

PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana*) TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI TIMBAL ASETAT ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$)

(Skripsi)

Oleh
RAHMANINDYA DEFIYANDINI PUTERI



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
UNIVERSITAS LAMPUNG
LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

THE EFFECT OF 70% ETANOL MANGOSTEEN PERICARP EXTRACT (*Garcinia mangostana*) TO SPATIAL MEMORY ON MALE RATS (*Rattus Norvegicus*) STRAIN *Sprague dawley* INDUCED TO LEAD ACETATE

By

RAHMANINDYA DEFIYANDINI PUTERI

Background: Lead or plumbum is a heavy metal element that spread wider than other toxic metals, lead may cause neurotoxicity and can decrease spatial memory. Mangosteen is a plant that has an effect as neuroprotector, so it can be used to improve memory impairment. This study aims to determined the effects of mangosteen pericarp extract (*Garcinia mangostana*) with 250 mg/Kg, 500 mg/Kg, 750 mg/Kg dose to spatial memory of male white rat (*Rattus norvegicus*) induce to lead acetate.

Method: This study used a completely randomized design method used of 25 male white rats (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* strain aged 2-3 months divided into 5 groups induced to lead acetate and mangosteen pericarp extract for 10 days, the negative control (K-) group, positive control (K+) group induced to lead acetate 200 mg/kg, first group treatment (P1) induce to 200 mg/Kg lead asetat and mangosteen pericarp extract 250 mg/kg, second group treatment (P2) group induced to lead acetate 200 mg/Kg and mangosteen pericarp extract 500 mg/Kg, third group treatment (P3) group induced to 200 mg/Kg lead acetate and 750 mg/Kg mangosteen pericarp extract. Spatial memory is assessed by *Morris Water maze* Test with *probe test* metode, 2 times/day exercises for 2 days.

Result: Mean of spatial memory value at (K-)= 39.66%, (K+)=27.33%, (P1)=30,66%, (P2)=34.66%, (P3)=35,66%. Data obtain significant value of difference with *One-way Anova* $p=0.017$. Post Hoc LSD test obtain significant value of differences between (K-) and (K+) $p=0.002$. (K+) and (P2) $p=0.044$.(K+) and (P3) $p=0.024$.

Conclusion: Mangosteen pericarp extract with 500 mg/KgBB and 750 mg/KgBB doses are be able to improve spatial memory of male white rat (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* strain induced lead acetate

Keywords: lead, mangosteen pericarp (*Garcinia mangostana*), spatial memory

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana*) TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI TIMBAL ASETAT

Oleh

RAHMANINDYA DEFIYANDINI PUTERI

Latar Belakang: Timbal (Plumbum) adalah unsur logam berat yang tersebar luas dibanding logam toksik lainnya, timbal bersifat neurotoksik dan dapat menurunkan memori spasial. Manggis merupakan tanaman yang memiliki efek sebagai neuroprotektor sehingga dapat digunakan dalam mengatasi gangguan memori. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui peran kulit manggis dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB, dan 750 mg/KgBB dalam mencegah penurunan memori spasial tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi timbal asetat.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap, dengan sampel 25 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berusia 2-3 bulan terbagi dalam 5 kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dan diinduksi timbal asetat selama 10 hari, yaitu, kelompok kontrol negatif (K-) yang tidak diberi perlakuan, kelompok kontrol positif (K+) yang diinduksi timbal asetat 200 mg/KgBB, kelompok perlakuan 1 (P1) yang diinduksi timbal asetat 200 mg/kgBB serta ekstrak kulit manggis 250 mg/kgBB, kelompok perlakuan 2 (P2) yang diinduksi timbal asetat 200 mg/KgBB dan ekstrak kulit manggis 500 mg/KgBB, kelompok perlakuan 3 (P3) yang diinduksi timbal asetat 200 mg/KgBB dan ekstrak kulit manggis 750 mg/KgBB. Memori spasial dinilai dengan alat *Morris Water maze Test* metode *probe test* dengan latihan 2 kali/hari selama 2 hari.

Hasil Penelitian: Hasil rerata nilai memori spasial pada (K-)=39.66%, (K+)=27.33%, (P1)= 30,66%, (P2)=34.66%, (P3)=35,66%. Didapatkan perbedaan yang bermakna dengan uji *One-way Anova* $p=0.017$, pada uji *Post Hoc* LSD didapatkan perbedaan bermakna antara (K-) dengan (K+) $p=0.002$, (K+) dengan (P2) $p=0.044$, serta (K+) dengan (P3) $p=0.024$.

Simpulan: Ekstrak kulit manggis dengan dosis 500 mg/KgBB dan 750 mg/KgBB mampu mencegah penurunan memori spasial tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi timbal asetat

Kata kunci: kulit manggis (*Garcinia mangostana*), memori spasial, timbal

PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana*) TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague dawley YANG DIINDUKSI TIMBAL ASETAT ($Pb(CH_3COOH)_2$)

Oleh

RAHMANINDYA DEFIYANDINI PUTERI

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar SARJANA
KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS
LAMPUNG
2018**

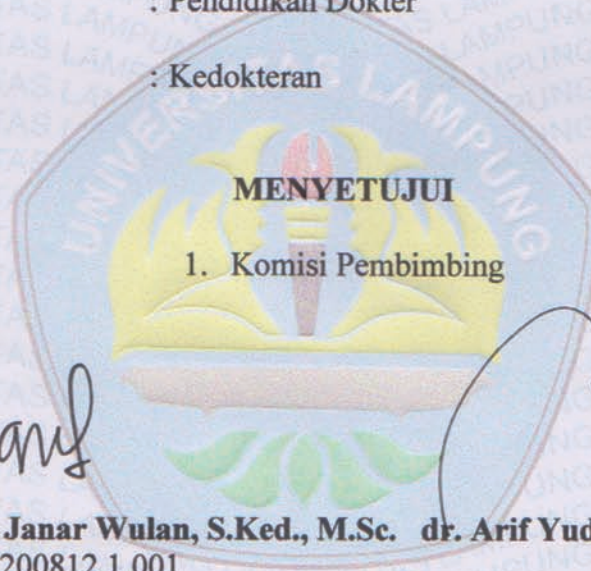
Judul Skripsi : **PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana*) TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi TIMBAL ASETAT**

Nama Mahasiswa : **Rahmanindya Defiyandini Puteri**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1418011169

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc. **dr. Arif Yudho Prabowo, S.Ked.**
NIP 19820130 200812 1 001

2. Dekan Fakultas Kedokteran

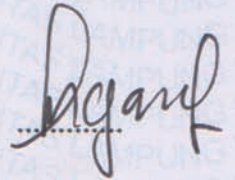
Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.
NIP 19701208 200112 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

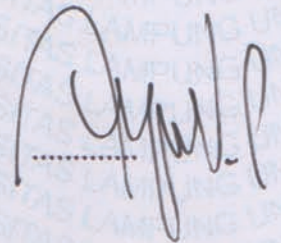
Ketua

: **dr. Anggaraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc.**



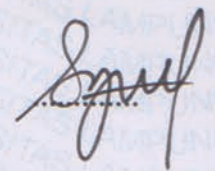
Sekretaris

: **dr. Arif Yudho Prabowo, S.Ked.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA.

NIP 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 16 April 2018

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul “PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana*) TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI TIMBAL ASETAT” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dari sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandarlampung, 9 April 2018

Pembuat pernyataan,



Rahmanindya Defiyandini Puteri

NPM.1418011169

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bogor pada tanggal 20 Februari 1996, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, penulis terlahir dari pasangan Ayah Yan Armin dan Ibu Amiria yang sangat menyayangi penulis.

Penulis menempuh pendidikan di Taman Kanak Kanak (TK) Kartini II Bandarlampung pada tahun 1999. Lalu penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SDN 1 Rawa Laut Bandarlampung pada tahun 2001. Selanjutnya, penulis mengikuti orang tua untuk pindah ke Kota Bogor dan melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 4 Bogor pada tahun 2007, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 6 Bogor pada tahun 2010. Tahun 2014, Penulis kembali ke Bandarlampung untuk melanjutkan kuliah, penulis diterima dan terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN.

**SEBUAH TULISAN
SEDERHANA,
TERUNTUK:**

"AYAH DAN BUNDA TERSAYANG"

SANWACANA

Puji Syukur Penulis ucapkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat, karunia, serta pertolongan-Nya skripsi ini dapat terselesaikan. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi dengan judul "*Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Kulit Manggis (Garcinia mangostana) terhadap Memori Spasial Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Galur Sprague dawley yang Diinduksi Timbal Asetat*" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof.Dr.Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr.dr. Muhartono, S Ked.,M.Kes.,Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked.,M.Sc., selaku pembimbing utama yang selalu bersedia meluangkan waktu dalam membimbing, memberikan masukan, serta memberikan banyak ilmu hingga skripsi ini dapat terselesaikan;

4. dr. Arif Yudho Prabowo, S.Ked., selaku pembimbing kedua yang selalu bersedia meluangkan waktu dalam membimbing, memberikan saran, ilmu, serta nasihat selama proses penyelesaian skripsi ini;
5. dr. Syazili Mustofa, M.Biomed., selaku penguji utama atas saran serta masukan yang diberikan;
6. Bundaku tersayang, Amiria, yang selalu memberikan semangat, motivasi, dukungan, nasihat, serta doa yang senantiasa menyertaiku. Semoga Allah selalu melindungi Bunda, semoga aku dapat memberikan hal yang lebih baik dan membanggakan bagi Bunda kedepannya;
7. Ayahku tersayang, Yan Armin, yang selalu sabar dalam memberi dukungan, nasihat, serta motivasi. Semoga Allah selalu melindungi Ayah dalam setiap langkah dan tujuan, semoga aku bisa menjadi anak kebanggan Ayah dan lebih baik lagi kedepannya;
8. Adikku, Rahmandika, yang selalu memberikan dukungan dan motivasi;
9. Ibu Nuriah dari bagian Laboratorium Fisiologi dan Biomolekuler yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
10. Seluruh staf dosen Fakultas Kedokteran UNILA atas ilmu dan pengalaman berharga yang telah diberikan;
11. Seluruh staf akademik, TU, dan administrasi FK UNILA, serta pegawai yang turut membantu dalam terselesaikannya skripsi ini;
12. Teman-teman seperjuangan yang senantiasa membantu dan memotivasi, Nuraina dan Ranti Ayu;

13. Teman seperjuangan, rekan sebelah kamar semenjak semester satu, yang selalu membantu, memotivasi, menghibur, rekan berbagi suka dan duka, Kurnia Ningrum;
14. Teman yang senantiasa membantu Febrina Halimatunisa, Irvan Miftahul, Dian Novita, Karaeng, Keith, Rena, Nabila, Piesta, Ina Rendayu, Fahma. Terima kasih atas partisipasi dan dukungannya;
15. Teman berbagi keluh kesah Dini Islamiana, Kak Raissa, Ariestia, Kurnia.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Bandarlampung, 9 April 2018
Penulis

Rahmanindya Defiyandini Puteri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	6
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi.....	6
1.4.3 Manfaat Bagi Mahasiswa Lain	6
1.4.4 Manfaat Bagi Peneliti Selanjutnya.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Neurotoksisitas	8
2.1.1 Definisi Neurotoksik.....	8
2.1.2 Neurotoksitas Timbal.....	9
2.2 Memori.....	14
2.2.1 Definisi Memori.....	14
2.2.2 Jenis Jenis Memori.....	15
2.2.3 Memori Spasial	19
2.2.4 <i>Morris Water Maze Test</i>	20
2.3 Tanaman Manggis (<i>Garcinia Mangostana</i>).....	23
2.4 Antioksidan Pada Kulit Buah Manggis	24
2.5.1 Polifenol	25
2.5.2 Flavonoid	26
2.5 Mekanisme Kerja Antioksidan	27
2.6 Kerangka Teori	31
2.7 Kerangka Konsep.....	33
2.8 Hipotesis	33
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Desain Penelitian	34
3.2 Tempat dan Waktu	34
3.3 Populasi Sampel.....	35
3.4 Kelompok Perlakuan.....	36

3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	36
3.6 Variabel Penelitian	37
3.7 Definisi Operasional	37
3.8 Alat dan Bahan	39
3.9 Prosedur Penelitian	40
3.9.1 Pembuatan Larutan Pb Asetat	40
3.9.2 Proses Pengujian <i>Morris Water Maze</i>	41
3.9.3 Alur Penelitian	43
3.10 Analisis Data	44
3.11 Etik Penelitian	44
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Gambaran Umum Penelitian	45
4.2 Hasil Penelitian	46
4.2.1. Memori Spasial	46
4.2.2. Analisis Bivariat.....	47
4.3 Pembahasan.....	49
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional.....	38
2. Hasil Rerata Memori Spasial	46
3. Uji Normalitas Data Dan Uji <i>Levene's</i>	47
4. Hasil Uji <i>One Way</i> Anova	47
5. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD Memori Spasial	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ilustrasi <i>Morris Water Maze Test</i>	22
2. <i>Padding Pool</i>	23
3. Struktur Senyawa <i>Xanthone</i>	25
4. Kerangka Dasar Senyawa Flavonoid	26
5. Stuktur Senyawa Catechin	27
6. Kerangka Teori.....	32
7. Kerangka Konsep.....	33
8. Alur Penelitian	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Data Hasil Penelitian
2. Analisis Bivariat Memori Spasial
3. Dokumentasi Penelitian
4. Surat Persetujuan Etik
5. Surat Peminjaman Laboratorium

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Timbal (plumbum/ Pb^{2+}) atau timah hitam adalah satu unsur logam berat yang lebih tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2010). Timbal merupakan bahan kimia yang berperan dalam masalah kesehatan masyarakat global dan menyumbang 0,6% dari beban global penyakit yang berhubungan dengan cacat intelektual. Diduga bahwa keracunan Pb^{2+} pada masa pertumbuhan menghambat pelepasan dari *vesikular presynaptic* yang berkontribusi terhadap penurunan plastisitas sinaptik dan pengembangan intelektual (Zhang *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian telah dilakukan untuk mengetahui bagaimana efek paparan Pb^{2+} dengan menggunakan teknik paparan *in vitro* pada neuron *hippocampus* tikus dewasa muda yang telah kronis terpapar Pb^{2+} . Hasil menunjukkan bahwa paparan kronis *in vivo* untuk Pb^{2+} mengakibatkan hambatan pada sistem saraf (Zhang *et al.*, 2015). Tikus usia dewasa muda atau pubertas adalah tikus yang berusia 50-72 hari dengan berat badan 200-250 gram (King *et al.*, 2004).

Timbal menghambat transmisi sinaptik *Schaffer-agunan-CA1* serta penghambatan pada pelepasan vesikular *glutamat* (Zhang *et al.*, 2015). Kehadiran timbal di dalam tubuh manusia dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf, kerusakan tersebut dapat terjadi melalui beberapa mekanisme. Efek langsung yang terjadi, yaitu, perubahan pada perkembangan sistem saraf, terutama pada masa prenatal dan masa kanak-kanak. Timbal tersebut dapat menembus sawar darah otak, hal ini disebabkan sebagian besar kemampuan dari timbal untuk menggantikan ion kalsium (Lidsky dan Schneider, 2003).

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa paparan akut dan kronis Pb^{2+} mengubah pelepasan neurotransmitter. Pb^{2+} membangkitkan pelepasan *glutamat* (Glu) dan asam *gamma-aminobutyric* (GABA) pada tikus dewasa muda. Penelitian yang dilakukan pada hewan menunjukkan bahwa kelainan neurologis dan defisit memori berkaitan dengan paparan timbal, terutama pada masa kehamilan dan perkembangan. Kelainan ini diuji pada tikus dengan menggunakan *Morris Water Maze* (MWM) (Bazrgar *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015). Timbal merupakan salah satu contoh dari radikal bebas dapat mengakibatkan suatu stres oksidatif (Rahman *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2015).

Timbal bersifat racun baik dalam bentuk logam maupun garamnya. Nilai ambang toksisitas timbal (*Total Limit Values* atau TLV) adalah $0,2 \text{ mg/m}^3$. Keracunan timbal akut terjadi 30 menit setelah adanya paparan, keracunan

subakut terjadi selama 1-3 hari setelah paparan dengan dosis 20-30 mg (Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2010).

Penelitian Rehman (1984) menunjukkan bahwa Pb^{2+} dapat menyebabkan peroksidasi lipid sel neuron di semua bagian otak dengan menginduksi tikus menggunakan Pb^{2+} asetat 2% selama 10 hari. Penelitian ini menunjukkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel di semua bagian otak tikus. Penelitian Ahmed *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa terjadi kematian sel pada otak tikus yang diinduksi dengan 25 dan 50 mg/KgBB timbal asetat. Pada penelitian Meng *et al.*, (2016) paparan Pb^{2+} ini dapat menyebabkan kematian sel-sel di *hippocampus* dan mengakibatkan gangguan pada memori spasial. Timbal dengan dosis 200 mg/KgBB dapat meningkatkan stres oksidatif dan menurunkan kemampuan spasial dari tikus putih jantan yang diinduksi zat tersebut secara intraperitoneal (Wicaksono, 2017).

Manggis adalah buah tropis yang tersedia di Asia Tenggara. Manggis telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati infeksi kulit, luka, dan diare. Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa *xanthone* dalam manggis dapat memiliki efek antimikroba dan efek antiperadangan. Ekstrak etanol dari *Garcinia mangostana* (GM) menghambat pelepasan *histamin*, sintesis *prostaglandin E2*, dan HIV-1 *protease*. Ekstrak etanol ini menunjukkan efek antiproliferatif, apoptosis, dan kegiatan antioksidan pada sel kanker payudara manusia. Namun, informasi yang tersedia masih terbatas pada aktivitas saraf (Weecharangsan *et al.*, 2006; Rahman *et al.*, 2012).

Manggis merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan dalam memperbaiki gangguan memori maupun disfungsi kognitif karena memiliki khasiat sebagai neuroprotektor. Ekstrak manggis mampu melindungi fungsi memori dengan cara menurunkan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) berupa *Radikal Hidroksil* (OH), *Radikal Superoksida* (O_2), *Hidrogen Peroksida* (H_2O_2), *Nitrit Oksida* (NO) dan *Peroksinitrit* (OONO⁻). Manggis meningkatkan kapasitas antioksidan seperti *glutation* (GSH), mencegah apoptosis dengan cara menurunkan aktivitas *caspase-3* dan meningkatkan *Brain Derived Neutropic Factor* (BDNF) pada kultur *hipocampus*. Mekanisme yang lain dicapai dengan menekan aktivitas *acetylcholinesterase* (AChE) sehingga kadar *asetilkolin* diharapkan tetap tinggi dalam otak dan meningkatkan ekspresi protein *karyopherin B1* (KPNB1). Belum ditemukan adanya toksisitas pada penggunaan ekstrak manggis dengan dosis tinggi 500 mg/kgBB/hari dalam jangka waktu kronik selama 6 bulan (Suvarnakuta dalam Wulan, 2015).

Xanthone merupakan antioksidan yang sangat kuat, sangat dibutuhkan tubuh sebagai penyeimbang *prooxidant* (*reducing radicals, carbocentered sinar UV metal*, dll) yang ada di lingkungan. Kulit buah manggis yang sudah matang mengandung *polyhydroxi-xanton* yang merupakan derivat *mangostin* (Hasyim, 2008).

Penelitian Nontamart *et al.*, (2015) membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 500, 1.000, dan 2.000 mg/KgBB pada tikus

mampu memperbaiki fungsi memori dalam sebuah uji MWM. Phyu dan Tangpong (2014) membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 100 dan 200 mg/kgBB mampu meningkatkan kemampuan memori yang ditandai dengan penurunan waktu latensi uji MWM pada tikus yang dipaparkan dengan timbal.

1.2 Rumusan Masalah

Timbal asetat merupakan salah satu contoh radikal bebas yang menyebabkan gangguan pada sistem saraf dan dapat mengakibatkan suatu stres oksidatif. Penelitian yang telah dilakukan pada hewan menunjukkan bahwa timbal menyebabkan kelainan neurologis dan defisit pada sistem memori. Kulit manggis mengandung *xanthone* yang merupakan antioksidan, *xanthone* berpengaruh dalam melindungi fungsi kerja tubuh dari paparan radikal bebas, mencegah gangguan memori maupun disfungsi kognitif karena memiliki khasiat sebagai neuroprotektor, namun penelitian mengenai pengaruh kulit manggis terhadap aktivitas saraf saat ini masih sangat terbatas. Penggunaan dosis yang pernah dilakukan adalah 500 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB, dan 2000 mg/KgBB. Dalam penelitian ini digunakan dosis yang lebih rendah, yaitu, 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB, dan 750 mg/KgBB. Berdasarkan hal tersebut, maka rumusan masalah yang diambil adalah “Bagaimanakah pengaruh ekstrak kulit manggis dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB, dan 750 mg/KgBB terhadap memori spasial tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang telah diinduksi dengan menggunakan timbal?”

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol 70% kulit manggis dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB. 750 mg/KgBB sebagai antioksidan terhadap memori spasial tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi dengan timbal.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan wawasan dan ilmu mengenai fungsi ekstrak kulit manggis sebagai neuroprotektor terhadap paparan bahan kimia.

1.4.2 Manfaat bagi Institusi

Sebagai informasi ilmiah mengenai pengaruh ekstrak kulit manggis sebagai antioksidan yang bersifat neuroprotektif terhadap paparan bahan kimia.

1.4.3 Manfaat bagi mahasiswa lain

Menambah pengetahuan mengenai kulit manggis yang berfungsi sebagai antioksidan.

1.4.4 Manfaat bagi peneliti selanjutnya

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendorong penelitian selanjutnya sehingga penggunaan ekstrak kulit manggis dapat dikembangkan sebagai antioksidan yang mencegah penurunan memori yang disebabkan oleh bahan kimia.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Neurotoksisitas

2.1.1 Definisi Neurotoksik

Sebuah agen disebut neurotoksik apabila menyebabkan perubahan dalam morfologi, biokimia dari fungsi sistem saraf. Efek neurotoksik sering muncul sebagai perubahan perilaku yang dapat berfungsi juga sebagai tanda-tanda peringatan awal, keracunan lebih lanjut mungkin terjadi jika paparan dilanjutkan. Misalnya efek neurotoksik dapat ditemukan di antara individu-individu terpapar logam terlarut seperti timah dan arsenik dalam air minum.

Agen toksik yang umum meliputi logam berat, obat-obatan, *organophosphate*, bakteri, dan neurotoksin yang diproduksi oleh binatang. Setiap agen toksik memiliki presentasi yang unik, tergantung pada efek yang terjadi setelah terjadinya paparan.

Paparan tersebut dibagi menjadi paparan akut dan kronis dan setiap jenis paparan memiliki presentasi dan efek yang berbeda. Paparan neurotoksik dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf pusat, gangguan afektif, dan gangguan neurokognitif (Mason *et al.*, 2014).

Eksresi respon neurotoksik dapat bersifat progresif, diawali dengan defisit fungsi yang kecil kemudian menjadi lebih serius. Sebuah perubahan kecil dalam fungsi neurologis bisa berfungsi sebagai penanda adanya paparan zat neurotoksik dan juga merupakan sinyal perubahan biologis yang moderat sebagai indikasi penyakit neurologis. *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) melaporkan bahwa paparan bahan kimia neurotoksik adalah salah satu dari 10 penyebab utama penyakit yang berhubungan dengan pekerjaan dan cedera. Lebih dari 25% dari bahan kimia pada *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) dinyatakan melebihi ambang batas dan merusak sistem saraf (Anetor *et al.*, 2008).

2.1.2 Neurotoksisitas timbal

Salah satu bahan pencemar udara yang paling berbahaya adalah timbal. Timbal sering juga disebut dengan timah hitam (Pb; *lead*). Timbal merupakan metal yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia yang berlangsung seumur hidup karena timbal berakumulasi dalam tubuh manusia.

Dalam kasus paparan polusi timbal dalam dosis rendah sekalipun ternyata dapat menimbulkan gangguan pada tubuh tanpa menunjukkan gejala klinik (Nauwrot dan Staessen, 2006). Timbal atau timah hitam adalah satu unsur logam berat yang lebih tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya. Kadarnya dalam lingkungan meningkat karena penambangan, peleburan dan berbagai penggunaannya dalam industri. Timbal berupa serbuk berwarna abu-abu gelap digunakan antara lain sebagai bahan produksi baterai dan amunisi, komponen pembuatan cat, pabrik *tetraethyl lead*, pelindung radiasi, lapisan pipa, pembungkus kabel, gelas keramik, barang-barang elektronik, *tube* atau *container*, juga dalam proses mematri (BPOM, 2010).

Keracunan dapat berasal dari timbal dalam mainan, debu di tempat latihan menembak, pipa ledeng, pigmen pada cat, abu dan asap dari pembakaran kayu yang dicat, limbah tukang emas, industri rumah, baterai dan percetakan. Makanan dan minuman yang bersifat asam seperti air tomat, air buah apel dan asinan dapat melarutkan timbal yang terdapat pada lapisan mangkuk dan panci sehingga makanan atau minuman yang terkontaminasi ini dapat menimbulkan keracunan. Bagi kebanyakan orang, sumber utama asupan timbal adalah makanan yang biasanya menyumbang 100–300 ug per hari (BPOM, 2010).

Timbal adalah logam berat tanpa fungsi biologis yang jelas. Meluasnya pencemaran lingkungan menyebabkan meluasnya efek toksik timbal dan jumlah individu yang terkena agen neurotoksik ini di seluruh dunia, masalah ini didefinisikan sebagai masalah kesehatan masyarakat sebesar global. Sistem saraf adalah target utama untuk tingkat paparan timbal meski dalam jumlah kecil dan perkembangan otak tampaknya menjadi sangat rentan terhadap neurotoksisitas (Kesmati *et al.*, 2015).

Beberapa bukti telah mengungkapkan bahwa paparan timbal menghasilkan kerusakan saraf dan gangguan perilaku pada manusia dan pada hewan percobaan. Hal ini melaporkan bahwa paparan timbal memengaruhi perkembangan otak dan perilaku serta defisit dari fungsi memori, penelitian sebelumnya menunjukkan adanya penurunan akuisisi hewan percobaan karena neurotoksisitas timbal khususnya pada fungsi memori yang dianalisa pada hewan coba tersebut melalui sebuah tes yang disebut MWM (Kesmati *et al.*, 2015).

Timbal dapat masuk kedalam tubuh melalui pernafasan, maupun saluran pencernaan. Lebih kurang 90% partikel timbal dalam asap atau debu halus di udara dihisap melalui saluran pernafasan. Penyerapan di usus mencapai 5–15% pada orang dewasa. Pada anak-anak lebih tinggi yaitu 40% dan akan menjadi lebih tinggi lagi apabila anak tersebut kekurangan kalsium, zat besi, dan zinc dalam tubuhnya (BPOM, 2010).

Laporan yang dikeluarkan *Poison Center* Amerika Serikat menyatakan anak-anak merupakan korban utama paparan toksik timbal; dengan 49% dari kasus yang dilaporkan terjadi pada anak-anak berusia kurang dari 6 tahun. Hal yang lebih mengkhawatirkan adalah efeknya terhadap kecerdasan *Intelligent Quotient* (IQ) anak-anak, sehingga menurunkan prestasi belajar mereka, walaupun kadar timbal di dalam darah mereka tidak dianggap toksik (BPOM, 2010).

2.1.2.1 Keracunan akut

Keracunan timbal akut jarang terjadi. Keracunan timbal akut secara tidak sengaja yang pernah terjadi adalah karena paparan timbal asetat. Gejala keracunan akut mulai timbul 30 menit setelah meminum racun. Berat ringannya gejala yang timbul tergantung pada dosisnya (BPOM, 2010).

Keracunan biasanya terjadi karena masuknya senyawa timbal yang larut dalam asam atau inhalasi uap timbal. Efek *adstringen* menimbulkan rasa haus dan rasa logam disertai rasa terbakar pada mulut. Gejala lain yang sering muncul ialah mual, muntah dengan muntahan yang berwarna putih seperti susu karena plumbum klorida dan rasa sakit perut yang hebat. Lidah berlapis dan napas mengeluarkan bau yang menyengat.

Pada gusi terdapat garis biru yang merupakan hasil dekomposisi protein karena bereaksi dengan gas hidrogen sulfida. Tinja penderita berwarna hitam karena mengandung plumbum sulfida, dapat disertai diare atau konstipasi. Sistem saraf pusat juga dipengaruhi, dapat ditemukan gejala ringan berupa kebas dan vertigo. Gejala yang berat mencakup paralisis beberapa kelompok otot sehingga menyebabkan pergelangan tangan terkulai (*wrist drop*) dan pergelangan kaki terkulai (*foot drop*) (BPOM, 2010).

2.1.2.2 Keracunan subakut

Keracunan subakut terjadi bila seseorang berulang kali terpapar racun dalam dosis kecil, misalnya timbal asetat yang menyebabkan gejala-gejala pada sistem saraf yang lebih menonjol, seperti rasa kebas, kaku otot, vertigo dan paralisis flaksid pada tungkai. Keadaan ini kemudian akan diikuti dengan kejang-kejang dan koma.

Gejala umum meliputi penampilan yang gelisah, lemas dan depresi. Penderita sering mengalami gangguan sistem pencernaan, pengeluaran urin sangat sedikit, berwarna merah. Nilai ambang batas : 20-30 gram. Periode : 1-3 hari.

2.1.2.3 Keracunan kronis

Keracunan timbal dalam bentuk kronis lebih sering terjadi dibandingkan keracunan akut. Keracunan timbal kronis lebih sering dialami para pekerja yang terpapar timbal dalam berbagai industri, karena itu keracunan ini dianggap sebagai penyakit industri, seperti penyusun huruf pada percetakan, pengatur komposisi media cetak, pembuat huruf mesin cetak, pabrik cat yang menggunakan timbal, petugas pemasang pipa gas (BPOM, 2010).

Bahaya dan resiko pekerjaan itu ditandai dengan *Total Limit Values* (TLV) $0,15 \mu/m^3$ atau $0,07 \mu/m^3$ bila sebagai aerosol. Keracunan kronis juga dapat terjadi pada orang yang minum air yang dialirkan melalui pipa timbal, juga pada orang yang mempunyai kebiasaan menyimpan *Ghee* (sejenis makanan di India) dalam bungkus timbal (BPOM, 2010).

2.2 Memori

2.2.1 Definisi memori

Memori (daya ingat) merupakan tempat penyimpanan dari berbagai informasi yang nantinya dapat dipergunakan kembali. Memori dapat dibangkitkan kembali ketika seorang manusia membutuhkan ingatan tersebut pada suatu waktu (Syaifullah, 2010).

Memori didefinisikan secara luas, adalah kemampuan untuk mengingat sesuatu dari masa lalu dalam keperluan saat ini. Memori dapat memanifestasikan dirinya dalam berbagai cara. Ketika orang-orang mengikat tali sepatu atau naik sepeda, mereka bergantung pada pengalaman untuk melakukannya, urutan urutan cara yang menggerakkan tubuh untuk menyelesaikan tugas tersebut. Keterampilan tersebut sering dianggap contoh memori prosedural (Syaifullah, 2010).

Ketika orang mengidentifikasi objek di lingkungan (misalnya, mengetahui bahwa hal adalah tanaman atau hewan). Ketika mereka memberikan jawaban untuk pernyataan faktual, mereka memanfaatkan simpanan pengetahuan umum tentang dunia yang terakumulasi dari waktu ke waktu.

Jenis memori sering disebut sebagai memori semantik. Ketika orang-orang mengingat peristiwa, mereka harus berusaha untuk mengingat rincian dari apa yang terjadi di tempat dan waktu tertentu. Jenis ini, disebut memori episodik (Syaifullah, 2010).

2.2.2 Jenis-jenis memori

Terdapat dua jenis memori, yaitu memori jangka pendek (*Short Term Memory*) dan memori jangka panjang (*Long Term Memory*). Pengelompokan ini didasari pada asumsi bahwa pemrosesan pertama

kali dilakukan dalam sistem penyimpanan/memori jangka pendek. Sistem penyimpanan atau memori jangka pendek ini tidak beroperasi sendiri, namun selalu berhubungan dengan “pengetahuan” Yang tersimpan dalam sistem memori jangka panjang. Informasi dan “pengetahuan” yang tersimpan dalam sistem memori jangka panjang juga selalu berhubungan dengan informasi terbaru yang masuk ke sistem memori jangka pendek, yang dapat mengubah atau memperkaya muatan memori jangka panjang (Bhinnety, 2008).

Selanjutnya setelah berada di sistem memori jangka panjang, informasi tersebut dapat diperoleh kembali melalui strategi tertentu, atau informasi tersebut terlupakan (gagal atau tidak dapat diperoleh kembali). Hal ini disebabkan karena adanya kekurangan dalam sistem pengarsipannya (Bhinnety, 2008).

2.2.2.1 Memori Jangka Pendek

Memori jangka pendek memang ada berdasarkan dua premis, yaitu: (a) Sebagai proposisi umum seseorang mestinya dapat menahan informasi dalam interval waktu yang singkat, dan (b) Sesuai usulan Hebb bahwa apabila aktivitas umum berlanjut sampai beberapa periode, perubahan struktural pada kontak sinaptik diantara sel-sel dapat membawa memori setelahnya (Bhinnety, 2008).

Memori jangka pendek memiliki kapasitas yang kecil sekali, namun sangat besar peranannya dalam proses memori, yang merupakan tempat dimana kita memroses stimulus yang berasal dari lingkungan kita. Kemampuan penyimpanan informasi yang kecil tersebut sesuai dengan kapasitas pemrosesan yang terbatas. Memori jangka pendek berfungsi sebagai penyimpanan transitori yang dapat menyimpan informasi yang sangat terbatas dan mentransformasikan serta menggunakan informasi tersebut dalam menghasilkan respon atas suatu stimulus (Bhinnety, 2008).

2.2.2.2 Memori Jangka Panjang

Kemampuan untuk mengingat masa lalu dan menggunakan informasi tersebut untuk dimanfaatkan saat ini merupakan fungsi dari memori jangka panjang. Sistem memori jangka panjang memungkinkan kita untuk seolah-olah hidup dalam dua dunia, yaitu dunia masa lalu dan saat sekarang. Hal-hal yang paling istimewa dari memori jangka panjang adalah kapasitasnya yang tidak terbatas dan durasinya yang seolah-olah tak pernah berakhir. Penyimpanan dan struktur memori jangka panjang seperti halnya pada memori jangka pendek pada sistem memori jangka panjang informasi disandikan juga secara akustik, visual, atau semantik (Bhinnety, 2008).

Secara umum memori jangka panjang dapat dibayangkan sebagai tempat penyimpanan (gudang) semua informasi yang saat ini belum perlu digunakan namun potensial untuk dapat diperoleh kembali bila diperlukan (Bhinnety, 2008).

Beberapa macam informasi yang tersimpan dalam memori jangka panjang meliputi:

- a. Pengetahuan hukum fisika, kosmologi, sifat obyek dan segala sesuatu yang terkait dengannya;
- b. Keyakinan kita terhadap orang, diri sendiri, dan tentang bagaimana berperilaku dalam situasi sosial yang bervariasi;
- c. Nilai-nilai dan tujuan sosial yang kita cari;
- d. Keterampilan motorik dalam mengemudi, bersepeda dan sejenisnya; ketrampilan menyelesaikan masalah untuk berbagai situasi; rencana-rencana kita untuk mencapai sesuatu;
- e. Keterampilan perseptual dalam memahami bahasa atau menginterpretasikan lukisan atau musik;
- f. Model spasial dari alam di sekeliling kita, struktur simbolis yang berkaitan dengan gambaran tentang suatu rumah, kota, negara, atau planet dan informasi tentang dimana obyek. Obyek penting terletak dalam peta kognitif tersebut (Bower dalam Bhinnety, 2015).

2.2.3 Memori spasial

Memori spasial adalah kemampuan untuk belajar dan mengingat lokasi spasial dan mengaitkan mereka dengan rangsangan lain, merupakan perilaku adaptif penting yang diperlukan untuk bertahan hidup. Navigasi spasial dan memori spasial terutama terkait dengan *hippocampus*, baik pada tikus dan manusia (Bannerman *et al.*, 2014).

Isyarat spasial umumnya dianggap representasi multimodal kompleks dari lingkungan yang terdiri informasi dari modalitas sensorik yang berbeda. Beberapa tugas spasial dapat dilakukan dengan menggunakan egosentris (*self-centered*) informasi (misalnya menggunakan vestibular atau isyarat proprioseptif), tapi tugas-tugas spasial lainnya membutuhkan pengkodean hubungan antara fitur yang menonjol dari lingkungan untuk menciptakan *allocentric* (berpusat) representasi spasial yang independen. Sebagai contoh, adalah untuk hewan untuk dapat menemukan jalan pulang dari posisi awal baru (misalnya, jika dipaksa untuk meninggalkan rute biasanya dan menemukan rumah dengan cara baru) (Bannerman *et al.*, 2014).

Terdapat dua sistem berbeda yang membimbing fungsi spasial, yaitu fungsi pembelajaran dan memori. Pertama, yaitu *takson* sistem, menggunakan isyarat egosentris dan respon perilaku spesifik sebagai penanda rangsangan tertentu untuk memungkinkan navigasi. Misalnya, selalu belok kanan, selalu mendekati stimulus X, selalu menjauh dari

stimulus Y, dan sebagainya. Sistem kedua, sistem 'lokal', mendasari pengarahannya spasial *allocentric* dan pembentukan peta kognitif dari lingkungan (O'Keefe dan Nadel dalam Bannerman *et al.*, 2014).

Hippocampus memainkan peran penting dalam pembelajaran spasial dan kontekstual. MWM adalah tes kemampuan tikus untuk belajar dan menghafal lokasi *platform* tersembunyi di kolam air dengan isyarat menjaga sekitar labirin air. Tugas pembelajaran spasial ini membutuhkan keterlibatan *hippocampal N-methyl-D-aspartat* (NMDA) dan reseptor kolinergik muskarinik (Kesmati *et al.*, 2015).

Paparan timbal menyebabkan perubahan dalam NMDA dan reseptor kolinergik muskarinik dalam *hippocampus* tikus pada usia 14 hari awal kehidupan (Jet dan Guilarte dalam Barzgar., *et al.*, 2015). Paparan timbal selama pengembangan awal menghambat neurogenesis dan mengubah proses diferensiasi sel-sel baru di *gyrus* dari *hippocampus* tikus yang bertanggung jawab atas gangguan memori spasial (Jaako-Movits dalam Barzgar., *et al.*, 2015).

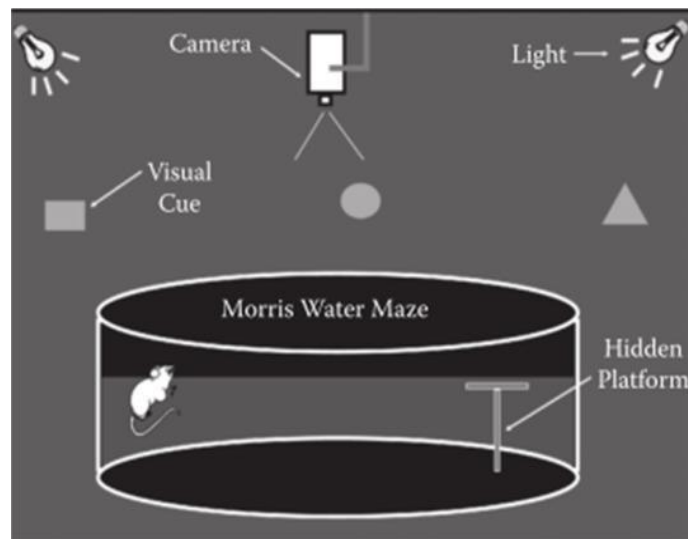
2.2.4 Morris Water Maze Test

Morris Water Maze (MWM) secara luas digunakan untuk mempelajari memori spasial dan belajar. Hewan ditempatkan di kolam air yang berwarna buram dengan susu *non-fat* bubuk atau cat tidak beracun, dimana mereka harus berenang menuju *platform* di tempat yang

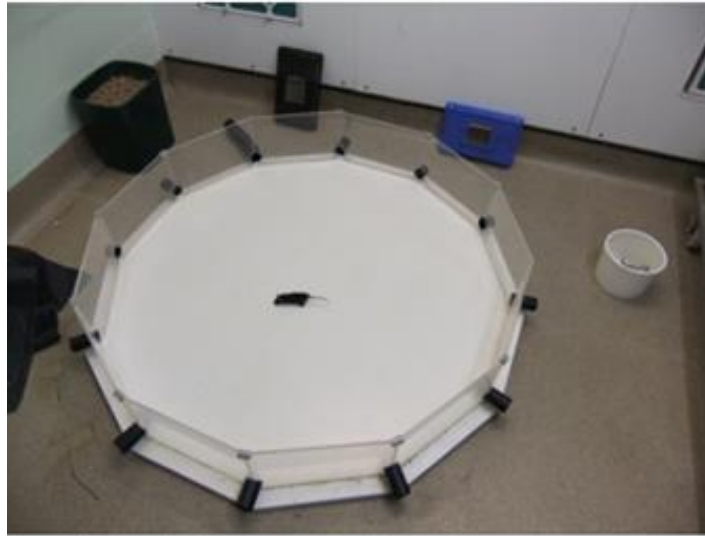
tersembunyi. Karena hewan berada di air buram, hewan tidak bisa melihat *platform*, dan tidak bisa mengandalkan aroma untuk menemukan jalan keluar. Sebaliknya, mereka harus bergantung pada isyarat eksternal/*extra*-labirin. Tes ini dikembangkan oleh Richard G. Morris pada tahun 1984, paradigma ini telah menjadi salah satu "standar emas" dari *neuroscience* (Sharma, 2009). MWM adalah kolam melingkar (140 cm, tinggi 60 cm) diisi dengan air (kedalaman 30cm) pada suhu rata rata $24\pm 2^{\circ}$ C. Kolam renang dibagi menjadi 4 kuadran dengan ukuran yang sama. Satu kekhawatiran tentang posisi awal kardinal adalah bahwa mereka tidak berjarak sama dari tujuan, menciptakan jalan pendek dan panjang menuju tujuan. Solusi parsial yang telah kita gunakan adalah hanya menggunakan lokasi awal distal. Dengan ini, kita maksudkan bahwa jika tujuannya adalah SE, maka hewan coba dapat menggunakan lokasi awal N, W, NE dan SW (Vorhees dan William, 2006).

Water Maze Test terdiri dari empat posisi awal yang berbeda di sekeliling kolam renang. Sesi pelatihan terdiri dari enam percobaan per hari selama 6 hari berturut-turut yang dimulai dari salah satu posisi, digunakan dalam urutan acak yang sama bagi setiap tikus (Kesmati *et al.*, 2015).

Sebuah uji coba mulai dengan menempatkan tikus ke dalam air menghadap dinding kolam renang di salah satu titik awal. Jika tikus gagal melarikan diri dalam waktu 60 detik, tikus tersebut dipandu menuju *platform*, setelah tikus mencapai *platform*, tikus diperbolehkan selama 30 detik pada *platform*, kemudian ditempatkan di kandang lain dalam interval antar-percobaan 30 detik, setelah uji coba yang terakhir semua hewan dikeringkan dengan handuk dan dikembalikan ke kandang asal (Kesmati *et al.*, 2015).



Gambar 1. Ilustrasi Morris Water Maze Test
(Sumber : Alvin & Terry, 2009)



Gambar 2. Padding pool
(Sumber : Deacon, 2013)

2.3 Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana*)

Indonesia kaya dengan aneka ragam hayati, diantaranya adalah tanaman manggis (*Garcinia mangostana L.*). Dewasa ini manggis merupakan komoditas ekspor Indonesia dengan volume ekspor mencapai 6 juta ton dan nilai ekspor US\$3.611.995 tahun 2008. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa komponen seluruh buah manggis yang paling besar adalah kulitnya, yakni 70-75%. Kandungan *xanthone* tertinggi terdapat dalam kulit buah manggis, yakni 107,76 mg/100 g kulit buah (Nugroho, 2007).

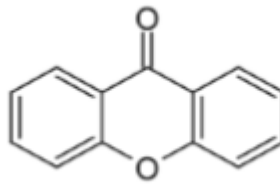
Dalam tubuh manusia *xanthone* berfungsi sebagai antioksidan, antiproliferasi, anti-inflamasi, dan antimikrobal. *Xanthone* adalah antioksidan kuat, yang sangat dibutuhkan untuk menyeimbangkan *pro-oxidant* di dalam tubuh dan lingkungan, yang dikenal sebagai radikal bebas.

Sejumlah peneliti menjelaskan, kulit manggis matang mengandung *polyhydroxyxanton*, yang merupakan derivat *mangostin* dan β -*mangostin*, yang berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor, dan antikanker. Sifat antioksidan *xanthone* melebihi vitamin E dan vitamin C, yang selama ini terkenal sebagai antioksidan tingkat tinggi (Nugroho, 2007).

Pada sebuah penelitian analisis pengaruh kulit manggis terhadap kadar gula darah manusia, pemberian ekstrak etanol kulit buah manggis dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 750 mg/kgBB terbukti dapat menurunkan kadar gula darah, Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah manggis mempunyai potensi sebagai obat antidiabetes yang juga sebanding dengan glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB (Yusni *et al.*, 2015).

2.4 Antioksidan Pada Kulit Buah Manggis

Senyawa antioksidan terkuat yang terdapat dalam kulit manggis adalah *xanthone* yang merupakan senyawa organik turunan dari *difenil- γ -piron*. Senyawa merupakan substansi kimia alami yang dapat digolongkan dalam senyawa jenis fenol atau *polyphenolic*. Karena itulah, senyawa *xanthone* dapat digolongkan senyawa polar. Senyawa ini memiliki rumus $C_{13}H_8O_2$, sehingga memiliki masa molar sebesar 196,19 gram/mol. Dalam penamaan menurut IUPAC, senyawa ini diberi nama *9H-xanthen-9one* (Miryanti *et al.*, 2011).



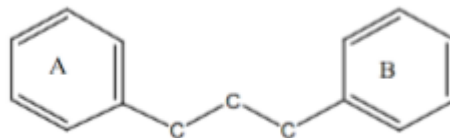
Gambar 3. Struktur Senyawa *Xanthone*
(Sumber: Miryanti, *et al.*, 2011)

2.4.1 Polifenol

Polifenol umumnya banyak terkandung dalam kulit buah. Senyawa polifenol terdiri dari beberapa subklas yakni, *flavonol*, *isoflavon* (dalam kedelai), *flavanon*, *antosianidin*, *katekin*, dan *biflavan*. Secara umum, kekuatan senyawa *fenol* sebagai antioksidan tergantung dari beberapa faktor seperti ikatan gugus hidroksil pada cincin aromatik dan kemampuannya memberi donor hidrogen atau elektron serta kemampuannya dalam “merantas” radikal bebas (*free radical scavanger*). Semua polifenol mampu “merantas” oksigen dan radikal alkil dengan memberikan donor elektron sehingga membentuk radikal fenoksil yang relatif stabil. Ada hubungan antara kemampuan senyawa fenol sebagai antioksidan dan struktur kimianya. Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanismenya sebagai antioksidan (Miryanti *et al.*, 2011).

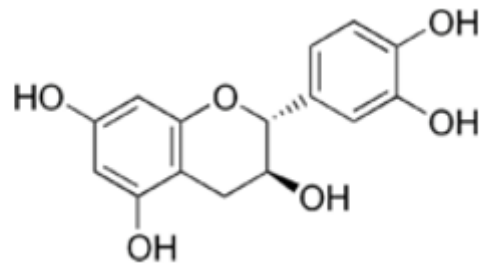
2.4.2 Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. *Flavonoid* dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Senyawa *flavonoid* adalah senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon ($C_6-C_3-C_6$), terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari 3 atom karbon. *Flavonoid* mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi.



Gambar 4. Kerangka Dasar Senyawa *Flavonoid*
(Sumber: Miryanti, *et al.*, 2011)

Senyawa *catechin* yang banyak terdapat pada buah-buahan. Termasuk manggis dapat digolongkan sebagai senyawa *flavonoid*, dari sub kelas *Flavan-3-ol* (Miryanti *et al.*, 2011).



Gambar 5. Struktur Senyawa *Catechin*
(Sumber: Miryanti, *et al.*, 2011)

2.5 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan serta dapat menunda dan mencegah proses oksidasi lipid yang dapat menyebabkan keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan enzimatis dan antioksidan non-enzimatis (Winarsi, 2007). Antioksidan enzimatis bekerja menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutuskan reaksi berantai (polimerisasi). Kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil, sehingga antioksidan kelompok ini disebut juga *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007).

Enzim katalase dan glutathion peroksidase bekerja dengan cara mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 sedangkan enzim superoksida dismutase (SOD) bekerja dengan cara mengkatalisis reaksi dismutasi dari radikal anion superoksida menjadi H_2O_2 . Antioksidan non-enzimatis bekerja secara preventif, dimana terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara dirusak pembentukannya (Winarsi, 2007).

Proses metabolisme tubuh merupakan reaksi oksidasi dan reduksi sehingga terbentuk radikal bebas yang bersifat oksidator dengan oksigen yang reaktif. Karena kereaktifannya, radikal bebas itu akan mengoksidasi zat-zat yang bermanfaat bagi tubuh, sehingga menyebabkan sejumlah jaringan tubuh rusak. Contohnya, kulit jadi keriput karena kehilangan elastisitas kolagen serta ototnya. Lalu muncul bintik-bintik berupa pigmen kecokelatan atau flek pada kulit, juga dapat muncul kepikunan, parkinson, atau alzheimer karena dinding sel saraf yang terdiri atas asam lemak tak jenuh ganda merupakan sasaran empuk radikal bebas (Nugroho, 2007).

Radikal bebas mudah teroksidasi, dalam hal ini radikal peroksil (ROO) akan mengoksidasi *xanthone* dengan cepat, sehingga radikal peroksil itu akan berubah menjadi R-H. Perubahan itu terjadi karena molekul oksigen direduksi oleh *garcinon B* sebagai derivat *xanthone*. Reaksinya dapat menghambat radikal bebas dari berbagai jenis. Oksigen reaktif dari beberapa contoh radikal bebas, seperti H_3C (*carbon-centered*), R, R_2NO (*nitrogen-centered*), RO, H_3COO (*O₂-centered*), atau ROO, dapat dihilangkan oleh *xanthone* jenis *garcinon B* atau *parvixanton* dalam proses oksidasi (Nugroho, 2007).

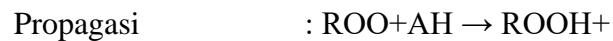
Efek pemberian ekstrak manggis yang diukur dengan analisa *western blot* menunjukkan adanya peningkatan jumlah ekspresi protein *karyopherin $\beta 1$* (KPNB1) pada otak mencit yang diinduksi dengan *skopolamin*. *Karyopherin $\beta 1$* merupakan sebuah protein pengangkut yang terikat pada protein protein sitoplasma yang mengandung *nuclear localizing signals* (NLS). Protein ini

bersama dengan protein *karyopherin $\alpha 2$* (KPNA2) akan menempel pada kompleks *nuclear pore* dan bertranslokasi ke dalam nukleus (Sattayasai., *et al*, 2013).

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberi atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R, ROO) atau mengubahnya ke bentuk stabil. Sementara turunan radikal antioksidan (A) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid.

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan yaitu memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai oksidan dengan berbagai mekanisme di luar pemutusan rantai oksidan dengan mengubah radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal antioksidan (A) yang terbentuk pada reaksi tersebut stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Miryanti *et al*, 2011).

Radikal radikal antioksidan dapat saling membentuk produk non radikal. Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida adalah sebagai berikut:



(Miryanti *et al.*, 2011)

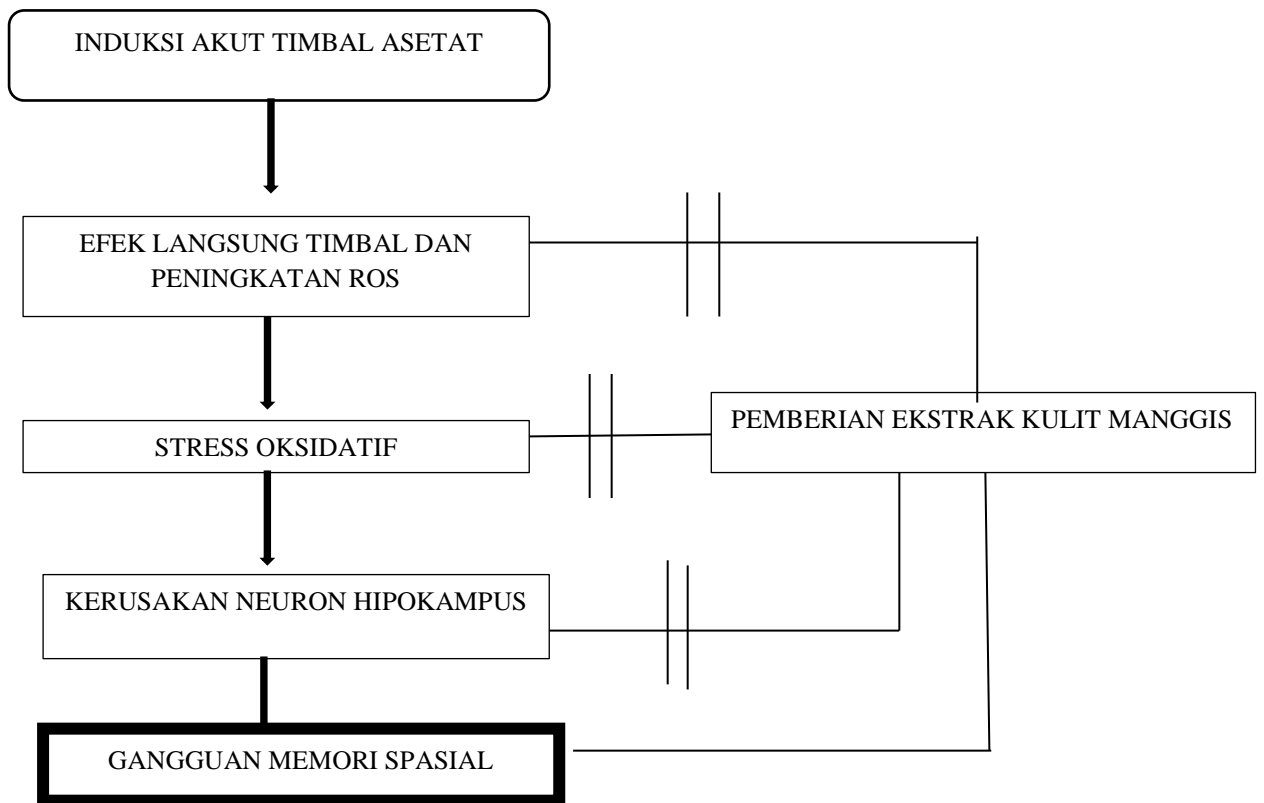
Mekanisme perlindungan ekstrak kulit manggis terhadap memori dapat terjadi karena kemampuannya menurunkan kematian sel sel neuron. Penurunan ini terjadi melalui peningkatan regulasi *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) pada kultur sel *hippocampus*. *Brain Derived Neurotrophic Factor* merupakan faktor penting untuk menjaga viabilitas sel sel neuron, meningkatkan plastisitas neuron, serta menjaga memori dan kemampuan belajar (Huang *et al.*, 2014).

Phyu dan Tangpong (2014) menunjukkan hasil pemberian ekstrak kulit manggis menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah neurotransmitter *AChE* pada jaringan otak dan darah. *Acetylcholinesterase* atau *acetylhydrolyase* adalah suatu enzim protease yang akan menghidrolisis neurotransmitter *acetylcholin* pada *neuromuscular junctions* dan sinaps kolinergik pada otak dan berfungsi dalam proses kognitif.

2.6 Kerangka Teori

Timbal dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui pernapasan, maupun saluran pencernaan. Lebih kurang 90% partikel timbal dalam asap atau debu halus di udara dihisap melalui saluran pernapasan (BPOM, 2010). Timbal menyebabkan stres oksidatif dengan meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* dan menurunkan sistem antioksidan. Peroksidasi lipid meningkat karena terganggunya keseimbangan oksidan dan antioksidan (Mason *et al.*, 2014). Stres oksidatif dapat menyebabkan penurunan fungsi dari *hipocampus* (Sunarno *et al.*, 2012). Kerusakan hipokampus berkaitan erat dengan defisit fungsi memori dan dapat membatasi fungsi dari memori spasial (King *et al.*, 2004).

Ekstrak manggis mampu melindungi fungsi memori dengan cara menurunkan jumlah *reactive oxygen species* (ROS) berupa *radikal hidroksil* (OH), *radikal superoksida* (O_2), *hidrogen peroksida* (H_2O_2), *nitrit oksida* (NO) dan *peroksinitrit* (OONO-), meningkatkan kapasitas antioksidan seperti *glutathion* (GSH), mencegah apoptosis dengan cara menurunkan aktivitas *caspase-3* dan meningkatkan *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) pada kultur *hipocampus* (Wulan, 2015). *Xanthone* yang terdapat di dalam kulit manggis adalah antioksidan kuat, yang sangat dibutuhkan untuk menyeimbangkan *pro-oxidant* di dalam tubuh dan lingkungan (I Arsana, 2014).

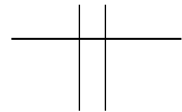


KETERANGAN :

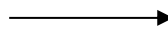
DITELITI



DIHAMBAT

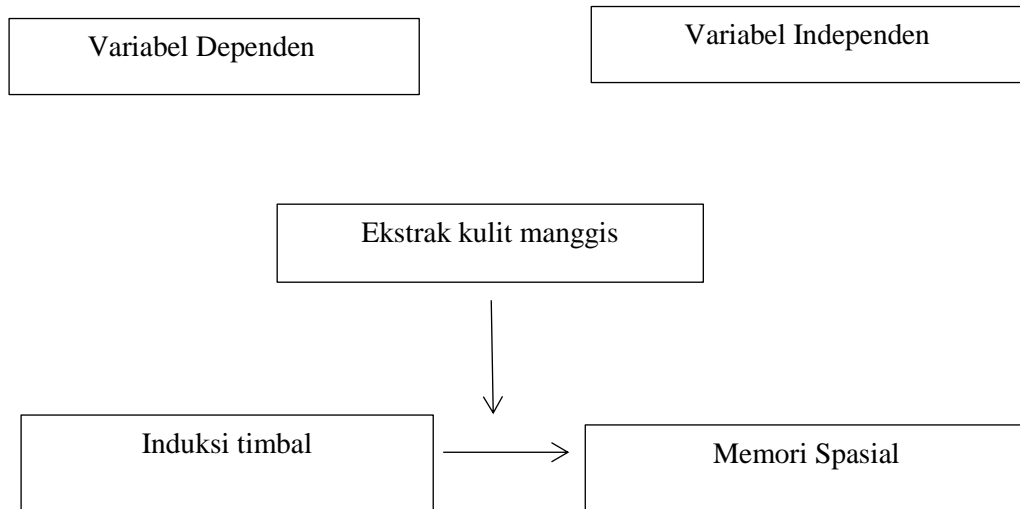


DIPENGARUHI



Gambar 6. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

H0: Tidak terdapat pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap memori spasial tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi timbal asetat.

H1: Terdapat pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap memori spasial tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi timbal asetat.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan pendekatan *post test only control group design*. Dengan rancangan ini peneliti dapat membandingkan hasil perlakuan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017-Januari 2018 tahun di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Hewan ini merupakan hewan yang digunakan Morris pada uji coba MWM, MWM sendiri merupakan penelitian mengenai fungsi memori spasial pada tikus.

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berumur 2-3 bulan atau 10-12 minggu. Jumlah sampel yang diambil mengikuti kaidah WHO, yaitu, minimal 5 ekor dari tiap kelompok. Penentuan besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Dalam penelitian ini digunakan 4 ekor tikus pada setiap kelompok, untuk mengantisipasi terjadinya *drop out*. Dengan demikian maka total tikus keseluruhan yang akan diteliti berjumlah 25 tikus.

3.4 Kelompok Perlakuan

Kelompok 1: Kelompok tikus yang tidak diinduksi timbal asetat

Kelompok 2: Kelompok tikus yang diinduksi timbal asetat 200 mg/Kgbb

Kelompok 3: Kelompok tikus yang diinduksi timbal asetat 200 mg/Kgbb per hari dan diberi ekstrak manggis 250 mg/Kgbb per hari

Kelompok 4: Kelompok tikus yang diinduksi timbal asetat 200mg/Kgbb per hari dan diberi ekstrak manggis 500 mg/Kgbb per hari

Kelompok 5: Kelompok tikus yang diinduksi timbal asetat 200mg/Kgbb per hari dan diberi ekstrak manggis 750 mg/Kgbb per hari.

3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi sampel penelitian adalah:

- a. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*;
- b. Sehat;
- c. Berat badan 150-250 gram;
- d. Usia 2-3 bulan atau 10-12 minggu.

Kriteria inklusi sampel penelitian adalah:

- a. Rambut botak atau rontok;
- b. Aktivitas tidak aktif.

3.6 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas: Variabel bebas pada penelitian ini adalah induksi timbal asetat dan pemberian ekstrak kulit manggis; dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/KgBB, 750 mg/KgBB.
- b. Variabel terikat: Variabel terikat pada penelitian ini adalah memori spasial yang diuji dengan metode MWM.

3.7 Definisi Operasional

Pada tabel 1 dapat dilihat variabel-variabel yang akan digunakan dalam penelitian ini, berikut dengan definisi operasional, alat ukur yang digunakan, cara pengukuran, hasil ukur, dan skala variabel yang digunakan untuk penentuan uji analisis yang digunakan.

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Variabel bebas: Kulit Manggis	Kulit manggis Terpilih dicuci Dan diekstraksi Endokarp dihilang- kan, perikarp Diambil. Lalu diblender Untuk 1000g diberi air 200ml, Lalu didekantasi selama 7 jam	Sonde	p2=250mg/ KgBB p3=500mg/ KgBB p4=750mg/ KgBB	Numerik
2	Variabel Terikat: Memori Spasial	Kemampuan dalam mengenali tempat, ruang, dan konteks keberadaan benda dipengaruhi oleh <i>hipocampus</i> , dapat dinilai dengan <i>Morris</i> <i>Water Maze</i> (da Silva, Bast and Morris, 2014)	Stopwatch		Kategorik
3	Variabel Numerik Induksi Timbal Asetat	Bahan kimia yang diinjeksikan secara intraperitoneal	Spuit	K(+):200mg/KgBB	

3.8 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* sehat 150-250 gram usia 2-3 bulan;
- b. Pb Asetat ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$) dosis 200 mg/KgBB;
- c. 60 mL air;
- d. Ekstrak kulit manggis dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB, 750 mg/KgBB.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut

- a. Spuit 1 cc/mL;
- b. Kandang tikus;
- c. Botol minuman 60mL;
- d. Tempat makan;
- e. Stop watch;
- f. Kamera;
- g. *Morris Water Maze*.

3.9 Prosedur penelitian

3.9.1 Pembuatan Larutan Pb Asetat

Larutan dibuat dengan cara melarutkan timbal asetat kedalam aquades untuk mempermudah proses injeksi. Timbal asetat memiliki kelarutan sebesar 20 g/100 mL. Larutan timbal asetat dibuat dari dengan dosis 200 mg/Kgbb. Tikus yang memiliki rerata berat badan 200 gram sehingga didapatkan dosis 40 mg atau 0,04 gram yang akan dilarutkan pada aquades.

$$\frac{20 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,04 \text{ gram}}{x \text{ mL}}$$

$$X = 0,2 \text{ mL}$$

Berdasarkan perbandingan di atas maka 40 mg Pb asetat akan dilarutkan pada 0,2 mL aquades, sehingga didapatkan larutan sebesar 4 gr/20 mL aquades.

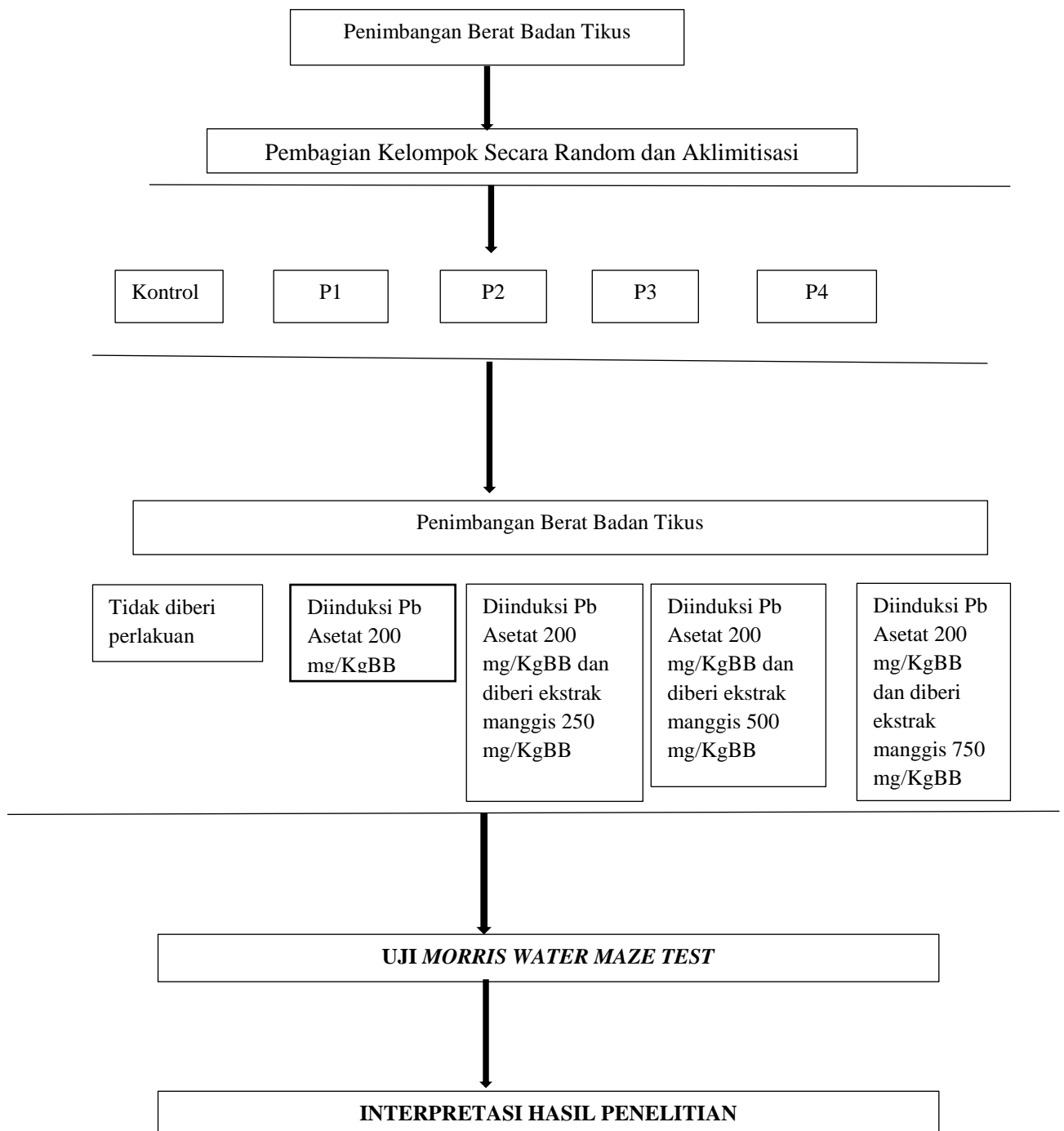
3.9.2 Proses Pengujian *Morris Water Maze*

Menurut Morris (2013) uji *watermaze* dilakukan untuk membandingkan memori spasial pada tiap kelompok tikus. Setiap tikus yang akan diuji terlebih dahulu diberi latihan selama 2 hari sebanyak 4 kali. Tempatkan tikus di tengah kolam menghadapi salah satu dari empat posisi di perimeter. Penempatan adalah semi-acak; maksimal tiga percobaan berturut-turut bisa dalam arah yang sama. Kemudian lepaskan tikus ketika berada tepat di atas air, karena kemudian tikus akan langsung tahu bahwa mereka tidak lagi ditahan, apabila tikus berjuang untuk membebaskan diri dan ini dapat mengganggu orientasi awal. Panjang maksimum percobaan adalah 60 detik. Jika tikus gagal untuk melarikan diri saat itu, secara manual tikus dipandu ke *platform* (Deacon, 2013).

Pada percobaan awal tikus dibiarkan berdiam di *platform* selama 30 detik, apabila dalam waktu 60 detik gagal mencapai *platform*, tikus dituntun ke arah *platform* dan dibiarkan selama 20 detik untuk beristirahat. Setelah itu tikus diletakkan kembali ke ke kandang untuk beristirahat. Pada percobaan ketiga dan keempat, tikus di letakkan lagi di satu titik. Kemudian tikus akan berenang mencari *platform* dan naik ke atas *platform*, lalu waktu untuk mencapai *platform* dicatat.

Untuk menilai retensi memori spasial dilakukan pengujian sehari setelah keseluruhan uji. *Platform* diangkat dari kolam sementara komponen lain dibiarkan seperti semula, selama 60 detik tikus dibiarkan berenang di kolam, hitung presentase tikus berenang pada kuadran target (tempat awal *platform*) terhadap seluruh kuadran (Alvin dan Terry, 2009).

3.9.3 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

3.10 Analisis Data

Kelompok penelitian ini terdiri atas lima kelompok, yaitu, satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan. Hasil penelitian diuji secara statistik dengan uji normalitas (*Saphiro-wilk*) dan homogenitas (*Levene's*). Data dianalisis dengan menggunakan uji *One-way Anova*. Data memori spasial terdistribusi normal dan homogen. Setelah dilakukan uji *One-way Anova* untuk melihat perbedaan dalam kelompok, dilakukan uji *Post-hoc* untuk memuat data yang lebih rinci mengenai perbedaan rerata antara dua kelompok perlakuan.

3.11 Etik Penelitian

Penelitian ini diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung No: 800/ un26.8/DL/2017. Penelitian ini menerapkan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dalam protokol penelitian. Pada akhir percobaan, peneliti menggunakan tindakan manusiawi dengan melakukan *anestesi* dan *euthanasia* pada hewan coba.

BAB V **KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dengan dosis 500 mg/KgBB dan 750 mg/KgBB mampu mencegah penurunan memori spasial tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi timbal asetat.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini untuk dilakukan peneliti lain adalah sebagai berikut:

- a. Disarankan untuk meneliti lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak kulit manggis dengan metode ekstraksi berbeda serta zat aktif pada kulit manggis terhadap memori spasial tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi timbal asetat;
- b. Disarankan untuk meneliti zat lain yang bersifat neurotoksik terhadap memori spasial;

- c. Disarankan untuk meneliti zat lain yang berfungsi sebagai neuroprotektor memori spasial.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed MB, Ahmed MI, Meki AR, Abdarboh N. 2013. Neurotoxic of lead on rats: relationship to apoptosis. *Int J health Sci Qassim*. 7(2):192-9.
- Alvin V, Terry J. 2009. *Method of behavioral analysis in neuroscience: Spatial navigation (Water Maze) Tasks*. edisi ke 2. Georgia: Medical college of Georgia.
- Anetor JI, Anetor GO, Iyanda AA, Adeniyi FAA. 2008. Environmental chemicals and human neurotoxicity: magnitude, prognosis and markers. *African Journal Biomedical Research*. 11(1):1–12.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2010. *Keracunan Timbal*. pp. 3–5.
- Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JP, Monyer, *et al.* 2014. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*. 15(3):181–92.
- Bazrgar, M. 2015. Effect of postnatal chronic lead exposure on spatial learning and memory in male rat. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 17(9):29-32.
- Bhinnety, M. 2008. *Struktur Dan Proses Memori*. Fakultas Psikologi Universitas Gadjah Mada, 16, ISSN:(2):74–88.
- Deacon, RMJ. 2013. Shallow Water (Paddling) Variants of Water Maze Tests in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, (76):260-8.
- Hasyim, KA. 2008. Manggis Kaya Antioksidan. *Iptek Hortikultura*. 4(8):2–5.
- Hashim NM, Rahmani M, Ee GCL, Sukari MA, Yahayu M, Oktima W, *et al.* 2012. Antiproliferative activity of xanthenes isolated from *Artocarpus obtusus*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012(6):1-9.

- 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):1–18
- I Arsana, U. 2014. Ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan pelatihan fisik menurunkan stres oksidatif pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) selama aktivitas maksimal. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar 2014.
- Jiang DJ, Hu GY, Jiang JL, Xiang HL, Deng HW, Li YJ. 2003. Relationship between protective effect of xanthone on endothelial cells and endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2003(11):5171–7.
- Kesmati M, Gholami K, Kazeminejad SR. 2015. Effect of postnatal chronic lead exposure on spatial learning and memory in male rat. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. pp. 60–62.
- King JA, Trinkler I, Hartley T, Vargha-Khadem F, Burgess N. 2004. The hippocampal role in spatial memory and the familiarity--recollection distinction: a case study. *Neuropsychology*, 18(3):405–417.
- Lidsky TI, Schneider J S. 2003. Lead neurotoxicity in children: Basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*. 126(1):5–19.
- Liu Z, Antalek M, Nguyen L, Li X, Tian X, Le A, *et al.* 2008. The effect of gartanin, a naturally- occurring xanthone in mangosteen juice, on the mTOR pathway, autophagy, apoptosis and the growth of human urinary bladder cancer cell Lines. *Nutr Cancer* . 65(01):68–77.
- Mason LH, Harp JP, Dong Y. 2014. Pb neurotoxicity: Neuropsychological effects of lead toxicity. *BioMed Research International*, 2014: 1–8.
- Meng H, Wang L, He J, Wang Z. 2016. The Protective Effect of Gangliosides on lead (Pb)-Induced Neurotoxicity mediated by Autophagic Pathways. *Int J Environ Res Public Health*.13 (4): 365.
- Miryanti A, Sapei L, Budiono K, Indra S. 2011. Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*). Skripsi. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan.

- Mohan S, Abdelwahab SI, Kamalidehghan B, Syam S, May KS, Harnal NS., *et al.* 2012. Involvement of NF- κ B and Bcl2/Bax signaling pathways in the apoptosis of MCF7 cells induced by a xanthone compound Pyranocycloartobiloxanthone A. *Phytomedicine*. 19(11):1007-15.
- Mustofa, S. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Tempe Terhadap Fungsi Hati dan Kerusakan Sel Hati Tikus Putih Yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Kedokteran Unila*. 3(1):1-9.
- Nauwrot TS, Staessen JA. Low-level environmental exposure to lead unmasked as silent killer. *Circulation*. 2006; 114:1347-1349.
- Nugroho, AE. 2007. Manggis (*Garcinia mangostana* L.): dari kulit buah yang terbuang menjadi kandidat suatu obat. *Universitas Gadjah Mada*. 12(42):1–9.
- Nontamart, N, Walaiporn T, Rungrudee S. 2013. The Memory Enhancing Effects of the Extract from the Fruit Hull of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) in Healthy Adult Male Rats. *International Conference on Food and Agricultural Sciences*. 22(55):1-8.
- Phyu Mp, Tangpong J. 2014. Neuroprotective effects of xanthone derivative of *Garcinia mangostana* against lead induced acetylcholinesterase dysfunction and cognitive impairment. *Food and Chemical Toxicology*. 2014(70):151–6.
- Rahman T, Hosen I, Islam MMT, Shekhar HU. 2012. Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3(7):997–1019.
- Reddy A, Avinash P, Begum N, Bakshi V. 2016. Neuroprotective effect of *Garcinia mangostana* on streptozotocin induced sporadic type Alzheimer's disease in mice. *International Journal of Applied Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(1):8-15.
- Rehman, Syafiqur. 1984. Lead-induced regional lipid peroxidation lipid in brain. *Toxicology Letters*. 21(1):333-7.
- Sattayasai J, Chaonapan P, Arkaravichie T, Soiapornkul R, Junnu S, Charoensilp P, *et al.* 2013. Protective effects of mangosteen extract on H₂O₂ induced cytotoxicity in SKNSH cells and scopolamine induced memory impairment in mice. *Plos one*. 8(12):1–13. Prosiding

- Sharma, V. 2009. Morris water maze—a versatile cognitive tool. *Memory*. 1(1):15–19.
- Silva BM, Bast T, Morris RGM. 2014. Spatial memory: behavioral determinants of persistence in the watermaze delayed matching-to-place task. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*. 21(1):28–36.
- Sunarno, Manalu W, Nastiti K, Agungpriyono DR. Pengoptimalan Kerja Mototik Pada Penuaan Fisiologis dan Penuaan Akibat Stres Oksidatif Dengan Alanin-Glutamin Dipeptida dan Hubungannya dengan Perbaikan Fungsi Hipokampus. 2012. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 6(1):1-5.
- Syaifullah, M. 2010. Pengaruh rangsang kerja elektroakupuntur terhadap memori kerja tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar stres kronik. Skripsi. Universitas Sebelas Maret.
- Suksan C, Rungrudee S. 2015. Neuroprotective Effects Of α -mangostin Against Scopolamine-Induced Cognitive Deficits. 2015(91):61-6.
- Weecharansan .2006. Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Medical Principles and Practice*. 15(4):281-7.
- Wicaksono, TD. 2017. Pengaruh induksi plumbum asetat terhadap memori spasial tikus putih jantan. Skripsi. Universitas Lampung.
- Wade SE, Maier SF. Effects of individual housing and stressor exposure upon the acquisition of watermaze escape. *Learn Motiv*. 1986(17):287–310.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal*. Surabaya: Kanisius.
- Wulan, AJ. 2015. Buah manggis (*Garcinia mangostana* L .) sebagai alternatif pelindung memori. pp. 58–63. Prosiding.
- Vorhees CV, Williams MT. 2006. Forms of learning and memory. *Nat Protocols*. 1(2):848–858.
- Yan C, Jiao L, Zhao J, Yang H, Pen S. 2012. Repeated exposures to chlorpyrifos lead to spatial memory retrieval impairment and motor activity alteration. pp. 1-2.

- Yusni, Baniasih IA, Rezania, Fahlevi R. 2015. Penurunan kadar gula darah akibat pemberian ekstrak manggis (*Garcinia mangostana*) dan Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) pada tikus diabetes blood sugar levels reduction by mangosteen (*Garcinia mangostana*) and Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill). pp. 57–63.
- Zhang XI, Guariglia SR, McGlothlan JL, Stansfield KH, Stanton PK, Guilarte TR. 2015. Presynaptic mechanisms of lead neurotoxicity: Effects on vesicular release, vesicle clustering and mitochondria number. Plos One. 10(5):1-21