

**REVISI**

**PENGARUH PEMBERIAN TEMPE TERHADAP  
MEMORI SPASIAL TIKUS WISTAR  
TERINDUKSI DIABETES**

**Proposal Penelitian**

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi  
pada Program Studi S-1 Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro



disusun oleh

**RR. ANNISA AYUNINGTYAS**

22030113120038

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2016**

## HALAMAN PENGESAHAN

Proposal penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Memori Spasial Tikus Wistar Terinduksi Diabetes” telah dipertahankan di hadapan reviewer dan telah direvisi.

Mahasiswa yang mengajukan

Nama : Rr. Annisa Ayuningtyas  
NIM : 22030113120038  
Fakultas : Kedokteran  
Program Studi : Ilmu Gizi  
Universitas : Diponegoro  
Judul Proposal : Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Memori Spasial Tikus Wistar Terinduksi Diabetes

Semarang, 9 September 2016

Pembimbing I



Nuryanto, S.Gz., M.Gizi.  
NIP. 197811082006041002

Pembimbing II



dr. Etisa Adi Murbawani, M.Si., Sp.GK  
NIP. 197812062005012002

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Keaslian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Tinjauan Pustaka.....	7
1. Diabetes Melitus.....	7
2. Kemampuan Kognisi.....	10
3. Faktor-faktor yang Memengaruhi Memori Spasial.....	13
1) Tempe.....	14
2). Mekanisme Tempe dalam Meningkatkan Kemampuan Kognisi.....	16
B. Kerangka Teori.....	20
C. Kerangka Konsep.....	21
D. Hipotesis.....	21
BAB III METODE PENELITIAN.....	22
A. Ruang Lingkup Penelitian.....	22
B. Jenis dan Rancangan Penelitian.....	22
C. Populasi dan Subjek.....	23

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	25
E. Alat dan Bahan.....	26
F. Prosedur Penelitian .....	26
G. Kerangka Kerja .....	30
H. Pengolahan dan Analisis data .....	30
DAFTAR PUSTAKA .....	32

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2. Kandungan Gizi Tempe Murni .....	15
Tabel 3. Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi .....	24
Tabel 4. Definisi Operasional dan Variabel Penelitian.....	25

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka Teori.....	20
Gambar 2. Kerangka Konsep.....	21
Gambar 3. Bagan Rancangan Penelitian.....	22
Gambar 4. Bagan Alur Penelitian.....	30

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Diabetes melitus (DM) adalah suatu gangguan metabolik kronis dan berdampak kompleks terhadap fisiologis tubuh<sup>1</sup>. Prevalensinya terus meningkat dari tahun ke tahun. Data yang tercatat di *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa sejak tahun 1980 hingga tahun 2014 persentasenya telah meningkat dua kali lipat dari 4,7% menjadi 8,5%. Tahun 2012, sebanyak 1,5 juta orang meninggal karena penyakit DM dan 2,2 juta orang meninggal karena kadar gula darah yang melebihi batas normal<sup>2</sup>.

Pasien DM secara umum akan mengalami kondisi hiperglikemia yang dapat menyebabkan terjadinya komplikasi baik makro maupun mikrovaskular. Berbagai studi telah dilakukan terkait dampak komplikasi pada organ-organ akhir, seperti ginjal, mata, dan sistem persyarafan perifer, namun terdapat pula organ penting lain yang terkena dampak komplikasi ini, yaitu otak<sup>3</sup>. Perusakan syaraf progresif pada otak yang terjadi akibat adanya komplikasi DM ini dapat berdampak lebih lanjut terhadap gangguan kognisi<sup>1,4-7</sup>. Gangguan kognisi yang dimaksud dapat bersifat sementara maupun permanen, bergantung pada akut atau kronisnya gangguan homeostasis glukosa darah<sup>3</sup>. Kondisi homeostasis glukosa darah yang terganggu secara kronis akan menyebabkan peningkatan risiko terjadinya alzheimer dan demensia vaskular. Sebuah penelitian menyimpulkan bahwa diabetes dapat meningkatkan sebesar 50-100% risiko terjadinya alzheimer dan 100-150% risiko terjadinya demensia vaskular<sup>8</sup>.

Terdapat dua jenis utama diabetes melitus, yaitu diabetes melitus tipe-1 dan diabetes melitus tipe-2. Keduanya memberikan dampak yang berbeda terhadap penurunan kemampuan kognisi. DM tipe-1 akan berdampak pada kecerdasan, perhatian, kecepatan psikomotor, fleksibilitas kognisi, mengingat, dan persepsi visual. DM tipe-2 selain menimbulkan dampak

penurunan kognitif seperti DM tipe-1, terjadi pula penurunan kemampuan belajar dan mengingat yang lebih buruk dibanding DM tipe-1<sup>3,8,9</sup>. Kedua jenis diabetes ini sama-sama menyebabkan penurunan kemampuan belajar dan mengingat. Salah satu bentuk kemampuan mengingat adalah memori spasial. Memori spasial merupakan suatu kemampuan merekonstruksi kembali model spasial seperti gambaran suatu ruang dan tata letak lingkungan berdasarkan pengalaman dan memori yang terrekam di otak. Memori ini dibangun dengan menyusun peta internal di otak berdasar petunjuk yang berasal dari interaksi antar simbol serta interaksi simbol dengan lingkungan. Memori spasial dapat menjadi pedoman bagi manusia maupun hewan untuk mengenal lingkungan. Jenis memori ini juga menjadi salah satu jenis uji yang diterapkan untuk model eksperimen kognitif pada hewan coba<sup>10</sup>.

Beberapa faktor dapat berpengaruh terhadap terjadinya penurunan kemampuan kognisi, salah satunya adalah diet. Diet tinggi lemak jenuh dan tinggi karbohidrat sederhana dapat menjadi pemicu DM tipe-2, yang selanjutnya dapat berujung pada penurunan kemampuan kognisi<sup>11</sup>. Sementara itu, secara turun-temurun masyarakat juga mengenal sumber makanan seperti berbagai jenis ikan, kacang-kacangan, sayuran, dan beberapa buah-buahan yang mengandung zat-zat seperti omega-3, vitamin, isoflavon, dan zat antioksidan lainnya yang dapat meningkatkan kemampuan kognisi melalui berbagai mekanisme. Salah satu senyawa kimia yang dapat berperan terhadap upaya preventif penurunan kemampuan kognisi akibat diabetes adalah isoflavon. Isoflavon merupakan salah satu senyawa kimia yang termasuk dalam kelompok flavonoid<sup>12</sup>. Berbagai studi telah membuktikan bahwa isoflavon berdampak baik terhadap peningkatan memori, termasuk untuk mencegah dan mengobati penyakit alzheimer<sup>12-15</sup>. Senyawa ini ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi pada beberapa jenis tanaman seperti kedelai, semanggi merah, serta *Pueraria mirifica*<sup>12</sup>. Isoflavon pada kedelai mengandung dua belas bentuk yang berbeda, dengan empat kelompok utama, yaitu aglikon (daidzein, genistein, dan glycitein);



glukosida (daidzin, genistin, dan glycitin); asetilglukosida (asetildaizidzin, asetilgenistin, dan asetilglycitin); serta malonilglukosida (malonildaizidzin, malonilgenistin, dan malonilglycitin)<sup>15</sup>. Dua jenis isoflavon yang dapat berpengaruh terhadap kognitif adalah genistein<sup>16</sup> dan glycitein<sup>12</sup> yang termasuk dalam jenis isoflavon aglikon. Isoflavon aglikon ini sendiri lebih mudah diserap tubuh dan berpengaruh terhadap aktivitas AchE yang berhubungan dengan penyampaian informasi di otak<sup>14</sup>.

Kedelai memiliki nilai indeks glikemik yang rendah, yaitu 31<sup>17</sup>, sehingga kedelai termasuk jenis sumber pangan yang cocok untuk pasien diabetes. Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa kedelai termasuk salah satu jenis kacang-kacangan yang mampu meningkatkan kemampuan kognisi<sup>14,15,18</sup> karena tingginya kandungan isoflavon pada kedelai. Masyarakat Indonesia mengenal berbagai jenis olahan makanan dari kedelai yang cukup familiar, seperti tempe, tahu, kecap, oncom, tauco, serta susu kedelai. Tempe dikenal sebagai salah satu jenis makanan yang banyak memiliki dampak bagi kesehatan, salah satunya dapat meningkatkan kemampuan kognisi<sup>13</sup>. Hal ini disebabkan kandungan isoflavon pada tempe diketahui lebih tinggi dibandingkan kandungan isoflavon pada kacang kedelai tanpa pemrosesan<sup>19</sup>. Selama proses fermentasi, kandungan glikosida pada kedelai akan menurun, sedangkan kandungan isoflavon aglikon meningkat. Fermentasi dapat mengaktifasi enzim  $\beta$ -glikosida yang dapat menghidrolisis isoflavon glikosida menjadi isoflavon aglikon. Konsentrasi isoflavon aglikon pada produk kedelai terfermentasi, seperti tempe, lebih tinggi jika dibandingkan dengan makanan olahan kedelai yang tidak melalui proses fermentasi<sup>20</sup>. Jika dibandingkan antara kedelai dan tempe, kandungan isoflavon aglikon seperti daidzein dan genistein pada tempe lebih tinggi, yaitu masing-masing sebesar 38,91 dan 24,03 mg/100 gram, sedangkan pada kedelai hanya sebesar 16,72 dan 11,10 mg/100 gram<sup>13</sup>. Penelitian yang dilakukan selama ini banyak membahas mengenai dampak isoflavon pada kedelai terhadap kemampuan kognisi, namun belum banyak penelitian mengenai tempe terhadap kognitif.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini akan menganalisis pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar yang diinduksi diabetes. Memori spasial diuji dengan metode *morris water maze*, yang merupakan salah satu uji kognitif pada tikus yang dapat digunakan sebagai model kemampuan kognisi pada manusia<sup>21</sup>. Metode ini telah teruji dapat menggambarkan kinerja memori spasial dengan membuat hewan uji mendayagunakan bagian hipokampus dari otak<sup>22</sup>. Tikus wistar merupakan salah satu jenis *Rattus norvegicus* atau biasa dikenal dengan tikus rumah. Hewan ini dipilih sebagai hewan coba karena memiliki tingkat kemiripan genetika dengan manusia. Selain itu beberapa penelitian sebelumnya terkait induksi diabetes dan kemampuan kognisi tikus menunjukkan jenis tikus ini tahan terhadap zat penginduksi diabetes yang diberikan dan mampu merepresentasikan kemampuan kognisi dengan baik<sup>23-25</sup>.

**B. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar terinduksi diabetes?

**C. Tujuan Penelitian**

1. Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar terinduksi diabetes.

2. Tujuan Khusus

Menganalisis dosis terbaik tempe yang dapat meningkatkan memori spasial tikus wistar terinduksi diabetes

**D. Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi pada masyarakat mengenai sumber pangan lokal yang dapat meningkatkan kemampuan kognisi

2. Dapat menjadi sumber acuan penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pemanfaatan tempe maupun produk olahan kedelai lainnya terhadap pencegahan penurunan kognisi pada pasien dengan diabetes melitus.

## E. Keaslian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Keterangan	Penelitian			
	Gleason, et al. 2015	Ahmad, et al. 2014	Nursery, Hevea, 2013	Penelitian Ini
<b>Judul</b>	<i>Cognitive Effects of Soy Isoflavones in Patients with Alzheimer's Disease</i>	<i>Total Isoflavones from Soybean and Tempeh Reversed Scopolamine-induced Amnesia, improved Cholinergic Activities and Reduced Neuroinflammation in Brain</i>	<i>Pengaruh Susu Tempe sebagai Suplemen terhadap Kesehatan Kognitif pada Lansia di Posyandu Lansia Dusun Brajan Tamantirto Kasihan Bantul Yogyakarta</i>	<i>Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Memori Spasial Tikus Wistar Terinduksi Diabetes</i>
<b>Tujuan</b>	Mengetahui potensi isoflavon pada kedelai terhadap peningkatan kemampuan pasien dengan Alzheimer	Membandingkan dampak neuroprotektif antara total isoflavon pada kedelai dan tempe terhadap disfungsi kognitif yang diinduksi <i>scopolamine</i>	Membuktikan apakah susu tempe dapat meningkatkan kesehatan kognitif lansia	Menganalisis pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar diabetes yang diinduksi alloxan
<b>Variabel</b>	<u>Variabel Bebas:</u> Kapsul isoflavon dosis 100 mg <u>Variabel Terikat:</u> Dampak kemampuan kognisi dan kadar isoflavon plasma	<u>Variabel Bebas:</u> Total isoflavon dari tempe dan kedelai berbagai dosis dan pirasetam <u>Variabel Terikat:</u> Memori, aktivitas kolinergik otak, dan aktivitas neuroinflamatori	<u>Variabel Bebas:</u> Susu tempe <u>Variabel Terikat:</u> Kesehatan kognitif lansia	<u>Variabel Bebas:</u> Tempe <u>Variabel Terikat:</u> Memori Spasial tikus wistar
<b>Rancangan Penelitian</b>	Eksperimental	Eksperimental	Kuasi Eksperimental	Eksperimental
<b>Subjek Penelitian</b>	Pasien geriatri yang mengalami alzheimer	Tikus jantan galur sprague-dawley	Lansia 45-70 tahun	Tikus jantan galur wistar
<b>Hal</b>	Terapi 100 mg/ hari isoflavon kedelai tidak meningkatkan kemampuan kognitif geriatri dengan alzheimer.	Intervensi dengan isoflavon tempe dapat menurunkan efek <i>scopolamine</i> dan meningkatkan memori, menurunkan kadar asetilkolinesterase, dan mengurangi inflamasi. Dosis terbaik pada tempe adalah 40 mg/Kg	Susu tempe terbukti dapat meningkatkan kesehatan kognitif pada lansia	

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Diabetes Melitus**

###### **a. Diabetes Melitus**

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kronik yang ditandai dengan terjadinya hiperglikemia dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang dihubungkan dengan kekurangan secara absolut atau relatif dari kerja atau sekresi insulin. Gejala yang dikeluhkan pada penderita diabetes melitus yaitu polidipsia, poliuria, polifagia, penurunan berat badan, dan kesemutan<sup>26,27</sup>.

*World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa sejak tahun 1980 hingga tahun 2014 persentase penyakit DM telah meningkat dua kali lipat dari 4,7% menjadi 8,5%. Tahun 2012, sebanyak 1,5 juta orang meninggal karena penyakit DM dan 2,2 juta orang meninggal karena kadar gula darah yang melebihi batas normal<sup>2</sup>. Tingginya angka ini menyebabkan diabetes melitus disebut sebagai penyebab kematian urutan ke-enam di dunia<sup>28</sup>. Indonesia menempati urutan keempat terbesar dari jumlah penderita diabetes melitus dengan prevalensi 8,6% dari total penduduk, setelah India, China dan Amerika Serikat. WHO juga memprediksikan kenaikan jumlah penderita DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030<sup>29</sup>.

Penyakit ini melibatkan hormon endokrin pankreas, antara lain insulin dan glukagon<sup>30</sup>. Terdapat dua tipe penyakit DM berdasar sekresi insulin endogen, yaitu diabetes melitus tergantung insulin (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus* [IDDM]) atau biasa dikenal dengan diabetes tipe 1. Tipe selanjutnya adalah diabetes melitus yang tidak bergantung pada keberadaan insulin (*Non- Insulin Dependent Diabetes Mellitus* [NIDDM]), atau biasa dikenal dengan diabetes melitus tipe-2<sup>27</sup>.

Kondisi patologi diabetes melitus tipe 1 menunjukkan gambaran kadar glukosa darah yang sangat tinggi tetapi tubuh tidak dapat memanfaatkannya secara optimal untuk membentuk energi. Hal ini disebabkan adanya degenerasi sel  $\beta$ -langerhans pankreas akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, diabetogenik, atau secara genetik<sup>27</sup>. Diabetes Melitus tipe 2 merupakan penyakit hiperglikemi akibat insensivitas sel terhadap insulin. Kadar insulin pasien dengan diabetes tipe-2 ini mungkin sedikit menurun atau berada dalam rentang normal<sup>31</sup>.

#### **b. Hubungan Diabetes Melitus dengan Penurunan Kemampuan Kognisi**

Briessels *et al.* merangkum beberapa mekanisme yang berhubungan dengan kejadian diabetes dan disfungsi kognitif. Mekanisme tersebut adalah (1) atherosklerosis yang dapat menyebabkan infark pada otak; (2) gangguan mikrovaskular sebagai dampak dari iskemia; (3) glikasi protein dan peningkatan stress oksidatif sebagai dampak dari toksisitas glukosa; serta (4) ketidakadekuatan respon insulin terhadap glukosa<sup>32</sup>. Keempat mekanisme tersebut ditambah dengan faktor genetik dan penuaan dapat menyebabkan demensia pada penderita diabetes<sup>4</sup>. Angka kejadian penurunan fungsi kognitif ditemukan lebih tinggi pada penderita diabetes melitus tipe 2 yang telah berusia lanjut<sup>33</sup>.

Mekanisme penurunan kemampuan kognisi akibat adanya penyakit DM secara umum dapat dibedakan menjadi mekanisme serebrovaskular dan non-serebrovaskular. Mekanisme yang melibatkan serebrovaskular, dibedakan lagi menjadi kondisi infark otak dan pembentukan substansi putih pada otak. Kejadian stroke diketahui merupakan manifestasi adanya infark pada otak. Studi patologi menyebutkan bahwa orang yang mengalami demensia disertai adanya infark otak ditemukan akumulasi plak amiloid yang lebih sedikit. Kajian ini menyimpulkan bahwa adanya infark otak menurunkan ambang batas akumulasi plak amiloid untuk menginduksi terjadinya demensia. Keberadaan substansi putih pada otak

atau disebut juga dengan leukoaraiosis merupakan representasi adanya gangguan mikrovaskular pada otak atau demielinisasi. Kondisi ini dapat juga menjadi penanda adanya gangguan serebrovaskular<sup>33</sup>. Sebuah penelitian menyebutkan bahwa subjek dengan diabetes melitus tipe-1 mengalami penurunan densitas substansi abu-abu pada otak sebesar 4-5% dibandingkan subjek yang tidak mengalami diabetes melitus tipe-1<sup>34</sup>.

Mekanisme non-serebrovaskular dapat disebabkan baik oleh kondisi defisiensi maupun resistensi insulin, hiperglikemia, dan glikosilasi. Gangguan homeostasis insulin merupakan faktor penyebab yang cukup kuat karena insulin dapat menembus pembuluh darah. Insulin yang menembus pembuluh darah ini kemudian didistribusikan ke seluruh bagian otak, dan dalam jumlah melimpah berada di hipokampus, hipotalamus, dan korteks. Selain sebagai modulator asupan glukosa dan energi, insulin merupakan faktor neurotropik. Gangguan pada produksi insulin maupun aktivitas reseptor insulin dapat menurunkan kemampuan belajar dan mengingat. Resistensi insulin akibat kompensasi dari adanya hiperinsulinemia pada diabetes melitus tipe-2 juga berdampak pada aktivasi *glycogen synthase kinase 3* (GSK 3) dengan cara defosforilasi, yang berhubungan dengan hiperfosforilasi tau serta peningkatan  $\beta$ -amiloid di otak<sup>35</sup>.  $\beta$ -amiloid diketahui merupakan marker terjadinya alzheimer<sup>13,33</sup>.

Kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), spesies Nitrogen Reaktif (RNS), serta marker stress oksidatif, seperti peroksidasi lemak, oksidasi protein, dan penurunan level antioksidan<sup>35</sup>. hiperglikemia juga dapat meningkatkan produksi *advanced glycated end products* (AGEs) atau produk lanjutan glikosilasi. Adanya reseptor permukaan sel dari AGEs (RAGEs) ini dapat meningkatkan produksi ROS intraselular<sup>35</sup>. Peningkatan produk glikosilasi ini juga berhubungan dengan kejadian komplikasi mikrovaskular, sedangkan jumlah reseptornya akan meningkat seiring dengan terjadinya akumulasi  $\beta$ -amiloid di otak.<sup>33</sup>

Penelitian lain mengungkapkan bahwa jenis obat-obatan seperti metformin dapat menurunkan kemampuan kognisi pada pasien dengan diabetes. Metformin diketahui sebagai obat-obatan pertama yang digunakan sebagai pengobatan pada pasien dengan diabetes tipe-2. Obat ini dapat berdampak terhadap penyerapan vitamin B-12 yang terjadi di ileum. Rendahnya kadar serum vitamin B-12 dapat menyebabkan alzheimer.

## 2. Kemampuan Kognisi

### a. Kemampuan Kognisi

Kemampuan kognisi adalah segala bentuk kemampuan yang berhubungan dengan kognitif. Kognitif sendiri diartikan sebagai segala kegiatan yang berhubungan dengan adanya pemrosesan informasi untuk diwujudkan dalam bentuk tindakan<sup>36</sup>. Terdapat lima domain pada fungsi kognitif, yaitu *attention* (pemusatan perhatian), *language* (bahasa), *memory* (daya ingat), *visuospatial* (pengenalan ruang), serta *executive function* (fungsi otak dalam hal perencanaan, pengorganisasian, dan pelaksanaan)<sup>37</sup>.

Proses kognitif merupakan suatu proses yang memproses informasi-informasi yang didapat otak untuk menghasilkan respon. Informasi ini dapat berupa representasi dari stimulus eksternal maupun gambar, pengetahuan, dan segala bentuk informasi baik yang bersifat jangka panjang maupun jangka pendek. Sternberg menyimpulkan dalam tulisannya bahwa beberapa kegiatan yang berhubungan dengan kognitif melibatkan beberapa komponen, seperti<sup>36</sup>

- *Encoding* : proses menerjemahkan stimulus menjadi representasi internal
- *Mapping* : proses menemukan pola dan menyimpannya
- *Application* : Proses menggeneralisasikan pola yang membentuk jawaban atas stimulus yang didapat



- *Justification* : proses penentuan respon
- *Preparation-response* : kontrol dari persiapan respon terhadap stimulus yang didapat.

## **b. Memori Spasial**

Memori merupakan bagian paling penting dalam kehidupan manusia, karena memori dapat membentuk perilaku seseorang. Demikian halnya dengan hewan, memori dapat memberikan pengalaman akan apa yang telah terjadi sebelumnya dan dampak dari pengalaman tersebut, sehingga lebih lanjut baik manusia maupun hewan dapat melakukan perlindungan diri<sup>14,38</sup>. Memori dapat dibedakan menjadi dua bagian, yaitu memori jangka pendek serta memori jangka panjang. Memori jangka pendek hanya tersimpan dalam waktu singkat hingga beberapa jam, sedangkan memori jangka panjang tersimpan selama beberapa jam hingga hari. Jenis memori ini tidak menutup kemungkinan pula tersimpan selama bertahun-tahun<sup>39</sup>. Memori spasial sebagai salah satu bagian dari fungsi kognisi, merupakan suatu kemampuan merekonstruksi kembali model spasial seperti gambaran suatu ruang dan tata letak lingkungan berdasarkan pengalaman dan memori yang terrekam di otak. Memori ini dibangun dengan menyusun peta internal di otak berdasar petunjuk yang berasal dari interaksi antar simbol serta interaksi simbol dengan lingkungan. Jenis memori ini berperan dalam fungsi ingatan yang aktif, memori jangka pendek dan memori jangka panjang.

Proses pembentukan memori pada manusia merupakan hasil dari kerja suatu sistem yang kompleks dan terintegrasi. Suatu jenis memori dapat melibatkan lebih dari satu komponen sistem syaraf pusat beserta subregionya, contohnya pada jenis memori spasial, deklaratif, dan episodik melibatkan bagian-bagian seperti hipokampus, *dentate gyrus*, serta korteks entorhinal dan perirhinal. Hipokampus sendiri merupakan bagian dari sistem syaraf pusat. Secara umum, hipokampus bagian kanan

berperan dalam proses belajar visual dan spasial, sedangkan hipokampus bagian kiri berperan dalam memori verbal dan naratif. Beberapa studi telah meneliti tentang peranan hipokampus dalam navigasi spasial dan menyimpulkan bahwa hipokampus posterior berperan dalam menyimpan representasi spasial lingkungan untuk diproses kembali menjadi peta internal di otak<sup>40</sup>.

Hewan memiliki kemampuan menghindar (*avoidance learning*) dan kemampuan argumentatif (*argumentative learning*) yang menyerupai kemampuan mengingat (memori) dan perilaku manusia yang didapat dari proses belajar secara alamiah<sup>14</sup>. Terkait dengan hal ini, penelitian mengenai kemampuan kognisi sering menggunakan hewan, utamanya tikus, sebagai representasi<sup>13,22</sup>.

### c. *Morris Water Maze (MWM)*

Morris Water Maze merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengetahui kemampuan spasial pada tikus. Uji ini dilakukan dengan menempatkan tikus pada kolam berisi air dan pada kolam tersebut diberikan suatu tanda yang mengarahkan tikus untuk bergerak dari titik awal peletakan menuju daratan yang tersembunyi di bawah permukaan air. Kemampuan spasial tikus dilihat dari pengulangan yang dilakukan dan *memori referensi* dilihat dari kemampuan mengingat tikus akan lokasi daratan ketika daratan yang tersembunyi tersebut dihilangkan<sup>21</sup>.

Penggunaan air sebagai media uji ini memperhitungkan temperatur sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi. Temperatur air dan peningkatan temperatur yang terjadi ketika tikus berenang dari satu bagian ke bagian yang lain dapat memengaruhi kecepatan belajar pada tikus. Selain itu kemampuan berenang juga menjadi faktor penentu kecepatan belajar pada tikus. Namun dalam uji ini kemampuan berenang

tikus dapat dianggap sama karena tikus secara alami memiliki kemampuan berenang yang baik<sup>41</sup>. Uji Morris Water Maze ini memiliki kelebihan dibanding jenis uji memori spasial pada tikus lainnya karena tidak membutuhkan pelatihan sebelum uji ataupun pengkondisian starvasi sebelum dilakukan uji<sup>42</sup>.

Serangkaian uji yang dilakukan telah dikaji dan terbukti dapat membuktikan pendayagunaan hipokampus, sebuah area di otak yang berhubungan dengan fungsi kognisi<sup>42</sup>.

### **3. Faktor-faktor yang Memengaruhi Memori Spasial**

#### **a. Isoflavon**

Isoflavon sebagai bagian dari flavonoid terbukti membantu meningkatkan kemampuan spasial pada tikus dan kognisi secara umum pada manusia<sup>13</sup>. Isoflavon ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi pada beberapa jenis tanaman seperti kedelai, semanggi merah, serta *Pueraria mirifica*<sup>12</sup>. Isoflavon pada kedelai mengandung dua belas bentuk yang berbeda, dengan empat kelompok utama, yaitu aglikon (daidzein, genistein, dan glycitein); glukosida (daidzin, genistin, dan glycitin); asetilglukosida (asetildaizidin, asetilgenistin, dan asetilglycitin); serta malonilglukosida (malonildaizidin, malonilgenistin, dan malonilglycitin)<sup>15</sup>. Dua jenis isoflavon yang sangat terkait dengan memori spasial adalah genistein<sup>16,43</sup> dan glycitein<sup>12</sup>.

Pemrosesan biji kedelai secara umum dapat memengaruhi kadar isoflavon pada biji kedelai. Perendaman dapat mengaktifkan enzim  $\beta$ -glukosidase yang dapat berperan mendegradasi glikosida jenis daidzin, glycitin, dan genistin, menjadi bentuk aglikon yang dapat diserap tubuh dengan baik. Sementara itu, proses fermentasi juga meningkatkan kadar isoflavon aglikon akibat aktivitas mikrobial yang juga dapat meningkatkan aktivitas enzim  $\beta$ -glukosidase<sup>44</sup>. Selama enam jam pertama proses fermentasi, kadar isoflavon aglikon meningkat sebesar

58% dibanding ketika masih berbentuk kotiledon. Setelah 24 jam, peningkatan kadar isoflavon pada tempe bahkan mencapai dua kali lipat kadar kotiledonnya<sup>45</sup>.

Proses penghancuran biji kedelai dalam pembuatan tahu dan susu kedelai dinilai lebih baik dalam meningkatkan kandungan isoflavon aglikon. Hal ini disebabkan partikelnya yang lebih kecil, sehingga mempermudah administrasi di dalam tubuh<sup>44</sup>. Sementara pada tempe, pemasakan dan perebusan secara umum tidak merusak kandungan isoflavon aglikon pada tempe<sup>45</sup>. Kandungan isoflavon aglikon ini pada beberapa kali percobaan justru meningkat<sup>44</sup>.

### **1) Tempe**

Tempe merupakan produk olahan kedelai terfermentasi yang memanfaatkan kerja kapang *Rhizopus oligosporus*<sup>13,46</sup>. Dalam proses pembuatannya, biji kedelai akan terikat satu sama lain karena adanya miselium dari *Rhizopus oligosporus*, dan membentuk struktur yang kompak dan padat layaknya kue<sup>47</sup>. Kebersihan menjadi salah satu syarat yang harus diperhatikan dalam pembuatan tempe karena proses fermentasi akan terganggu jika bahan baku kedelai dan proses pembuatan tidak bersih. Untuk itu, sebelum diproses menjadi tempe, kedelai harus dibersihkan dari berbagai kotoran dan benda-benda asing yang tercampur. Selain dapat mengganggu proses fermentasi, kebersihan yang tidak terjaga akan memengaruhi kualitas dan cita rasa tempe<sup>48</sup>.

Indonesia merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia. Jika dihitung dari total hasil panen kedelai, 50% konsumsi kedelai digunakan untuk memproduksi tempe, 40% tahu, dan 10% dalam bentuk produk lain. Angka konsumsinya hingga kini telah mencapai sebesar 6,45 Kg<sup>49</sup>. Tempe ini selain dikenal di Indonesia, Malaysia, dan beberapa kawasan Asia Tenggara lainnya, juga telah menyebar di Eropa, Amerika, dan Jepang. Negara-negara seperti Selandia Baru,

India, Kanada, Australia, Meksiko, dan Afrika Selatan masih mengonsumsi tempe dalam jumlah yang terbatas<sup>46,49</sup>.

Dilihat dari kandungan gizinya, tempe baik dikonsumsi karena mengandung makro dan mikronutrien yang cukup tinggi. Proses fermentasi yang terjadi dalam proses pembuatan tempe menyebabkan adanya sintesis enzim yang dapat menghidrolisis kandungan-kandungan di dalam kacang kedelai. Proses hidrolisis ini dapat mengurangi atau mengubah zat gizi yang terikat dan berdampak meningkatkan kandungan gizi tempe tersebut<sup>47</sup>. Secara umum, kandungan zat gizi tempe kedelai murni dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Kandungan Gizi Tempe Kedelai Murni<sup>48</sup>

No.	Zat Gizi	Kadar / 100 g Bahan
1	Protein	18,3 g
2	Lemak	4 g
3	Karbohidrat	12,7 g
4	Kalsium	129 mg
5	Fosfor	154 mg
6	Zat Besi	10 mg
7	Vitamin A	50 mcg
8	Vitamin B <sub>1</sub>	0,17 mcg
9	Vitamin B <sub>12</sub>	0,74-4,6 mcg
10	Energi	149 kal
11	Air	64 g

Keunggulan tempe dibanding produk olahan kedelai lainnya adalah adanya kandungan isoflavon aglikon yang tinggi. Isoflavon aglikon merupakan jenis isoflavon yang memiliki bioavailabilitas yang tinggi dalam tubuh manusia. Proses fermentasi yang terjadi pada tempe telah mengubah kandungan isoflavon glikon menjadi isoflavon aglikon, sehingga menjadikannya zat gizi yang siap diserap oleh tubuh. Dalam setiap 100 gram tempe terkandung isoflavon aglikon seperti daidzein dan genistein sebesar 38,91 dan 24,03 mg/100 gram,

sedangkan pada kedelai hanya sebesar 16,72 dan 11,10 mg/100 gram<sup>13</sup>.

## **2). Mekanisme Isoflavon pada Tempe dalam Meningkatkan Kemampuan Kognisi**

Seperti telah dijelaskan sebelumnya, tempe memiliki kandungan isoflavon yang baik. Salah satu kandungan gizi dalam tempe yang diduga berpengaruh terhadap kemampuan kognisi adalah isoflavon. Isoflavon membantu dalam pencegahan sekaligus pengobatan penurunan kemampuan kognisi melalui tiga cara, yaitu mekanisme penghambatan aktivasi caspase, sehingga dapat mencegah apoptosis; aktivitas antioksidan dari isoflavon mengurangi toksisitas (yang dimediasi oleh  $\beta$ -Amiloid akibat adanya kerusakan oksidatif); serta aktivitas arginase 1 yang dirangsang oleh isoflavon dapat melindungi sel glial dan meningkatkan regenerasi akson<sup>12</sup>. Dalam studi yang dilakukan oleh Yang (2011), dibuktikan bahwa isoflavon aglikon mampu meregulasi asetilkolinesterase (AChE), sebuah enzim hidrolase spesifik dari asetilkolin (ACh)<sup>14</sup>. Seperti telah dipaparkan sebelumnya, bahwa ACh berperan penting dalam penyampaian informasi. Dalam kondisi alzheimer, ACh berada pada konsentrasi yang rendah, sedangkan pada AChE terjadi peningkatan aktivitas. AChE sendiri berfungsi untuk meregulasi ACh agar tetap berada pada kadar yang normal. Di sisi lain peningkatan aktivitas AChE justru menyebabkan defisiensi ACh dan kemunduran kemampuan kognitif<sup>13</sup>. Dalam penelitian Yang tersebut, isoflavon aglikon mampu meregulasi aktivitas AChE di otak, dan secara tidak langsung meningkatkan neuron kolinergik ACh. Selanjutnya, rangkaian mekanisme ini dapat meningkatkan fungsi kolinergik sentral, serta meningkatkan kemampuan belajar dan mengingat pada tikus<sup>14</sup>. Salah satu jenis isoflavon, daidzein, mampu meningkatkan sintesis ACh karena daidzein dapat berperan sebagai aktivator kolin asetiltransferase<sup>13</sup>.

Beberapa riset terkait isoflavon dan kognitif akhir-akhir ini, menemukan bahwa kerusakan oksidatif dapat berperan dalam degenerasi syaraf dan apoptosis pada sel<sup>14</sup>. Mekanisme ini juga ditemukan pada orang dengan diabetes<sup>35</sup>. Genistein dapat melindungi sel dari toksisitas yang disebabkan oleh adanya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, di mana H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> merupakan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan syaraf. Sebagai antioksidan, genistein mampu melawan radiasi sinar ultraviolet serta zat-zat kimia lainnya yang memapar otak. Peningkatan kemampuan kognitif oleh genistein ini disebabkan peningkatan mRNA kolinasetiltransferase pada bagian frontal dari korteks. Lebih lanjut, genistein juga memengaruhi protein pengikat kalsium (CALB), yang berperan sebagai buffer dengan cara mengikat kalsium intraselular, serta berperan penting dalam memediasi proliferasi sel, apoptosis, dan neurotoksisitas<sup>15</sup>.

Penelitian yang dilakukan Hirohata menunjukkan bahwa isoflavon, terutama glycetin dan genistein dapat mencegah fibrilisasi, seperti ketika zat-zat ini mencegah oligomerisasi. Berdasarkan pengamatan melalui analisis spektrokopi fluoresen, glycetin diketahui langsung berinteraksi dengan monomer, oligomer, dan fibril dari  $\beta$ -Amiloid. Hal ini mengindikasikan bahwa glycetin mampu mencegah fibrilasi dan anti-oligomerisasi<sup>12</sup>.

#### **b. Zat Gizi Lain**

Beberapa jenis zat gizi diketahui dapat memengaruhi kemampuan kognisi, seperti asam lemak omega-3, polifenol, dan isoflavon. Penelitian yang dilakukan oleh Hajjar membuktikan bahwa asam lemak omega-3 dapat berperan dalam ekspresi gen-gen yang menjadi faktor transkripsi pada hipokampus, seperti *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* (PPARs)<sup>50</sup>. Salah satu jenis sumber asam lemak omega-3 yang dikenal

masyarakat adalah minyak ikan. Supplementasi minyak ikan juga telah dikaji memberikan hasil positif terhadap peningkatan memori spasial<sup>51</sup>.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Lauren membuktikan bahwa suplementasi berry berdampak positif dalam memperlambat penurunan kemampuan kognitif. Hal ini disebabkan berry mengandung polifenol yang dapat terakumulasi di otak. Kandungan polifenol ini dapat memengaruhi pensinyalan syaraf dan plastisitas sinaptik<sup>52</sup>.

Tingginya konsumsi lemak jenuh diketahui berhubungan dengan menurunnya performa pada tes memori prospektif. Di sisi lain, konsumsi tinggi karbohidrat sederhana diketahui dapat menyebabkan gangguan memori posprandial. *Western diet* ini dapat memengaruhi secara langsung maupun tidak langsung aktivitas hipokampus, meliputi gangguan glukoregulasi, penurunan tingkat neurotropin, neuroinflamasi, dan perubahan integritas struktural dari *blood-brain barrier*<sup>11</sup>.

### **c. Usia**

Usia menentukan kemampuan kognisi seseorang karena seiring dengan bertambahnya usia terjadi penurunan kemampuan hipokampus akibat adanya lesi dan berbagai faktor lain. Pada usia lanjut sering ditemui beberapa penyakit terkait kemampuan kognisi seperti alzheimer dan demencia. Sebuah studi terkait memori spasial yang menggunakan teknologi *virtual environment* (VE) membuktikan bahwa dibandingkan dengan subjek yang berusia lebih muda, subjek usia lanjut membutuhkan waktu yang lama dalam proses pengujian<sup>53</sup>.

### **d. Genetik**

Ekspresi gen-gen tertentu dapat berperan signifikan pada kerja hipokampus. Gen-gen tersebut diantaranya adalah *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alfa* (PPAR $\alpha$ ), *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ), dan disks large homolog 3 (DLG 3)<sup>22</sup>. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa gen APOE berasosiasi



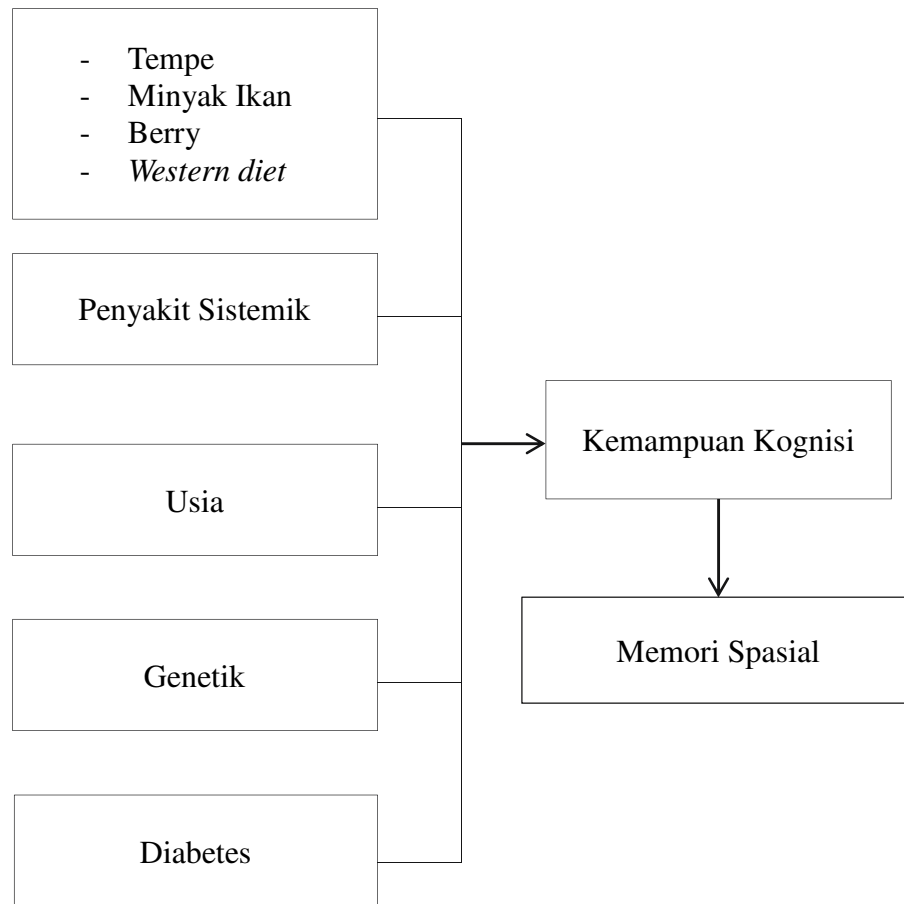
dengan kejadian dementia. Pembawa alel APOE  $\epsilon$ 4 diketahui dapat meningkatkan kejadian alzheimer<sup>4</sup>.

#### **e. Penyakit Sistemik**

Salah satu jenis penyakit sistemik adalah sindrom metabolik. Beberapa karakteristik yang terjadi pada sindrom metabolik adalah adanya resistensi insulin dan intoleransi glukosa. Resistensi insulin perifer menjadi kontributor utama terjadinya penurunan kemampuan kognisi pada individu dengan sindrom metabolik. Individu obesitas, sebanyak 80%-nya, memiliki karakteristik rendahnya kontrol glikemik akibat peningkatan kadar glukosa secara terus menerus, serta adanya penurunan aktivitas insulin perifer. Rendahnya kontrol glikemik ini dapat berkontribusi pada penurunan memori maupun atrofi hipokampus. Dampak yang terjadi karena gangguan regulasi perifer ini disebabkan oleh serangkaian mekanisme, dimulai dengan adanya sinyal pada hipokampus yang dikirim oleh insulin. Hal ini disebabkan insulin dan reseptornya banyak terdapat pada hipokampus. Hantaran insulin sangat berpengaruh terhadap peningkatan memori baik pada tikus maupun manusia. Studi membuktikan bahwa kadar insulin pada sistem syaraf pusat bergantung pada transpor insulin perifer ke otak. Sementara itu, konsumsi lemak jenuh dapat berdampak buruk terhadap pensinyalan insulin perifer maupun melalui hipokampus<sup>11,54</sup>.

Tingginya konsumsi lemak jenuh diketahui berhubungan pula dengan inflamasi. Inflamasi pada otak dapat berhubungan dengan adanya penurunan kognitif dan peningkatan risiko penyakit alzheimer. Kondisi ini juga dapat menyebabkan peningkatan kadar sitokin inflamatori yang dapat mengganggu sistem sinapsis pada hipokampus.

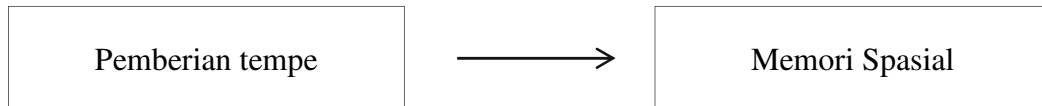
## B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

### **C. Kerangka Konsep**

Berdasarkan kerangka teori, salah satu faktor yang berpengaruh terhadap memori spasial adalah isoflavon pada tempe. Variabel ini yang selanjutnya dipilih sebagai variabel bebas dalam penelitian ini. Variabel lain seperti usia, penyakit sistemik, genetik, dan diabetes dikontrol melalui desain penelitian dan kriteria inklusi.



Gambar 2. Kerangka Konsep

### **D. Hipotesis**

Terdapat pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar terinduksi diabetes.

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Ruang Lingkup Penelitian

###### 1. Lingkup Keilmuan

Penelitian ini termasuk dalam lingkup penelitian gizi klinik.

###### 2. Lokasi Penelitian

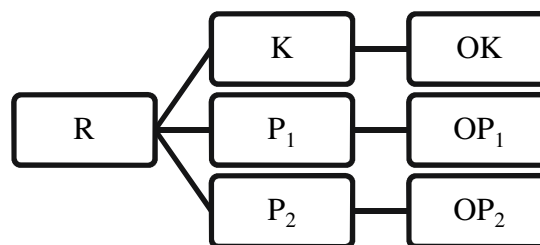
Penelitian akan dilaksanakan di laboratorium hewan coba Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang

###### 3. Waktu Penelitian

- a. Penyusunan proposal : Juni-Juli 2016
- b. Pengambilan data : Agustus 2016
- c. Pengolahan data : September-Oktober 2016
- d. Penyusunan laporan : November-Desember 2016

##### B. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* dengan desain penelitian *pre test-post test randomized control group design*. Intervensi yang dilakukan berupa pemberian tempe dengan keluaran berupa pengaruh terhadap memori spasial tikus wistar. Bagan rancangan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut



Gambar 3. Bagan Rancangan Penelitian

Keterangan:

- R : Hewan percobaan dibagi secara acak menjadi 3 kelompok
- OK<sub>a</sub> : Uji *morris water maze* kelompok kontrol sebelum perlakuan
- OP<sub>a1</sub> : Uji *morris water maze* kelompok perlakuan 1 sebelum intervensi
- OP<sub>a2</sub> : Uji *morris water maze* kelompok perlakuan 2 sebelum intervensi
- K<sup>+</sup> : Kelompok kontrol (induksi diabetes alloxan 120 mg/KgBB + pemberian pakan standar + minum *ad libitum*)
- P<sub>1</sub> : Kelompok perlakuan 1 (induksi diabetes alloxan 120 mg/KgBB + pemberian pakan tempe 9 gram + minum *ad libitum*)
- P<sub>2</sub> : Kelompok perlakuan 2 (induksi diabetes alloxan 120 mg/KgBB + pemberian pakan tempe 18 gram + minum *ad libitum*)
- OK<sub>b</sub><sup>+</sup> : Uji *morris water maze* kelompok kontrol sesudah perlakuan
- OP<sub>b1</sub> : Uji *morris water maze* kelompok perlakuan 1 sesudah intervensi
- OP<sub>b2</sub> : Uji *morris water maze* kelompok perlakuan 2 sesudah intervensi

### C. Populasi dan Subjek

#### 1. Populasi

Populasi target pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar.

#### 2. Sampel

##### a. Besar Sampel

Penentuan besar sampel disesuaikan dengan kriteria *world Health Organization* (WHO), yaitu pada setiap kelompok perlakuan terdapat minimal lima ekor tikus. Untuk mengantisipasi *drop out*, maka jumlah sampel yang direncanakan dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$n' = n/(1-f)$$

Keterangan

n' : jumlah sampel yang direncanakan

n : jumlah sampel yang dihitung

f : perkiraan proporsi *drop out* (10%)

Jumlah sampel yang dihitung berdasarkan WHO adalah 5, dengan  $f = 10\%$ , sehingga

$$n' = n/(1-f)$$

$$n' = 5/(1-10\%)$$

$$n' = 5/0,9$$

$$n' = 5,56 \approx 6$$

Sehingga jumlah sampel yang direncanakan pada tiap kelompok adalah 6 sampel. Apabila dalam percobaan kali ini terdapat 3 kelompok perlakuan, maka jumlah total sampel yang dibutuhkan adalah 18 ekor tikus.

#### b. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar yang dipelihara dan dikembangkan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Kriteria inklusi dan eksklusi dalam penelitian ini adalah

Tabel 3. Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

Kriteria Inklusi	Kriteria Eksklusi
Tikus jantan galur wistar	Tikus mengalami perubahan perilaku (menolak makan dan lemas)
Umur tikus 2,5-3 bulan	Tikus mengalami sakit selama percobaan berlangsung
Berat tikus 150-200 gram	Tikus mati selama percobaan berlangsung
Sehat tingkah laku dan aktivitas normal	

Tikus wistar merupakan salah satu jenis *Rattus norvegicus* strain wistar. Tikus dipilih karena memiliki daya regenerasi yang baik, mudah dikembang biakkan, dan memiliki kemiripan genetika dengan manusia. Tikus dipilih karena memiliki perilaku yang relatif jarang berkelahi dibanding mencit. Jenis jantan dipilih

karena memiliki daya tahan yang cukup baik, peka terhadap induksi diabetes<sup>55</sup>, serta lebih sedikit mengalami gangguan psikologis dibanding tikus betina.

#### D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

##### 1. Variabel Penelitian

- a. Variabel Dependen : memori spasial tikus
- b. Variabel Independen : Tempe
- c. Variabel Terkontrol : Galur tikus hewan coba, umur hewan coba, jenis kelamin hewan coba, berat badan hewan coba, kandang dan sistem perkandangan hewan.

##### 2. Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi Operasional Variabel Penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala
Tikus Wistar Terinduksi Diabetes	Induksi diabetes yang diberikan pada tikus wistar jantan dilakukan dengan menyuntikkan alloxan melalui jalur intraperitoneal sebanyak 120 mg/KgBB. Dampak yang ditimbulkan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar diukur setelah lima hari pemberian alloxan. Tikus dinyatakan diabetes apabila memiliki kadar glukosa darah di atas rerata normal, yaitu sebesar 250mg/dL <sup>25</sup> .	Ekor	Rasio
Memori Spasial	Memori spasial diukur dengan metode <i>Morris water maze</i> . Uji ini dilakukan dalam 3 tahapan, yaitu <i>acquisition trial</i> , <i>probe trial</i> dan <i>test of working memory</i> . <i>Acquisition trial</i> dilakukan selama 3 hari. Tikus akan dilatih untuk menemukan <i>platform</i> yang terletak 2 cm di bawah permukaan air pada salah satu kuadran sebanyak empat kali per hari. Pada <i>probe trial</i> tikus dibiarkan berenang selama 60 detik tanpa <i>platform</i> . Kemudian dilakukan pencatatan terhadap waktu lamanya tikus berada di kuadran letak <i>platform</i> dan berapa kali tikus melintasi kuadran letak <i>platform</i> . <i>Test of working memory</i> dilakukan dengan prosedur sama dengan <i>acquisition trial</i> namun <i>platform</i> dipindahkan pada setiap tes.	Detik	Rasio
Tempe	Tempe yang diberikan dikukus terlebih dahulu untuk mematikan bakteri. Setelah dikukus, tempe dipotong kotak-kotak kecil untuk memudahkan tikus dalam mengonsumsi. Banyaknya tempe yang diberikan pada tikus adalah 9 g pada kelompok perlakuan 1 dan 18g pada kelompok perlakuan 2.	Gram	Rasio

## **E. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Perlakuan hewan coba : Kandang, tempat minum, alat uji *morris water maze*, dan alat ukur kadar gula darah

Pembuatan tempe : Talenan, pisau, panci kukus

### **2. Bahan**

Perlakuan hewan coba : Pakan standar, air minum

Pembuatan tempe : Tempe kedelai kuning, air

## **F. Prosedur Penelitian**

### **1. Penentuan Dosis Alloxan**

Tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan akan diinduksi diabetes dengan menggunakan alloxan yang diberikan dengan dosis 120 mg/KgBB. Induksi dilakukan secara intraperitoneal dengan frekuensi pemberian satu kali pada awal masa percobaan<sup>25</sup>.

### **2. Penentuan Kondisi Diabetes Melitus**

Tikus dinyatakan mengalami diabetes pasca induksi dengan menggunakan alloxan apabila kadar gula darah mencapai lebih dari 250 mg/dL<sup>24,25</sup>. Tikus yang telah diinduksi alloxan umumnya mengalami kondisi hiperglikemia setelah lima hari<sup>23-25</sup>.

### **3. Penentuan Dosis Tempe**

Dosis tempe yang diberikan dihitung secara bertahap berdasarkan sumber pustaka yang telah didapat. Berdasarkan penelitian Ahmad, didapatkan dosis signifikan total isoflavon tempe yang dapat memberikan dampak signifikan terhadap kemampuan kognisi adalah 20 dan 40 mg/Kg BB<sup>13</sup>. Diketahui jumlah isoflavon dalam setiap gram protein adalah 2,4 mg dan jumlah protein dalam tiap 100 gram tempe adalah 18,5 gram<sup>56</sup>. Apabila digunakan acuan dosis signifikan total



isoflavon yang dibutuhkan sebesar 20 dan 40 mg/KgBB, maka perhitungannya sebagai berikut.

- a. Jumlah total isoflavon dalam 100 gram tempe:  
 $18,5 \times 2,4 = 44,4$  mg total isoflavon
- b. Dosis efektif yang dapat meningkatkan kemampuan kognisi pada tikus sebesar 20 mg/KgBB dan 40 mg/KgBB. Jika rata-rata berat tikus 200 gram, maka total isoflavon yang dibutuhkan sebesar 5 dan 8 mg.
- c. Untuk mendapatkan isoflavon sebanyak 5 mg dan 8 mg dibutuhkan tempe seberat 9 gram dan 18 gram. Jumlah ini diberikan dalam bentuk tempe yang dipotong kecil-kecil untuk memudahkan tikus dalam memakan tempe tersebut. Pakan diberikan secara *ad libitum*.

#### **4. Pembagian Kelompok Subjek**

Hewan uji sebanyak terdiri dari 18 ekor tikus wistar jantan berusia 2,5-3 bulan, dengan bobot 150-200 gram dibagi secara acak menjadi tiga kelompok sampel, yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2. Kelompok kontrol merupakan kelompok yang diinduksi diabetes dengan pemberian alloxan 120 mg/KgBB, diberikan pakan standar, dan minum *ad libitum*. Kelompok perlakuan 1 merupakan kelompok yang diinduksi diabetes dengan pemberian alloxan 120 mg/KgBB, pakan tempe sebesar 9 gram dan minum *ad libitum*. Kelompok perlakuan 2 merupakan kelompok yang diinduksi diabetes dengan pemberian alloxan 120 mg/KgBB, pakan tempe sebesar 18 gram, serta minum *ad libitum*.

## 5. Aklimatisasi Tikus

Tikus yang sudah terpilih dan memenuhi kriteria inklusi ditempatkan pada suhu ruangan rata-rata, pakan dan minum standar laboratorium diberikan ad libitum. Aklimatisasi dilakukan selama 5 hari bertujuan agar tikus beradaptasi dengan kondisi lingkungan selama penelitian.

## 6. Pembuatan Pakan Tempe

Pembuatan pakan tempe diawali dengan mengukus tempe sebanyak 200 gram tempe selama  $\pm$  10 menit. Setelah cukup waktu, tempe ditiriskan hingga kering, kemudian dipotong dadu seukuran 0,5 x 0,5 cm. Pakan tempe kemudian diberikan pada masing-masing tikus sesuai dosis.

## 7. Analisis Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus

Pemeriksaan kadar gula darah dilakukan dengan pemotongan ujung ekor tikus dengan gunting steril dan alat uji glukosa darah.

## 8. Uji Morris Water Maze

Uji Morris water maze dilakukan sesuai metode yang dilakukan oleh Vorhees dan Williams (2006) dengan modifikasi. Pengujian terdiri dari 3 tahapan yaitu *acquisition trial*, *probe trial* dan *test of working memory*. Kolam dibagi menjadi empat kuadran secara imajiner dan di sekeliling *maze* diberi penanda berupa poster, pintu, sumber cahaya dan pengamat. Kamera video diletakkan di atas *maze*. Kolam diisi air dengan diberikan zat pengaruh yang aman bagi tikus.

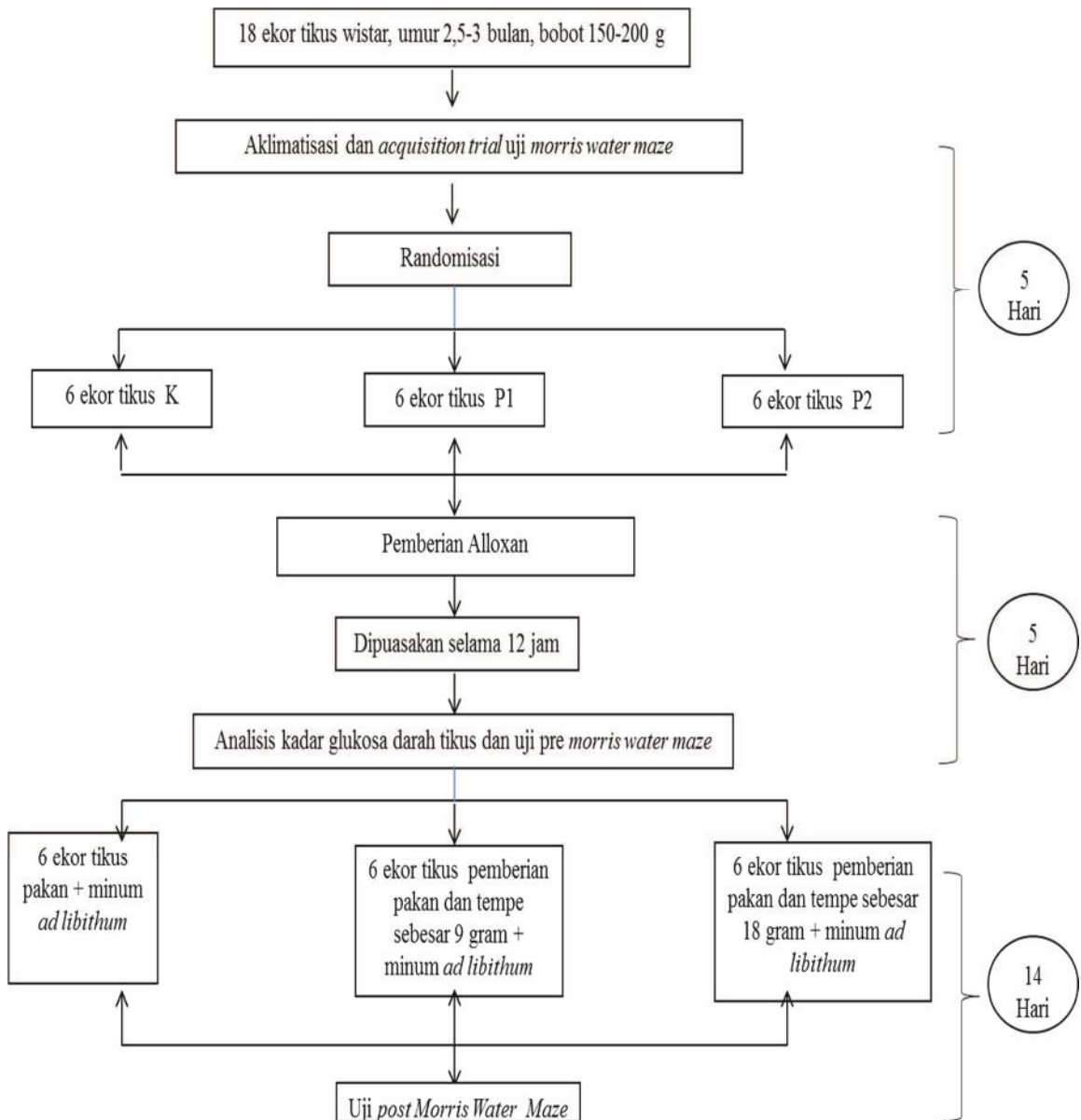
*Acquisition trial* dilakukan selama 3 hari. Tikus akan dilatih untuk menemukan *platform* yang terletak 2 cm di bawah permukaan air pada salah satu kuadran sebanyak empat kali per hari. Tikus dimasukkan ke dalam kolam pada salah satu kuadran secara random. Waktu diakhiri jika tikus telah mencapai *platform* atau setelah

berenang selama 60 detik tetapi belum mencapai *platform*. Jika tikus tidak berhasil menemukan *platform* selama 60 detik maka tikus akan dibimbing untuk menemukan *platform* dan ditempatkan di atas *platform* selama 15 detik sebelum latihan berikutnya. Waktu dan jarak tempuh tikus mencapai *platform* dicatat.

Pada *probe trial* tikus dibiarkan berenang selama 60 detik tanpa *platform*. Kemudian dilakukan pencatatan terhadap waktu lamanya tikus berada di kuadran letak *platform* dan berapa kali tikus melintasi kuadran letak *platform*, hal ini juga dilakukan sebanyak empat kali tiap tikus. Pada uji kemampuan sensori-motoris, *platform* terletak 2 cm di bawah air diberi penanda dengan warna mencolok. Letak *platform* diubah-ubah pada kuadran yang berbeda tiap latihan. Tikus dimasukkan pada salah satu kuadran kecuali pada kuadran yang ditempati *platform*. Tiap tikus dilatih empat kali, jika selama 60 detik tikus tidak dapat mencapai *platform* maka tikus akan dibimbing untuk menemukan *platform*. Waktu tempuh tikus untuk menemukan *platform* dicatat.

*Test of working memory* dilakukan dengan cara memindahkan *platform* yang sebelumnya telah diketahui oleh tikus pada titik tertentu. Tikus diletakkan di salah satu sisi kolam dengan posisi menghadap ke dinding kolam. Tikus dibiarkan berenang untuk menemukan *platform* hingga berhasil. Tes ini dilakukan beberapa kali (4-8 kali), kemudian waktu yang dicatat adalah waktu tercepat tikus dapat menemukan *platform* secara langsung.

## G. Kerangka Kerja



Gambar 4. Bagan Alur Penelitian

## H. Pengolahan dan Analisis data

Data yang terkumpul dianalisis dengan menggunakan program SPSS. Data diuji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro-wilk*. Perbedaan waktu uji hari pertama, hari kedua, hari ketiga, lama waktu observasi probe test dan persentase penurunan waktu uji antar kelompok sampel diuji

menggunakan *Anova*. Semua uji dilakukan menggunakan tingkat kepercayaan 95%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Valkova M, Stamenov B, Peychinska D, Danovska M. Cognitive Dysfunctions in Diabetic Polyneuropathy. *J IMAB*. 2011;17:183–8.
2. World Health Organization. *Global Report on Diabetes*. France; 2016.
3. Mccrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM. Diabetes 2 Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012;379(9833):2291–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60360-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60360-2)
4. Kawamura T, Umemura T, Hotta N. Cognitive impairment in diabetic patients: Can diabetic control prevent cognitive decline? *J Diabetes Investig*. 2012;3(5):413–23.
5. Moore EM, Mander AG, Ames D, Kotowicz MA, Carne RP, Brodaty H, et al. Increased Risk of Cognitive Impairment With Metformin. *Diabetes Care*. 2013;36(12):2981–7.
6. Feinkohl I, Price JF, Strachan MWJ, Frier BM. The impact of diabetes on cognitive decline: potential vascular, metabolic, and psychosocial risk factors. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. Alzheimer's Research & Therapy; 2015;7–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13195-015-0130-5>
7. Moreira RO, Soldera AL, Cury B, Meireles C, Kupfer R. Is cognitive impairment associated with the presence and severity of peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus? *Diabetol Metab Syndr* [Internet]. *Diabetology & Metabolic Syndrome*; 2015;(September 2011):1–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13098-015-0045-0>
8. Biessels GJ, Deary IJ, Ryan CM. Cognition and diabetes: a lifespan perspective. *Lancet*. 2008;7(February):184–90.
9. Kodl CT, Seaquist ER. Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*. 2008;29(4):494–511.
10. Levin ED, Buccafusco JJ, editors. *Animal Models of Cognitive Impairment*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2006.
11. Kanoski SE, Davidson TL. Physiology & Behavior Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;103(1):59–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.003>
12. Hirohata M, Ono K, Takasaki J, Takahashi R, Ikeda T. *Biochimica et Biophysica Acta* Anti-amyloidogenic effects of soybean iso flavones in vitro: Fluorescence spectroscopy demonstrating direct binding to A $\beta$  monomers, oligomers and fibrils. *BBA - Mol Basis Dis* [Internet]. Elsevier B.V.; 2012;1822(8):1316–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.006>
13. Ahmad A, Ramasamy K, Murnirah S, Bakar A, Majeed A, Mani V. Total

- isoflavones from soybean and tempeh reversed scopolamine-induced amnesia , improved cholinergic activities and reduced neuroinflammation in brain. *FOOD Chem Toxicol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;65:120–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.025>
14. Yang H, Jin G, Ren D, Luo S, Zhou T. Brain and Cognition Mechanism of isoflavone aglycone ' s effect on cognitive performance of senescence-accelerated mice. *Brain Cogn* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;76(1):206–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bandc.2010.10.008>
  15. Wang Q, Ge X, Tian X, Zhang Y, Zhang JIE, Zhang P. Soy isoflavone : The multipurpose phytochemical ( Review ). *Biomed Reports*. 2013;(1):697–701.
  16. Ding J, Xi Y, Zhang D, Zhao XIA, Liu J. Soybean Isoflavone Ameliorates b -Amyloid 1-42-Induced Learning and Memory Deficit in Rats by Protecting Synaptic Structure and Function. *Wiley Period*. 2013;0(10):1–9.
  17. Astuti SD, Andarwulan N, Hariyadi P, Agustia FC. Formulasi dan Karakterisasi Cake Berbasis Tepung Komposit Organik. *J Apl Teknol Pangan*. 2014;3(2):54–9.
  18. Shahib M., Syamsunarno MRAA, Faried A, Yuliana D, Anggraeni D, Yuniarti L, et al. The Effect of Glycine max Extract Diets on Changes in NR2B Gene Expression, Cognitive Vitality, and Neurotoxicity in High Concentrate Consumption. *Kitakanto Med J*. 2010;60:41–7.
  19. Farnworth ER. *Handbook of Fermented Functional Foods*. Second. Taylor & Francis Group; 2008. 486 p.
  20. Carla A, Bavia F, Eduardo C, Ferreira MP, Leite RS, Marcos J, et al. Chemical composition of tempeh from soybean cultivars specially developed for human consumption. *Cienc Tecnol Aliment*. 2012;32(3):613–20.
  21. Vorhees C V, Williams MT. Morris Water Maze: Procedures for Assessing Spatial and Related Forms of Learning and Memory. *Nat Protoc*. 2006;1(2):848–58.
  22. Septiana SI. Pengaruh Pemberian Ikan Teri ( *Engraulis encrasicolus* ) terhadap Memori Spasial Tikus Sprague Dawley Usia Satu Bulan. *J Nutr Coll*. 2014;4(1).
  23. Kuhad A, Chopra K. Effect of sesamol on diabetes-associated cognitive decline in rats. *Exp Brain Res*. 2008;185:411–20.
  24. Kuhad A, Sethi R, Chopra K. Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Elsevier*. 2008;83:128–34.
  25. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol*. 2006;537:106–10.

26. Noer SS dkk. Diet pada Diabetes. 3rd ed. Jakarta: Balai Penerbit FK UI; 2008.
27. Nugroho AE. Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. Biodiversitas. 2006;7(4):378–82.
28. Pusat Komunikasi Publik Sekretariat Jenderal Kementerian Kesehatan RI. Diabetes Melitus Penyebab Kematian Nomor 6 di Dunia: Kemenkes Tawarkan Solusi CERDIK Melalui Posbind [Internet]. 2013 [cited 2016 Aug 2]. Available from: <http://www.depkes.go.id/article/view/2383/diabetes-melitus-penyebab-kematian-nomor-6-di-dunia-kemenkes-tawarkan-solusi-cerdik-melalui-posbindu.html>
29. Bennett P. Epidemiology of Type2 Diabetes Millitus.In LeRoithet.al, Diabetes Millitusa Fundamental and Clinical Text. Philadelphia: Lippincott William&Wilkin s; 2008. 544-547 p.
30. Wrighten SA, Piroli GG, Grillo CA, Reagan LP. Biochimica et Biophysica Acta A look inside the diabetic brain : Contributors to diabetes-induced brain aging. BBA - Mol Basis Dis [Internet]. Elsevier B.V.; 2009;1792(5):444–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.10.013>
31. Kao L, Puddey, Bolland, Watson, Brancau. Alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus. AMJ Epidemiol. 2010;154:748–57.
32. Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus : a systematic review. Lancet Neurol. 2006;5:64–74.
33. Luchsinger JA. Type 2 Diabetes and Cognitive Impairment: Linking Mechanisms. J Alzheimer Dis. 2012;30(0):1–18.
34. Musen G, Lyoo IK, Sparks CR, Weinger K, Hwang J, Ryan CM, et al. Effects of Type 1 Diabetes on Gray Matter Density as Measured by Voxel-Based Morphometry. Diabetes. 2006;55(February):326–33.
35. Xu X, Guo L, Tian G. Diabetes Cognitive Impairments and the Effect of Traditional Chinese Herbs. Evidence-Based Complement Altern Med. 2013;1–10.
36. Carroll JB. Human Cognitive Abilities-A Survey of Factor-analytic Studies. USA: Cambridge University Press; 1993. 10-15 p.
37. Sidiarto LD, Kusumoputro S. Memori Anda Setelah 50 Tahun. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 2003.
38. Stern SA, Alberini CM. Mechanisms of Memory Enhancement. Wiley Interdiscip Rev Sist Biol Med. 2014;5(1):37–53.
39. Porte Y, Buhot MC, Mons NE. Spatial memory in the Morris water maze and activation of cyclic AMP response element-binding ( CREB ) protein



- within the mouse hippocampus. Cold Spring Harb Lab Press. 2008;885–94.
40. Swcatt JD. Mechanisms of Memory. Second. London: Elsevier Inc.; 2010. 25-45 p.
  41. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*. 1984;11:47–60.
  42. Barnhart CD, Yang D, Lein PJ. Using the Morris Water Maze to Assess Spatial Learning and Memory in Weanling Mice. *PLoS One*. 2015;10(4):1–16.
  43. Jackson CC, Dini JP, Lavandier C, Rupasinghe HP V, Faulkner H. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. *Process Biochem*. 2002;37:1117–23.
  44. Mo H, Kariluoto S, Pironen V, Zhu Y, Sanders MG, Vincken J, et al. Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate , vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe. *Food Chem [Internet]*. Elsevier Ltd; 2013;141(3):2418–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.017>
  45. Ferreira MP, Cristina M, Oliveira N De, Marcos J, Mandarino G. Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition of tempeh during processing and refrigeration. *Pesq Agripec Bras*. 2011;46(11):1555–61.
  46. Farnworth ER, editor. *Handbook of Fermented Functional Foods*. Washington, D.C.: CRC Press; 2003.
  47. Hachmeister KA, Fung DYC. Tempeh : A Mold-Modified Indigenous Fermented Food Made from Soybeans , and / or Cereal Grains. *Crit Rev Microbiol*. 1993;19(3):137–88.
  48. Suprapti ML. *Pembuatan Tempe*. 1st ed. Yogyakarta: Penerbit Kanisius (Anggota IKAPI); 2003.
  49. Badan Standardisasi Nasional. *Tempe: Persembahan Indonesia untuk Dunia*. Jakarta: PUSIDO Badan Standardisasi Nasional; 2012.
  50. Hajjar T, Meng GY, Rajion MA, Vidyadaran S, Othman F. Omega 3 polyunsaturated fatty acid improves spatial learning and hippocampal Peroxisome Proliferator Activated Receptors ( PPAR  $\alpha$  and PPAR  $\gamma$  ) gene expression in rats. *BioMed Cent*. 2012;
  51. Chen C, Chaung HC, Chung M, Huang L. Menhaden fish oil improves spatial memory in rat pups following recurrent pentylenetetrazole-induced seizures. *Epilepsy Behav*. 2006;8:516–21.
  52. Willis LM, Shukitt-hale B, Joseph JA. Recent advances in berry supplementation and age-related cognitive decline. 2009;0–3.
  53. Moffat SD, Zonderman AB, Resnick SM. Age differences in spatial memory in a virtual environment navigation task. *Neurobiol Aging*.

2001;22:787–96.

54. Castro MG, Tsui WH, Convit A. Obesity and Metabolic Syndrome and Functional and Structural Brain Impairments in Adolescence. *Pediatrics*. 2012;130(4):856–64.
55. Lachin T, Reza H. Anti Diabetic Effect of Cherries in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2012;67–72.
56. Messina M, Nagata C, Wu AH, Messina M, Nagata C, Wu AH. Estimated Asian Adult Soy Protein and Isoflavone Intakes. *Nutr Cancer*. 2006;55(1):1–12.

**PENGARUH PEMBERIAN TEMPE TERHADAP  
MEMORI SPASIAL TIKUS WISTAR  
PREDIABETES**

**Artikel Ilmiah**

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi  
pada Program Studi S-1 Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro



disusun oleh

**RR. ANNISA AYUNINGTYAS**

22030113120038

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
DEPARTEMEN ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2017**

**PENGARUH PEMBERIAN TEMPE TERHADAP  
MEMORI SPASIAL TIKUS WISTAR  
PREDIABETES**

**Artikel Ilmiah**

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi  
pada Program Studi S-1 Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro



disusun oleh

**RR. ANNISA AYUNINGTYAS**

22030113120038

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
DEPARTEMEN ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2017**

## PENGESAHAN ARTIKEL PENELITIAN

### Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Memori Spasial Tikus Wistar Prediabetes

Disusun Oleh :

**Rr. Annisa Ayuningtyas**  
**22030113120038**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
pada tanggal 6 Maret 2017  
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Semarang, Maret 2017

### DEWAN PENGUJI

PEMBIMBING I



Nuryanto, S.Gz, M.Gizi  
NIP. 197811082006041002

PEMBIMBING II



dr. Etisa Adi Murbawani, M.Si., Sp.GK  
NIP. 197812062005012002

PENGUJI



Nurmasari Widyastuti, S.Gz., M.Si.Med  
NIP. 198111052006042001

Mengetahui  
Ketua Departemen Ilmu Gizi  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro



Dra. Ani Margawati, M.Kes, PhD  
NIP. 19650525 199303 2 001

## **PENGARUH PEMBERIAN TEMPE TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS WISTAR PREDIABETES**

Annisa Ayuningtyas<sup>1</sup>, Nuryanto<sup>2</sup>, Etisa Adi Murbawani<sup>3</sup>

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Prediabetes dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada saraf otak yang berdampak lebih lanjut pada penurunan memori spasial. Salah satu senyawa yang berperan meningkatkan memori spasial adalah isoflavon, khususnya genistein dan daidzein. Tempe merupakan produk olahan kedelai yang banyak mengandung genistein dan daidzein. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar prediabetes.

**Metode:** Penelitian *true experimental* dengan desain *penelitian pre test-post test randomized control group design*. Tikus wistar jantan (K, P1, P2) diinjeksi aloksan 120 mg/KgBB dan dikondisikan prediabetes. Pemberian tempe dilakukan selama 14 hari dengan dosis: K (pakan standar), P1 (Tempe 9 g/200 gram BB), P2 (Tempe 18 g/200 gram BB). Uji memori spasial menggunakan *morris water maze test* (MWM). Data dianalisis dengan ANOVA.

**Hasil:** Terdapat perbaikan memori spasial pada tikus berdasarkan selisih rerata waktu tempuh tikus pada alat MWM sebesar K (-8,36), P1 (-5,48), dan P2 (3,66). Perbedaan selisih rerata waktu tempuh ketiga kelompok tidak signifikan ( $p=0,570$ ).

**Simpulan:** Pemberian tempe dengan dosis 18 gram/200 gram BB dapat meningkatkan memori spasial pada tikus wistar yang mengalami kondisi prediabetes, meskipun secara statistik tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok.

**Kata Kunci:** Prediabetes, Tempe, Memori spasial, *Morris water maze test*

---

<sup>1</sup>Mahasiswa Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Dosen Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>3</sup>Dosen Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

## THE EFFECT OF TEMPEH ON SPATIAL MEMORY OF PREDIABETIC WISTAR RATS

Annisa Ayuningtyas<sup>1</sup>, Nuryanto<sup>2</sup>, Etisa Adi Murbawani<sup>3</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Prediabetes can potentially cause damage to the brain nerves that may lead to impaired cognition, such as impaired spatial memory. Isoflavone, especially genistein and daidzein, can increase spatial memory. Tempeh as an example of the soy products with high levels of genistein and daidzein. The aim of this research is to determine the effect of tempeh on spatial memory of prediabetic wistar rat.

**Methods:** This is a true experimental research with pretest-posttest randomized control group design. Wistar male rats (K, P1, P2) were injected alloxan 120 mg / KgBW in order to become prediabetes. Tempeh was given for 14 days with a dose of K (standard feed), P1 (Tempeh 9 g / 200 g BW), P2 (Tempeh 18 g / 200 g BB). Morris water maze (MWM) test was used to test spatial memory. Data were analyzed by ANOVA.

**Result:** There is an improvement of spatial memory, based on the difference in average travel time of the rats in the MWM tool: K (-8.36), P1 (-5.48), and P2 (3.66). Differences of mean difference in travel time of the three groups was not significant ( $p = 0.570$ ).

**Conclusion:** Tempeh at a dose of 18 g / 200 gram BW can improve spatial memory of prediabetic rats, even though there is no significant difference in all three groups.

**Keywords:** Prediabetes, Tempeh, Spatial Memory, Morris water maze test

---

<sup>1</sup>Student of Nutrition Science Department, Medical Faculty, Diponegoro University

<sup>2</sup>Lecturer of Nutrition Science Department, Medical Faculty, Diponegoro University

<sup>3</sup>Lecturer of Nutrition Science Department, Medical Faculty, Diponegoro University

## PENDAHULUAN

Prediabetes adalah gambaran keadaan menuju hiperglikemia, yang terjadi ketika kadar glukosa darah lebih dari parameter normal namun kurang dari parameter diabetes<sup>1</sup>. Hiperglikemia terjadi karena adanya gangguan homeostasis glukosa darah akibat ketidakadekuatan hormon insulin maupun terjadinya resistensi insulin. *World Health Organization* (WHO) menggunakan dua parameter untuk mengkategorikan seseorang pada kondisi prediabetes, yaitu ketika kadar glukosa darah puasa berada pada rentang 6,1-6,9 mmol/L (110-125 mg/dL) dan kadar glukosa darah sewaktu berada pada rentang 7,8-11,0 mmol/L (140-200 mg/dL). Sementara itu, *American Diabetes Association* (ADA) memiliki nilai acuan kadar glukosa darah puasa lebih rendah, yaitu 100-125 mg/dL, sedangkan nilai acuan untuk kadar glukosa darah sewaktu sama dengan WHO (140-200 mg/dL). Gangguan homeostasis glukosa darah yang bersifat progresif ini apabila tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan kondisi lebih lanjut yang disebut dengan Diabetes Melitus (DM).

Kondisi hiperglikemia yang terjadi baik pada pasien prediabetes maupun DM dapat menyebabkan terjadinya komplikasi makro maupun mikrovaskular. Komplikasi mikrovaskular yang terjadi dapat menyebabkan gangguan pada saraf otak<sup>2</sup>. Perusakan syaraf progresif pada otak yang terjadi akibat adanya komplikasi ini dapat berdampak lebih lanjut terhadap gangguan kognisi<sup>3-7</sup>. Gangguan kognisi yang dimaksud dapat bersifat sementara maupun permanen, bergantung pada akut atau kronisnya gangguan homeostasis glukosa darah<sup>2</sup>.

Salah satu bentuk gangguan kognisi yang dialami adalah penurunan memori spasial. Memori spasial merupakan suatu kemampuan merekonstruksi kembali model spasial seperti gambaran suatu ruang dan tata letak lingkungan berdasarkan pengalaman dan memori yang terrekam di otak. Memori spasial dapat menjadi pedoman bagi manusia maupun hewan untuk mengenal lingkungan. Jenis memori ini juga menjadi salah satu jenis uji yang diterapkan untuk model eksperimen kognitif pada hewan coba<sup>8</sup>, dengan metode uji berupa *morris water maze* .



Beberapa faktor dapat berpengaruh terhadap terjadinya penurunan ataupun peningkatan kemampuan kognisi, salah satunya adalah diet. Diet tinggi lemak jenuh dan tinggi karbohidrat sederhana dapat menjadi pemicu kondisi hiperglikemia. Sementara itu, masyarakat juga mengenal sumber makanan seperti berbagai jenis ikan, kacang-kacangan, sayuran, dan beberapa buah-buahan yang mengandung zat-zat seperti omega-3, vitamin, isoflavon, dan zat antioksidan lainnya yang dapat meningkatkan kemampuan kognisi melalui berbagai mekanisme. Salah satu senyawa kimia yang dapat berperan terhadap upaya preventif penurunan kemampuan kognisi akibat hiperglikemia adalah isoflavon. Isoflavon berguna meningkatkan memori, termasuk untuk mencegah dan mengobati penyakit alzheimer<sup>9-12</sup>.

Isoflavon dapat ditemukan pada berbagai jenis tanaman, salah satunya kedelai. Isoflavon pada kedelai mengandung dua belas bentuk yang berbeda, dengan empat kelompok utama, yaitu aglikon (daidzein, genistein, dan glycitein); glukosida (daidzin, genistin, dan glycitin); asetilglukosida (asetildaizidin, asetilgenistin, dan asetilglycitin); serta malonilglukosida (malonildaizidin, malonilgenistin, dan malonilglycitin)<sup>11</sup>. Dua jenis isoflavon yang dapat berpengaruh terhadap kognitif adalah genistein<sup>13</sup> dan daidzein<sup>9</sup> yang termasuk dalam jenis isoflavon aglikon. Isoflavon aglikon ini sendiri lebih mudah diserap tubuh dan berpengaruh terhadap aktivitas asetilkolinesterase (AChE) yang berhubungan dengan penyampaian informasi di otak<sup>10</sup>.

Selain kandungan isoflavonnya yang tinggi, kedelai juga memiliki nilai indeks glikemik yang rendah, yaitu 31<sup>14</sup>. Hal inilah yang menyebabkan kedelai termasuk jenis sumber pangan yang cocok untuk pasien diabetes melitus. Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa kedelai termasuk salah satu jenis kacang-kacangan yang mampu meningkatkan kemampuan kognisi<sup>10,11,15</sup>. Produk kedelai terfermentasi, seperti tempe, kandungan isoflavonnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan makanan olahan kedelai yang tidak melalui proses fermentasi<sup>16</sup>. Jika dibandingkan antara kedelai dan tempe, kandungan isoflavon aglikon seperti daidzein dan genistein pada tempe lebih tinggi, yaitu masing-

masing sebesar 38,91 dan 24,03 mg/100 gram, sedangkan pada kedelai hanya sebesar 16,72 dan 11,10 mg/100 gram<sup>9</sup>.

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa tempe dapat meningkatkan kemampuan spasial secara signifikan pada tikus yang terinduksi amnesia<sup>9</sup>. Penelitian lain menyebutkan bahwa hiperglikemia menyebabkan gangguan pada memori spasial<sup>17</sup>. Berdasarkan latar belakang dan referensi penelitian terdahulu yang telah dilakukan, belum ditemukan penelitian yang menganalisis dampak pemberian tempe terhadap memori spasial tikus yang mengalami kondisi prediabetes. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar yang mengalami prediabetes serta dosis terbaik untuk meningkatkan memori spasial. Memori spasial diuji dengan metode *morris water maze*, yang merupakan salah satu uji kognitif pada tikus yang dapat merepresentasikan kemampuan kognisi pada manusia<sup>18</sup>.

## **METODE**

Penelitian ini merupakan *true experimental* yang termasuk dalam lingkup penelitian gizi klinik, dengan desain *penelitian pre test-post test randomized control group design*. Subjek penelitian ini merupakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 15 ekor tikus, yang kemudian dibagi ke dalam tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2. Kriteria inklusi untuk sampel dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar, umur 2,5-3 bulan, berat badan 180-280 gram, sehat tingkah laku dan aktivitas normal. Sementara itu, kriteria eksklusi untuk sampel dalam penelitian ini adalah tikus mengalami perubahan perilaku yang ditandai dengan menolak makan dan lemas.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah memori spasial tikus wistar, sedangkan variabel bebasnya adalah pemberian tempe. Tempe yang diberikan merupakan tempe kedelai kuning yang didapatkan dari Pasar tradisional Sampangan, Kota Semarang. Penelitian dilaksanakan di laboratorium hewan coba

Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang pada bulan Oktober hingga awal November 2016.

Seluruh tikus dalam penelitian ini diberikan injeksi intraperitoneal aloksan dengan dosis 120 mg/KgBB yang dilakukan satu kali pada awal masa percobaan. Induksi peningkatan kadar glukosa darah dilakukan selama 14 hari. Tikus dinyatakan mengalami prediabetes apabila kadar glukosa darahnya telah lebih dari 110 mg/dL<sup>19,20</sup>. Tikus yang telah mengalami hiperglikemia kemudian dibagi ke dalam tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2. Kelompok kontrol tidak diberikan intervensi. Kelompok perlakuan 1 diberikan intervensi berupa pemberian tempe sebanyak 9 gram/200 gram BB, dan Kelompok perlakuan 2 diberikan tempe sebanyak 18 gram/200gram BB, selama 14 hari. Tempe yang diberikan pada tikus sebelumnya direbus selama  $\pm$  10 menit, kemudian dipotong dadu dengan ukuran 2 cm x 2 cm x 2 cm.

Jumlah tempe yang diberikan dihitung secara bertahap. Berdasarkan penelitian Ahmad, didapatkan dosis total isoflavon tempe yang dapat memberikan dampak signifikan terhadap kemampuan kognisi adalah 20 dan 40 mg/Kg BB<sup>9</sup>. Diketahui jumlah isoflavon dalam setiap gram protein adalah 2,4 mg dan jumlah protein dalam tiap 100 gram tempe adalah 18,5 gram<sup>21</sup>. Jumlah total isoflavon dalam 100 gram tempe adalah 44,4 mg. Apabila digunakan acuan dosis signifikan total isoflavon yang dibutuhkan sebesar 20 dan 40 mg/KgBB dan rata-rata berat badan tikus adalah 200 gram, maka total isoflavon yang dibutuhkan sebesar 4 dan 8 mg. Tempe yang dibutuhkan untuk mendapatkan isoflavon sebanyak 4 mg dan 8 mg adalah 9 gram dan 18 gram.

Uji memori spasial dilakukan dengan menggunakan *Morris Water Maze* (MWM) *Test*<sup>22</sup>. Uji ini terdiri dari *acquisition trial* dan *test of working memory*. Perangkat MWM berbentuk seperti kolam dengan dasar berbentuk lingkaran dengan tinggi 45 cm. Kolam dibagi menjadi delapan kuadran, ditandai dengan cat putih di dasar kolam, kemudian diberi nomor pada setiap lintasannya. Kolam diisi dengan air hingga setinggi 35 cm, kemudian landasan pijak tikus yang terbuat dari kaca setebal 0,8 cm diletakkan pada lintasan nomor 5 dan berada 1 cm di bawah

permukaan air. Tahap *acquisition trial* tikus diletakkan pada salah satu lintasan. Masing-masing tikus dilatih sebanyak empat kali, jika selama 120 detik tikus tidak dapat mencapai landasan maka tikus akan dibimbing untuk menemukan landasan. Waktu tempuh tikus untuk menemukan landasan dicatat.

*Test of working memory* dilakukan dengan meletakkan tikus pada lintasan 1,2,8,3, dan 7. Tikus diletakkan di sisi kolam sesuai lintasan dengan posisi menghadap ke dinding kolam. Tikus dibiarkan berenang untuk menemukan landasan hingga berhasil. Tes ini dilakukan tiga kali, yaitu pada awal sebelum tikus diberikan injeksi aloksan, setelah tikus diinjeksi aloksan dan berada pada kondisi prediabetes, dan setelah dilakukan intervensi berupa pemberian tempe. Masing-masing uji diulang dua kali, kemudian waktu tempuh tikus untuk menemukan landasan dicatat.

Data yang dikumpulkan dianalisis dengan menggunakan program komputer. Data diuji normalitasnya dengan menggunakan *Saphiro-wilk*. Selisih rerata waktu tempuh sebelum dan sesudah perlakuan antara kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 2 diuji menggunakan uji ANOVA .

## HASIL PENELITIAN

### Karakteristik Subjek

Subjek dalam penelitian ini dapat dilihat karakteristiknya pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	Kontrol		Perlakuan 1		Perlakuan 2		Total	
	n	Mean± SD	n	Mean± SD	n	Mean± SD	n	Mean± SD
Berat Badan Awal (Kg)	5	237,2±19,74	5	241±34,55	5	219,4±36,49	15	232,53±30,46
Berat Badan Akhir (Kg)	5	228,6±21,55	5	190±24,63	5	221,4±25,93	15	213,33±28,27
Kadar Gula Darah Awal (mg/dL)	5	119,6±6,66	5	121,8±4,55	5	123,40±4,98	15	121,6±5,32
Kadar Gula Darah Akhir (mg/dL)	5	85,2±6,18	5	97±8,28	5	102,6±22,37	15	94,93±15,16

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus wistar sebelum diberi perlakuan telah mencapai kondisi prediabetes dengan rata-rata kadar glukosa darah dari ketiga kelompok sebesar 121,6 mg/dL. Setelah diberikan

intervensi, diketahui kadar glukosa darah mengalami penurunan hingga rata-rata dari ketiga kelompoknya mencapai 94,93 mg/dL.

### Memori Spasial Tikus Wistar

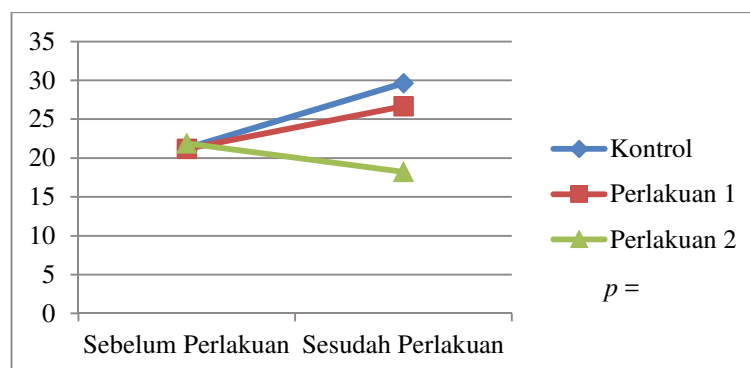
Fungsi memori spasial tikus wistar dinilai dengan menghitung rerata waktu tempuh masing-masing kelompok perlakuan pada lima rute yang telah ditetapkan, yaitu 1-5; 2-5; 8-5; 3-5; 7-5. Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Rerata Waktu Tempuh Tikus Wistar dengan Alat MWM

Kelompok	Sebelum	2 Minggu Setelah	Selisih ( $\Delta$ ) waktu tempuh pre dan post [detik]	$p^a$
	Perlakuan (Pre) [detik]	Perlakuan (Post) [detik]		
	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>		
Kontrol	21,28 $\pm$ 1,225	29,64 $\pm$ 2,277	-8,36	0,570
P1 (Tempe 9 gram/200 gram BB)	21,18 $\pm$ 6,110	26,66 $\pm$ 1,057	-5,48	
P2 (Tempe 18 gram/200 gram BB)	21,88 $\pm$ 6,287	18,22 $\pm$ 6,849	3,66	

a: One way ANOVA

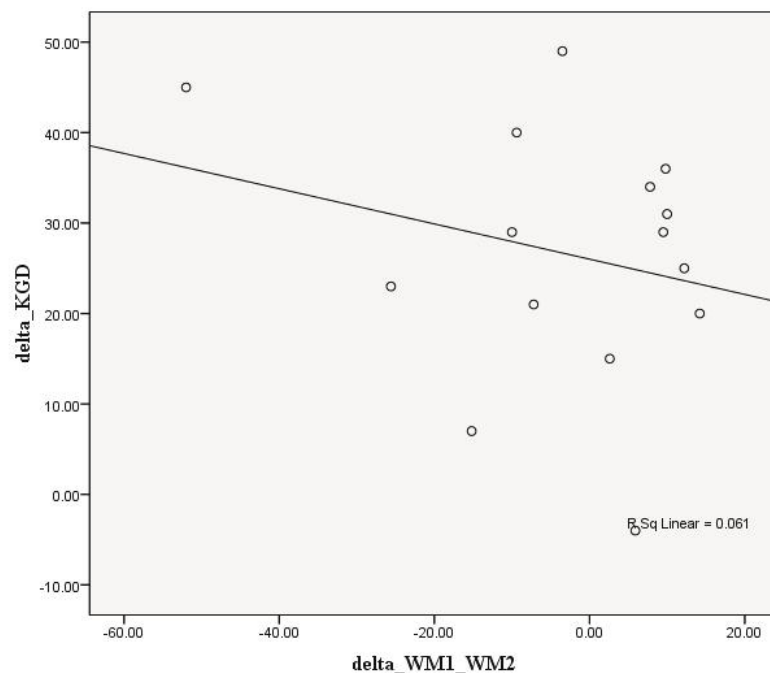
Tabel 2 menunjukkan hasil bahwa secara statistik tidak ada perbedaan signifikan rerata waktu tempuh tikus wistar pada alat MWM ( $p = 0,570$ ). Meskipun demikian, secara deskriptif terdapat tren peningkatan memori spasial antara tikus kontrol yang tidak diberikan perlakuan, tikus yang diberikan perlakuan berupa pakan tempe 9 gram/200 gram BB, dan tikus yang diberikan pakan tempe 18 gram/200 gram BB. Hal ini diketahui berdasarkan selisih rata-rata waktu tempuh pre dan post intervensi dari masing-masing kelompok. Tren peningkatan memori spasial pada tikus wistar yang diteliti dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Waktu Tempuh Tikus Wistar pada Alat MWM

Rerata waktu tempuh sebelum perlakuan pada ketiga kelompok berada pada kisaran 21 detik. Kelompok kontrol dengan rata-rata selisih waktu tempuh -8,36 detik menunjukkan adanya penambahan rata-rata waktu tempuh pasca kondisi prediabetes. Kelompok perlakuan 1 memiliki selisih waktu tempuh sebesar -5,48 detik menunjukkan bahwa rerata waktu tempuh pasca kondisi prediabetes pada kelompok ini bertambah lama, namun lebih baik dari kelompok kontrol. Sementara itu, kelompok perlakuan 2, menunjukkan nilai positif pada selisih rerata waktu tempuh, yaitu sebesar 3,66 detik. Hal ini menunjukkan rerata waktu tempuh pada kelompok perlakuan 2 berkurang, sebagai indikasi atas adanya peningkatan memori spasial.

### Hubungan Kadar Glukosa Darah Tikus dengan Memori Spasial



Gambar 2. Hubungan Kadar Glukosa Darah dengan Rerata Waktu Tempuh Tikus Wistar pada alat MWM

Gambar 2 menunjukkan bahwa ada hubungan negatif antara rerata waktu tempuh tikus wistar pada alat MWM dengan selisih kadar glukosa darah pre dan post injeksi aloksan ( $r = -0,91$ ,  $p = 0,747$ ). Hubungan negatif ini menunjukkan bahwa semakin besar selisih kadar glukosa darah maka waktu tempuh tikus wistar

pada alat MWM semakin menurun, sehingga menandakan bahwa ada perbaikan memori spasial.

## **PEMBAHASAN**

Tikus dalam penelitian ini secara umum mengalami penurunan berat badan. Penyebab terjadinya penurunan berat badan adalah karena jumlah pakan yang kurang dari kebutuhan. Berdasarkan standar pemberian pakan tikus, kebutuhan pakan tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika berupa pakan kering dan dapat mencapai 15% jika berupa pakan basah<sup>23</sup>. Sementara kebutuhan minum tiap harinya kurang lebih sebanyak 15-30 mL air. Pakan yang diberikan dalam penelitian ini terdiri dari pakan standar untuk kelompok kontrol dan tempe untuk kelompok perlakuan 1 dan 2. Pakan standar diberikan untuk masing-masing tikus sebanyak  $\pm 6$  gram. Jika diambil rata-rata berat tikus 200 gram, maka jumlah ini belum memenuhi kebutuhan. Demikian halnya dengan intervensi tempe yang diberikan, baik dosis 9 gram/200gBB maupun 18 gram/200gBB. Pemberian pakan yang tidak adekuat dalam jangka panjang ini dapat menyebabkan penurunan berat badan pada tikus karena terjadi pembongkaran cadangan makanan melalui katabolisme, baik glikolisis, lipolisis, maupun proteolisis<sup>24</sup>.

Penelitian ini mendapat hasil bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan signifikan memori spasial antara kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 2, dengan nilai p sebesar 0,570. Berdasarkan *review* yang ditulis oleh Biessels dan Reagan, terdapat tiga tingkatan gangguan kognitif terkait kondisi diabetes, yaitu penurunan kemampuan kognisi, *mild cognitive impairment* (MCI), dan demensia. Seseorang dengan kondisi prediabetes yang disebabkan adanya resistensi insulin umumnya telah mengalami penurunan kemampuan kognisi. Kondisi ini dapat diikuti dengan keluhan ringan hingga sedang, namun tidak menyebabkan gangguan pada kegiatan sehari-hari. Selain itu Biessels juga menyebutkan bahwa kondisi prediabetes dengan resistensi insulin yang bersifat kronis dapat menyebabkan demensia<sup>25</sup>. *Review* tersebut sejalan dengan penelitian Tuzcu yang

menyebutkan bahwa setelah diinduksi dengan streptozotocin, tikus yang mengalami hiperglikemia kronis menunjukkan penurunan kemampuan menemukan daratan pada uji *morris water maze*<sup>26</sup>.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Valkova menyebutkan bahwa pada pasien yang mengalami diabetes melitus diikuti dengan adanya polineuropati, ditemukan penurunan kognitif sebanyak 51%, gangguan memori sebanyak 79%, dan *hypomnesia* sebanyak 81%<sup>5</sup>. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa penurunan kognitif benar terjadi pada kondisi prediabetes, namun belum tampak secara signifikan<sup>25</sup>. Sedangkan pada kondisi hiperglikemia kronis, penurunan kemampuan kognisi ini dapat diamati secara signifikan<sup>5</sup>.

Berdasarkan teori, gangguan homeostasis glukosa darah secara umum merupakan faktor risiko penyebab penurunan kemampuan kognisi. Kemampuan kognisi adalah segala bentuk kemampuan yang berhubungan dengan kognitif. Kognitif sendiri diartikan sebagai segala kegiatan yang berhubungan dengan adanya pemrosesan informasi untuk diwujudkan dalam bentuk tindakan<sup>27</sup>. Penurunan kemampuan kognisi dalam hal ini didefinisikan sebagai suatu perubahan yang terjadi pada satu atau lebih domain kognisi<sup>25</sup>. Terdapat lima domain pada fungsi kognitif, yaitu *attention* (pemusatan perhatian), *language* (bahasa), *memory* (daya ingat), *visuospatial* (pengenalan ruang), serta *executive function* (fungsi otak dalam hal perencanaan, pengorganisasian, dan pelaksanaan)<sup>28</sup>.

Tren penurunan kemampuan kognisi, utamanya memori spasial pasca kondisi prediabetes pada penelitian ini dapat dilihat berdasar selisih rerata waktu tempuh antara ketiga kelompok, dimana kelompok kontrol memiliki rerata waktu tempuh lebih lama (-8,36 detik) dibanding kelompok perlakuan 1 dan 2. Hal ini sejalan dengan penelitian Soares *et.al.* yang menyebutkan bahwa tahapan pre diabetes pada tikus dapat memicu terjadinya penurunan kemampuan spasial baik dalam jangka pendek maupun jangka panjang<sup>17</sup>. Penurunan kemampuan spasial ini disebabkan adanya gangguan pada hipokampus, sebuah area di otak sebagai



bagian dari sistem syaraf pusat yang berperan dalam proses belajar visual dan spasial<sup>17,29</sup>.

Kondisi prediabetes sendiri diikuti dengan adanya gangguan homeostasis insulin. Gangguan homeostasis insulin merupakan faktor penyebab yang cukup kuat karena insulin dapat menembus pembuluh darah. Insulin yang menembus pembuluh darah ini kemudian didistribusikan ke seluruh bagian otak, dan dalam jumlah melimpah berada di hipokampus, hipotalamus, dan korteks. Selain sebagai modulator asupan glukosa dan energi, insulin merupakan faktor neurotropik. Gangguan pada produksi insulin maupun aktivitas reseptor insulin dapat menurunkan kemampuan belajar dan mengingat. Resistensi insulin akibat kompensasi dari adanya hiperinsulinemia juga berdampak pada aktivasi *glycogen synthase kinase 3* (GSK 3) dengan cara defosforilasi, yang berhubungan dengan hiperfosforilasi tau serta peningkatan  $\beta$ -amiloid di otak<sup>30</sup>.  $\beta$ -amiloid diketahui merupakan marker terjadinya alzheimer<sup>9,31</sup>. Hal inilah yang menjelaskan mengapa kondisi hiperglikemia yang bersifat kronis dapat menyebabkan demensia dan alzheimer.

Mekanisme lain yang dapat menjelaskan penyebab penurunan kemampuan spasial pada kondisi prediabetes adalah adanya hiperglikemia yang menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS), *reactive nitrogen species* (RNS), serta marker stress oksidatif, seperti peroksidasi lemak, oksidasi protein, dan penurunan level antioksidan<sup>30</sup>. Hiperglikemia juga dapat meningkatkan produksi *advanced glycated end products* (AGEs) atau produk lanjutan glikosilasi. Adanya reseptor permukaan sel dari AGEs (RAGEs) ini dapat meningkatkan produksi ROS intraselular<sup>30</sup>. Peningkatan produk glikosilasi ini juga berhubungan dengan kejadian komplikasi mikrovaskular, sedangkan jumlah reseptornya akan meningkat seiring dengan terjadinya akumulasi  $\beta$ -amiloid di otak.<sup>31</sup>

Penelitian ini menunjukkan bahwa intervensi yang memiliki pengaruh lebih baik dari kedua dosis yang diujikan adalah dosis tempe 18 gram/200 gram BB. Hal ini dibuktikan dengan kelompok perlakuan 2 memiliki selisih rerata waktu tempuh yang bernilai positif (3,66 detik), yang menunjukkan bahwa waktu

tempuh sesudah diberikan intervensi lebih cepat dibandingkan sebelum diberikan intervensi. Meskipun secara statistik tidak ditemukan perbedaan yang bermakna, tetapi hasil ini menunjukkan bahwa terdapat dampak baik pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar yang terinduksi aloksan menjadi prediabetes. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ahmad, *et.al.* menunjukkan bahwa tikus terinduksi amnesia yang diberikan total isoflavon dari tempe, performa kognitifnya meningkat lebih baik dibandingkan tikus yang diberikan total isoflavon dari kedelai<sup>9</sup>. Penelitian Ahmad menjelaskan bahwa kerusakan kognitif lanjut berupa demensia, berhubungan dengan penurunan asetilkolin (ACh) dan peningkatan aktivitas asetilkolinesterase (AChE)<sup>9</sup>. Asetilkolin berperan penting dalam penyampaian informasi. Asetilkolin pada orang alzheimer berada pada konsentrasi yang rendah, sementara itu terjadi peningkatan aktivitas AChE. Asetilkolinesterase sendiri berfungsi untuk meregulasi ACh agar tetap berada pada kadar yang normal. Sementara itu, peningkatan aktivitas AChE justru menyebabkan defisiensi ACh dan kemunduran kemampuan kognitif<sup>9</sup>. Studi yang dilakukan oleh Yang (2011), membuktikan bahwa isoflavon aglikon mampu meregulasi asetilkolinesterase (AChE), sebuah enzim hidrolase spesifik dari asetilkolin (ACh)<sup>10</sup>. Berdasarkan penelitian Yang tersebut, isoflavon aglikon mampu meregulasi aktivitas AChE di otak, dan secara tidak langsung meningkatkan neuron kolinergik ACh. Selanjutnya, rangkaian mekanisme ini dapat meningkatkan fungsi kolinergik sentral, serta meningkatkan kemampuan belajar dan mengingat pada tikus<sup>10</sup>. Salah satu jenis isoflavon, daidzein, mampu meningkatkan sintesis ACh karena daidzein dapat berperan sebagai aktivator kolin asetiltransferase<sup>9</sup>.

Hasil analisis hubungan penurunan kadar glukosa darah dengan memori spasial menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang tidak signifikan. Penelitian Vinayagam menyebutkan bahwa isoflavon pada kedelai, khususnya genistein dan daidzein terbukti mampu memperbaiki kadar glukosa darah dan kadar insulin<sup>32</sup>. Kadar glukosa darah yang kembali normal akan berhubungan dengan menurunnya produksi ROS dan produk lanjutan glikosilasi yang selanjutnya menurunkan akumulasi  $\beta$ -amiloid di otak. Selain itu, genistein dan daidzein mampu melindungi

sel dari toksisitas yang disebabkan oleh adanya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, di mana H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> merupakan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan syaraf. Sebagai antioksidan, genistein mampu melawan radiasi sinar ultraviolet serta zat-zat kimia lainnya yang memapar otak<sup>11</sup>.

## **SIMPULAN**

Pemberian tempe terhadap memori spasial tikus wistar yang mengalami kondisi prediabetes menunjukkan tren positif, meskipun tidak ditemukan peningkatan memori spasial yang bermakna. Intervensi yang memiliki pengaruh lebih baik dari kedua dosis yang diujikan adalah dosis tempe 18 gram/200 gram BB.

## **SARAN**

Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan pada subjek tikus yang mengalami diabetes maupun manusia penderita diabetes.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Puji syukur pada Allah SWT. atas segala rahmat yang telah diberikan. Terima kasih kepada dosen pembimbing, Nuryanto, S,Gz, M,Gizi dan dr. Etisa Adi Murbawani, M.Si., Sp.GK. atas segala bimbingan yang telah diberikan, serta dosen penguji, Nurmasari Widyastuti, S.Gz., M.Si.Med atas saran yang membangun. Penulis juga mengucapkan terima kasih pada laboran Laboratorium FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini. Tidak lupa terima kasih penulis ucapkan untuk orang tua, teman-teman, dan pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas segala dukungan, bantuan, dan doa yang diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Bansal N. Prediabetes diagnosis and treatment: A review. *World J Diabetes* [Internet]. 2015;6(2):296.
2. Mccrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM. Diabetes 2 Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012;379(9833):2291–9.
3. Kawamura T, Umemura T, Hotta N. Cognitive impairment in diabetic patients: Can diabetic control prevent cognitive decline? *J Diabetes Investig*. 2012;3(5):413–23.
4. Moore EM, Mander AG, Ames D, Kotowicz MA, Carne RP, Brodaty H, et al. Increased Risk of Cognitive Impairment With Metformin. *Diabetes Care*. 2013;36(12):2981–7.
5. Valkova M, Stamenov B, Peychinska D, Danovska M. Cognitive Dysfunctions in Diabetic Polyneuropathy. *J IMAB*. 2011;17:183–8.
6. Feinkohl I, Price JF, Strachan MWJ, Frier BM. The impact of diabetes on cognitive decline: potential vascular, metabolic, and psychosocial risk factors. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. Alzheimer's Research & Therapy; 2015;7–46.
7. Moreira RO, Soldera AL, Cury B, Meireles C, Kupfer R. Is cognitive impairment associated with the presence and severity of peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus? *Diabetol Metab Syndr* [Internet]. *Diabetology & Metabolic Syndrome*; 2015;(September 2011):1–4.
8. Levin ED, Buccafusco JJ, editors. *Animal Models of Cognitive Impairment*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2006.
9. Ahmad A, Ramasamy K, Murnirah S, Bakar A, Majeed A, Mani V. Total isoflavones from soybean and tempeh reversed scopolamine-induced amnesia, improved cholinergic activities and reduced neuroinflammation in brain. *FOOD Chem Toxicol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;65:120–8.
10. Yang H, Jin G, Ren D, Luo S, Zhou T. Brain and Cognition Mechanism of isoflavone aglycone's effect on cognitive performance of senescence-accelerated mice. *Brain Cogn* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;76(1):206–10.
11. Wang Q, Ge X, Tian X, Zhang Y, Zhang JIE, Zhang P. Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical (Review). *Biomed Reports*. 2013;(1):697–701.
12. Hirohata M, Ono K, Takasaki J, Takahashi R, Ikeda T. *Biochimica et Biophysica Acta* Anti-amyloidogenic effects of soybean isoflavones in vitro: Fluorescence spectroscopy demonstrating direct binding to A $\beta$  monomers, oligomers and fibrils. *BBA - Mol Basis Dis* [Internet]. Elsevier B.V.; 2012;1822(8):1316–24.
13. Ding J, Xi Y, Zhang D, Zhao XIA, Liu J. Soybean Isoflavone Ameliorates

- b -Amyloid 1-42-Induced Learning and Memory Deficit in Rats by Protecting Synaptic Structure and Function. Wiley Period. 2013;0(10):1–9.
14. Astuti SD, Andarwulan N, Hariyadi P, Agustia FC. Formulasi dan Karakterisasi Cake Berbasis Tepung Komposit Organik. *J Apl Teknol Pangan*. 2014;3(2):54–9.
  15. Shahib M., Syamsunarno MRAA, Faried A, Yuliana D, Anggraeni D, Yuniarti L, et al. The Effect of Glycine max Extract Diets on Changes in NR2B Gene Expression, Cognitive Vitality, and Neurotoxicity in High Concentrate Consumption. *Kitakanto Med J*. 2010;60:41–7.
  16. Carla A, Bavia F, Eduardo C, Ferreira MP, Leite RS, Marcos J, et al. Chemical composition of tempeh from soybean cultivars specially developed for human consumption. *Cienc Tecnol Aliment*. 2012;32(3):613–20.
  17. Soares E, Prediger RD, Nunes S, Castro AA, Viana SD, Lemos C, et al. Spatial memory impairments in a prediabetic rat model. *Neuroscience [Internet]*. IBRO; 2013;250:565–77.
  18. Vorhees C V, Williams MT. Morris Water Maze: Procedures for Assessing Spatial and Related Forms of Learning and Memory. *Nat Protoc*. 2006;1(2):848–58.
  19. Ojiako OA, Chikezie PC, Ogbuji AC. Journal of Traditional and Complementary Medicine Blood glucose level and lipid profile of alloxan-induced hyperglycemic rats treated with single and combinatorial herbal formulations. *J Tradit Chinese Med Sci [Internet]*. Elsevier Ltd; 2016;6(2):184–92.
  20. Kawatu C, Bodhi W, Mongi J, Fmipa P, Manado U. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kucing-kucingan (*Acalypha Indica L.*) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*). *J Ilm Farm UNSRAT*. 2013;2(1):81–6.
  21. Messina M, Nagata C, Wu AH, Messina M, Nagata C, Wu AH. Estimated Asian Adult Soy Protein and Isoflavone Intakes. *Nutr Cancer*. 2006;55(1):1–12.
  22. Tambunan HS. Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamat Per Oral terhadap Fungsi Memori Spasial Tikus Wistar. Universitas Diponegoro; 2012.
  23. Bintanah S, Kusuma HS. Pengaruh Pemberian Bekatul Dan Tepung Tempe Terhadap Profil Gula Darah Pada Tikus Yang Diberi Alloxan. *J Pangan dan Gizi*. 2010;10(2):1–9.
  24. Mayes PA. Glukoneogenesis dan Pengendalian Kadar Glukosa Darah. *Biokimia Harper*. 22nd ed. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran; 1995. 210-219 p.
  25. Biessels GJ, Reagan LP. Hippocampal insulin resistance and cognitive

- dysfunction. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. Nature Publishing Group; 2015;16(11):660–71.
26. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol*. 2006;537:106–10.
  27. Carroll JB. *Human Cognitive Abilities-A Survey of Factor-analytic Studies*. USA: Cambridge University Press; 1993. 10-15 p.
  28. Sidiarto LD, Kusumoputro S. *Memori Anda Setelah 50 Tahun*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 2003.
  29. Swcatt JD. *Mechanisms of Memory*. Second. London: Elsevier Inc.; 2010. 25-45 p.
  30. Xu X, Guo L, Tian G. Diabetes Cognitive Impairments and the Effect of Traditional Chinese Herbs. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2013;1–10.
  31. Luchsinger JA. Type 2 Diabetes and Cognitive Impairment: Linking Mechanisms. *J Alzheimer Dis*. 2012;30(0):1–18.
  32. Vinayagam R, Xu B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutr Metab (Lond)* [Internet]. *Nutrition & Metabolism*; 2015;12(1):1–20.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Data Karakteristik Subjek Penelitian

<b>Kelompok</b>	<b>Berat Badan Awal (gram)</b>	<b>Berat Badan Akhir (gram)</b>	<b>Kadar Gula Darah Awal (mg/dL)</b>	<b>Kadar Gula Darah Pre (mg/dL)</b>	<b>Kadar Gula Darah Post (mg/dL)</b>
Kontrol	236.0	225.0	85.0	126.0	77.0
Kontrol	254.0	240.0	68.0	111.0	91.0
Kontrol	221.0	215.0	87.0	120.0	91.0
Kontrol	215.0	204.0	79.0	115.0	86.0
Kontrol	260.0	259.0	79.0	126.0	81.0
Perlakuan 1	261.0	178.0	79.0	123.0	98.0
Perlakuan 1	249.0	224.0	92.0	123.0	83.0
Perlakuan 1	280.0	208.0	85.0	126.0	105.0
Perlakuan 1	224.0	171.0	92.0	123.0	100.0
Perlakuan 1	191.0	169.0	62.0	114.0	99.0
Perlakuan 2	278.0	243.0	70.0	122.0	115.0
Perlakuan 2	210.0	222.0	87.0	122.0	91.0
Perlakuan 2	228.0	251.0	87.0	119.0	83.0
Perlakuan 2	185.0	194.0	62.0	122.0	88.0
Perlakuan 2	196.0	197.0	74.0	132.0	136.0

**Lampiran 2. Hasil Uji Memori Spasial pada *Morris Water Maze***

Kelompok	Pre										Post										Rerata	Rerata	Selisih
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Pre	Post	Rerata
Kontrol	39.0	8.0	11.0	4.0	43.0	6.0	5.0	5.0	4.0	4.0	38.0	37.0	7.0	11.0	27.0	11.0	10.0	6.0	9.0	8.0	12.9	16.4	-3,5
Kontrol	120.0	19.0	3.0	6.0	48.0	51.0	35.0	72.0	59.0	20.0	120.0	13.0	34.0	34.0	9.0	44.0	6.0	8.0	20.0	3.0	43.3	29.1	14,2
Kontrol	9.0	15.0	28.0	22.0	49.0	6.0	11.0	5.0	16.0	34.0	7.0	3.0	5.0	4.0	3.0	19.0	11.0	24.0	5.0	19.0	19.5	10.0	9,5
Kontrol	6.0	32.0	44.0	6.0	16.0	6.0	6.0	18.0	5.0	6.0	23.0	34.0	66.0	11.0	4.0	22.0	29.0	43.0	8.0	5.0	14.5	24.5	-10.0
Kontrol	7.0	38.0	17.0	45.0	6.0	19.0	5.0	5.0	16.0	4.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	26.0	18.0	14.0	9.0	15.0	16.2	68.2	-52.0
Perlakuan 1	29.0	48.0	24.0	64.0	11.0	21.0	33.0	11.0	24.0	39.0	5.0	6.0	23.0	33.0	19.0	6.0	62.0	5.0	8.0	15.0	30.4	18.2	12.2
Perlakuan 1	55.0	8.0	6.0	71.0	10.0	16.0	6.0	28.0	20.0	19.0	55.0	8.0	6.0	120.0	4.0	7.0	7.0	3.0	3.0	120.0	23.9	33.3	-9,4
Perlakuan 1	9.0	29.0	6.0	6.0	8.0	21.0	36.0	19.0	19.0	5.0	90.0	18.0	46.0	5.0	11.0	13.0	8.0	11.0	13.0	15.0	15.8	23.0	-7,2
Perlakuan 1	9.0	28.0	8.0	20.0	16.0	24.0	11.0	15.0	20.0	10.0	5.0	6.0	21.0	12.0	2.0	120.0	120.0	36.0	86.0	9.0	16.1	41.7	-25.6
Perlakuan 1	26.0	14.0	15.0	30.0	4.0	19.0	53.0	6.0	25.0	5.0	9.0	5.0	18.0	9.0	9.0	10.0	25.0	49.0	10.0	27.0	19.7	17.1	2,6
Perlakuan 2	10.0	12.0	12.0	28.0	35.0	5.0	6.0	4.0	5.0	10.0	15.0	87.0	53.0	32.0	21.0	20.0	14.0	18.0	11.0	8.0	12.7	27.9	-15.2
Perlakuan 2	47.0	87.0	17.0	19.0	9.0	17.0	8.0	8.0	11.0	13.0	12.0	17.0	23.0	16.0	21.0	8.0	8.0	10.0	15.0	6.0	23.6	13.6	10,0
Perlakuan 2	28.0	65.0	67.0	8.0	15.0	7.0	7.0	29.0	8.0	33.0	45.0	46.0	12.0	17.0	5.0	24.0	12.0	4.0	2.0	2.0	26.7	16.9	9.8
Perlakuan 2	23.0	22.0	9.0	14.0	47.0	14.0	13.0	17.0	8.0	18.0	11.0	5.0	5.0	4.0	3.0	16.0	14.0	23.0	14.0	12.0	18.5	10.7	7,8
Perlakuan 2	25.0	6.0	7.0	21.0	69.0	42.0	6.0	76.0	14.0	13.0	61.0	16.0	5.0	37.0	5.0	53.0	10.0	20.0	5.0	8.0	27.9	22.0	5,9



### Lampiran 3. Hasil Uji Statistik

#### 1. Analisis Deskriptif Berat Badan dan Kadar Gula Darah

##### Descriptives

Recode_Kelompok			Statistic	Std. Error	
BB_Awal	Kontrol	Mean	237.20	8.828	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	212.69	
			Upper Bound	261.71	
		5% Trimmed Mean	237.17		
		Median	236.00		
		Variance	389.700		
		Std. Deviation	19.741		
		Minimum	215		
		Maximum	260		
		Range	45		
		Interquartile Range	39		
		Skewness	.076	.913	
		Kurtosis	-2.554	2.000	
			Perlakuan 1	Mean	241.00
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			198.10	
	Upper Bound			283.90	
5% Trimmed Mean	241.61				
Median	249.00				
Variance	1.194E3				
Std. Deviation	34.547				
Minimum	191				
Maximum	280				
Range	89				
Interquartile Range	63				
Skewness	-.627			.913	
Kurtosis	-.268			2.000	
	Perlakuan 2			Mean	219.40

		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	174.09	
			Upper Bound	264.71	
		5% Trimmed Mean		218.06	
		Median		210.00	
		Variance		1.332E3	
		Std. Deviation		36.494	
		Minimum		185	
		Maximum		278	
		Range		93	
		Interquartile Range		62	
		Skewness		1.265	.913
		Kurtosis		1.518	2.000
BB_Akhir	Kontrol	Mean		228.60	9.636
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	201.85	
			Upper Bound	255.35	
		5% Trimmed Mean		228.28	
		Median		225.00	
		Variance		464.300	
		Std. Deviation		21.548	
		Minimum		204	
		Maximum		259	
		Range		55	
		Interquartile Range		40	
		Skewness		.505	.913
		Kurtosis		-.627	2.000
	Perlakuan 1	Mean		190.00	11.014
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	159.42	
			Upper Bound	220.58	
		5% Trimmed Mean		189.28	
		Median		178.00	
		Variance		606.500	

		Std. Deviation	24.627	
		Minimum	169	
		Maximum	224	
		Range	55	
		Interquartile Range	46	
		Skewness	.761	.913
		Kurtosis	-1.928	2.000
Perlakuan 2		Mean	221.40	11.596
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	189.21	
	Mean	Upper Bound	253.59	
		5% Trimmed Mean	221.28	
		Median	222.00	
		Variance	672.300	
		Std. Deviation	25.929	
		Minimum	194	
		Maximum	251	
		Range	57	
		Interquartile Range	52	
		Skewness	.022	.913
		Kurtosis	-2.736	2.000
KGD_pre	Kontrol	Mean	119.60	2.977
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	111.34	
	Mean	Upper Bound	127.86	
		5% Trimmed Mean	119.72	
		Median	120.00	
		Variance	44.300	
		Std. Deviation	6.656	
		Minimum	111	
		Maximum	126	
		Range	15	
		Interquartile Range	13	
		Skewness	-.295	.913

		Kurtosis	-2.093	2.000
	Perlakuan 1	Mean	121.80	2.035
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	116.15	
		Upper Bound	127.45	
		5% Trimmed Mean	122.00	
		Median	123.00	
		Variance	20.700	
		Std. Deviation	4.550	
		Minimum	114	
		Maximum	126	
		Range	12	
		Interquartile Range	6	
		Skewness	-1.749	.913
		Kurtosis	3.724	2.000
	Perlakuan 2	Mean	123.40	2.227
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	117.22	
		Upper Bound	129.58	
		5% Trimmed Mean	123.17	
		Median	122.00	
		Variance	24.800	
		Std. Deviation	4.980	
		Minimum	119	
		Maximum	132	
		Range	13	
		Interquartile Range	6	
		Skewness	1.831	.913
		Kurtosis	3.903	2.000
KGD_post	Kontrol	Mean	85.20	2.764
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	77.53	
		Upper Bound	92.87	
		5% Trimmed Mean	85.33	
		Median	86.00	

	Variance		38.200	
	Std. Deviation		6.181	
	Minimum		77	
	Maximum		91	
	Range		14	
	Interquartile Range		12	
	Skewness		-.414	.913
	Kurtosis		-1.921	2.000
Perlakuan 1	Mean		97.00	3.701
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	86.72	
		Upper Bound	107.28	
	5% Trimmed Mean		97.33	
	Median		99.00	
	Variance		68.500	
	Std. Deviation		8.276	
	Minimum		83	
	Maximum		105	
	Range		22	
	Interquartile Range		12	
	Skewness		-1.614	.913
	Kurtosis		3.351	2.000
Perlakuan 2	Mean		102.60	10.003
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	74.83	
		Upper Bound	130.37	
	5% Trimmed Mean		101.83	
	Median		91.00	
	Variance		500.300	
	Std. Deviation		22.367	
	Minimum		83	
	Maximum		136	
	Range		53	
	Interquartile Range		40	

Skewness	1.004	.913
Kurtosis	-.613	2.000

## 2. Uji Anova Rerata Waktu Tempuh Tikus Wistar dengan Alat MWM

### ANOVA

delta\_WM1\_WM2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	393.857	2	196.929	.589	.570
Within Groups	4015.452	12	334.621		
Total	4409.309	14			

## 3. Analisis Deskriptif Rerata Waktu Tempuh Tikus Wistar dengan Alat MWM

### Descriptives

delta\_WM1\_WM2

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	-8.3600	26.26163	11.74456	-40.9681	24.2481	-52.00	14.20
Perlakuan 1	5	-5.4800	14.15104	6.32854	-23.0508	12.0908	-25.60	12.20
Perlakuan 2	5	3.6600	10.67417	4.77364	-9.5937	16.9137	-15.20	10.00
Total	15	-3.3933	17.74685	4.58222	-13.2212	6.4345	-52.00	14.20

## 4. Uji Korelasi Hubungan Kadar Glukosa Darah dengan Memori Spasial

### Correlations

			delta_WM1_WM2	delta_KGD
			2	
Spearman's rho	delta_WM1_WM2	Correlation Coefficient	1.000	-.091
		Sig. (2-tailed)	.	.747
		N	15	15
	delta_KGD	Correlation Coefficient	-.091	1.000

	Sig. (2-tailed)	.747	.
	N	15	15

#### Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Proses Penimbangan Tikus



Gambar 2. Uji Morris Water Maze





Gambar 3. Injeksi Aloksan



Gambar 4. Pemberian Tempe