

EFFECTS OF LONG TERM ADMINISTRATION OF ETHANOL DECREASE SPATIAL WORKING MEMORY IN RATS

PEMBERIAN ETANOL JANGKA PANJANG MENURUNKAN MEMORI KERJA SPASIAL PADA TIKUS

Muh. Ihwan Narwanto*, Soedjono Aswin**, Mustofa***

*Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

**Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

***Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Long term ethanol administration may cause morphological changes in the hippocampus, followed by deficit in the hippocampal function including the impairment of memory. The aim of this study is to investigate the changes of spatial working memory of rats after chronic ethanol administration at adolescent age. Twenty five adolescent (30 days of age) male rats (*Rattus norvegicus*) divided randomly into 5 groups : control without treatment (C1), control with treatment (C2), treatment 1 (T1), treatment 2 (T2), treatment 3 (T3) group. Each group consist of 5 rats. C2 group was given physiologic saline, T1, T2, and T3 group were given ethanol with doses 1, 2, and 3 g/kg/day for 30 days by intraperitoneal injection. After chronic ethanol administration the spatial working memory of 5 groups were tested by using 8 arm radial maze for 12 days. Spatial working memory measured by total number of entered arm maze and error A type. The results of this study showed that chronic ethanol administration at adolescent age caused decreasing of spatial working memory of the rats. The total number of entered arms maze and error A type for treatment group (especially P3) is higher than control groups ($p < 0,05$). It is concluded that in rats, chronic ethanol administration at adolescent age caused decreasing spatial working memory.

Key words : Ethanol, Spatial working memory, Adolescent

PENDAHULUAN

Etanol atau alkohol termasuk dalam kelompok NAPZA (narkotika, alkohol, psikotropika, dan zat adiktif lainnya). Penyalahgunaan NAPZA di Indonesia sekarang sudah merupakan ancaman yang serius bagi kehidupan bangsa dan negara. Diprediksi pada tahun 2007 sekitar 1,5% dari seluruh populasi penduduk Indonesia merupakan penyalahguna NAPZA, dengan estimasi terakhir mencapai lima juta jiwa. Pengungkapan kasusnya di Indonesia meningkat rata-rata 28,9 % per tahun (1). Usia remaja merupakan usia bagi banyak orang mulai mencoba mengkonsumsi etanol (2). Usia remaja adalah saat terjadinya neuromaturasi, hal ini menyebabkan otak pada usia remaja lebih rentan terhadap kerusakan akibat etanol dibanding dengan otak pada usia dewasa yang relatif stabil (3).

Komplikasi yang ditimbulkan setelah beberapa tahun mengkonsumsi etanol dapat mengenai sistem saraf pusat (4). Perubahan morfologis, neurofisiologis, dan biokimiawi pada sistem saraf pusat berakibat penurunan fungsi kognisi (5). Gangguan memori merupakan salah satu akibat intoksikasi etanol (6).

Mekanisme yang mendasari pengaruh etanol terhadap penurunan memori kerja spasial belum jelas benar diduga karena perubahan neurotransmitter, perubahan neuroanatomi, atau perubahan protein reseptor di hippocampus (7).

Hippocampus lebih rentan terhadap efek etanol karena memiliki kadar vitamin E endogen yang lebih rendah dibanding bagian otak yang lain (8). *Hippocampus* terlibat dalam pembentukan memori kerja bersama dengan komponen cortex prefrontalis (9,10). Informasi spasial dipertahankan di *hippocampus* dan selanjutnya digunakan oleh cortex prefrontalis ketika dipakai untuk perencanaan respon mencari makan (11).

Belajar (*learning*) dan memori spasial pada binatang berperan membantu binatang menemukan lokasi yang dapat menyediakan diantaranya makanan dan keselamatan untuk mempertahankan hidup. Tikus menunjukkan kemampuan spasial yang luar biasa. Oleh karena itu tikus digunakan sebagai hewan model kemampuan kognisi spasial dengan *maze*. *Maze* radial dengan lengan *reward* adalah alat yang bermanfaat untuk menilai kemampuan memori kerja spasial (12).

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkapkan pengaruh pemberian etanol secara kronik terhadap memori kerja spasial pada tikus (*Rattus norvegicus*) remaja.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) jantan remaja, berumur 30 hari galur Sprague-Dawley, berat badan 50-75 gram, diperoleh dari UPHP UGM sebanyak 25 ekor (13). Pakan tikus berupa pellet dan air minum diberikan setiap hari secara *ad libitum*. Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah etanol absolute, cairan fisiologis. Alat-alat yang dipergunakan adalah *maze* radial delapan lengan, spuit, dan timbangan hewan.

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental sederhana *posttest- only- control group design*. Subjek dibagi menjadi lima kelompok dipilih secara random, yaitu kelompok kontrol tanpa perlakuan (K1), kelompok kontrol perlakuan (K2), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3) masing-masing sebanyak 5 ekor tikus. Setiap tikus dari kelompok P1, P2 dan P3 selama 30 hari diberikan etanol secara intraperitoneal sehari sekali, berturut-turut dengan dosis 1 g/kgbb/hari, 2 g/kgbb/hari, dan 3 g/kgbb/hari, sedangkan kelompok K2 diberikan pelarut etanol (cairan fisiologis) secara intraperitoneal selama 30 hari.

Sebelum dilakukan uji kinerja *maze*, selama 3 hari (3 hari terakhir pemberian etanol) kelima kelompok diadaptasikan dengan *maze*. Selanjutnya selama 12 hari berturut-turut dilakukan uji kinerja *maze* pada kelima kelompok tikus. Tikus diletakkan dalam lempeng silindris dengan arah berlawanan dengan arah peneliti. Pintu gerbang ditutup selama 30 detik agar tikus dapat beradaptasi terlebih dahulu, setelah pintu gerbang diangkat sehingga tikus dapat bergerak bebas ke segala arah. Perlakuan diakhiri setelah tikus memakan semua pelet di seluruh ujung lengan *maze* atau setelah 10 menit. Jika tikus masuk lebih dari setengah lengan *maze* maka dikategorikan telah memasuki lengan *maze* dan apabila tikus memasuki lengan *maze* yang telah dilalui sebelumnya maka tikus dikategorikan gagal. Kinerja *maze* diukur dengan parameter sebagai berikut : 1) jumlah lengan *maze* yang dimasuki tikus, 2) angka kesalahan yang dilakukan tikus waktu memasuki lengan *maze* (kesalahan tipe A, yaitu tikus memasuki kembali lengan yang telah dilalui sebelumnya).

Perbedaan tampilan memori kerja spasial antara kelima kelompok (skala rasio) diuji dengan ANAVA satu jalur dilanjutkan uji t-test untuk melihat perbedaan harian tiap kelompok. Pengambilan keputusan adanya perbedaan bermakna jika nilai probabilitas $p < 0,05$.

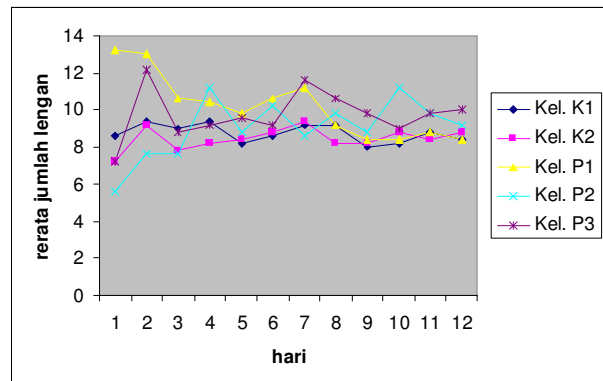
HASIL PENELITIAN

Jumlah lengan yang dimasuki

Setelah pemberian etanol secara kronik, dilakukan uji *maze* radial delapan lengan. Pada kelompok K1 dan K2 jumlah lengan yang dimasuki

lebih sedikit dibanding dengan kelompok P1, P2 dan P3, walaupun terlihat fluktuasi jumlah lengan yang dimasuki hari demi hari.

Jika dilakukan uji ANAVA satu jalur pada kelima kelompok diperoleh hasil homogenitas varian 0,000, oleh karena itu dilakukan uji statistik Kruskal-Wallis didapatkan hasil nilai *Chi. Square* 19,321 dan nilai *Asymp. Sig* 0,001, ada perbedaan bermakna ($P < 0,05$). Selanjutnya dilakukan Mann-Whitney harian selama 12 hari diperoleh hasil antara kelompok K1 dengan K2 tidak ada perbedaan bermakna selama 12 hari, antara kelompok K1 dengan P1 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-2, antara kelompok K1 dengan P2 terdapat perbedaan bermakna pada hari ke-1 & 10, antara kelompok K1 dengan P3 terdapat perbedaan bermakna bermakna pada hari ke-7, antara kelompok K2 dengan P1 perbedaan bermakna pada hari ke-2, antara kelompok K2 dengan P2 dan antara kelompok K2 dengan P3 tidak ada perbedaan bermakna selama 12 hari, antara kelompok P1 dengan P2 bermakna pada hari ke-1 & 2, antara kelompok P1 dengan P3 dan antara kelompok P2 dengan P3 tidak bermakna selama 12 hari.



Gambar 1. Jumlah lengan yang dimasuki oleh kelima kelompok tikus (n = 5 ekor tikus tiap kelompok) pada uji *maze* radial.

Keterangan :

- K1 : Kelompok tanpa perlakuan
- K2 : Kelompok yang diberi larutan fisiologis intraperitoneal selama 30 hari
- P1 : Kelompok yang diberi etanol 1 gr/kgBB/hr intraperitoneal selama 30 hari
- P2 : Kelompok yang diberi etanol 2 gr/kgBB/hr intraperitoneal selama 30 hari
- P3 : Kelompok yang diberi etanol 3 gr/kgBB/hr intraperitoneal selama 30 hari

Angka kesalahan tipe A

Angka kesalahan tipe A pada kelima kelompok setelah pemberian etanol secara kronik terdapat perbedaan yang cukup jauh. Dengan tampilan grafis terlihat bahwa angka kesalahan tipe A yang dilakukan oleh kelompok P1, P2 dan P3 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K1 dan K2.

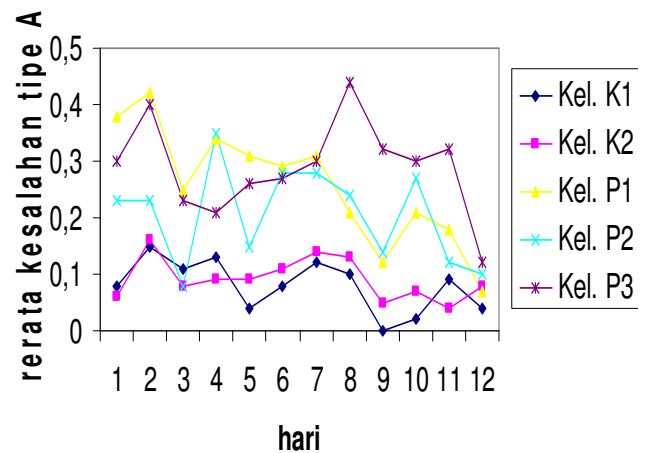
Tabel 1. Hasil uji Mann-Whitney harian jumlah lengan *maze* yang dimasuki oleh tikus (n = 5 ekor tikus tiap kelompok)

Hari	Kelompok									
	K1K2	K1-P1	K1-P2	K1-P3	K2-P1	K2-P2	K2-P3	P1-P2	P1-P3	P2-P3
1	0,310	0,950	0,032*	0,548	0,056	0,222	0,841	0,016*	0,056	0,841
2	1,000	0,008*	0,548	0,151	0,032*	0,548	0,222	0,008*	0,841	0,056
3	0,421	0,310	0,690	1,000	0,151	1,000	0,690	0,222	0,421	0,690
4	1,000	0,548	0,548	0,690	0,310	0,548	0,310	0,690	0,548	0,458
5	0,690	0,421	0,421	0,151	0,548	0,548	0,222	0,841	1,000	0,421
6	0,690	0,222	0,151	0,310	0,310	0,151	0,421	0,841	0,690	0,310
7	1,000	0,421	0,690	0,016*	0,548	0,841	0,095	0,421	0,548	0,056
8	0,548	0,841	0,841	0,421	0,548	0,421	0,310	1,000	0,548	0,548
9	0,690	0,690	0,310	0,151	0,841	0,548	0,151	0,841	0,421	0,421
10	1,000	0,548	0,016*	0,222	0,690	0,056	0,421	0,222	0,690	0,548
11	0,841	0,841	1,000	0,841	0,548	0,841	0,690	1,000	0,690	1,000
12	0,841	0,548	0,841	0,222	0,548	1,000	0,421	0,548	0,151	0,421

Keterangan:

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

Jika dilakukan uji ANOVA satu jalur pada kelima kelompok diperoleh hasil homogenitas varian 0,000, oleh karena itu dilakukan uji statistik Kruskal-Wallis, didapatkan hasil nilai *Chi. Square* 75, 673 dan nilai *Asymp. Sig* 0,000, ada perbedaan bermakna ($P < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney harian selama 12 hari diperoleh hasil antara kelompok K1 dengan K2 tidak bermakna selama 12 hari, antara kelompok K1 dengan P1 bermakna pada hari ke-2 & 5, antara kelompok K1 dengan P2 bermakna pada hari ke-9 & 10, antara kelompok K1 dengan P3 bermakna pada hari ke-1, 2, 5, 6, 7, 8, 9 & 10, antara kelompok K2 dengan P1 bermakna pada hari ke-2, 4 & 5, antara kelompok K2 dengan P2 tidak bermakna selama 12 hari, antara kelompok K2 dengan P3 bermakna pada hari ke-1, 2, 6, 9, 10, 11, antara kelompok P1 dengan P2 bermakna pada hari ke-2, antara kelompok P1 dengan P3 tidak bermakna selama 12 hari, antara kelompok P2 dengan P3 bermakna pada hari ke-9.



Gambar 2. Angka kesalahan tipe A yang dilakukan oleh kelima kelompok tikus (n = 5 ekor tikus tiap kelompok) pada uji *maze* radial

Keterangan :

- K1 : Kelompok tanpa perlakuan
- K2 : Kelompok yang diberi larutan fisiologis intraperitoneal selama 30 hari
- P1 : Kelompok yang diberi ethanol 1 gr/kgBB/hr intraperitoneal selama 30 hari
- P2 : Kelompok yang diberi ethanol 2 gr/kgBB/hr intraperitoneal selama 30 hari
- P3 : Kelompok yang diberi ethanol 3 gr/kgBB/hr intraperitoneal selama 30 hari

Tabel 2. Hasil uji Mann-Withney harian angka kesalahan tipe A oleh tikus (n = 5 ekor tikus tiap kelompok) dalam memasuki lengan *maze*

Hari	Kelompok									
	K1K2	K1-P1	K1-P2	K1-P3	K2-P1	K2-P2	K2-P3	P1-P2	P1-P3	P2-P3
1	0,690	0,095	0,095	0,008*	0,056	0,095	0,008*	0,151	0,222	0,421
2	1,000	0,016*	0,548	0,016*	0,032*	0,421	0,032*	0,056	0,690	0,056
3	0,548	0,310	0,690	0,151	0,151	0,841	0,095	0,222	0,690	0,151
4	1,000	0,095	0,151	0,421	0,032*	0,095	0,222	1,000	0,310	0,310
5	0,421	0,016*	0,421	0,032*	0,032*	0,690	0,056	0,095	0,690	0,310
6	0,841	0,095	0,056	0,032*	0,095	0,095	0,032	1,000	0,841	0,690
7	1,000	0,056	0,151	0,016*	0,151	0,548	0,095	0,548	0,841	0,421
8	1,000	0,310	0,222	0,032*	0,548	0,548	0,056	1,000	0,056	0,151
9	0,310	0,310	0,032*	0,008*	1,000	0,222	0,008*	0,421	0,151	0,032*
10	1,000	0,222	0,016*	0,008*	0,310	0,056	0,032*	0,690	0,690	1,000
11	0,841	0,548	1,000	0,056	0,421	0,841	0,008*	0,690	0,222	0,095
12	0,841	0,841	0,841	0,548	0,841	1,000	0,690	0,690	0,421	0,690

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

DISKUSI

Berdasarkan hasil pengamatan dalam penelitian ini didapatkan hasil adanya pengaruh pemberian etanol secara kronik terhadap penurunan memori kerja spasial terutama pada parameter kesalahan tipe A. Hasil penelitian ini mirip dengan penelitian sebelumnya yang mengungkapkan adanya penurunan memori pada tikus usia 2 bulan setelah diberikan etanol 20% *ad libitum* selama 2 bulan diikuti 3 minggu masa *withdrawal*, dengan alat uji *maze* T (14). Hasil serupa juga mengungkapkan adanya penurunan memori spasial pada tikus remaja (usia 30 hari) dan tidak pada tikus dewasa (usia 65 hari) setelah diberikan etanol intra peritoneal secara akut, dengan *maze* Morris *water* sebagai alat uji memori (15). Dilaporkan adanya hasil yang sebaliknya, bahwa pemberian etanol peroral pada tikus dewasa selama 3 bulan menyebabkan peningkatan memori jangka pendek, kondisi ini didapat dengan interfensi terhadap siklus gelap terang harian yang dibuat selama 24 jam gelap (5). Terdapat perbedaan pengaruh etanol terhadap memori dan koordinasi motorik. Tikus remaja kurang sensitif terhadap gangguan koordinasi motorik karena efek etanol, diduga cerebellum sebagai organ pengatur koordinasi motorik pada masa remaja kurang sensitif terhadap efek etanol (16).

Beberapa kemungkinan mekanisme yang mendasari penurunan memori kerja spasial akibat mengkonsumsi etanol secara kronik: adanya perubahan neurotransmitter, perubahan neuroanatomis, atau perubahan protein reseptor di hippocampus (7). Penurunan memori ini disebabkan karena etanol mempengaruhi aktivitas saluran ion *ligand gate*. Salah satu sifat etanol adalah antagonis terhadap reseptor NMDA, sedangkan reseptor NMDA penting untuk menginduksi terjadinya LTP (15). Penelitian lain menyebutkan bahwa pemberian etanol dengan cara inhalasi intermitten menyebabkan blokade stimulasi tetanik dari kolateral Schaffer yang akan menginduksi terjadinya LTP di CA1 hippocampus, selanjutnya mengalami perbaikan sebagian setelah 5 hari masa *withdrawal* (17). LTP adalah mekanisme seluler yang mendasari terbentuknya memori. Dilaporkan juga bahwa pemberian etanol secara kronik menurunkan jumlah sel piramidal di hippocampus diikuti penurunan memori (18).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil-hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian etanol dengan dosis semakin tinggi secara kronik saat usia remaja menurunkan memori kerja spasial pada tikus.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Djatmiko, P. Berbagai Indikator Taraf Kesehatan Jiwa Masyarakat. http://pds.kijaya.org/index.php?option=com_content&task=view&id=110&Itemid=1, 7 Desember 2007.
2. Spear, L. P. *The Adolescent Brain and The College Drinker : Biological Basis of Propensity to Use and Missuse Alcohol*. Journal of Studies on Alcohol. 2002;14:71-81.
3. Zeigler, D. W., Wang, C. C., Yoast, R. A., Dickinson, B. D., McCaffree, M. A., Robinowitz, C. B., et al. *The Neurocognitive Effects of Alcohol on Adolescents and College Students*. Preventive Medicine. 2005; 40 : 23-32.
4. Ballinger, A. and Patchett, S. *Poisoning, Drug and Alcohol Abuse*. Saunders Pocket Essentials of Clinical Medicine. 4th edition, London; W.B. Saunders Company, 1995.
5. Mikolajczak, P., Kozaryn, I., Nowaczyk, M. and Kaminska, E. *Ethanol Facilitation Short-Term Memory in Adult Rats with a Disturbed Circadian Cycle*. Alcohol & Alcoholism. 2001;36(4):292-97.

6. Ling, W., Compton, P., Rawson, R. and Wesson, D. R. *Neuropsychiatry of Alcohol and Drug Abuse*. Neuropsychiatry, 2nd edition, Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins, 2003
7. Matthews, D. B. and Morrow, A. L. 2000. *Effects of Acute and Chronic Ethanol Exposure on Spatial Cognitive Processing and Hippocampal Function in The Rat*. *Hippocampus*, 2000;10:122-30.
8. Marino, D. M., Aksenov, M. Y. and Kelly, S. J. *Vitamine E Protects Against Alcohol-induced Cell Loss and Oxidative Stress in Neonatal Rat Hippocampus*. *Int. J. Devl. Neurosci*, 2004;22:363-77.
9. Hampton, R. R., and Shettleworth, S. J. *Hippocampal Lesions Impair Memory for Location but not Color in Passerine Birds*. *Behavioral Neuroscience*, 1996;110(4):831-35.
10. Roper, A. H. and Brown, R. H. *Alcohol and Alcoholism & Dementia and The Amnesic Syndrome*. *Adam's and Victor's Principles of Neurology*, 8th edition, New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2005.
11. Seamans, J. K., Floresco, S. B. and Phillips, A. G. *D1 Receptor Modulation of Hippocampal-Prefrontal cortical circuits Integrating Spatial memory with Executive Function in The Rat*. *J. Neurosci.*, 1998;18(4) : 1613-21.
12. Dogru, E. J., Gumusbas, U. and Kara, F. *Individual Variation in the Spatial Reference and Working Memory Assessed under Allothetic and Idiothetic Orientation Cues in Rat*, *Acta Neurobiol. Exp.*, 2003;63 : 17-23.
13. Spear, L. P. *Alcohol's Effects on Adolescent*. *Alcohol Research & Health*, 2002; 26(4): 287-91.
14. Farr, S. A., Scherrer, J. F., Banks, W. A., Flood, J. F. and Morley, J. E. *Chronic Ethanol Consumption Impairs Learning and Memory after Cessation of Ethanol*. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 2005; 29 (6) : 9711-82.
15. Markwiese, B. J., Acheson, S. K., Levin, E. D., Wilson, W. A. and Swartzwelder, H. S. *Differential Effects of Ethanol on Memory in Adolescent and Adult Rats*. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 1998; 22 (2) : 416-21.
16. Sturmhofel, S. H. and Swartzwelder, H. S. *Alcohol's Effects on the Adolescent Brain*. *Alcohol Research & Health*, 2004; 28 (4) : 213-21.
17. Roberto, M., Nelson, T. E., Ur, C. L. and Gruol, D. L. *Long-Term Potentiation in The Rat Hippocampus is Reversibly Depressed by Chronic Intermittent ethanol exposure*. *J. Neurophysiol*, 2001;87:2385-97.
18. Franke, H., Kittner, H., Berger, P., Wirkner, K. And Schramek, J. *The Reaction of Astrocytes and Neurons in The Hippocampus of Adult Rats During Chronic Ethanol Treatment and Correlations to behavioral Impairments*. *Alcohol*, 1997; 14 (5) : 445-54