari uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai *Asymp. Sig.* 0.013, yang menunjukkan adanya perbedaan dari ke-5 kelompok yang diuji. Sedangkan dari uji *Mann-Whitney* pada kelompok K1 dengan P1 tidak didapatkan perbedaan, K1 dengan P2 didapatkan 9 perbedaan, dan K1 dengan P3 didapatkan 6 perbedaan. Dari data tersebut dapat disimpulkan adanya pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada memori spasial tikus yang diinduksi etanol dan kelompok K2 lebih baik dibandingkan dengan kelompok K1 dan K3 dalam mempengaruhi memori spasial pada tikus yang diinduksi etanol. Pada hasil uji tersebut menunjukkan bahwa K1 dengan P2 lebih banyak perbedaannya dibandingkan K1 dengan P3. Hal ini menunjukkan semakin tinggi dosis ekstrak teh hijau tidak menunjukkan semakin baik dalam mempengaruhi pencegahan memori spasial pada tikus.

Kandungan katekin pada teh hijau terutama epigallocatekin galat (EGCG) sangat bermanfaat terutama dalam melindungi neuron dari kerusakan. Epigallocatekin galat dapat dengan mudah melewati sawar darah otak dan mencapai parenkim otak [8]. Data epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi teh hijau berkorelasi terbalik dengan kejadian demensia, penyakit Alzheimer, dan penyakit Parkinson [9]. Pada penelitian sebelumnya dengan diberikan EGCG pada hewan menunjukkan bahwa memiliki efek neuroprotektor terhadap penurunan kognitif yang berkaitan dengan usia dan penyakit neurodegeneratif [10]. Pada penelitian lain penggunaan EGCG oral selama tujuh hari dapat mengurangi penurunan memori spasial pada tikus karena iskemia otak [11].

Pengaruh pemberian ekstrak teh hijau salah satunya adalah sebagai neuroprotektif. Kerusakan sel hipokampus yang terjadi dengan mekanisme fluiditas membran dengan meningkatnya ion Ca^{2+} intrasel [7]. Sedangkan teh hijau yang mengandung EGCG dapat mengurangi ion Ca^{2+} , mengurangi kerusakan mitokondria sehingga mencegah kalsium yang berlebihan dan melindungi neuron [5].

Simpulan dan Saran

Pemberian ekstrak teh hijau berpengaruh pada memori spasial tikus remaja yang diinduksi etanol selama 14 hari. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dalam menentukan dosis optimal ekstrak teh hijau dan penilaian memori spasial tikus dengan menggunakan variabel yang berbeda pada RAM di penelitian ini, atau variabel yang digunakan lebih dari satu.

Daftar Pustaka

- [1] Tateno M, Saito T. Biological Studies on Alcohol-Induced Neuronal Damage. *Psychiatry Invest* 2008; 5: 21-27.
- [2] WHO. Global Status Report on Alcohol and Health. 2011. [cited 2012 Jul 17]. Available from : http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/index.html.
- [3] Anderson ML, Nokia MS, Govindaraju KP, Shors TJ. Moderate Drinking? Alcohol Consumption Significantly Decrease Neurogenesis in The Adult Hippocampus. *Neuroscience* 2012 Nov; 224: 202–209.
- [4] Wang Y, Li M, Xu X, Song M, Tao H, Bai Y. Green Tea Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) Promotes Neural Cell Proliferation and Sonic Hedgehog Pathway Activation During Adult Hippocampal Neurogenesis. *Mol Nutr Food Res*. 2012 Aug; 56: 1292-1303.
- [5] Wang, Liu, Zhang, Yao, Tang, Wei. EGCG and Nimodipine Improve the Symptoms of AD by Inhibiting $[Ca^{2+}]_i$ in Hippocampal Neurons of APP/PS1 Transgenic Mice. 2012; doi:10.1186/1750-1326-7-S1-S30.
- [6] Farr S A, Scherrer JF, Banks W A, Flood J F, Morley JE. Chronic Ethanol Consumption Impairs Learning and Memory after Cessation of Ethanol. *Alcoholism Clin Exp Res*. 2005; 29 (6): 9711-9782.
- [7] Bhav S V, Ghoda L, Hoffman P L. Brain-Derived Neurotrophic Factor Mediates the Anti-Apoptotic Effect of NMDA in Cerebellar Granula Neurons: Signal Transduction

- Cascades and Site of Ethanol Action. *J Neurosci.* 1999; 3277–3286.
- [8] Hu, Bidel, Jousilahti, Antikainen, Tuomilehto. Coffee and Tea Consumption and the Risk of Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2007 Nov; 22(15): 2242-2248.
- [9] Mandel, Amit, Kalfon, Reznichenko. Cell Signaling Pathways and Iron Chelation in the Neurorestorative Activity of Green Tea Polyphenols: Special Reference to Epigallocatechin Gallate (EGCG). *J. Alzheimers Dis.* 2012; 15: 211–222.
- [10] Haque, Hashimoto, Katakura, Tanabe. Long-term Administration of Green Tea Catechins Improves Spatial Cognition Learning Ability in Rats. *J. Nutr.* 2006; 136: 1043–1047.
- [11] Jen W, Ming T, Chi R, Wood, Yuh F. Green Tea Extract Ameliorates Learning and Memory Deficits in Ischemic Rats via Its Active Component Polyphenol Epigallocatechin-3gallate by Modulation of Oxidative Stress and Neuroinflammation. 2012; doi: 10.1155/2012/163106.