

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E DALAM MENCEGAH PENURUNAN FUNGSI KOGNITIF VISUOSPASIAL TIKUS YANG TERPAPAR *HEAT STRESS*

Satria Fadhil Ardika¹, Ratih Vierda Octaviani, Muyassaroh³

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu Penyakit Syaraf, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Ilmu Penyakit THT-KL, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Salah satu penyebab yang dapat menimbulkan gangguan pada fungsi kognitif adalah *heat stress*. Peningkatan mortalitas akibat *heat stress* diperkirakan akan menjadi salah satu dampak yang paling mungkin dari perubahan iklim di masa depan. Vitamin E sebagai antioksidan telah terbukti menjadi salah satu terapi pada gangguan neurodegeneratif yang terkait dengan stress oksidatif. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin E dalam mencegah penurunan fungsi kognitif visuospatial tikus yang terpapar *heat stress*. **Metode:** Penelitian eksperimental murni dengan rancangan *post-test only controlled group* dengan jumlah sampel 21 tikus Sprague Dawley jantan dibagi secara acak menjadi 3 kelompok: kontrol negatif (K1) tidak diberikan paparan *heat stress* dan vitamin E, kontrol positif (K2) diberikan paparan *heat stress* 43°C selama 15 menit/hari, perlakuan (P) diberikan vitamin E dengan dosis 0,1 mg/g bb/ hari dengan cara sonde lambung 2 jam sebelum diberikan paparan *heat stress* 43°C selama 15 menit/hari. perlakuan dilakukan selama 14 hari. fungsi kognitif visuospatial diuji dengan *Morris Water Maze Test* (MWM) selama 5 hari. Analisis data dengan SPSS uji One Way Anova. **Hasil:** Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2), dan perlakuan (P) ($p=0,018$). Gangguan fungsi kognitif visuospatial lebih tinggi secara bermakna pada kelompok kontrol positif (K2) dibandingkan dengan kontrol negatif (K1) ($p=0,028$) dan lebih rendah secara bermakna pada kelompok perlakuan (P) dibandingkan kontrol positif (K2) ($p=0,008$). **Kesimpulan:** Pemberian vitamin E dapat mencegah penurunan fungsi kognitif visuospatial tikus yang dipaparkan *heat stress*.

Kata kunci: Fungsi kognitif visuospatial, vitamin E, *heat stress*

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF GIVING VITAMIN E IN ORDER TO PREVENT THE DECREASED OF VISUOSPASIAL COGNITIVE FUNCTION MOUSE THAT EXPOSED TO HEAT STRESS

Background: One of the causes that can induce disruption of cognitive function is heat stress. The escalation of mortality number due to heat stress will become one of the most likely impact of climate change in the future. Vitamin E as an antioxidant has been proven to be one of the neurodegenerative disorders therapy which is associated with oxidative stress. **Aim:** The aim of this study is to know the effect of vitamin E to prevent the degradation of visuospatial cognitive function of rat exposed to heat stress. **Method:** True experimental study with *post-test only controlled group* design with total sample of 21 male Sprague Dawley rats were randomly divided into 3 groups: negative control (K1) not being exposed to heat stress and vitamin E, positive control (K2) being given 43°C heat stress exposure for 15

minutes/day, treatment (P) being given vitamin E with the dose 0,1 mg/g bw/day using feeding tube for rat 2 hours before being exposed to 43°C heat stress for 15 minutes/day. The treatment is being performed for 14 days. The visuospatial cognitive was tested using Morris Water Maze Test (MWM) for 5 days. Analysis with SPSS One Way Anova. **Results:** The result of this study shows that there is a significance difference between negative control group (K1), positive control (K2), and treatment (P) ($p=0,018$). Visuospatial cognitive impairment is significantly higher in positive control group (K2) than the negative control (K1) ($p=0,028$) and significantly lower in treatment group (P) than the positive control (K2) ($p=0,008$). **Conclusion:** The treatment of vitamin E could prevent the cognitive visuospatial impairment of rat exposed to heat stress.

Keywords: Visuospatial cognitive function, vitamin E, heat stress.

PENDAHULUAN

Fungsi kognitif mengacu pada kemampuan proses mental, serta kemampuan ingatan, pengetahuan, perhatian, penalaran, pemecahan masalah, dan pemahaman.¹ Kemunduran pada fungsi kognitif dapat mempengaruhi pola interaksi seseorang dengan lingkungan tempat tinggal, dengan anggota keluarga yang lain, juga pola aktivitas sosialnya.² Salah satu penyebab yang dapat menimbulkan gangguan pada fungsi kognitif adalah *heat stress*. Penelitian-penelitian menunjukkan bahwa *heat stress* menginduksi berbagai respon fisiologis dan patofisiologis, seperti adaptasi panas, hipertermia, hipoglikemia, kehilangan air, perdarahan lambung, disfungsi spermatogenik, gangguan metabolisme sistemik, peningkatan tekanan darah, peningkatan denyut jantung, penurunan nafsu makan, kenaikan berat badan,

peningkatan kadar glukokortikoid darah dan pelepasan vasopresin.^{3,4}

Heat stress dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas.⁵ Vitamin E mampu melawan radikal bebas dengan cara menetralkan radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipid.⁶ Vitamin E adalah prototipe dari senyawa fenolik. Sebagai antioksidan, vitamin E atau varian sintesis dari vitamin E dapat menembus sawar darah otak dan telah menunjukkan hasil dalam beberapa gangguan neurodegeneratif dimana stress oksidatif terlibat. Seperti pada penyakit alzheimer dosis tinggi vitamin E adalah salah satu intervensi yang dapat memperlambat perkembangan Alzheimer.⁷

Suplemen vitamin E telah menunjukkan hasil pada beberapa gangguan neurodegeneratif. Oleh sebab itu vitamin E akan menjadi salah satu terapi pada gangguan neurodegeneratif yang terkait dengan stress oksidatif.⁸ Tujuan penelitian

ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin E dalam mencegah penurunan fungsi kognitif visuospasial pada tikus Sprague Dawley jantan yang terpapar *heat stress*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin E dalam mencegah penurunan fungsi kognitif visuospasial pada tikus Sprague Dawley jantan yang terpapar *heat stress*.

METODE

Penelitian eksperimental dengan rancangan *true experimental post-test only*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Kriteria inklusi penelitian ini adalah tikus sprague dawley minimal usia 2 bulan dengan berat badan 210-300 gram sehat dan aktif. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah terdapat kelainan anatomis pada tikus sprague dawley. Kriteria drop out penelitian ini adalah tikus Sprague dawley mati saat penelitian.

Sampel yang digunakan oleh masing-masing kelompok 7 tikus. Sampel diambil dengan cara *simple random sampling* dan dibagi menjadi kelompok kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2) dan perlakuan (P). Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok yang masing-

masing menggunakan lima ekor tikus Sprague dawley, dan dua sebagai cadangan sehingga jumlah total tikus Sprague dawley yang digunakan adalah 21. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok tikus sprague dawley yang tidak mendapatkan paparan *heat stress* dan tidak mendapatkan vitamin E. Kelompok kontrol positif adalah kelompok tikus sprague dawley yang mendapatkan paparan heat stress 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari. Kelompok perlakuan adalah kelompok tikus sprague dawley yang mendapatkan vitamin E 0,1 mg/g berat badan/ hari dengan cara sonde lambung 2 jam sebelum diberikan paparan heat stress 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari.^{9,10,11} Kemudian fungsi kognitif visuospasial tikus di uji dengan *Morris Water Maze Test* (MWM) yang dilakukan selama 5 hari di Laboratorium Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Morris Water Maze Test (MWM) digunakan untuk menguji kemampuan belajar yang tergantung pada *hippocampus* (memori), termasuk akuisisi memori spasial dan memori spasial jangka panjang.¹²

Metode ini telah digunakan secara luas dalam studi neurobiologi dan

neurofarmakologi untuk menilai memori dan visuospasial. MWM memainkan peran penting dalam validasi model tikus untuk gangguan neurokognitif seperti pada Alzheimer Disease.¹³

Alat tersusun dengan kolam sirkuler (diameter 150 cm, tinggi 50 cm) diisi air ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$) hingga dalamnya 30 cm, dengan platform tujuan yang transparan (kaca) berdiameter 8 cm diletakkan 1 cm dibawah permukaan air. Tikus (n=6 tiap kelompok) dilakukan tes selama 5 hari, pada hari 1-4 (*Visible Platform Test, Hidden Platform Test*) akan dilakukan percobaan selama 5 kali tiap harinya, sedangkan pada hari ke 5 akan dilakukan 1 kali percobaan.¹¹

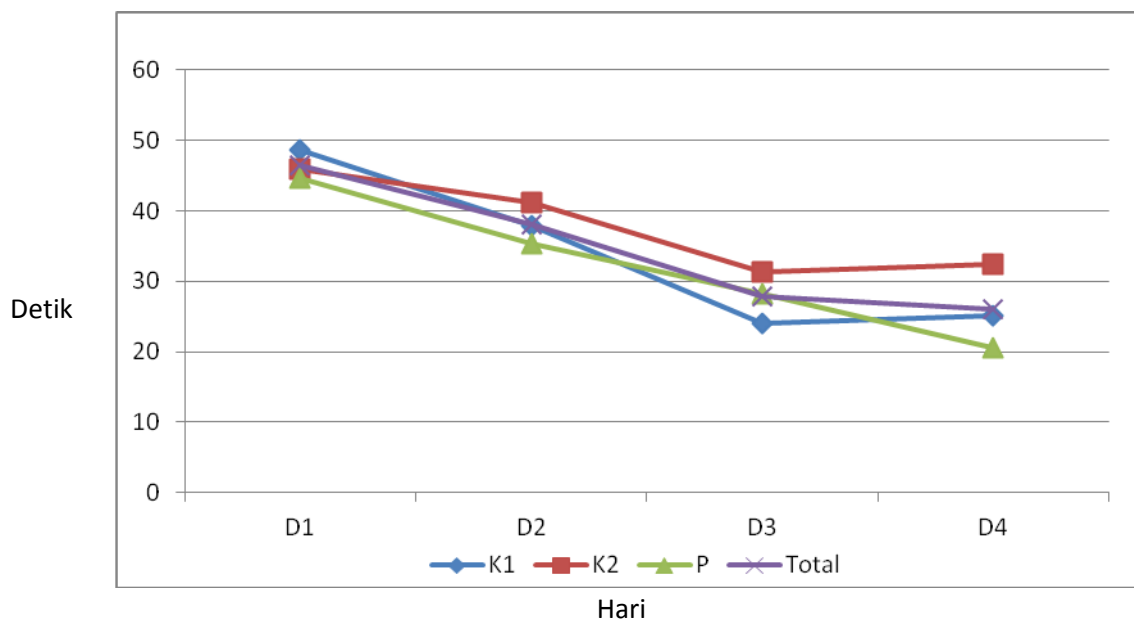
Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian vitamin E secara sonde

lambung sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah fungsi kognitif visuospasial tikus sprague dawley jantan. Pada ketiga kelompok dilakukan uji hipotesis menggunakan uji *One Way Anova*.

HASIL

Pengambilan data penelitian dilakukan Agustus-Oktober 2017. Jumlah sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi adalah 21 ekor tikus sprague dawley, tidak terdapat tikus sprague dawley yang mengalami *drop out*.

Grafik menunjukkan terdapat penurunan waktu uji coba pada tiap kelompok.



Gambar 1. Grafik waktu percobaan pada hari 1-4 K1, K2, P.

Keterangan:

- K1 : Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan.
- K2 : Kelompok kontrol positif akan diberikan paparan *heat stress* 43 °C selama 15 menit/hari dalam 14 hari.
- P : Kelompok perlakuan akan diberikan vitamin E dengan dosis 0,1 mg/g bb/ hari dengan cara sonde lambung 2 jam sebelum dilakukan paparan *heat stress* dengan suhu 43 °C selama 15 menit/hari dalam 14 hari.
- D1 : Hari pertama
- D2 : Hari kedua
- D3 : Hari ketiga
- D4 : Hari keempat

Analisis Deskriptif Data Penelitian

Hasil pengukuran waktu Fungsi Kognitif visuospasial tikus Sprague Dawley jantan adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Jumlah rerata waktu pada hari ke 5 (Probe Test).

Nomor	Lama Waktu Tikus pada Platform Fungsi Kognitif Visuospasial (sec)		
	K1	K2	P
1	31	27	44
2	27	14	31
3	35	18	36
4	40	24	35
5	37	25	32
6	37	40	37
7	35	36	42
X ± SD	34,57 ± 4,31	26,29 ± 9,21	35,71 ± 4,82

Keterangan: *terdapat dua sampel perlakuan yang tidak mengalami gangguan kognitif pada kelompok kontrol positif (K2).

Analisis Statistik Data Penelitian

Uji normalitas Saphiro Wilk pada *Probe Test* (hari ke 5) didapatkan sebaran data normal ($p > 0,05$) pada semua kelompok dengan nilai $p = 0,927$ pada K1, $p = 0,470$ pada K2, $p = 0,296$ pada kelompok P. Varian data yang diuji dengan menggunakan *Levene's Test* menunjukkan varian data homogen dengan nilai data $p = 0,850$ ($p > 0,05$) *Probe Test* (hari ke 5). Karena data terdistribusi normal dan memiliki data yang homogen maka dapat dilakukan uji *One Way Anova*. Pada pengujian data dengan uji *One Way Anova* didapatkan nilai yang signifikan Karena nilai $p < 0,05$ dengan nilai $p = 0,002$ pada *Probe Test* (hari ke 5).

Tabel 2. Hasil Jumlah rerata waktu pada hari ke 5 (Probe Test).

<i>Probe Test (hari ke 5)</i>		
K1	34,57 ± 4,31	
K2	26,29 ± 9,21	0,018*
P	35,71 ± 4,82	

Keterangan: *signifikan (p<0,05)

Setelah didapatkan nilai yang signifikan pada *Probe Test* (hari ke 5) pada uji *One Way Anova* maka selanjutnya data dapat diuji kemaknaan antar tiap kelompok dengan uji *Post Hoc*. Hasil uji *Post Hoc* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Perbedaan jumlah rerata waktu pada hari ke 5 (Probe Test).

Kelompo k	K1	K2	P
K1	-	P=0,028 *	P=0,545
K2	P=0,028 *	-	P=0,008 *
P	P=0,545	P=0,008 *	-

Keterangan: *signifikan (p<0,05)

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok Kontrol negatif (K1) dengan kelompok Kontrol Positif (K2) dan kelompok Kontrol Positif (K2) dengan kelompok Perlakuan (P). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara

kelompok Kontrol Negatif (K1) dengan kelompok Perlakuan (P).

PEMBAHASAN

Pemberian paparan heat stress bertujuan untuk meningkatkan radikal bebas dalam tubuh sehingga kadar antioksidan endogen tidak mampu lagi menangani radikal bebas dan tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Data yang digunakan pada masing masing kelompok berjumlah 7 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif (K1) pada penelitian ini berperan sebagai dasar nilai normal fungsi kognitif visuospasial pada tikus sprague dawley. Paparan *heat stress* 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari. Pada kelompok Kontrol positif (K2) mengalami penurunan rerata nilai fungsi kognitif visuospasial 23,9% dari rerata nilai kelompok Kontrol negatif (K1). Hasil temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wonil Lee dkk (2015) yang melakukan penelitian tentang *heat stress* menyebabkan gangguan memori pada mencit. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa *heat stress* secara signifikan mempengaruhi gangguan pada memori karena *heat stress* menyebabkan aktivasi sel glial dan induksi molekul inflamasi di hippocampus, yang merupakan faktor penyebab hilangnya

ingatan, kematian neuron, dan neurogenesis yang terganggu.⁹

Pemberian vitamin E dengan dosis 0,1 mg/g berat badan/ hari sebelum diberikan paparan *heat stress* 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari pada kelompok perlakuan (P) menghasilkan rerata nilai fungsi kognitif visuospasial 3,1% lebih baik dibandingkan dengan rerata nilai kelompok kontrol negatif (K1). Kelompok perlakuan (P) yang diberi vitamin E dengan dosis 0,1 mg/g berat badan/ hari 2 jam sebelum diberikan paparan *heat stress* 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari lebih baik 26,3% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K2) yang terpapar *heat stress* pada suhu 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari.

Pemberian vitamin E dengan dosis 0,1 mg/g berat badan/ hari 2 jam sebelum diberikan paparan *heat stress* 43°C selama 15 menit/hari dalam 14 hari menunjukkan dapat mencegah penurunan fungsi kognitif visuospasial secara signifikan. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tianrong Pan dkk (2012) yang melakukan penelitian tentang Terapi penggantian Levothyroxine dengan suplementasi vitamin E mencegah stres oksidatif dan defisit kognitif pada

hipotiroidisme. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa suplementasi vitamin E dapat memperbaiki kerusakan kognitif pada hipotiroid melalui penurunan status stres oksidatif.¹⁴

Nilai rerata fungsi kognitif visuospasial tikus kelompok kontrol negatif (K1) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan (P). peningkatan nilai rerata fungsi kognitif visuospasial antara kelompok perlakuan (P) terhadap kelompok kontrol negatif meskipun menunjukkan hasil tidak signifikan. Selain pemberian vitamin E pada kelompok P, peningkatan nilai rerata pada kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif dapat dijelaskan oleh penelitian Zahra Kiasalari (2016), bahwa vitamin E dapat memperbaiki memori, dan memiliki potensi untuk mengurangi stres oksidatif hippocampal.¹⁵

Vitamin E berperan sebagai antioksidan dan dapat melindungi kerusakan membran akibat radikal bebas.¹⁶ Pada penelitian ini, vitamin E telah terbukti secara statistik dapat mencegah penurunan fungsi kognitif visuospasial akibat *heat stress* sehingga dapat dijadikan rekomendasi atau penelitian lebih lanjut mengenai pengaruhnya terhadap paparan *heat stress* pada manusia.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pada kelompok Kontrol positif (K2) mengalami penurunan fungsi kognitif visuospasial secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K1). Pemberian vitamin E sebelum diberikan paparan *heat stress* pada kelompok perlakuan (P) terbukti dapat mencegah penurunan fungsi kognitif visuospasial secara signifikan jika dibandingkan kontrol positif (K2).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian vitamin E terhadap pencegahan penurunan fungsi kognitif sebelum dipaparkan *heat stress* dengan mengukur kadar antioksidan alami tikus sebelum penelitian. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian vitamin E setelah diberikan paparan *heat stress* selama 14 hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Culpepper, L. Neuroanatomy and physiology of cognition. *J Clin Psychiatry*. 76(7), e900. (2015).
2. Boedhi-Darmojo, R. Gerontologi Sosial. Dalam: *Geriatric (Ilmu Kesehatan Usia Lanjut)* Ed. 4. Martonono HH, Pranarka K. (eds). Balai Penerbit FKUI. 14–34. (2010).
3. Harikai N, Tomogane K, Miyamoto M, Shimada K, Onodera S, Tashiro S. Dynamic responses to acute heat stress between 34 degrees C and 38.5 degrees C, and characteristics of heat stress response in mice. *Biol Pharm Bull*. 26, 701–8. (2003).
4. Moran D, Shapiro Y, Meiri U, Laor A, Horowitz M. Heat acclimation: cardiovascular response to hot/dry and hot/wet heat loads in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 7, 375–87. (1996).
5. A.S Haffor, M. A.-J. Effect of Heat Stress, Hypoxia and Hypoxia-hyperoxia on Free Radical Production in mice *Mus musculus*. *J. Med. Sci*. 5, 89–94. (2005).
6. Sulistyowati, Y. Pengaruh pemberian likopen terhadap status antioksidan (Vitamin C, Vitamin E, Gluthation Peroksidase) tikus (*Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley) hiperkolesterolemik. *Progr. Stud. Magister Ilmu Biomedik*. 30. (2006).
7. Sano, M., Ernesto, C., Thomas, R.G., Klauber, M.R., Schafer, K. & Grundman, M., Woodbury, P., Growdon, J., Cotman, C.W., Pfeiffer, E., Schneider, L.S. and

- Thal, L. J. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer 's disease. The Alzheimer 's Disease Cooperative Study. *N. Engl. J. Med.* 336, 1216–1222. (1997).
8. Butterfield, D. A., Castegna, A., Drake, J., Scapagnini, G. & Calabrese, V. Vitamin E and neurodegenerative disorders associated with oxidative stress. *Nutr. Neurosci.* 5, 229–239. (2002).
9. Lee, W., Moon, M., Kim, H. G., Lee, T. H. & Oh, M. S. Heat stress-induced memory impairment is associated with neuroinflammation in mice. *J. Neuroinflammation.* 12, 102. (2015).
10. Rafati, A., Nourzei, N., Karbalay-Doust, S. & Noorafshan, A. Using vitamin E to prevent the impairment in behavioral test, cell loss and dendrite changes in medial prefrontal cortex induced by tartrazine in rats. *Acta Histochem.* 119, 172–180. (2017).
11. Bromley-brits, K., Deng, Y. & Song, W. Morris Water Maze Test for Learning and Memory Deficits in Alzheimer 's Disease Model Mice. *J. Vis.* 2–6. (2011).
12. Morris, R. G. M. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn. Motiv.* 12, 239–260. (1981).
13. Qing, H., He, G., Ly, P.T., Fox, C.J., Staufenbiel, M., Cai, F., Zhang, Z., Wei, S., Sun, X., Chen, C.H., Zhou, W., Wang, K. and Song, W. Valproic acid inhibits Abeta production, neuritic plaque formation, and behavioral deficits in Alzheimer's disease mouse models. *J Exp Med.* 205, 2781–2789. (2008).
14. Pan, T., Zhong, M. & Zhong, X. Levothyroxine replacement therapy with vitamin E supplementation prevents oxidative stress and cognitive deficit in experimental hypothyroidism. *Springer Sci. Bus. Media New York* 43, 434–439. (2013).
15. Kiasalari Z, Khalili M, Shafiee S, Roghani M. The effect of Vitamin E on learning and memory deficits in intrahippocampal kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats. *Indian J Pharmacol* 48, 11–4. (2016).
16. Gan Gunawan, Sulistia. *Farmakologi dan Terapi dalam. Jakarta UI Press.* 787. (2008).