

## HIBISCUS SABDARIFFA LINN. MENCEGAH PENURUNAN FUNGSI MEMORI KERJA PADA MENCIT MODEL DIABETES TIPE 2

Trinovita Andraini<sup>1</sup>, Risa Kusuma Anggraeni<sup>2\*</sup>, Nurhadi Ibrahim<sup>1</sup>, Minarma Siagian<sup>1</sup>,  
Nikma Mawaddah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departemen Fisiologi dan Biofisika Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

<sup>2</sup> Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

\*email: risakusumaanggraeni08@gmail.com

### ABSTRAK

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penurunan fungsi memori. Pemberian herbal yang kaya akan polifenol dipercaya memiliki efek positif pada fungsi memori. Penelitian terbaru menunjukkan salah satu kandidat herbal yang cukup potensial diantaranya *Hibiscus sabdariffa* Linn. (HSL) dapat memperbaiki fungsi memori pada beberapa kondisi. Namun penelitian yang membuktikan apakah HSL dapat mempengaruhi fungsi memori pada kondisi DM masih terbatas. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis pengaruh pemberian HSL terhadap fungsi memori kerja spasial (*spatial working memory*) pada DM. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan mencit DDY berusia 9-11 minggu yang dibagi menjadi empat kelompok: kontrol (K), kontrol DM (DM), DM dengan HSL dosis 200 mg/kgBB (DM-HSL200), dan DM dengan HSL dosis 400 mg/kgBB (DM-HSL400). Hewan coba mendapat perlakuan selama 28 hari. Fungsi memori dinilai dengan *Y-Maze spontaneous alternation* sebelum dan sesudah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan penurunan fungsi memori kerja spasial pada kelompok DM. Pemberian HSL dapat mempertahankan fungsi memori kerja spasial pada mencit DM. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian HSL dapat berpotensi mencegah penurunan fungsi memori kerja spasial pada DM.

**Kata kunci :** *Hibiscus sabdariffa* Linn., Memori kerja, Diabetes melitus, *Y-maze spontaneous alternation*

### ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a risk factor for memory impairment. Administration of herbal medicine which is rich in polyphenol has been believed have a positive impact on memory performance. Recent studies showed one of the potential candidates of herbal medicine is *Hibiscus sabdariffa* Linn. (HSL) which can improve memory function in several conditions. However, researches which prove will HSL affect memory function in DM is still limited. The aim of the study is to investigate the effect of HSL administrating on spatial working memory in DM. This study is an experimental study using DDY mice aged 9-11 weeks which were divided into four groups: control (K), DM control (DM), DM with HSL at a dose of 200 mg/kgBW (DM-HSL200), and DM with HSL at a dose of 400 mg/kgBW (DM-HSL400). Experimental animals were given treatment for 28 days. All groups performed Y- Maze spontaneous alternation before and after treatment. The results of this study showed a decrease in memory function in the DM group. Administration of HSL can maintain memory function in DM mice. These findings indicate that administration of HSL has potency to prevent memory impairment in DM.

**Keywords :** *Hibiscus sabdariffa* Linn., spatial working memory, diabetes mellitus, Y-maze spontaneous alternation.

### 1. PENDAHULUAN

Kemajuan dan perkembangan teknologi serta peningkatan wawasan pada era industri 4.0 mempengaruhi perkembangan berbagai bidang khususnya bidang kesehatan yang secara tidak langsung juga mempengaruhi angka harapan hidup. Angka harapan hidup secara global meningkat dari 66,8 tahun menjadi 73,4 tahun pada rentang

tahun 2000-2019.<sup>1</sup> Angka harapan hidup di Indonesia pun juga mengalami peningkatan, mencapai 69,67 tahun pada laki-laki dan 73,55 tahun pada wanita berdasarkan data Badan Pusat Statistik pada tahun 2021.<sup>2</sup> Sayangnya, peningkatan angka harapan hidup tidak sepenuhnya diikuti dengan peningkatan kualitas hidup pada usia lanjut karena juga diikuti dengan peningkatan risiko penyakit degeneratif.

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif dengan gangguan metabolisme glukosa, yang sering kali dikaitkan dengan komplikasi jangka panjang, disfungsi dan kegagalan berbagai organ tubuh.<sup>3</sup> Selain itu DM juga sering dihubungkan dengan penurunan fungsi kognitif dan demensia; dan merupakan faktor risiko penyakit Alzheimer.<sup>4</sup> Data *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2021 menyebutkan terdapat 537 juta orang dengan diabetes, angka tersebut lebih tinggi sekitar 16% atau 74 juta jiwa dibandingkan dengan data IDF tahun 2019.<sup>5</sup> Penderita DM memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami gangguan kognitif yang bermanifestasi lebih lambat dalam pemrosesan informasi, gangguan fungsi eksekutif dan defisit pembelajaran dan memori.<sup>6</sup> Saat ini gangguan kognitif terkait diabetes menjadi perhatian di seluruh dunia karena mempengaruhi kualitas hidup.<sup>7</sup>

Berdasarkan beberapa penelitian terdapat beberapa mekanisme seluler dan molekuler yang berhubungan dengan penurunan fungsi memori pada DM diantaranya adanya hiperglikemia kronis yang memicu beberapa mekanisme patogen seperti gangguan sinyal insulin serebral, perubahan metabolisme amiloid, akumulasi *advanced glycation end products* (AGEs), peningkatan stres oksidatif, dan neuroinflamasi.<sup>8,9</sup> Sejalan dengan mekanisme tersebut, ekstrak dari tanaman dengan potensi antiinflamasi dan antioksidan dipercaya dapat digunakan sebagai pencegah atau mengobati gangguan fungsi memori.<sup>10</sup>

*Hibiscus sabdariffa* Linn. (HSL) merupakan salah satu tanaman herbal, keluarga Malvaceae yang umumnya digunakan untuk teh, selai, anggur, dan jus. Tanaman ini sangat populer di daerah di Afrika Barat dan Asia tropis.<sup>11,12</sup> Komposisi kimiawi dari ekstrak HSL terdiri dari alkaloid, antosianin,  $\beta$ -karoten, cyanidin-3 rutinoside, delphinidin, hibiscetin, mukopolisakarida, pektin, asam protokatekuat, polisakarida, quercetin, asam stearat, dan wax.<sup>13</sup> HSL memiliki khasiat antinflamasi dan antioksidan kuat.<sup>14</sup> HSL secara turun temurun dipercaya sebagai obat tradisional yang memiliki beberapa khasiat seperti anti hipertensi, anti hiperlipid, dan anti oksidan.<sup>15</sup>

Selain itu, penelitian terbaru juga menunjukkan Quercertine; salah satu zat aktif yang terkandung dalam HSL berperan dalam memperbaiki fungsi memori pada model hewan Alzheimer.<sup>11,16</sup> Saat ini penelitian apakah HSL dapat mencegah penurunan fungsi memori pada kondisi DM masih terbatas. Oleh karena itu, pada penelitian ini ingin mengetahui potensi HSL dalam mencegah gangguan fungsi memori pada model hewan DM.

## BAHAN DAN METODE

### 2.1 Hewan coba

Penelitian ini menggunakan mencit DDY jantan berjumlah 30 ekor berusia antara 9 sampai 11 minggu. Hewan diperoleh dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor (IPB). Mencit dipelihara di Animal Research Facility <http://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>  
doi:10.24843.MU.2022.V11.i12.P07

(ARF) IMERI-FKUI, dalam kandang *closed system* dengan siklus terang gelap 12/12 jam. Kandang mencit dijaga kebersihannya dan suhu lingkungan dipertahankan  $\pm 23^{\circ}\text{C}$ . Mencit dijaga kesehatannya dan diberikan makanan dan minuman secara *ad libitum*.

Protokol penelitian disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI) – RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) dengan nomor KET-1043/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2020 dan nomor protokol 20-08-1035. Mencit dibagi secara acak menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol (K), kelompok DM (K-DM), kelompok DM dengan pemberian HSL 200mg/kgBB (DM-HSL200), dan HSL 400mg/kgBB (DM-HSL400).

### 2.2 Induksi diabetes mellitus

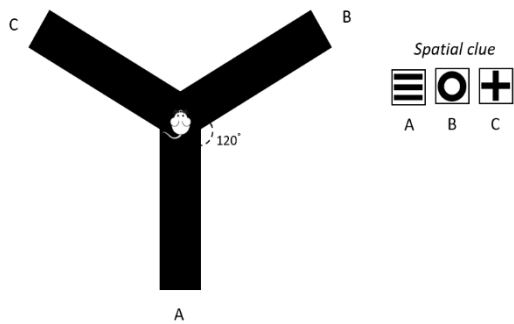
Mencit DM diinduksi dengan pemberian diet tinggi lemak selama tiga minggu diikuti dengan pemberian Streptozotocin (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis 40 mg/KgBB sebanyak dua kali pemberian dengan interval 1 minggu. Mencit dikategorikan DM jika kadar gula darah puasa lebih dari 150 mg/dL.<sup>17</sup> Model ini bertujuan untuk memodelkan DM tipe 2 yang dimulai dengan resistensi insulin akibat pemberian diet tinggi lemak dan selanjutnya terjadi penurunan produksi insulin oleh sel beta pankreas akibat pemberian STZ dosis rendah tanpa merusak sel beta pankreas secara keseluruhan.<sup>18</sup>

### 2.3 Ekstrak etanol HSL

Ekstrak etanol HSL diperoleh dari kaliks tanaman HSL dari Pusat Studi Biofarmasi Institut Pertanian Bogor (IPB) yang dimaserasi dengan etanol yang dilakukan di Laboratorium Kimia Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Ekstrak etanol HSL diberikan secara oral dengan sonde dengan dosis 200 atau 400 mg/kgBB sebanyak 1 kali dalam sehari selama 28 hari. Kelompok kontrol dan kelompok DM disonde *aquadest* dengan jumlah yang sama dengan kelompok perlakuan sebanyak 1 kali dalam sehari selama 28 hari.

### 2.4 Uji Memori Y-Maze Spontaneous Alternation

Uji memori mencit dilakukan dengan metode *Y-maze spontaneous alternation*, yang menggambarkan memori kerja spasial (*spatial-working memory*). Uji Fungsi memori ini menggambarkan fungsi beberapa bagian otak termasuk hipokampus, septum, basal forebrain, dan korteks prefrontal.<sup>19</sup> Uji memori dilakukan sebelum dan pada akhir periode pemberian perlakuan HSL. Aparatus Uji Memori yang digunakan berbentuk huruf Y berukuran 21 x 7 x 15,5 cm, berwarna gelap, terbuat dari bahan akrilik. Terdapat pola gambar hitam putih yang berbeda pada masing-masing ujung lengan aparatus sebagai *spatial clue* (Gambar 1).



**Gambar 1.** Aparatus *Y Maze Spontaneous Alternation*

Protokol *Y-maze Spontaneous Alternation* berdasarkan protokol dari Stanford Behavioral and Functional Neuroscience Laboratory<sup>20</sup> dan Kraeuter dkk<sup>21</sup> yang telah dimodifikasi. Tiga hari sebelum uji, dilakukan adaptasi ruangan dan adaptasi terhadap pemeriksa untuk mengurangi stres pada mencit. Pada pemeriksaan mencit diletakkan dalam aparatus dengan menghadap ke dinding salah satu lengan, kemudian mencit dibiarkan bebas menjelajahi aparatus selama 5 menit. Setiap urutan lengan yang dimasuki mencit dicatat selama pemeriksaan. Mencit dikategorikan masuk ke lengan aparatus jika keempat ekstremitas atau 80% tubuh mencit masuk ke dalam lengan aparatus. Selanjutnya pola masuk ke tiga lengan secara bergantian (*Spontaneous alternation*) dihitung. Performa memori kerja spasial ditentukan dari persentase alternasi yang didapat dengan formula sebagai berikut: persentase dari jumlah alternasi dibagi (jumlah total entri dikurangi dua).

Uji ini berdasarkan sifat alami mencit untuk mengeksplorasi lingkungan baru. Mencit normal dengan fungsi memori baik akan lebih suka mengeksplorasi lengan aparatus yang berbeda dari yang telah mereka kunjungi pada entri sebelumnya sehingga memiliki nilai alternasi yang tinggi dibandingkan mencit dengan kelainan fungsi memori.

Setiap selesai pemeriksaan uji memori, aparatus dibersihkan menggunakan air dan alkohol 70% untuk menghilangkan bias penciuman. Selama proses uji memori dilakukan perekaman aktivitas mencit, kecepatan dan jarak yang dilalui mencit dalam aparatus dianalisis menggunakan perangkat lunak ANY-Maze (Stoelting, USA) untuk memvalidasi bahwa setiap mencit memiliki mobilitas yang sama.

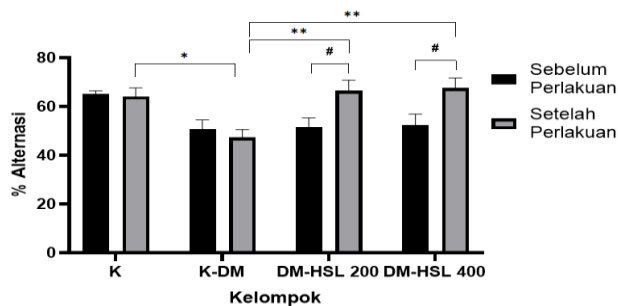
## 2.5 Analisis data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan aplikasi Graphpad Prism Version 9.0.0. Data dianalisis menggunakan uji *Repeated measurement two-way ANOVA* dan uji *post hoc Bonferroni*. Data direpresentasikan dalam mean  $\pm$  SEM. Hasil dianggap signifikan apabila nilai sig (2-tailed)  $p < 0,05$ .

## HASIL

Uji memori mencit dinilai sebelum dan setelah diberikan perlakuan HSL selama 28 hari. Sebelum perlakuan, tidak ada perbedaan fungsi memori kerja spasial mencit antar kelompok, yang dinilai dari persentase alternasi memasuki lengan *Y-maze* (Gambar 2:  $K= 65,024 \pm 1,400$   $DM= 50,698 \pm 3,799$ ;  $DM-HSL200= 51,617 \pm 3,736$ ;  $DM-HSL400= 52,458 \pm 4,496$ ;  $p > 0,05$ ). Selanjutnya, setelah 28 hari periode perlakuan, fungsi memori kerja spasial mencit DM lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol (persentase alternasi  $K= 64,050 \pm 3,585$ ;  $DM= 47,317 \pm 3,278$ ;  $p= 0,0344$ ).

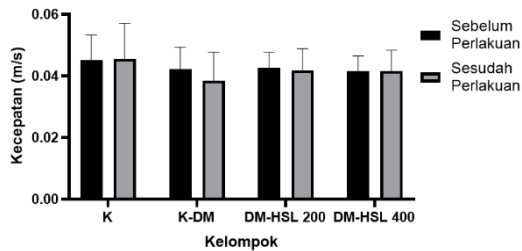
Pemberiaan HSL baik dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dapat memperbaiki fungsi memori kerja spasial pada kondisi DM yang dibuktikan dengan persentase alternasi kelompok DM-HSL200 dan DM-HSL400 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok DM setelah perlakuan (Gambar 2: persentase alternasi:  $DM-HSL200= 66,417 \pm 4,389$ ,  $DM-HSL400= 67,545 \pm 4,129$  vs  $DM= 47,317 \pm 3,278$ ;  $p= 0,0052$  dan  $p=0,0028$  secara berurutan) atau pun jika dibandingkan dengan kelompoknya sendiri pada sebelum dan sesudah perlakuan (Gambar 2:  $DM-HSL200$ : sebelum=  $51,617 \pm 3,736$  vs sesudah=  $66,417 \pm 4,389$ ,  $p= 0,0367$ ;  $DM-HSL400$ : sebelum=  $52,458 \pm 4,496$  vs sesudah=  $67,545 \pm 4,129$ ,  $p= 0,0324$ ).



**Gambar 2.** Hasil Alternasi *Y-Maze Spontaneous Alternation* Persentase alternasi pada sebelum dan sesudah perlakuan. Data menunjukkan mean $\pm$ SEM. \* $p=0,05$ , \*\* $p=0,01$ , # $p=0,05$ , # $p=0,01$ ; Two way ANOVA dengan analisis post hoc Bonferroni.  $N=6$  mencit/kelompok. (K= kontrol normal, DM= kontrol dengan DM, DM-Hib2= DM dengan pemberian HSL dosis 200 mg/kgBB, DM-Hib4= DM dengan pemberian HSL. dosis 400 mg/kgBB)

Mobilitas mencit selama pemeriksaan fungsi memori antar kelompok tidak berbeda bermakna baik pada pemeriksaan sebelum dan sesudah periode perlakuan yang dinilai dari kecepatan dan jarak tempuh dalam *Y-maze* selama pemeriksaan. Sebelum perlakuan, kecepatan pada semua kelompok tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $K= 0,045 \pm 0,008$ ;  $DM= 0,042 \pm 0,007$ ;  $DM-HSL200= 0,043 \pm 0,005$ ;  $DM-HSL400= 0,042 \pm 0,005$ ;  $p > 0,05$ ). Setelah perlakuan 28 hari, kecepatan pada semua

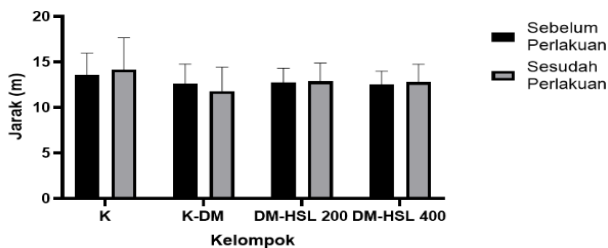
kelompok juga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $K= 0,046 \pm 0,012$ ;  $DM= 0,039 \pm 0,009$ ;  $DM-HSL200= 0,042 \pm 0,007$ ;  $DM-HSL400= 0,042 \pm 0,007$ ;  $p> 0,05$ ).



**Gambar 3.** Hasil Kecepatan pada *Y Maze Spontaneous Alternation*

Kecepatan pada uji *Y Maze Spontaneous Alternation* sebelum dan sesudah perlakuan. Data menunjukkan mean $\pm$ SEM. Tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok dengan uji *Two-way ANOVA* ( $K=$  kontrol normal,  $DM=$  kontrol dengan  $DM$ ,  $DM-HSL200=$   $DM$  dengan pemberian HSL dosis 200 mg/kgBB,  $DM-HSL400=$   $DM$  dengan pemberian HSL. dosis 400 mg/kgBB)

Hal yang sama juga didapat pada parameter jarak tempuh mencit selama pemeriksaan uji memori. Sebelum perlakuan, jarak tempuh mencit tidak berbeda antar kelompok ( $K= 13,561 \pm 2,418$ ;  $DM= 12,603 \pm 2,164$ ;  $DM-HSL200= 12,755 \pm 1,563$ ;  $DM-HSL400= 12,511 \pm 1,476$ ,  $p> 0,05$ ). Setelah perlakuan, juga tidak didapatkan perbedaan jarak tempuh antar kelompok ( $K= 14,156 \pm 3,505$ ;  $DM= 11,813 \pm 2,619$ ;  $DM-HSL200= 12,874 \pm 2,004$ ;  $DM-HSL400= 12,790 \pm 1,972$ ;  $p> 0,05$ ).



**Gambar 4.** Hasil Jarak Tempuh pada *Y-Maze Spontaneous Alternation*

Jarak tempuh pada uji *Y-Maze Spontaneous Alternation* sebelum dan sesudah perlakuan. Data menunjukkan mean $\pm$ SEM. Tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok dengan uji *Two-way ANOVA* ( $K=$  kontrol normal,  $DM=$  kontrol dengan  $DM$ ,  $DM-HSL200=$   $DM$  dengan pemberian HSL dosis 200 mg/kgBB,  $DM-HSL400=$   $DM$  dengan pemberian HSL. dosis 400 mg/kgBB)

## PEMBAHASAN

Penelitian ini membuktikan bahwa pada kondisi  $DM$  tipe 2 terjadi penurunan fungsi memori kerja spasial dibandingkan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya bahwa terjadi penurunan fungsi memori pada kondisi  $DM$ .<sup>22</sup> Beberapa penelitian menunjukkan defisit kognitif yang berbeda pada pasien diabetes. Pasien  $DM$  tipe 2 mengalami penurunan kecepatan pemrosesan informasi, gangguan memori, perhatian, dan fungsi eksekutif.<sup>23</sup> Memori kerja termasuk dalam memori jangka pendek yang diperlukan untuk mencapai kapasitas fungsi kognitif seseorang termasuk fungsi eksekutif yang memerlukan fungsi hipokampus dan korteks prefrontal.<sup>24</sup>

Penelitian sebelumnya dengan menggunakan model  $DM$  yang diinduksi dengan cara berbeda dari penelitian ini juga didapatkan penurunan fungsi memori spasial. Penelitian Roghani dkk.<sup>25</sup> membuktikan bahwa terjadi penurunan alternasi pada uji *Y-Maze Spontaneous Alternation* tikus model  $DM$  dengan pemberian  $STZ$  dosis tinggi tunggal seiring dengan perjalanan penyakitnya. Menurut Rom dkk.<sup>22</sup> mencit yang diinduksi  $DM$  tipe 1 dengan  $STZ$  dosis tinggi tunggal dan  $DM$  tipe 2 (*db/db mice*) juga mengalami penurunan kemampuan dalam akuisisi dan memori spasial jangka panjang yang diuji dengan *Morris Water Maze* (*MWM*). Selain itu, penelitian Jabbarpour dkk.<sup>26</sup> menunjukkan adanya defisit fungsi memori yang diukur menggunakan uji memori *Novel Object Recognition* (*NOR*) pada model  $DM$  yang diinduksi dengan  $STZ$  dosis 60 mg/KgBB tunggal secara intraperitoneal. Sejalan dengan penelitian sebelumnya, penelitian ini membuktikan juga terjadi gangguan memori kerja spasial pada model  $DM$  tipe 2 yang diinduksi kombinasi diet tinggi lemak dan  $STZ$  dosis rendah dengan dua kali pemberian. Gangguan memori kerja spasial yang terjadi pada model ini menggambarkan kemungkinan gangguan pada area hipokampus dan korteks prefrontal.

Berdasarkan *review* Biessels dkk.<sup>27</sup> konsekuensi neurologis  $DM$  tipe 2 yang paling komprehensif pada hewan coba adalah gangguan belajar dan memori yang disebabkan adanya gangguan persinyalan pada hipokampus yang selanjutnya mengganggu persinyalan lainnya sehingga menyebabkan resistensi insulin pada hipokampus. Gangguan ini termasuk didalamnya transport insulin melewati *BBB*, selain itu gangguan ini juga menyebabkan adanya penurunan fosforilasi Akt yang dapat mengganggu aktivitas  $GSK-3\beta$  untuk mengatur protein tau terkait mikrotubulus.<sup>27</sup>

Selanjutnya, sesuai dengan yang diharapkan, hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian HSL pada kondisi  $DM$  dapat meningkatkan fungsi memori kerja baik pada dosis 200 dan 400 mg/kgBB. Penelitian sebelumnya oleh Seung dkk.<sup>12</sup>



menunjukkan bahwa HSL berperan dalam memediasi aktivitas antioksidan dan aktivasi sistem kolinergik, juga menunjukkan penghambatan tingkat ekspresi protein seperti p-JNK, p-tau, and c-PARP dari jalur hiperfosforilasi tau pada otak mencit model penyakit Alzheimer. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak HSL dapat mencegah penurunan konsolidasi memori spasial dengan mempertahankan rasio IL-1 $\beta$ /IL-1ra pada plasma, sehingga HSL dapat menjadi anti inflamasi yang baik pada tikus *overtrained*.<sup>28</sup> Menurut Riaz dkk. HSL juga memiliki fungsi untuk mencegah gangguan memori, ini dikaitkan dengan adanya perbaikan saraf (plastisitas) dan amiloidogenesis yang diinduksi STZ.<sup>29</sup> Hasil dari uji memori pada penelitian ini menunjukkan bahwa HSL berperan dalam peningkatan fungsi memori, terutama memori kerja spasial.

## 6. SIMPULAN DAN SARAN

Terdapat gangguan fungsi memori spasial pada DM dan intervensi dengan ekstrak HSL memiliki efek restoratif pada fungsi memori spasial. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mengungkap mekanisme seluler dan molekuler bagaimana HSL dapat mencegah penurunan fungsi memori pada DM.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terimakasih penulis tujukan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Universitas Indonesia (DRPM UI) yang telah memberikan Pendanaan Penelitian melalui HIBAH PUTI.

## DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Global Health Observatory (GHO) Data. Life Expectancy. 2019. Available from: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-life-expectancy-and-healthy-life-expectancy> [Last accessed: 10/10/2022].
2. Badan Pusat Statistik. Angka Harapan Hidup (AHH) Menurut Provinsi Dan Jenis Kelamin (Tahun), 2019-2021: Badan Pusat Statistik. n.d. Available from: <https://www.bps.go.id/indicator/40/501/1/angka-harapan-hidup-ahh-menurut-provinsi-dan-jenis-kelamin.html> [Last accessed: 10/12/2022].
3. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2014;37(SUPPL.1); doi: 10.2337/dc14-S081.
4. Barbagallo M. Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease. *World J Diabetes* 2014;5(6):889; doi: 10.4239/wjd.v5.i6.889.
5. Internasional Diabetes Federation. Diabetes Now Affects One in 10 Adults Worldwide. Internasional Diabetes Federation. 2021. Available from: <https://www.idf.org/news/240:diabetes-now-affects->

- one-in-10-adults-worldwide.html [Last accessed: 10/1/2022].
6. Ryan CM, van Duinkerken E, Rosano C. Neurocognitive Consequences of Diabetes. *Am Psychol* 2016;71(7):563–576; doi: 10.1037/a0040455.
7. Millan MJ, Agid Y, Brüne M, et al. Cognitive Dysfunction in Psychiatric Disorders: Characteristics, Causes and The Quest for Improved Therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2012;11(2):141–168; doi: 10.1038/nrd3628.
8. Mehta BK, Banerjee S. Characterization of Cognitive Impairment In Type 2 Diabetic Rats. *Indian J Pharm Sci* 2017;79(5):785–793; doi: 10.4172/PHARMACEUTICAL-SCIENCES.1000292.
9. Muscogiuri G, DeFronzo RA, Gastaldelli A, et al. Glucagon-like Peptide-1 and The Central/Peripheral Nervous System: Crosstalk in Diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2017;28(2):88–103; doi: 10.1016/j.tem.2016.10.001.
10. Ammar A, Trabelsi K, Boukhris O, et al. Effects of Polyphenol-Rich Interventions on Cognition and Brain Health in Healthy Young and Middle-Aged Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med* 2020;9(5):1–25; doi: 10.3390/jcm9051598.
11. Ashrafpour M, Parsaei S, Sepelri H. Quercetin Improved Spatial Memory Dysfunctions In Rat Model Of Intracerebroventricular Streptozotocin-Induced Sporadic Alzheimer's Disease. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol* 2015;5(5):411–415; doi: 10.5455/njppp.2015.5.2308201563.
12. Seung TW, Park SK, Kang JY, et al. Ethyl Acetate Fraction From Hibiscus Sabdariffa L. Attenuates Diabetes-Associated Cognitive Impairment in Mice. *Int Food Res J* 2018;105:589–598; doi: 10.1016/j.foodres.2017.11.063.
13. Bule M, Albelbeisi AH, Nikfar S, et al. The Antidiabetic and Antilipidemic Effects of Hibiscus Sabdariffa: A Systematic Review And Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Int Food Res J* 2020;130; doi: 10.1016/j.foodres.2020.108980.
14. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, et al. Hibiscus Sabdariffa L. - A Phytochemical and Pharmacological Review. *Food Chem* 2014;165:424–443; doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.002.
15. H. Padmaja, S. Sruthi, Meena Vangalapati. Hibiscus Sabdariffa-A Valuable Herb. *Int J Pharm Life Sci Aug*; 2014.
16. Karimipour M, Rahbarghazi R, Tayefi H, et al. Quercetin Promotes Learning and Memory Performance Concomitantly With Neural Stem/Progenitor Cell Proliferation and Neurogenesis in The Adult Rat Dentate Gyrus. *Int J Dev Neurosci* 2019;74:18–26; doi: 10.1016/j.ijdevneu.2019.02.005.

17. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc* 2021;1(4); doi: 10.1002/cpz1.78.
18. Zhang M, Lv XY, Li J, et al. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Exp Diabetes Res* 2008;2008:704045; doi: 10.1155/2008/704045.
19. Behavioral and functional Neuroscience Laboratory. Y Maze Spontaneous Alternation. 2021. Available from: <https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/lm/y-maze.html> [Last accessed: 1/17/2021].
20. Behavioral and functional Neuroscience Laboratory. Standart Operating Procedure Y Maze Spontaneous Alternation Version 4.0. 2021. Available from: <https://med.stanford.edu/content/dam/sm/sbfnl/documents/resource-sharing/sop/ymsa.pdf>. [Last accessed: 1/17/2021].
21. Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. In: *Methods Mol Biol*. Humana Press Inc.; 2019; pp. 105–111; doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2\_10.
22. Rom S, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, et al. Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Mol Neurobiol* 2019;56(3):1883–1896; doi: 10.1007/s12035-018-1195-5.
23. Zilliox LA, Chadrsekaran K, Kwan JY, et al. Diabetes and Cognitive Impairment. *Curr Diab Rep* 2016;16(9); doi: 10.1007/s11892-016-0775-x.
24. Funahashi S. Working Memory in the Prefrontal Cortex. *Brain Sci* 2017;7(5); doi: 10.3390/brainsci7050049.
25. Roghani M, Taghi Joghataie M, Jalali MR, et al. Time Course of Changes in Passive Avoidance and Y-Maze Performance in Male Diabetic Rats. 2006.
26. Jabbarpour Z, Shahidi S, Saidijam M, et al. Effect of Tempol on The Passive Avoidance and Novel Object Recognition Task in Diabetic Rats. *Brain Res Bull* 2014;101:51–56; doi: 10.1016/j.brainresbull.2013.12.013.
27. Biessels GJ, Reagan LP. Hippocampal Insulin Resistance and Cognitive Dysfunction. *Nat Rev Neurosci* 2015;16(11):660–671; doi: 10.1038/nrn4019.
28. ElBayani G.F, Lidya N, Marpaung, et al. Anti-Inflammatory Effects of Hibiscus Sabdariffa Linn. on the IL-1 $\beta$ /IL-1ra Ratio in Plasma and Hippocampus of Overtrained Rats and Correlation with Spatial Memory. *Kobe J Med Sci* 2018; 64(2): E73-E83;
29. Riz G, Chopra R. A Review on Phytochemistry and Therapeutic Uses of Hibiscus Sabdariffa L. *Biomed Pharmacother* 2018;102:575–586; doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.023.