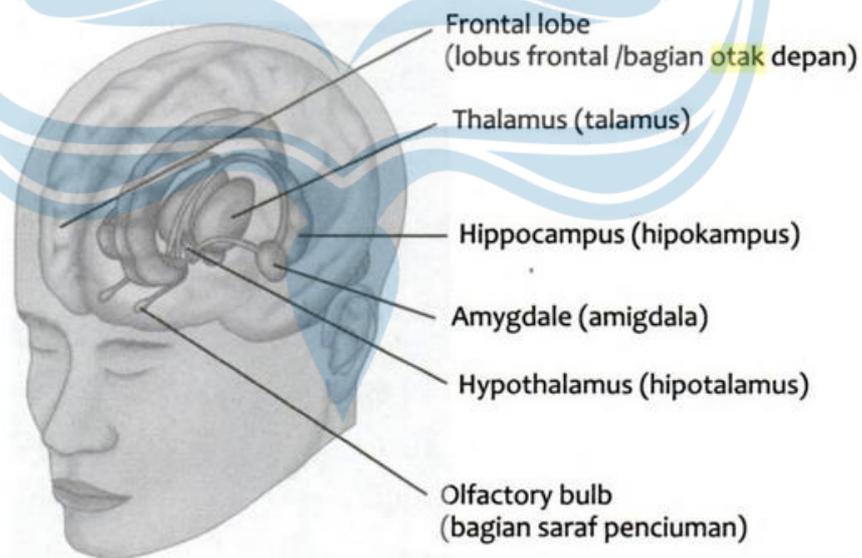


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penurunan Daya Ingat

Daya ingat merupakan suatu kemampuan dalam mengolah, menyimpan, dan memunculkan suatu informasi yang telah diserap oleh otak. Daya ingat akan mengalami peningkatan apabila otak dirangsang untuk menghasilkan neuron secara intensif (Zulaikasari dkk., 2023). Otak merupakan organ penting yang terdapat di dalam tubuh yang memiliki fungsi sebagai pusat dalam mengontrol emosi, kreativitas, berfikir, intelegensi, dan tingkah laku (Herlina dan Nurjannah, 2017). Bagian -bagian otak dapat dilihat pada Gambar 1. dibawah ini.



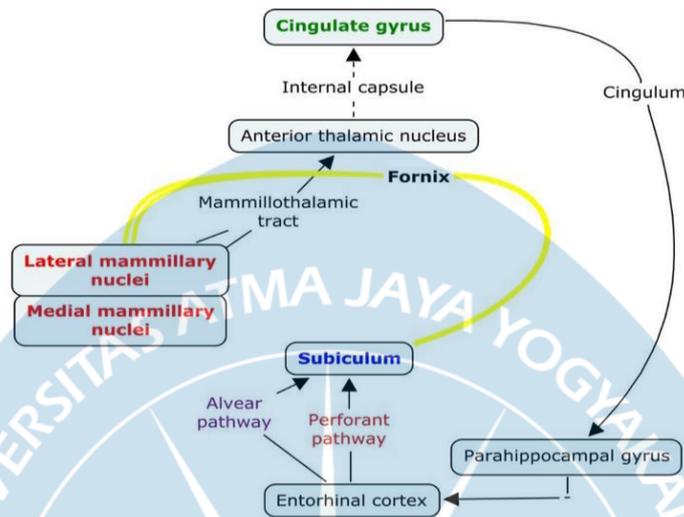
Gambar 1. Bagian-Bagian Otak (Haryanto, 2010).

Kemampuan otak dalam menyimpan suatu memori disebabkan karena adanya bagian otak yang disebut *hippocampus*. *Hippocampus* adalah salah satu bagian dari otak yang memiliki fungsi dalam hewan atau manusia untuk mengingat obyek yang memiliki hubungan dengan diri mereka sendiri maupun dengan benda-benda lain yang terdapat di dalam lingkungannya. *Hippocampus* terletak pada *temporal medial lobe* yang dikelilingi oleh *entorhinal*, *parahippocampal*, dan *perirhinal cortex*. *Hippocampus* terdiri dari bagian yang paling lebar yaitu *hippocampus proper* atau *cornu ammonis*, dan bagian yang menutupi sebagian besar dari badan *hippocampus* yaitu *alveus*. *Hippocampus* memiliki bagian yang tipis yang menghubungkan dengan thalamus yang disebut *fornix* (Dewi, 2022).

Hippocampus merupakan komponen otak yang termasuk ke dalam sistem limbik. Sistem limbik adalah rangkaian dari struktur otak yang memiliki fungsi yang berkaitan dengan memori dan emosi. Komponen yang termasuk ke dalam sistem limbik yaitu *amygdala*, *hypothalamus*, dan *hippocampus* (Dewi, 2022). Komponen pada sistem limbik memiliki fungsi yang berbeda. *Amygdala* memiliki fungsi untuk mengatur dan menentukan rasa takut dan menghasilkan respon pada jantung, keringat, dan sesak napas. *Hypotalamus* memiliki fungsi untuk mengatur suhu tubuh, mengatur metabolisme tubuh, dan menjaga keseimbangan homeostasis. *Hippocampus* memiliki fungsi dalam pembelajaran dan memori (Dewi, 2022).

Hippocampus terletak pada bagian tengah bawah di dalam *lobus temporal* dan memiliki peran dalam mengingat kembali memori jangka panjang dan pendek. *Hippocampus* juga memiliki peran dalam membentuk memori spasial berupa kemampuan dalam mengingat lokasi dan orientasi dalam ruang. *Hippocampus* memiliki fungsi utama untuk mengolah informasi dari memori jangka pendek dan diubah menjadi memori jangka panjang, *hippocampus* bekerja sama dengan bagian otak lainnya seperti korteks prafontal, korteks temporal, dan amigdala dalam mengumpulkan informasi (Setyawan, 2023).

Hippocampus dapat mengumpulkan informasi dan impuls melalui *hippocampus* proper dan disalurkan menuju bagian lain yang disebut pleksus koroid. *Hippocampus* merupakan salah satu bagian dari sirkuit papez (*papez circuit*), sirkuit papez adalah suatu jalur yang berfungsi untuk mengontrol emosi pada *cerebral cortex* dan dapat berfungsi juga dalam menyimpan memori. Sirkuit papez terdiri dari rangkaian-rangkaian kecil pada *cerebral cortex* dan dapat membawa informasi melalui korteks menuju bagian-bagian lain didalam dalam otak (Dewi, 2022). Jalur sirkuit papez dalam membawa informasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Jalur Papez Circuit (Dewi,2022).

Mekanisme kerja dari sirkuit papez ini yaitu informasi diterima dari *hippocampal formation* (terdiri dari *fonix* dan bagian otak yang lain), setelah itu akan diteruskan menuju *mammillary bodies*. Informasi yang diterima oleh mamillary bodies ini akan diteruskan menuju *mammillothalamicus tractus* dan bagian atas dari *anterior thalamicus nucleus*. Kapsula interna akan membawa informasi dari *anterior thalamicus nucleus* menuju *cingulate gyrus*, setelah itu informasi akan dibawa melalui *cingulum* menuju *parahippocampal gyrus*. Informasi yang sampai di *parahippocampal gyrus* akan disalurkan menuju *entorhinal cortex* dan melewati jalur *perforant* sehingga sampai di *subiculum*. Semua informasi yang dibawa akan berhenti pada *hippocampus*.

Hippocampus memiliki peran dalam pengolahan memori. Memori merupakan suatu kemampuan yang dimiliki oleh otak untuk dapat menyimpan dan memproses informasi yang telah didapatkan. Proses pembentukan suatu

memori melibatkan beberapa tahapan yaitu pengkodean (*encoding*), penyimpanan (*storage*), dan pengembalian kembali (*retrieval*) (Setyawan, 2023).

Pengkodean (*encoding*) merupakan mekanisme dalam memproses pengalaman visual, pendengaran, atau sentuhan. Proses dalam pengkodean informasi yang baik dan efektif dapat memperkuat koneksi antara sel-sel saraf sehingga memori tersimpan dengan baik. Penyimpanan (*storage*) merupakan suatu proses yang terjadi setelah informasi berhasil dikodekan dan disimpan menjadi memori jangka panjang dan memori jangka pendek. Pengembalian kembali (*retrieval*) merupakan proses mengambil kembali informasi yang terjadi dalam mengingat informasi yang sudah disimpan oleh otak, proses ini melibatkan sel-sel saraf otak yang terhubung dengan informasi yang diingat. Pengembalian informasi dapat melalui beberapa cara yaitu menghubungkan informasi baru dengan informasi yang sudah disimpan atau merekonstruksi informasi dari pengalaman yang sudah dialami (Setyawan, 2023).

Memori yang dimiliki oleh otak memiliki potensi yang sangat besar dan kompleks yang terdiri dari beberapa jenis memori yaitu terdiri memori jangka panjang dan memori jangka pendek (Setyawan, 2023). Memori jangka pendek (*Short term memory*) adalah salah satu sistem penyimpanan yang memiliki kemampuan dalam menampung informasi secara sementara disaat seseorang sedang melakukan tugas-tugas kognitif. Memori jangka pendek memiliki kapasitas yang kecil dan terbatas, informasi pada memori jangka pendek hanya dapat bertahan selama kurang lebih setengah menit (Julianto, 2017).

Memori jangka pendek memiliki mekanisme berupa terjadi adanya perubahan sesaat pada jumlah *neurotransmitter glutamate* yang dikeluarkan sebagai respon dari adanya stimulasi dalam jalur-jalur saraf yang bersangkutan (Puspitasari dkk., 2015). Memori jangka pendek memiliki fungsi yang sangat penting dalam menyelesaikan sebagian besar dari tugas kognitif yang digunakan untuk memori kerja dalam menjaga dan memanipulasi suatu informasi. Memori jangka pendek juga digunakan dalam menyimpan informasi baru berupa rincian seperti siapa, apa, kapan, dan dimana. Gangguan terhadap memori jangka pendek dapat mengakibatkan kesulitan dalam mengikuti percakapan atau melakukan kegiatan yang kompleks seperti menjalankan bisnis atau mengelola kelas atau reuni keluarga (Theresa, 2020).

Gangguan yang terjadi pada memori jangka pendek dapat berupa gangguan neurodegeneratif, gangguan neurodegeneratif merupakan gangguan yang diakibatkan oleh adanya kerusakan sel neuron baik itu struktur ataupun fungsi yang terjadi pada penderita lanjut usia. Penyakit yang menimbulkan adanya gangguan neurodegeneratif yaitu demensia, Alzheimer, Parkinson, dan penyakit Huntington (Handajani, 2019). Penurunan daya ingat merupakan penyakit atau sindrom yang termasuk ke dalam penyakit progresif atau bisa juga termasuk ke dalam penyakit kronis berupa terjadi suatu penurunan fungsi dari otak. Gangguan penurunan daya ingat biasanya memiliki gejala umum yang sering dirasakan oleh para penderitanya. Gejala umum gangguan penurunan daya ingat yaitu perubahan aktivitas sehari-hari, perubahan perilaku dan kognisi dari sang penderita, dan biasanya perubahan ini juga berdampak

pada orang-orang atau keluarga terdekatnya seperti tidak mengenali anggota keluarga (Lilis dkk., 2023).

Perubahan pada penderita gangguan penurunan daya ingat biasanya terjadi secara bertahap sehingga orang-orang maupun keluarga terdekat tidak merasakan bahwa sang penderita sudah mengalami penurunan daya ingat. Penderita gangguan penurunan daya ingat secara tidak sadar tidak merasakan gejala dari penyakit tersebut (Lilis dkk., 2023). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya demensia yaitu adanya faktor genetik, usia yang sudah lanjut, jenis kelamin, tingkat pendidikan yang rendah, obesitas, diabetes mellitus, hipertensi, mengkonsumsi rokok, mengkonsumsi alkohol, hiperkolesterol, dan mengkonsumsi makanan dengan asupan lemak tak jenuh yang rendah (Pramana dan Harahap, 2022).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi demensia adalah bertambahnya usia seseorang yang menjadi kemungkinan seseorang tersebut untuk mengalami penurunan daya ingat, hal ini sering dianggap sebagai suatu hal yang normal pada proses penuaan. Sebagian orang akan mengalami penurunan daya ingat ringan dan pada kelompok usia yang lebih tua dapat mengalami penurunan daya ingat yang lebih serius (Theresa, 2020). Penurunan daya ingat juga dialami oleh anak-anak, menurut *The Center for Development and Learning* di USA mencatat bahwa masalah dalam penurunan daya ingat jangka pendek terjadi pada anak-anak berupa cepat lupa terhadap instruksi, pelajaran yang baru diajarkan, dan sulit mengingat rutinitas sehari-hari seperti mengatur barang atau mengerjakan tugas sekolah (Puspitasari dkk., 2015).

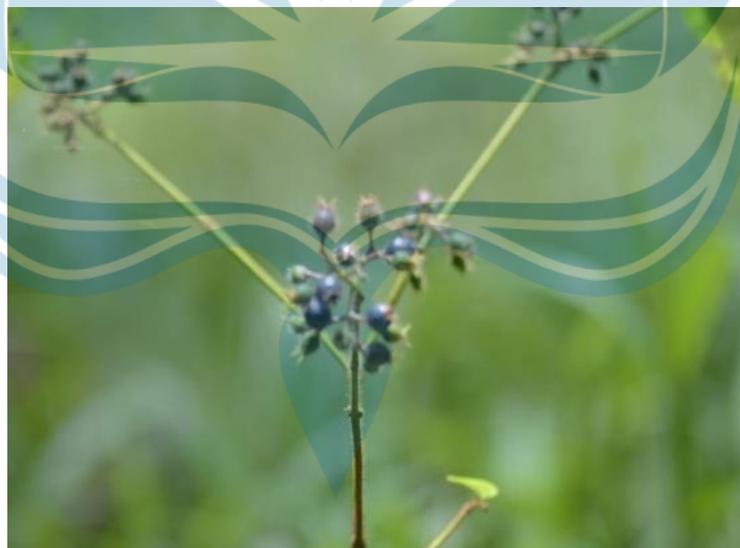
B. Harendong Bulu (*Clidemia hirta* L.)

Harendong bulu (*Clidemia hirta* L.) sinonim dari *Miconia crenata* adalah jenis tumbuhan yang sering tumbuh secara liar di semak-semak atau daun belukar. Tumbuhan ini dapat ditemukan di kawasan terbuka, tepi hutan, dan kadang-kadang menjadi tumbuhan gulma. Morfologi yang dapat dilihat dari tumbuhan harendong bulu yaitu memiliki tinggi sebesar 55 cm, daunnya berupa daun tunggal berhadapan, memiliki ujung daun yang berbentuk runcing dan permukaan daunnya berambut (trikoma) dengan panjang daun sebesar 8 cm, lebar daun 5 cm, dan berwarna hijau, batangnya merupakan batang bulat berwarna coklat yang ditutupi oleh rambut-rambut halus (trikoma) (Pelu dan Djarami, 2021). Klasifikasi tumbuhan harendong bulu berdasarkan data dari ITIS (2023) yaitu:

Kerajaan	: Plantae
Sub Kerajaan	: Viridiplantae
Super Divisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Melastomataceae
Marga	: <i>Clidemia</i> D. Don
Spesies	: <i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don
Nama lokal	: Harendong bulu

Tumbuhan harendong bulu (*Clidemia hirta* L.) merupakan salah satu tumbuhan belukar yang hidup menginvusif dan hidup mengisolasi di hutan hutan tropis. Tumbuhan harendong bulu mempunyai kemampuan yaitu dapat tumbuh pada daerah yang terbuka, terdapat sedikit naungan, memproduksi

bunga sepanjang tahun, dapat memproduksi buah yang melimpah, dan tumbuhan ini tidak mudah untuk terbakar (Saputra dkk., 2016). Tumbuhan harendong bulu sering dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki berbagai kegunaan seperti digunakan sebagai pencuci luka bernanah, menghentikan pendarahan pada luka bersayat, mengobati penyakit sawan, dan buahnya dapat digunakan untuk mengobati bisul dan luka. Manfaat tumbuhan harendong bulu (*C. hirta*) sebagai tanaman obat disebabkan karena adanya kandungan senyawa yang terdapat dalam harendong bulu yang mencakup flavonoid, saponin, tanin, dan steroid (Pelu dan Djarami, 2021). Gambar dari tumbuhan harendong bulu dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Bagian Batang dan Buah Tumbuhan Harendong Bulu (*Clidemia hirta* L.) (Chumaedi dkk., 2022).

C. Standardisasi Simplisia

Simplisia adalah suatu bahan alam yang sering digunakan sebagai bahan baku dari pembuatan obat yang belum diproses atau diolah dengan berbagai macam cara kecuali bahan yang sudah mengalami proses pengeringan. Simplisia terbagi menjadi 3 golongan yaitu simplisia hewani, simplisia pelikan atau mineral, dan simplisia nabati. Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari hewan utuh atau dari zat yang bermanfaat yang diproduksi oleh hewan dan masih termasuk ke dalam bahan kimia campuran. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berasal dari bahan mineral atau pelikan yang belum dilakukan proses pengolahan atau telah dilakukan proses pengolahan secara sederhana dan masih berupa bahan kimia campuran. Simplisia nabati adalah simplisia yang diambil atau didapatkan dari tumbuhan utuh, eksudat tumbuhan, ataupun gabungan dari ketiganya (Lutfiah dan Taurusta, 2022).

Standardisasi simplisia adalah suatu uji yang dilakukan pada suatu simplisia untuk mengetahui simplisia tersebut memenuhi syarat sebagai bahan baku dari obat tradisional (Sutomo dkk., 2021). Tujuan dari dilakukan standardisasi simplisia adalah menjaga kestabilan, keamanan, konsistensi dari kandungan senyawa-senyawa aktif yang berada di dalam suatu simplisia maupun ekstrak yang digunakan (Utami dkk., 2017). Standardisasi simplisia menjadi suatu proses dalam menjamin produk akhir (obat) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan sudah ditetapkan terlebih dahulu (Wibowo dan Amalia, 2024). Standardisasi simplisia yang dilakukan pada penelitian kali ini meliputi uji kadar air, kadar abu total, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol.

1. Kadar Air

Pengukuran kadar air merupakan suatu persentase dari kandungan air dari suatu bahan yang dapat diketahui berdasarkan berat basah (*wet basis*) atau berat kering (*dry basis*) (Priamudi dan Bella, 2022). Pengeringan dilakukan agar dapat mengurangi kadar air dari simplisia sehingga simplisia menjadi tidak mudah rusak saat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Adanya air dan kandungan senyawa lain yang didapatkan dengan kadar yang lebih dari 10% dapat menjadi suatu media untuk bakteri dan mikroba bertumbuh, adanya air juga dapat menyebabkan terjadinya suatu reaksi enzimatik sehingga terjadi penurunan mutu simplisia akibat terurainya zat aktif ketika simplisia disimpan dahulu (Wibowo dan Amalia, 2024).

2. Kadar Abu Total

Pengukuran kadar abu total dilakukan agar dapat memberikan gambaran jumlah total abu yang didapatkan dan material lain yang tersisa setelah dilakukan pemijaran dengan suhu tinggi. Material terdiri atas abu fisiologis yang dapat berasal dari tanaman itu sendiri ataupun abu non-fisiologis yang berasal dari residu senyawa *ekstraneous* seperti pasir dan tanah yang menempel pada tanaman. Pengukuran kadar abu total menggunakan suhu tinggi selama proses pemijaran yang mengakibatkan senyawa organik dan turunannya menjadi menguap dan yang tersisa adalah unsur mineral dan anorganik saja dahulu (Wibowo dan Amalia, 2024).

3. Kadar Sari Larut Air dan Sari Larut Etanol

Pengukuran kadar sari larut air memiliki fungsi untuk menentukan jumlah kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalam suatu sampel simplisia yang terlarut di dalam air. Pengukuran kadar sari larut etanol dilakukan dengan tujuan mengetahui kadar senyawa aktif yang nantinya dapat berfungsi sebagai sumber anti-inflamasi, anti-bakteri, antioksidan yang berguna bagi manusia. Kadar sari larut etanol ini menggunakan etanol yang sama yang digunakan sebagai pelarut untuk ekstrak (Wibowo dan Amalia, 2024).

D. Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan suatu metode yang dilakukan dengan memasukkan dan merendam serbuk sampel dari tumbuhan atau simplisia dalam cairan pelarut yang sesuai kedalam suatu wadah *inert* yang tertutup rapat dengan suhu kamar (Wati dkk., 2022). Prinsip dari maserasi yaitu sampel direndam menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel dengan direndam dengan pelarut tertentu. Sampel kemudian diaduk sesekali agar mempercepat proses pelarutan analit dan dilakukan berulang kali sampel sempurna yang dapat diindikasikan ketika pelarut sudah tidak berwarna (Leba, 2017). Maserasi memiliki kelebihan yaitu alat dan cara penggunaan yang sederhana, dapat digunakan untuk analit yang baik yang tahan terhadap pemanasan atau yang tidak tahan terhadap panas. Kekurangan dari metode ini yaitu memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan

beberapa memungkinkan untuk hilang atau sulit diekstraksi pada suhu kamar (Wati dkk., 2022).

Maserasi umumnya menggunakan pelarut berupa etanol. Etanol dipilih sebagai pelarut karena ketersediaannya yang mudah, efisiensinya dalam penggunaan, dampak yang minim terhadap lingkungan, dan kemampuannya untuk mencapai tingkat ekstraksi yang tinggi. Kinerja optimal pelarut etanol dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi, suhu, waktu, dan pemilihan metode ekstraksi yang tepat (Padmasari dkk., 2013).

Etanol sebagai pelarut organik memiliki sifat yang relatif tidak toksik, biaya yang terjangkau, dapat digunakan dalam berbagai metode ekstraksi, dan aman untuk digunakan dalam pembuatan ekstrak, terutama untuk keperluan obat-obatan dan makanan. Sifat pelarut etanol yang dapat menarik senyawa larut dalam pelarut baik yang bersifat nonpolar maupun polar, serta indeks polaritasnya yang mencapai 5,2 sehingga dapat menjadi pilihan yang baik sebagai pelarut maserasi (Padmasari dkk., 2013). Metode maserasi yang dilakukan pada simplisia daun harendong bulu (*C. hirta*) menggunakan pelarut etanol 70%.

Pelarut berupa etanol adalah pelarut yang memiliki sifat yaitu semipolar sehingga memiliki kemampuan menyari atau mengekstraksi dengan rentang polaritas yang lebar dari senyawa polar sampai senyawa nonpolar (Handoyo, 2020). Flavonoid merupakan famili polifenol yang dapat larut dalam pelarut polar sehingga flavonoid akan mengikat lebih banyak glikon dan lebih mudah larut dalam etanol 70% karena memiliki polaritas yang lebih tinggi daripada

etanol 96% (Solikah dkk., 2023). Konsentrasi etanol memengaruhi hasil ekstraksi apabila konsentrasinya lebih dari 70%, dapat mengakibatkan penurunan tingkat ekstraksi komponen target karena kemungkinan terjadinya denaturasi protein yang meningkatkan resistensi difusi pada konsentrasi etanol yang lebih tinggi (Padmasari dkk., 2013).

E. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan suatu senyawa yang tidak terlibat dalam pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi dari suatu makhluk hidup. Senyawa metabolit sekunder ini sering digunakan dalam perkebangbiakan dan sistem pertahanan dari tanaman karena biasanya senyawa metabolit sekunder ini memiliki sifat racun bagi hewan seperti alkaloid, fenol, saponin, dan terpenoid (Kusbiantoro dan Purwaningrum, 2018). Senyawa metabolit sekunder adalah produk alami yang dihasilkan langsung yang tidak terlalu penting dalam tubuh tetapi memiliki peran dalam kelangsungan hidup dari suatu makhluk hidup. Tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder biasanya menggunakan senyawa ini untuk pertahanan diri dan melakukan kompetisi dengan makhluk hidup lainnya (Yuda dkk., 2015).

Senyawa fitokimia adalah suatu senyawa yang termasuk ke dalam senyawa golongan metabolit sekunder yang memiliki fungsi tertentu bagi manusia. Senyawa fitokimia biasanya berasal dari tumbuhan atau hewan yang dapat berguna bagi manusia (Erviani dkk., 2019). Senyawa fitokimia dalam tumbuhan dapat dipelajari untuk mengetahui berbagai senyawa organik yang

ditimbun dan dibentuk oleh tumbuhan seperti struktur kimia, biosintesis, penyebaran secara ilmiah, dan fungsi biologisnya. Senyawa fitokimia atau metabolit sekunder dari tumbuhan sering digunakan dalam berbagai macam kegunaan seperti zat warna, racun, obat-obatan, aroma makanan, dan sebagainya (Dewatisari dkk., 2017).

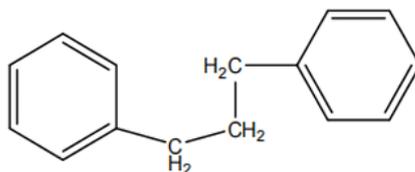
Uji fitokimia adalah suatu proses pengujian yang bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu sampel. Metode ini merupakan langkah awal dalam menentukan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan, yang dapat digunakan sebagai bahan obat untuk pengobatan berbagai penyakit (Harahap dkk., 2021). Uji fitokimia atau analisis fitokimia dibagi menjadi beberapa jenis yaitu analisis fitokimia secara kualitatif dan analisis fitokimia secara kuantitatif.

Analisis fitokimia secara kualitatif adalah suatu pengujian fitokimia yang dilakukan melalui adanya reaksi warna yang didapatkan dari penggunaan pereaksi tertentu sehingga dapat mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu simplisia (Vifta dan Advistasari, 2018). Analisis fitokimia kuantitatif merupakan suatu uji skrining fitokimia dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan tujuan untuk mengetahui kadar rata-rata dari metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak hasil maserasi (Afifah dkk., 2023). Analisis fitokimia kualitatif pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid, tanin, dan saponin, sedangkan analisis fitokimia kuantitatif dilakukan untuk mengetahui jumlah dari kandungan senyawa flavonoid dan senyawa tanin.

1. Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa antioksidan yang termasuk ke dalam golongan fenolik alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan (Azizah dkk., 2014). Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polifenol yang memiliki sifat sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tergolong ke dalam senyawa fenol yang memiliki struktur benzena yang tersubstitusi dengan gugus OH. Flavonoid adalah senyawa kimia dari turunan *2-phenyl-benzyl- γ -pyrone* dengan biosintesis menggunakan jalur *fenilpropanoid* yang mudah untuk teroksidasi pada suhu tinggi dan tidak tahan terhadap panas (Ningsih dkk., 2023).

Flavonoid terbagi menjadi beberapa subkelas yaitu flavonon, flavon, *antochyanidin*, isoflavon, dan flavonol yang terbagi berdasarkan persamaan sifat-sifat struktural. Flavonoid terdiri dari kerangka dasar karbon yang memiliki 15 atom karbon dan 2 cincin benzena (C_6) yang terikat oleh rantai propana (C_3) (Ningsih dkk., 2023). Struktur kimia dasar dari flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4. dibawah ini.



Gambar 4. Struktur Kimia Dasar Flavonoid (Ningsih dkk., 2023).

Keberadaan flavonoid dapat diketahui dengan analisis fitokimia kualitatif menggunakan serbuk magnesium dan HCl pekat untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid, yang ditunjukkan dengan munculnya warna kuning. Analisis fitokimia kuantitatif dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan flavonoid. Analisis fitokimia kuantitatif flavonoid yang dilakukan oleh Junedi dkk. (2023) pada tumbuhan harendong bulu (*C.hirta*) yang berasal dari kawasan Taman Nasional Gunung Merapi (TNGM) mendapatkan jumlah *Total Flavonoid Content* (TFC) sebesar 43,74 mg QE/g ekstrak.

Analisis fitokimia kuantitatif menggunakan larutan standar kuersetin karena senyawa flavonoid termasuk kedalam golongan flavonol dengan gugus keto pada C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dengan flavonol (Aminah dkk., 2017). Kuersetin digunakan sebagai standar karena kuersetin dapat membentuk kompleks dari $AlCl_3$ dengan gugus keto yang terdapat pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Syamsul dkk., 2019).

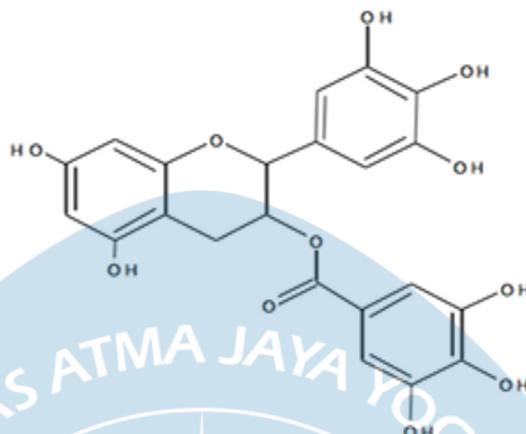
2. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa alami yang memiliki gugus hidroksi fenol bebas yang membentuk ikatan stabil dengan protein. Tanin juga termasuk kedalam golongan polifenol yang memiliki fungsi dalam mengikat dan mengendapkan protein. Tanin biasanya dapat ditemukan di beberapa bagian tumbuhan seperti daun, batang, buah, kulit buah, dan

kulit dahan (Listiana dkk., 2022). Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai macam khasiat seperti anti-diare, anti-bakteri, antioksidan, dan astringen. Tanin merupakan senyawa yang kompleks yang terdiri dari senyawa fenolik yang sulit untuk dipisahkan dan susah untuk mengkristal, dapat mengendapkan protein dari larutannya, dan dapat bersenyawa dengan protein tersebut (Pratama dkk., 2019).

Tanin adalah suatu senyawa yang memiliki berat molekul 500-3000 dan memiliki gugus hidroksi fenolik yang dapat membentuk adanya ikatan silang dengan protein dan molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak, dan asam nukleat. Tanin terbagi menjadi 2 kelompok yaitu tanin mudah terhidrolisis dan tanin yang mudah terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis adalah *polimer gallic* dan *ellagic acid* yang dapat berikatan dengan ester dengan molekul gula. Tanin yang dapat terkondensasi adalah polimer senyawa dari flavonoid dengan ikatan karbon-karbon yaitu *catechin* dan *gallocatechin* (Hidayah, 2016).

Tanin dapat berinteraksi dengan protein sehingga dapat membentuk 3 ikatan yaitu ikatan ion, ikatan hidrogen, dan ikatan kovalen. Tanin yang dapat terhidrolisis dan tanin yang dapat terkondensasi dapat berikatan dengan protein sehingga membentuk suatu ikatan hidrogen yang terjadi dengan kelompok fenol dari tanin dan kelompok karboksil (aromatik dan alifatik) dari protein (Hidayah, 2016). Struktur kimia dasar dari tanin dapat dilihat pada Gambar 5. dibawah ini.



Gambar 5. Struktur Kimia Dasar Tanin (Ningsih dkk., 2023).

Keberadaan senyawa tanin dapat diketahui dengan pengujian fitokimia kualitatif menggunakan reagen FeCl_3 yang mempunyai prinsip yaitu bereaksi dengan gugus hidroksil yang dimiliki oleh senyawa tanin di dalam ekstrak sehingga membentuk 3,4,5-trihidroksifenol (asam galat) yang akhirnya membentuk warna biru kehitaman, hijau kehitaman, atau coklat kehitaman (Sulasmi dkk., 2018). Pengujian fitokimia kuantitatif menggunakan asam tanat sebagai larutan standar karena asam tanat termasuk kedalam golongan tanin terhidrolisis (Handayani dan Chandra, 2023). Ciri ciri dari asam tanat yaitu bentuknya serbuk armor, berkilau, memiliki warna kuning sampai coklat terang, dan memiliki bau yang khas (Hidjrawan, 2018).

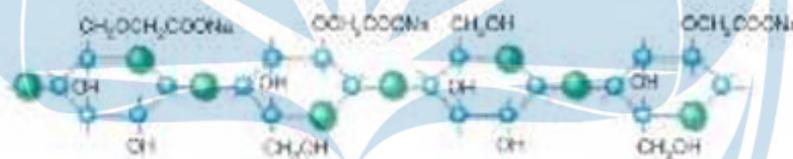
F. Hubungan antara Flavonoid dengan Penurunan Daya Ingat

Flavonoid memiliki fungsi dalam farmakologis sebagai antioksidan, anti-penuaan, anti-inflamasi, anti-virus, dan sebagainya (Ningsih dkk., 2023). Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang dapat memberikan perlindungan pada sel baik diluar maupun di dalam sel (Tuginah dkk., 2020). Flavonoid memiliki dampak positif pada kesehatan otak dengan meningkatkan fungsi kognitif. Kemampuan flavonoid untuk berinteraksi dalam jalur sinyal intraseluler neuron berpengaruh pada proses neurodegeneratif dan neuroinflamasi, yang memainkan peran penting dalam fungsi memori dan kognitif otak. Flavonoid dapat meningkatkan vaskuler perifer dan meningkatkan aliran darah otak atau *Cerebral Blood Flow* (CBF), CBF ini berperan dalam pencegahan neurodegenerasi (Saputra dan Sitepu, 2016).

Manfaat flavonoid dalam mencegah neurodegenerasi dengan cara meningkatkan nitrit oksida yang memiliki fungsi dalam regulasi transkrip protein atau CREB (*cAMP response element-binding protein*). Nitrit oksida dapat meningkat karena adanya ekspresi dan sintesis nitrit oksida dalam endotel. Sintesis dari nitrit oksida endotel terjadi dalam regulasi ekspresi *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, BDNF ini memiliki peran dalam mengatur memori jangka panjang dan jangka pendek (Saputra dan Sitepu, 2016).

G. Natrium Karboksimetil Selulosa (Na-CMC) dan *Piracetam* sebagai perlakuan kontrol

Na-CMC merupakan suatu senyawa yang berasal dari turunan selulosa yang dapat larut di dalam air. Na-CMC sering digunakan di dalam dunia kegiatan industri seperti industri makanan, detergen, kertas, tekstil, keramik, cat, kosmetik, dan pengeboran minyak. Na-CMC adalah rantai polimer yang terdiri dari unit molekul selulosa, setiap unit anhidroglukosa biasanya memiliki tiga gugus hidroksil dan beberapa atom hidrogen dari gugus hidroksil yang dilakukan substitusi oleh karboksimetil (Coniwanti dkk., 2015). Struktur kimia dari Na-CMC dapat dilihat pada Gambar 6. dibawah ini .



Gambar 6. Struktur Kimia Natrium Karboksimetil Selulosa (Na-CMC) (Coniwanti dkk., 2015).

Natrium Karboksimetil Selulosa (Na-CMC) adalah senyawa anion dengan sifat *biodegradable*, tidak memiliki bau, tidak memiliki warna, dan tidak beracun. Bentuk dari Na-CMC biasanya berupa butiran atau bubuk yang dapat larut di dalam air tetapi tidak dapat larut dalam pelarut organik. Na-CMC memiliki rentang pH sebesar 6,5-8 dan biasanya stabil dalam rentang pH 2-10. Na-CMC bereaksi dengan garam logam berat yang dapat membentuk film tidak larut air dan tidak dapat bereaksi dengan senyawa organik (Coniwanti dkk., 2015).

Piracetam (2-oxo-1-pyrrolidine-acetamide) merupakan senyawa sintesis yang berasal dari keluarga racetam. *Piracetam* terdiri dari inti pirolidin, cincin nitrogen berjumlah 5 dengan oksigen yang terikat keton pada R2. Cincin 2-Pirolidin terikat dengan karbon terminal yang berasal dari gugus asetamida, rantai etil amida dengan ikatan keton (C=O) pada karbon alfa (Napoletano dkk., 2020). *Piracetam* merupakan analog asam *gamma-aminobutyric* yang sering digunakan sebagai obat standar dalam meningkatkan fungsi memori pasien demensia. *Piracetam* memiliki mekanisme kerja yaitu sebagai suatu neuroprotektif dan dapat mencegah kematian neuron yang disebabkan oleh adanya radikal bebas (Amelia dkk., 2020).

H. Hewan Uji Mencit

Hewan coba atau hewan model adalah sebutan untuk hewan yang sering digunakan dalam penelitian yang secara khusus dipelihara untuk kepentingan penelitian yang dilakukan di laboratorium ataupun dalam skala yang lebih luas. Penggunaan hewan untuk penelitian dan pengujian memiliki tujuan agar dapat meningkatkan kualitas hidup dari hewan itu sendiri dan juga manusia seperti contohnya untuk mengembangkan vaksin, obat, alat diagnosis, uji toksisitas, uji coba klinis obat, prosedur bedah. Penggunaan hewan coba untuk penelitian memiliki manfaat bagi manusia tetapi kerap kali ditentang oleh kelompok *Animal Right* (Hak Asasi Hewan) karena hewan juga memiliki hak asasi untuk tetap hidup sebagaimana mestinya. Penggunaan hewan coba yang bertentangan dengan Hak Asasi Hewan menyebabkan para ilmuwan sepakat untuk

menerapkan kaidah kesejahteraan hewan untuk penggunaan hewan coba (Wahyuwardani dkk., 2020).

Kesejahteraan hewan merupakan suatu keadaan pada hewan yang terkait dengan kecukupan dan kemampuan hewan untuk mengatasi lingkungan di sekitarnya. Penggunaan hewan sebagai subjek utama penelitian harus dilakukan penyesuaian dengan persyaratan dan tujuan dari penelitian. Semua pihak yang menggunakan hewan coba dalam penelitian di Indonesia dituntut harus dapat memenuhi kaidah kesrawan sebagai tanda penghormatan untuk hewan yang sudah dikorbankan untuk kesejahteraan hidup manusia, penerapan kesrawan dalam penelitian ini menjadi syarat utama peneliti dalam mengajukan proposal penelitian (Wahyuwardani dkk., 2020).

Komisi Pengawas Kesejahteraan dan Penggunaan Hewan atau *Institutional Animal Care and Use Commite* (IACUC) yang terdapat pada institusi memiliki peran dalam menjamin kesejahteraan hewan yang digunakan dalam kegiatan penelitian. Pemerintah juga telah mengeluarkan dan menerbitkan peraturan terkait kesejahteraan hewan yang menjadi landasan utama dalam penerapan kesrawand dalam penelitian dan pengujian. Kesejahteraan hewan memiliki prinsip yaitu 5F dan 3R untuk menjamin kesejahteraan pada hewan uji yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian, prinsip pada kesejahteraan hewan berfungsi agar hewan coba tetap mendapatkan perlakuan yang manusiawi (Wahyuwardani dkk., 2020).

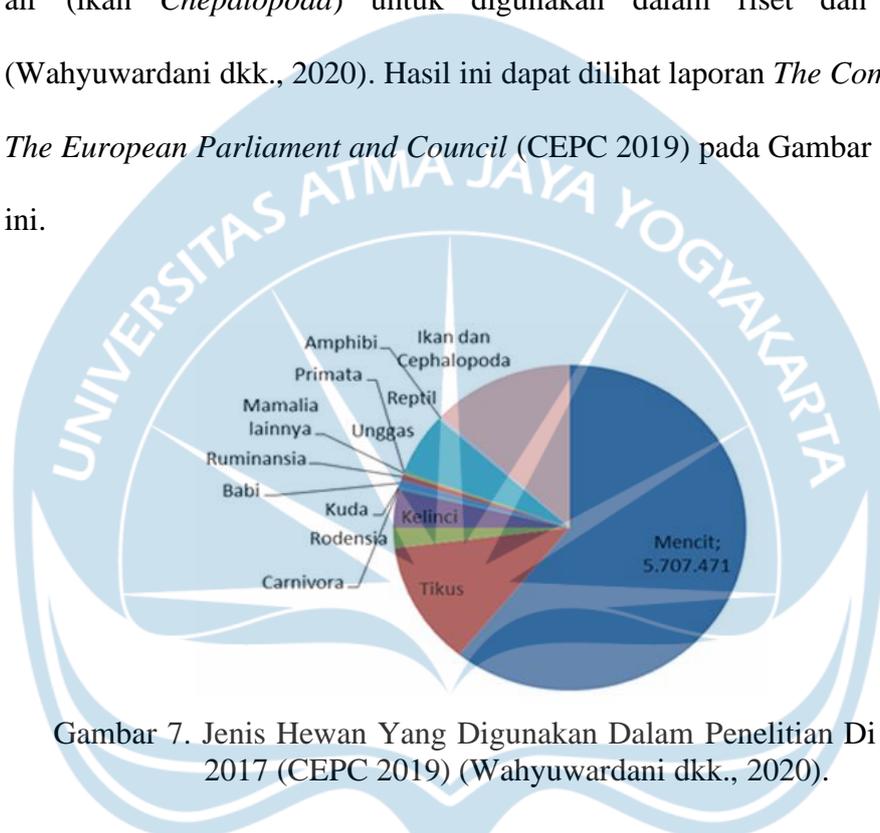
Prinsip 5F (*Five Freedom*) mengacu dari *Farm Animal Welfare Council* pada tahun 1979 di Inggris yang menjadi penjamin dalam penerapan kesrawan

dari hewan. Prinsip 5F terdiri dari *Freedom of hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus, *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman), *Freedom of pain, injury or disease* (bebas dari rasa nyeri, trauma, dan penyakit), *Freedom to fear and distress* (bebas dari ketakutan dan stres jangka panjang), dan *Freedom to express natural behaviour* (bebas mengekspresikan tingkah laku alami, diberikan ruang dan fasilitas yang sesuai). Prinsip lainnya selain 5 F adalah prinsip 3R yang dikemukakan oleh W.M.S. Russell dan R.L. Burch yang tercantum dalam buku *The Principles of Humane Experimental Technique* yang dipublikasi tahun 1959 (Yurista dkk., 2016).

Prinsip 3R ini diciptakan untuk menelaah tentang keputusan yang harus dibuat ketika menggunakan hewan uji. Prinsip 3R ini terdiri dari *Replacement* yang berarti menggunakan sistem tidak hidup (mati) sebagai alternatif, *Reduction* berarti menurunkan penggunaan hewan uji tanpa mengurangi informasi yang ada, dan *Refinement* yang berarti adanya perubahan dalam beberapa aspek perlakuan yang memiliki potensi untuk menimbulkan rasa sakit dan stress jangka panjang serta memperlakukan hewan coba secara manusiawi sehingga dapat menjamin kesejahteraan dari hewan uji. Russel dan Burch sebagai penulis yang mengemukakan prinsip 3R ini merekomendasikan prinsip 3R sebagai bahan evaluasi dan diterapkan kepada semua studi yang melibatkan hewan uji (Yurista dkk., 2016).

Penggunaan hewan uji untuk penelitian jumlahnya masih tinggi di dunia. Beberapa negara sudah mengeluarkan data penggunaan hewan yang digunakan dalam penelitian seperti Canada dalam laporan *Canadian Council on Animal*

Care (CCAC) dan juga negara-negara di Eropa dalam *Report Form The Commission to The European Parliament and Council* (CEPC). Negara-negara di Eropa pada tahun 2015-2017 lebih banyak menggunakan mencit, dan hewan air (ikan *Cephalopoda*) untuk digunakan dalam riset dan penelitian (Wahyuwardani dkk., 2020). Hasil ini dapat dilihat laporan *The Commission to The European Parliament and Council* (CEPC 2019) pada Gambar 7. dibawah ini.



Gambar 7. Jenis Hewan Yang Digunakan Dalam Penelitian Di Uni Eropa 2017 (CEPC 2019) (Wahyuwardani dkk., 2020).

Berdasarkan laporan *The Commission to The European Parliament and Council* (CEPC 2019) mencit menjadi hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian. Mencit merupakan spesies rodensia yang sering digunakan sebagai model hewan penelitian biomedis karena mencit memiliki kesamaan anatomis, fisiologis, dan genetik dengan manusia (Wahyuwardani dkk., 2020). Mencit (*M. musculus*) dipilih sebagai hewan uji karena dianggap sebagai hewan uji yang optimal. Mencit mudah ditangani, dapat diperoleh dalam jumlah besar, dan memberikan hasil yang dapat diandalkan melalui beberapa pengulangan

(Lahamendu dkk., 2019). Pilihan ini didasarkan pada siklus hidup yang pendek dan tingkat reproduksi yang tinggi, kemampuan adaptasi yang baik terhadap lingkungan baru tanpa mudah stres, ketersediaan yang murah, struktur tubuh yang mudah dipahami, dan karakteristik yang mirip dengan manusia (Putri, 2018).

Mencit (*Mus musculus*) yang digunakan pada penelitian ini yaitu mencit dengan jenis kelamin jantan. Penggunaan mencit jantan karena dapat memberikan hasil penelitian yang stabil akibat ketiadaan siklus menstruasi dan kehamilan. Mencit jantan memiliki metabolisme obat yang lebih cepat dalam kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina (Lahamendu dkk., 2019). Penggunaan mencit sebagai hewan uji harus memperhatikan 3 tahap interaksi pemakai terhadap mencit yaitu:

1. Tahap Pra Perlakuan (Putri, 2018).

Tahap pra perlakuan ini harus diperhatikan untuk mencegah ketidaknyamanan dan kematian pada mencit. Kondisi lingkungan tempat mencit hidup harus diperhatikan seperti sanitasi kandang, luas kandang, dan asupan nutrisi yang diberikan pada mencit yang dapat mempengaruhi kualitas kesehatan mencit yang digunakan. Faktor yang perlu diperhatikan dalam aspek ini adalah:

- a. Siklus cahaya pada mencit diatur selama 12 jam terang dan 12 jam gelap secara berkelanjutan supaya memberikan rasa nyaman pada mencit.

- b. Suhu yang digunakan pada kandang harus tetap terjaga, suhu tidak terlalu panas dan tidak terlalu dingin dengan suhu kurang lebih sebesar 27°C.
- c. Kelembaban pada tempat pemeliharaan tikus dijaga dengan pengaturan pada siklus pencahayaan.
- d. Pengaturan jumlah mencit pada kandang diatur, diletakkan beberapa ekor mencit disetiap kandang karena mencit adalah hewan yang berkelompok dan diperhatikan luas dari kandang.
- e. Makanan dan minuman untuk mencit harus diberikan setiap hari secara teratur sesuai dengan waktu atau jam pemberian.
- f. Feses dan urin dibuat sistem otomatis kebawah, apabila kandang memiliki sistem pembuangan feses yang belum memadai maka perlu dilakukan proses pembuangan feses dan urin setiap hari.

2. Tahap Perlakuan (Putri, 2018).

Peneliti harus memperhatikan dengan hati-hati agar mencegah terjadinya faktor-faktor penyebab ketidaknyamanan, kesusahan, rasa sakit atau nyeri, dan kematian yang terjadi pada mencit. Peneliti harus memperhatikan beberapa hal berikut:

- a. Memisahkan tempat mencit yang sedang dilakukan perlakuan dengan mencit yang sedang menunggu untuk antri dilakukan perlakuan. Pemisahan ini dilakukan untuk mencegah mencit mengalami stress dan trauma sebelum diberikan perlakuan

- b. Mencegah kesalahan ketika melakukan injeksi oral pada saluran yang tidak diinginkan. Penginjeksian secara peroral biasanya menggunakan jarum suntik dengan ujung tumpul (sonde) untuk mengurangi terjadinya luka. Sebelum dilakukan penginjeksian peroral dengan jarum sonde, mencit dipegang dengan posisi kepala menghadap ke atas sehingga sonde dapat masuk dengan lurus ke dalam *esophagus* dan lambung. Pemberian jarum sonde yang salah dapat berakibat pada gangguan pernafasan yang dapat menyebabkan kematian pada mencit.
- c. Perhitungan dosis harus diperhatikan agar menghindari kelebihan dan kekurangan dosis untuk mencegah terjadinya efek yang kurang baik pada mencit yang dapat berujung pada stress atau kematian.
- d. Memegang mencit dengan benar untuk terhindar dari gigitan, teriakan atau kondisi kesusahan pada mencit. Teknik memegang yang benar adalah memegang ujung ekor pada tangan kanan, tangan kiri dan ibu jari menjepit tengkuk mencit dan permukaan perut menghadap ke depan dengan ekor yang dijepit diantara jari manis dan kelingking.

3. Tahap Pasca Perlakuan (Putri, 2018).

Tahap pasca perlakuan ini memiliki beberapa tahapan. Tahap pertama adalah menyembuhkan penyakit yang disebabkan selama proses perlakuan. Tahap kedua adalah mematikan mencit setelah selesai dilakukan proses perlakuan. Mematikan mencit terbagi menjadi 2 langkah yaitu:

- a. Secara kimia dengan menggunakan anastesi berupa kloroform pada sebuah wadah sehingga mencit tidak merasanya nyeri.

- b. Secara fisik dengan melakukan dislokasi leher setelah dilakukan anestesi. Dislokasi leher dilakukan dengan cara memegang pada bagian ekor mencit lalu ketika mencit meragangkan badannya bagian tengkuk ditahan atau dipegang dan ekornya ditarik sehingga leher akan terdislokasi dan mencit mati.

I. Rute Pemberian Obat

Rute pemberian obat merupakan suatu cara dalam memberikan suatu obat sehingga dapat masuk ke dalam tubuh, rute pemberian obat biasanya diklasifikasikan berdasarkan dengan lokasi pemberian obat atau situasi yang menentukan cara pemberiannya. Rute pemberian obat dibagi menjadi 3 yaitu enteral (*oral, sublingual/buccal, dan rectal*), parenteral (*intravenous, intramuscular, subcutis, intraarterial*), dan rute lainnya (*trans-nasal, inhalation, vaginal, transdermal, intra-osseous*). Rute pemberian obat secara enteral merupakan rute pemberian obat secara langsung masuk ke dalam saluran pencernaan hingga sampai langsung di aliran darah. Rute pemberian obat secara parenteral merupakan rute pemberian obat yang menuju langsung ke dalam pembuluh darah, bagian tubuh, atau jaringan. Rute pemberian lainnya adalah rute pemberian obat selain enteral dan parenteral (Azizah dkk., 2023).

Rute pemberian obat secara parental merupakan suatu jalur pemberian obat selain melalui enteral atau saluran pencernaan, namun secara injeksi baik intradermal, subkutan, intramuskular, atau intravena (Priharjo, 1994). Kelebihan dari pemberian obat secara parenteral yaitu mengurangi toksisitas,

meningkatkan kelarutan obat dan stabilitas, memperpanjang waktu sirkulasi, meningkatkan penetrasi jaringan, dan dapat mengetahui besar dosis yang dimasukkan ke dalam tubuh (Mansauda dan Rumondor, 2020). Kekurangan dari pemberian obat secara parenteral yaitu menimbulkan rasa nyeri, tidak dapat dilakukan sendiri oleh pasien dan harus mendapatkan bantuan dari tenaga medis, tempat atau area yang disuntik harus steril, rentan terjadi toksik, bila jarum digunakan bergantian maka pasien dapat tertular penyakit, salah tusuk, dan lebih mahal (Rinidiar dkk., 2020).

Pemberian obat secara subkutan merupakan suatu metode pemberian obat dengan cara injeksi atau menusuk area yang berada dibawah kulit yaitu pada jaringan konektif atau lemak dibawah dermis. Pemberian obat secara intraperitoneal merupakan suatu cara pemberian obat dengan cara diinjeksikan ke dalam rongga tubuh yang biasanya dilakukan pada bagian perut (Amita dkk., 2021). Kelebihan rute pemberian obat secara intraperitoneal yaitu konsentrasi obat yang tinggi, obat dapat bertahan lebih lama pada tubuh (Septina dkk., 2020). Rute pemberian obat secara topikal merupakan suatu cara pemberian obat secara lokal yang dilakukan dengan mengoleskan obat pada permukaan kulit atau membran seperti mata, hidung, lubang telinga, vagina, dan rectum. Kelebihan dari rute pemberian obat secara topikal yaitu pemakaian dan penyimpanan obatnya yang mudah dan sederhana, obatnya mudah didapat, dan dapat digunakan oleh semua golongan (Imelda, 2022). Kekurangan dari pemberian obat secara topikal yaitu obatnya terbatas karena tidak semua obat dapat menembus kulit yang utuh, keberhasilan obatnya tergantung pada umur,

lokasi dan luas tubuh, metode aplikasi, stadium penyakit, lama pemakaian obat, dan penetrasi obat pada tubuh (Imelda, 2022).

Rute pemberian obat oral merupakan suatu rute pemberian obat yang paling mudah dan sering digunakan karena memiliki beberapa kemudahan dalam pemberiannya, dan efektivitas biayanya (Dara dan Husni, 2017). Rute pemberian obat secara oral merupakan yang paling umum dan mudah dengan melalui mulut namun tahapannya panjang dalam mencapai jaringan target. Kekurangan dari pemberian obat secara oral yaitu banyak obat yang menurun efikasinya yang disebabkan oleh *first pass metabolism* oleh usus atau hepar (Pusporini dan Fuadiyah, 2020). Cara pemberian obat secara oral biasanya dalam bentuk tablet, sirup, kapsul, atau puyer (Munir dkk., 2022).

Pemberian ekstrak etanol harendong bulu menggunakan dosis sebesar 100, 200, dan 400 mg/kg BB mencit. Dosis sebesar 100, 200, dan 400 mg/kg BB mencit ini merupakan dosis yang digunakan untuk menguji ekstrak etanol daun senggani (*Melastoma malabathrium* L.) sebagai antidiabetes (Sahara dkk., 2019). Dosis ini digunakan karena menggunakan tanaman senggani (*Melastoma malabathrium* L.) yang masih satu famili dengan harendong bulu (*C. hirta*) yaitu famili *Melastomataceae*. Dosis terbaik sebagai antidiabetes yang didapatkan pada penelitian Sahara dkk (2019) yaitu sebesar 400 mg/kg BB mencit yang mengakibatkan terjadinya penurunan kadar gula darah yang paling besar.

Penggunaan dosis pengujian anti-diabetes untuk pengujian daya ingat atau memori jangka pendek ini disebabkan diabetes memiliki hubungan yang

kuat dengan terjadinya penurunan fungsi kognitif. Diabetes mellitus dapat meningkatkan resiko jangka panjang terhadap demensia hampir 2 kali lipat. Penelitian para ahli menemukan adanya faktor resiko yang disebabkan oleh diabetes mellitus terhadap penurunan fungsi kognitif karena hipoglikemia yang mengakibatkan penurunan fungsi kognitif dan peningkatan resiko demensia (Okaniawan dan Agustini, 2021).

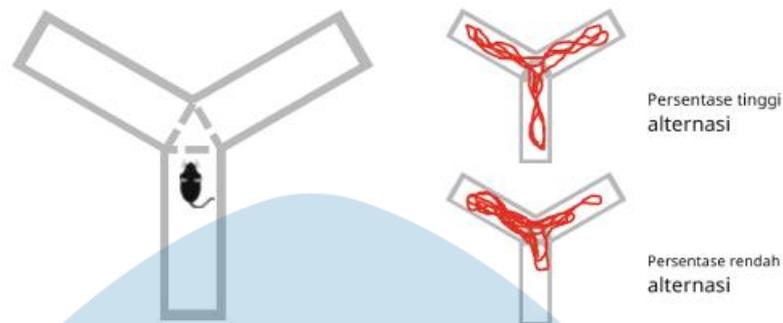
J. Y-Maze

Y-Maze digunakan sebagai alat pengukuran kognitif untuk mengevaluasi keaktifan tikus dalam mengeksplorasi lingkungan baru. Alat ini memiliki bentuk huruf Y dengan lengan membentuk sudut 120° , berukuran panjang 35 cm, lebar 5 cm, dan tinggi 10 cm (Fasrini dkk., 2017). Uji *Y-Maze* sering digunakan untuk menilai berbagai fungsi otak, terutama pada bagian hipokampus, septum, basal *forebrain*, dan korteks prefrontal (Fasrini dkk., 2017). *Y-Maze* juga berguna untuk mengevaluasi memori spasial, tikus biasanya memilih untuk bergerak maju menuju lengan labirin yang belum dijelajahi daripada kembali ke lengan yang sudah dilewati sebelumnya. Tikus dianggap memasuki lengan secara penuh jika ujung ekor masuk sepenuhnya ke lengan yang dituju (Fasrini dkk., 2017). Bentuk dari Labirin *Y-Maze* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Bentuk Y-Maze (Fasrini Dkk., 2017).

Pengujian pada labirin Y-Maze pada penelitian kali ini menggunakan metode pengujian *spontaneous alternation*. *Spontaneous Alternation* merupakan suatu uji untuk mengukur memori jangka pendek dari hewan uji pengerat dengan cara yaitu membiarkan tikus atau mencit menjelajahi lengan labirin secara bebas. *Spontaneous alternation* ini dapat dilakukan karena hewan pengerat memiliki kecenderungan untuk mengeksplorasi area yang belum pernah dikunjungi sebelumnya. Seekor mencit yang memiliki daya ingat yang baik akan mampu mengingat lengan labirin yang sudah dikunjungi sebelumnya dan akan mengunjungi lengan labirin lainnya yang belum pernah dikunjungi. Hal ini dapat terjadinya karena adanya reaksi interaksi dari bagian otak seperti hipokampus dan korteks prefrontal (Kraeuter dkk., 2019). Persentase dari pengujian labirin mencit dalam mengukur daya ingat menggunakan metode *spontaneous alternation* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Persentase Hasil Alternasi Tinggi Dan Alternasi Rendah Pada Pengujian Labirin Mencit Menggunakan Metode *Spontaneous Alternation* (Kraeuter Dkk., 2019).

K. Histopatologi

Histopatologi adalah sebuah teknik atau suatu ilmu yang mempelajari perubahan abnormal dari sel atau jaringan untuk mendiagnosa penyakit. Pemeriksaan histopatologi adalah suatu cara pendukung diagnosa dari suatu penyakit yang diketahui dari perubahan sel atau jaringan (Nyoman dkk., 2017). Gambaran histopatologi otak mencit dianalisa secara deskriptif dengan melihat dari nekrosis sel (Amelia dkk., 2020). Pemeriksaan histopatologis dilakukan sebagai pendukung dalam mendiagnosa dan dapat menjadi pemeriksaan dalam mendiagnosa utama dalam mengetahui suatu penyakit dari ditemukannya suatu perubahan dalam sel atau jaringan yang spesifik pada penyakit tertentu. Pemeriksaan histopatologi digunakan sebagai suatu uji lanjutan yang disebabkan karena adanya perubahan yang terjadi yang dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor atau penyebab sehingga perlu diketahui gambaran tentang perubahan yang terjadi pada sel dan jaringan (Izzah dkk., 2019).

L. Hipotesis Penelitian

1. Konsentrasi flavonoid yang dihasilkan dari ekstrak etanol daun Harendong bulu (*Clidemia hirta* L.) berada pada rentang 40-50 mg QE/g ekstrak.
2. Ekstrak etanol Harendong bulu (*Clidemia hirta* L.) berpengaruh terhadap peningkatan daya ingat jangka pendek pada mencit (*Mus musculus*).
3. Dosis ekstrak etanol harendong bulu yang dapat meningkatkan daya ingat pada mencit (*Mus musculus*) sebesar 400 mg/kg BB mencit.

