
THE EFFECT OF CHERRY (*MUNTINGIA CALABURA*) JUICE ON INCREASED MEMORY IN MICE (*MUS MUSCULUS*) BY MORRIS WATER MAZE METHOD

Maulita Saraswati¹⁾; Krisantus Y Oeleu²⁾; Dhanisa Dwi N.³⁾

ABSTRACT

Published Online

December 20, 2021

This online publication has
been corrected

Authors

- 1) An Nuur University,
maulita27@gmail.com
- 2) Stikes Ar Rum,
krisantusyosefoeleu@gmail.com
- 3) An Nuur University
and
dhanisadwi12@gmail.com

doi: -

Correspondence to:

Maulita Saraswati

Institution : Universitas An
Nuur

Email:

maulita27@gmail.com

Phone:085727126812

Background: Cherry fruit (*Muntingia calabura*) contain are alkaloids, saponins, tannins, and flavonoids which serve to neutralize free radicals. **Purpose:** The research was conducted to know the effect of cherry fruit juice to increased memory in mice using Morris Water Maze (MWM) with the parameter time latency (the time it takes to reach the murine platform). **Method:** Cherry fruit (*Muntingia calabura*) was made in the form of juice, where cherry used as many as 50 g and then added 200 ml aquadest. A dose of cherry fruit respectively 0, 064 g/kg BW; 0.13 g/kg BW; 0.26 g/kgBW. Animal test used in this study was a White House mouse (*Mus Musculus*) male Balb/c strains which are divided in 5 groups, each group consists of 5 mice. There are 2 negative control group (aquadest), positive (*Gingko biloba*) and 3 treatment groups with cherry fruit juice (0.064; 0.13 0.26 g/kgBW). Mice induced by ethanol 10% orally. Each group of direnangkan treatment on Morris water maze to find the platform. **Result:** Data analysis was carried out by using one way ANOVA. The results showed that a third of the dose of cherry fruit juice 0.064; 0.13; 0.26 mg/kgBB mice can improve memory in mice. **Conclusion:** The effective dose of cherry fruit juice is 0.26 mg/dose kgBW because the equivalent positive control group.

Keyword: Memory, *Muntingia calabura*, Morris Water Maze (MWM)

PENDAHULUAN

Organ yang paling penting bagi tubuh dalam mengatur dan mengontrol semua aktivitas tubuh yaitu otak. Daya ingat adalah kemampuan psikis untuk menerima, menyimpan dan menghadirkan kembali

rangsangan atau peristiwa yang pernah dialami seseorang. Secara umum dikatakan bahwa hampir semua orang akan mengalami masalah daya ingat suatu saat karena proses penuaan.

WHO mendefinisikan penurunan daya ingat sebagai kehilangan yang progresif dari fungsi kognitif tanpa kehilangan kesadaran yang disebabkan oleh disfungsi yang progresif dan kematian sel-sel neuron yang bertanggung jawab untuk menyimpan dan memproses informasi. Dari penelitian sebelumnya, dikatakan bahwa penurunan daya ingat dipengaruhi oleh kontribusi stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan yang tidak seimbang antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan sistem pertahanan antioksidan tubuh (Yanwirasti 2006).

Oleh karena itu diperlukan suatu asupan makanan atau suplemen antioksidan untuk menjaga keseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan sistem pertahanan antioksidan tubuh. Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan aktivitas antioksidan adalah buah talok (*Muntingia calabura*) yang sering kita jumpai di jalan ataupun pekarangan rumah yang didalamnya terdapat kandungan vitamin C. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Preethi dkk.(2010), buah talok memiliki aktivitas antioksidan dan ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak petroleum eter, kloroform, etil asetat, dan butanol. Sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak air

buah talok lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak metanol, etanol dan aseton (Kolar dkk. 2011).

Dalam penelitian ini digunakan metode *Morris water maze* secara umum menggunakan kolam air berbentuk bulat dengan air 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 tidak terlihat opaque. 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. Berdasarkan permasalahan yang telah dikemukakan di atas dan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, buah kersen dapat digunakan sebagai antioksidan yang memiliki manfaat menjaga daya ingat.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu takar 50 ml, spuit insulin skala 0,1 ml dan alat uji daya ingat (*Morris water maze*). Bahan sampel yang

digunakan dalam penelitian ini adalah buah kersen (*Muntingia calabura*) yang diperoleh dari Purwodadi, Grobogan, Jawa Tengah. Ginkgo biloba, etanol 10%, dan aquadest. 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 negative. Pemilihan mencit sebagai hewan uji didasarkan atas karakteristik mencit yang mudah ditangani, enakut, fotofobik, cenderung bersembunyi dan aktif pada malam hari (Smith & Mangkoewidjaja 1988).

Determinasi buah kersen

Tahap awal penelitian ini adalah pemeriksaan sampel buah kersen berkaitan dengan ciri mikroskopis dan makroskopis dari tanaman tersebut dan mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman kersen terhadap kepustakaan Flora of Java (C.A.Backer 1968) dan dibuktikan oleh Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi.

Pembuatan jus buah kersen

Pembuatan jus buah kersen dengan menggunakan buah kersen yang matang dan segar sebanyak 50 g dan penambahan

aquadest sebanyak 200 ml. Maka tiap 1 ml jus buah kersen mengandung 0,25 g kersen segar.

Pembuatan larutan stok Ginkgo biloba

Kandungan dalam satu kapsul instan ekstrak Ginkgo biloba adalah 75 mg/70 Kg BB manusia untuk 1 kali minum. Dosis pada mencit dengan berat badan 20 g adalah $0,0026 \times 75 \text{ mg/70 kg BB}$ maka diperoleh dosis 0,195 mg/20 g BB mencit.

Pembuatan larutan stok alkohol 10%

Pengenceran alkohol 10 % dari alkohol 96% sebagai penginduksi kerusakan otak yaitu dilakukan dengan mengambil 0,10 L alkohol 96% dengan aquadest 0,9 L . volume pemberian alkohol 10% pada mencit BB 20 g adalah 0,5 ml.

Pengelompokan hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit. Sebelum dilakukan percobaan mencit terlebih dahulu diakliminasi selama 1 minggu disesuaikan dengan kondisi kemudian ditimbang berat badannya. Mencit dipuaskan dahulu diberi makan dan minum. Dalam penelitian ini digunakan mencit sebanyak 25 ekor dengan 5 kelompok uji, dengan masing-

masing kelompok uji terdiri dari 5 ekor mencit.

- Kelompok I yaitu kontrol negative (aquadest)
- Kelompok II yaitu kontrol positif ekstrak Ginkgo biloba (0,195 mg/20 g BB)
- Kelompok III jus buah kersen dengan dosis (0,064 g/20 g BB)
- Kelompok IV Jus buah kersen dengan dosis (0,13 g/20 g BB)
- Kelompok V jus buah kersen dengan dosis (0,26 g/20 g BB)

Prosedur uji daya ingat

Pengujian *Morris Water Maze* terdiri dari 3 tahap yaitu *Acquisition trial*, *probe trial* dan uji kemampuan sensoris otak. Kolam dibagi menjadi empat kuadran di sekeliling *maze* diberi penanda. Kolam diisi air santan. *Acquisition trial* dilakukan selama 5 hari. Mencit dilatih untuk

menemukan platform yang terletak 2 cm dibawah permukaan air pada salah satu kuadran sebanyak dua kali sehari. Waktu diakhiri jika mencit mencapai platform atau setelah berenang selama 60 detik, tetapi jika mencit tidak berhasil menemukan platform selama 60 detik maka mencit akan dibimbing untuk menemukan platform dan ditempatkan diatas platform selama 15 detik sebelum latihan berikutnya. Pada hari ke-6 diinduksi etanol 10% selama 3 hari, untuk melihat fungsi penurunan memori pada hari ke 9 direnangkan kembali. Mencit diberi perlakuan selama 3 hari kelompok 1 kontrol negatif (aquadest), kelompok II (Ginkgo biloba), kelompok III (Jus buah kersen dosis 0,064 g/kgBB), kelompok IV (Jus buah kersen dosis 0,13 g/kgBB), kelompok V (Jus buah kersen dosis 0,26 g/kg BB). perlakuan hari ke-14 mencit diberi latihan dilakukan sebanyak 2 kali sehari setiap mencit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1; Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Jus Buah Kersen

Golongan kimia	Prosedur	Hasil reaksi tabung
Alkaloid	Jus buah kersen 3 ml + 2-3 tetes reagen Dragendrof	(+) Endapan putih kekuningan
Saponin	Terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm ditambah HCL 2N buih tidak hilang (Robinson 1995)	(+) Terbentuk buih yang mantap, ditambah HCL 2N buih tidak hilang

Flavonoid	1 ml jus buah kersen + 0,1 ml serbuk Mg + 2 ml alkohol : amil klorida (1:1) + pelarut amil alkohol, dikocok kuat – kuat biarkan memisah. Menunjukkan warna merah, kuning, jingga, pada amil alkohol (Robinson 1995)	(+) Terbentuk warna kuning
Tanin	Jus buah kersen + 5 tetes FeCl ₃ 5% b/v. Menunjukkan warna biru tua atau hitam kehijauan	(+) Terbentuk warna hitam kehijauan

Hasil uji daya ingat

Acquisition trial

Acquisition trial adalah tes untuk melihat fase latihan sebagai proses pembelajaran untuk pembentukan memori spasial. Fase ini dilakukan 5 hari berturut-

turut hewan uji direnangkan tanpa perlakuan dan sudah dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Pada *Acquisition trial* didapatkan waktu :

Tabel 2; Perhitungan Waktu Latensi *Acquisition Trial* Selama 5 Hari Tanpa Perlakuan

Kelompok uji	Waktu latensi (detik)					Rata-rata ± SD
	Hari 1 ± SD	Hari 2 ± SD	Hari 3 ± SD	Hari 4 ± SD	Hari 5 ± SD	
I	17.23 ± 12.8	18.39 ± 4.83	17.82 ± 8.61	12.4 ± 1.95	16.03 ± 5.21	16.40 ± 2.40
II	42.23 ± 10.94	28.85 ± 8.84	30.00 ± 3.44	24.85 ± 4.43	20.10 ± 3.03	29.21 ± 8.25
III	33.8 ± 16.51	43.37 ± 15.3	30.63 ± 8.76	28.35 ± 3.99	22.31 ± 9.32	31.69 ± 7.76
IV	33.8 ± 14.59	50.04 ± 22.52	29.34 ± 18.12	37.34 ± 10.82	27.93 ± 3.87	35.69 ± 8.84
V	31.69 ± 19.21	35.16 ± 18.09	26.95 ± 21.16	25.74 ± 5.46	21.59 ± 5.05	28.21 ± 5.29

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa dari kelima kelompok hewan uji tanpa perlakuan yang diberikan latihan atau pembelajaran selama 5 hari mengalami perkembangan setiap harinya dari hari ke hari pertama sampai hari ke lima, tetapi ada beberapa kelompok yang mengalami sedikit kenaikan waktu pada hari kedua dan keempat yang mungkin dikarenakan factor lingkungan sekitar dan alat yang kurang

bersih. Pada hari kelima mengalami peningkatan kembali. Hari pertama merupakan hasil pembelajaran awal terhadap hewan uji, sehingga diperlukan waktu yang relatif lama untuk mencapai platform. Pada hari kelima waktu yang dibutuhkan lebih cepat untuk mencapai platform karena mencit sudah terbiasa dan mampu mengingat apa yang dilakukan sebelumnya.

Hasil Induksi Etanol 10%

Induksi etanol 10% dimaksudkan untuk menurunkan fungsi memori dari hewan uji sehingga dapat diketahui pengaruh pemberian sediaan dapat memperbaiki fungsi memori yang meningkatkan daya ingat. Pemberian etanol

10% diberikan secara peroral selama 3 hari berturut-turut. Setelah pemberian etanol 10% dilakukan renang kembali dengan dua kali renang dalam satu waktu untuk mengetahui fungsi memori hewan uji apakah terjadi penurunan atau tidak.

Tabel 3; Perhitungan Waktu Latensi Setelah Diinduksi Etanol 10%

Kelompok Uji	Waktu latensi (detik)		Rata-rata waktu latensi ± SD
	Renang 1 ± SD	Renang 2 ± SD	
I	53.27 ± 8.13	50.68 ± 5.49	51.98 ± 1.83
II	38.93 ± 16.08	33.73 ± 14.28	36.33 ± 3.68
III	37.08 ± 8.21	24.96 ± 4.40	31.02 ± 8.57
IV	40.37 ± 7.85	34.80 ± 14.36	37.59 ± 3.94
V	32.74 ± 7.21	27.37 ± 10.46	30.06 ± 3.80

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa pemberian induksi etanol 10% dapat menurunkan fungsi memori dari hewan uji karena rata-rata waktu latensi yang diperoleh lebih besar dari rata-rata waktu latensi pada fase pembelajaran. Hal ini disebabkan karena pemberian etanol 10% dapat menyebabkan kerusakan fungsi otak pada hewan uji berkurang.

Probe test

Probe trial adalah tes untuk melihat fungsi memori hewan uji yaitu kemampuan penyimpanan memori setelah melewati tahap pembelajaran pada Acquisition trial dan pemberian etanol 10%. Probe trial dilakukan selama satu hari dengan dua kali renang.

Tabel 4; Perhitungan Waktu Latensi Setelah Perlakuan

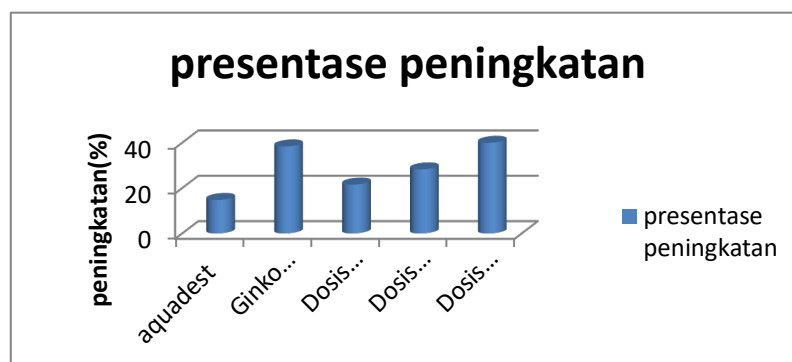
Kelompok Uji	Waktu latensi (detik)		Rata-rata waktu Latensi ± SD
	Renang 1 ± SD	Renang 2 ± SD	
I	43,51 ± 9,23	42,80 ± 6,33	42,80 ± 1,01
II	36,33 ± 13,63	22,39 ± 7,08	29,36 ± 9,86
III	26,26 ± 7,84	22,41 ± 4,56	24,34 ± 2,72
IV	30,79 ± 4,14	23,13 ± 7,51	26,96 ± 5,42
V	18,79 ± 4,36	17,30 ± 2,94	18,05 ± 1,05

Berdasarkan tabel perhitungan waktu latensi setelah pemberian jus diatas dapat dilihat terdapat perbedaan pada kelima kelompok perlakuan, terutama pada kelompok kontrol negatif yang tidak memiliki efek terhadap peningkatan daya ingat. Terlihat bahwa pada kelompok kontrol negative membutuhkan waktu yang lama untuk sampai ke platform bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Sedangkan pada kelompok dosis 0,26 g/20gBB (kelompok dosis 3) memberikan respon yang paling optimal dan setara dengan kelompok kontrol positif

dan berbeda jauh dengan kelompok kelompok kontrol negatif. Pada kelompok dosis 1 dan 2 (0,064 g/20gBB dan 0,26 g/20gBB) juga menunjukkan adanya pengaruh terhadap kemampuannya dalam meningkatkan daya ingat tetapi tidak sebaik kelompok dosis 3 (0,26 g/20gBB) karena kelompok dosis 3 paling mendekati kelompok kontrol positif. Maka pada percobaan ini diantara 3 variasi dosis yang paling efektif meningkatkan daya ingat pada mencit adalah dosis 0,26 g/20gBB(kelompok dosis 3).

Tabel 5; Perhitungan Persentase Peningkatan Daya Ingat

Kelompok Uji	Waktu latensi (detik)		Persen peningkatan (%)
	Setelah etanol 10 % ± SD	Setelah perlakuan ± SD	
I	51,98 ± 6,30	44,30 ± 6,40	14,78
II	36,33 ± 13,63	22,39 ± 7,08	38,37
III	31,02 ± 5,45	24,33 ± 4,72	21,57
IV	37,58 ± 9,31	26,96 ± 4,18	28,26
V	30,06 ± 7,802	18,04 ± 2,54	39,98



Gambar 1; Presentase Peningkatan Daya Ingat Setelah Induksi Etanol 10%

Berdasarkan tabel dan histogram di atas menunjukkan bahwa persentase peningkatan daya ingat setelah diinduksi etanol 10% dan diberikan perlakuan terdapat perbedaan tiap kelompok perlakuan. Tetapi pada kelompok kontrol positif (Ginkgo biloba) dan kelompok dosis 0,26 g/20gBB mencit persentase peningkatannya setara atau mendekati. Sehingga kelompok dosis 0,26 g/20gBB mencit adalah kelompok dosis yang paling efektif dibandingkan kelompok dosis yang lain.

Data yang telah diperoleh dianalisa dengan menggunakan ANOVA satu jalan, karena ada dua variabel yang berpengaruh dalam penelitian yaitu kelompok uji dan waktu pengamatan. Sebelum dilakukan uji ANOVA terlebih dahulu dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui normalitas data. Hasil uji data dari penelitian diperoleh signifikansi $0,960 > 0,05$ dan analisis variansi dengan uji homogenitas dan diperoleh signifikansi $0,276 > 0,005$. Selanjutnya untuk mengetahui adanya perbedaan nyata dilakukan uji ANOVA satu jalan (One way ANOVA). Dari uji ANOVA diperoleh hasil signifikansi $0,231 > 0,05$ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada data yang dilakukan (Post Hoc Test) yaitu uji Tukey untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna. Berdasarkan

table uji Tukey, kelompok yang paling baik memberikan perbedaan dari semua kelompok perlakuan adalah control negative (aquadest). Untuk analisa data statistik menggunakan SPSS peningkatan daya ingat dapat dilihat pada lampiran.

Hasil uji identifikasi membuktikan bahwa jus buah kersen mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin dapat memberikan efek neuroprotektif dengan cara mencegah terjadinya kerusakan pada sel-sel neuron. Mekanisme kerja lainnya dari flavonoid yaitu berperan dalam mengendalikan penyimpanan memori dalam area hipokampus dan korteks limbik melalui interaksi penghantaran sinyal atau sensitisasi pada sistem saraf (Spencer 2009). Flavonoid juga memiliki peran dalam perbaikan memori kerja spasial. Misalnya pada peningkatan hippocampus dari Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF).

Efek antioksidan terutama disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti flavonoida, asam fenolat. Biasanya senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenol yang mempunyai gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus -OH dan -OR. Mekanisme perlindungan jus buah terhadap

memori dapat terjadi karena kemampuannya menurunkan kematian sel-sel neuron. Penurunan ini terjadi melalui upregulasi *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) pada kultur sel hippocampus. *Brain Derived Neurotrophic Factor* merupakan faktor penting untuk menjaga viabilitas sel-sel neuron, meningkatkan plastisitas neuron, serta menjaga memori dan kemampuan belajar. Jus buah kersen juga mampu melindungi fungsi memori dengan cara menurunkan jumlah reactive oksigen species (ROS) berupa radikal hidroksil (OH), radikal superoksida (O₂), hidrogen peroksida (H₂O₂), nitrit oksida (NO), dan peroksinitrit (OONO), meningkatkan kapasitas antioksidan seperti glutation (GSH), mencegah apoptosis dengan cara menurunkan aktivitas caspase-3 dan meningkatkan Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) pada kultur hippocampus. Mekanisme yang lain dicapai dengan menekan aktivitas acetylcholinesterase (AChE) sehingga kadar asetilkolin diharapkan tetap tinggi dalam otak dan meningkatkan ekspresi protein karyopherin β 1 (KPNB1) (Huang et al. 2014).

SIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pertama, jus buah kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat meningkatkan daya ingat pada mencit Balb/c
2. Kedua, pada dosis 0,26 g/20gBB jus buah kersen (*Muntingia calabura* L.) memberikan peningkatan daya ingat paling efektif pada mencit BalB/c

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, C.A., & Bakhuisen van den Brink R.C 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. Vol. III Wolters-Noordhoff, N.V. – Groningen-The Netherlands.
- Huang HJ, Chen WL, Hsieh RH, Li HMH. 2014. Multifunctional effects of mangosteen pericarp on cognition in C57BL/6J and triple transgenic alzheimer's mice. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*; 2014:1–18.
- Kolar, F. R., Kamble, V. S., Dixit, G. B., 2011, *Phytochemical Constituents and Antioxidant Potential of Some Underused Fruits*, *African J. Pharm. Pharmacol.*, 5(18), 2067-2072.
- Preethi, K., Vijayalakshmi, N., Shamna, R., Sasikumar, J.M., 2010, *In Vitro Antioxidant Activity of Extracts from Fruits of Muntingia calabura Linn. From India*, *Phcog. J.*, 2 (14), 11-18.
- Smith, B.J. dan S. Mangkoewidjaja. 1988. *Pemeliharaan pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Spencer, J. P. 2009. *The Impact of Flavonoids on Memory: Physiological*

and Molecular Consideration,
Chemical Society Reviews, Vol. 4. No.
34, pp.1152-1161.

Yanwirasti. 2006. Kontribusi Stres
Oksidatif Terhadap Neuropatobiologi
Demensia Pada penyakit Alzheimer.
Padang: Fakultas Kedokteran
Universitas Andalas. Yasuda, S. U., L.