

Hubungan antara tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus dengan memori kerja pada tikus (*Rattus norvegicus*) pascastres kronik

Nanang Wiyono¹, Soedjono Aswin², Harijadi³

¹ Bagian Anatomi & Embryologi Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta;

² Bagian Anatomi, Embriologi & Antropologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

³ Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

ABSTRACT

Chronic stress may cause morphological changes in the hippocampus following by deficit in hippocampal function including the impairment of working memory.

The aim of this study is to investigate the changes the thickness of pyramidal layer CA1 hippocampus and it's correlation with working memory of the rats after chronic stress.

The subjects of this study were 10 male rats (*Rattus norvegicus*) divided into control group (C) and treatment group (T), each group consist of 5 rats. Working memory performance was tested for each group by using 8-arm radial maze for 12 days. Working memory measured by error type A. After tested, T rats group were given chronic stress procedure with electrical footshock of 60 volt for 10 seconds with 15 seconds interval for 15 minutes each day for 25 days. After chronic stress, the working memory of T and C group were tested again by using 8-arm radial maze for 12 days. At the end, the rats were killed and the brain was removed to make paraffin blocks of CA1 hippocampus to stain with hematoxylin. The thickness of pyramidal layer CA1 hippocampus measured under microscope at 400x magnification.

The results of this study showed that chronic stress caused decreasing of working memory of the rats showed by error type A for T group are higher than C group ($p < 0.05$). Chronic stress also caused morphological changes in hippocampus showed by the thickness of pyramidal layer of CA1 hippocampus in T group are smaller than C group ($p < 0.05$). With correlation product moment test there are positif correlation between the thickness of pyramidal layer of CA1 hippocampus with working memory of the rats after chronic stress ($p < 0.05$).

The study concludes that chronic stress caused decreasing of working memory of the rats and the thickness of pyramidal layer of CA1 hippocampus. It is concerned there are positive correlation between the thickness of pyramidal layer of CA1 hippocampus with working memory of the rats after chronic stress.

Key words : chronic stress, working memory, pyramidal layer, hippocampus

ABSTRAK

Stres kronik dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologis di hippocampus, yang disertai adanya penurunan fungsi hippocampus, salah satunya adalah terjadi penurunan fungsi memori.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui terjadinya perubahan tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus dan hubungannya dengan memori kerja pada tikus pascastres kronik.

Subjek penelitian ini terdiri atas 10 ekor tikus (*Rattus norvegicus*), dibagi menjadi kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P), masing-masing 5 ekor tiap kelompok. Kedua kelompok diuji memori kerjanya selama 12 hari dengan *maze radial* 8 lengan. Selanjutnya selama 25 hari kelompok P diberi perlakuan stres berupa sengatan listrik sebesar 60 volt selama 10 detik dengan interval 15 detik selama 15 menit setiap harinya. Setelah selesai pemberian stres listrik kronik, kedua kelompok diuji kembali memorinya selama 12 hari. Memori kerja dinilai dari angka kesalahan tipe A. Setelah itu tikus pada kedua kelompok dibunuh untuk diambil otaknya dan dibuat preparat histologis, diwarnai dengan hematoksilin. Kemudian diukur tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus dengan mikroskop ada pembesaran 400x.

Dari hasil-hasil penelitian ini didapatkan bahwa setelah perlakuan stres kronik listrik terjadi penurunan memori kerja tikus ditandai dengan angka kesalahan tipe A pascastres pada kelompok P lebih tinggi daripada kelompok K ($p < 0,05$). Stres kronik juga dapat menyebabkan perubahan morfologis hippocampus ditandai tebal lamina pyramidalis

CA1 hippocampus kelompok P lebih kecil daripada kelompok K ($p < 0,05$). Dengan uji korelasi ada hubungan positif kuat antara tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus dengan memori kerja tikus pascastres kronik ($p < 0,05$). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa stres kronik listrik dapat menyebabkan penurunan memori kerja tikus dan tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus dan ada korelasi positif antara tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus dengan memori kerja pada tikus pascastres kronik.

Kata kunci : stres kronik, memori kerja, tebal lamina piramidalis, hippocampus

PENGANTAR

Stres merupakan bagian dari kehidupan sehari-hari. Stres adalah setiap perubahan yang memerlukan penyesuaian. Respon terhadap stres merupakan suatu mekanisme adaptasi yang dirancang untuk mempertahankan stabilitas fungsi fisiologis tubuh atau homeostasis^{1,2}. Stresor adalah suatu keadaan yang menimbulkan respon stres^{1,3}. Stres yang muncul akibat adanya stresor dapat berupa stres akut (dalam kondisi *fight or flight* atau pengalaman hidup sehari-hari), dan stres kronik (beban stres yang terakumulasi hari demi hari). Keadaan stres dapat menimbulkan respon adaptasi berupa respon fisiologis maupun psikologis. Gangguan yang muncul akibat sindroma stres bervariasi, mulai dari gangguan emosi, perilaku, fungsi reproduksi, pertumbuhan, imunitas dan kognitif^{2,3}. Pada keadaan stres disekresikan hormon glukokortikoid. Pelepasan hormon ini melalui aksis hypothalamus-pituitaria-adrenalis (aksis HPA). Mekanismenya melalui pelepasan *corticotropin releasing hormone* (CRH) dari hypothalamus. Hormon ini akan memacu pelepasan *adrenocorticotropin hormone* (ACTH) dari kelenjar pituitaria dan selanjutnya terbawa aliran darah sampai ke cortex adrenalis. Organ ini mensekresikan hormon glukokortikoid¹. Selanjutnya hormon ini dapat mempengaruhi fungsi memori dengan pengaruhnya pada sistem limbik. Hormon glukokortikoid dapat masuk ke otak dan berikatan dengan dua tipe reseptor steroid adrenal intraseluler⁴. Hormon ini bekerja terutama di hippocampus karena hippocampus mengandung reseptor glukokortikoid dengan konsentrasi tertinggi^{5,6}.

Adanya paparan glukokortikoid kadar tinggi dalam jangka lama dapat menyebabkan perubahan degeneratif pada sistem saraf pusat, termasuk diantaranya berupa atrofi hippocampus^{6,7}. Akibat paparan glukokortikoid dosis tinggi secara kronik terhadap hippocampus dapat menimbulkan akibat yang merusak berupa penurunan neurogenesis, atrofi neuronal disertai penurunan memori⁸.

Salah satu mekanisme yang paling diyakini dari efek glukokortikoid dalam menimbulkan perubahan degeneratif di susunan saraf pusat adalah terjadinya

disrupsi metabolik, yaitu glukokortikoid menghambat *uptake* glukosa pada neuron maupun astrosit di otak⁸. Penurunan glukosa sbagai sumber energi ini menyebabkan peningkatan glutamat di celah ekstraseluler, karena pengendalian *release* dan *uptake* glutamat merupakan proses yang memerlukan energi dalam jumlah besar. Glukokortikoid meningkatkan konsentrasi glutamat di celah ekstraseluler. Berbagai bukti menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi glutamat ekstraseluler dapat menyebabkan apoptosis neuron dan astrosit^{9,10}. Konsentrasi tinggi glutamat juga akan mengaktivasi reseptor NMDA (*N-methyl-D-aspartate*) yang akan menginduksi terjadinya perubahan degeneratif, khususnya apoptosis, karena pengaruh glukokortikoid⁶.

Paparan glukokortikoid secara kronik atau stres kronik menyebabkan perubahan morfologi hippocampus dengan adanya kematian neuron piramidal, atrofi dan remodeling dendrit terutama di CA1 dan CA3^{11,12} juga terjadi apoptosis astrosit^{9,10}. Stres kronik dapat menyebabkan gangguan memori, baik memori spasial maupun memori non spasial pada tikus. Stres kronik dapat menyebabkan kerusakan hippocampus, terutama area CA1 yang dapat menyebabkan gangguan kognitif yang tergantung hippocampus (*hippocampal-dependent cognition*)¹².

Salah satu bentuk memori kerja adalah memori spasial, yaitu bentuk memori mengenai ruang dan tempat yang dihubungkan dengan kemampuan individu dan spesies untuk bertahan hidup. Memori spasial berperan penting dalam *foraging behaviour* (perilaku mencari makan) pada hewan rodensia (hewan pengerat) dan jenis unggas (burung). Alat yang banyak digunakan untuk mengetahui proses belajar yang dihubungkan dengan memori kerja pada hewan coba tikus adalah *maze* radial delapan lengan. Alat ini disusun oleh beberapa jalur serupa lengan yang mengelilingi bagian tengah (*central platform*) secara radial¹⁸. Pada setiap lengan diletakkan makanan yang akan dimakan tikus bila tiba di lengan tersebut. Dengan demikian tikus dapat mengembangkan suatu peta kognitif berupa hubungan spasial tentang jalur mana yang telah dikunjunginya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkapkan pengaruh stres kronik terhadap memori kerja, tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus serta hubungan antara tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus dengan memori kerja pada tikus pascastres kronik.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental sederhana dengan menggunakan rancangan 1) *pretest-posttest control group design* untuk melihat perbedaan tampilan memori kerja, dan 2) *posttest- only control group design* untuk melihat hubungan antara tebal lamina piramidalis di CA1 hippocampus dengan tampilan memori kerja¹³. Subjek penelitian berupa tikus *Rattus norvegicus*, jantan, dewasa berumur 4 bulan, berat badan 150-220 gram, galur *Sprague-Dawley*, diperoleh dari UHP Universitas Gajah Mada sebanyak 10 ekor. Subjek dibagi menjadi dua kelompok dipilih secara acak, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P) masing-masing 5 ekor tikus.

Alat penelitian yang digunakan adalah : *maze* radial delapan lengan, mikroskop cahaya Olympus BX-41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP 70, alat stres listrik, alat bedah minor, *peristaltic pump*, alat pembuatan sediaan histologi. Bahan penelitian yang digunakan adalah bahan untuk pembuatan preparat blok parafin dan pewarna hematoksilin.

Cara kerja

Hewan coba dikelompokkan menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Pada hari 1-3, kedua kelompok menjalani adaptasi *maze* radial dilanjutkan pengukuran memori kerja dengan uji *maze* radial selama 12 hari berturut-turut. Pengukuran memori kerja dilakukan dengan meletakkan tikus dalam lempeng silindris dengan arah yang berlawanan dengan arah peneliti. Pintu gerbang ditutup selama 30 detik agar tikus dapat beradaptasi lebih dahulu, setelah itu pintu gerbang diangkat sehingga tikus dapat bergerak bebas ke segala arah. Setelah tikus memakan semua pelet di seluruh ujung lengan *maze* atau setelah 10 menit maka perlakuan diakhiri.

Setelah istirahat 2 hari, selanjutnya kelompok kontrol diberi stres kronik berupa sengatan listrik sebesar 60 volt selama 10 detik, interval 15 detik selama 15 menit setiap harinya selama 25 hari. Pada hari ke-42-44, stres kronik disertai adaptasi *maze* radial. Setelah istirahat 2 hari, kedua kelompok kembali diukur kinerja *maze* radial selama 12 hari. Jika tikus memasuki lebih dari setengah lengan *maze* maka tikus

dikategorikan berhasil. Jika tikus memasuki lengan *maze* yang peletnya telah dimakan sebelumnya, maka dikategorikan gagal. Kinerja *maze* diukur dengan parameter sebagai berikut : 2) angka kesalahan yang dilakukan tikus waktu memasuki lengan *maze* (kesalahan tipe A, yaitu apabila tikus memasuki kembali lengan yang telah dilalui sebelumnya)^{14,15}.

Pada semua hewan coba, setelah selesai menjalani uji *maze* radial dibunuh yang sebelumnya dibius dengan *chloralhydrate* 2,5% sebanyak 1 cc/kgBB intraperitoneal, kemudian dilakukan perfusi transkardial dengan PBS. Selanjutnya dilakukan dekapitasi dan pengambilan otak. Selanjutnya otak tikus difiksasi dalam formaldehid 4% dalam PBS 1x selama 4 hari. Kemudian dibuat blok jaringan otak berdasarkan peta stereotaxis tikus, dengan memotong pada daerah yang mengandung bagian CA1 hippocampus dengan mengacu peta otak tikus Paxinos & Watson tahun 1986¹⁶. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan hematoksilin, sejumlah 3 preparat untuk masing-masing otak tikus.

Selanjutnya dilakukan pengukuran ketebalan lamina piramidalis CA1 hippocampus dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x. Skala pengukuran kinerja *maze* radial, tebal lamina piramidalis adalah skala rasio, maka analisis statistik uji bedanya dengan uji t dan untuk korelasinya dengan uji korelasi *Pearson Product Moment*.

HASIL

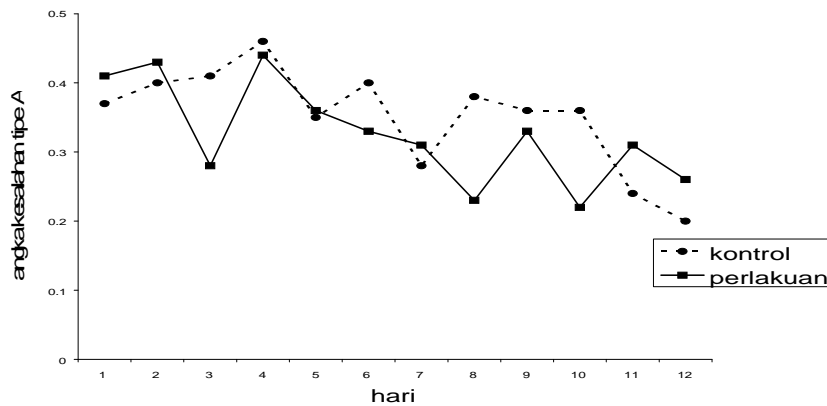
1. Kinerja *maze* radial 8 lengan

Pada penelitian ini, kinerja *maze* radial 8 lengan ditentukan berdasarkan angka kesalahan tipe A yaitu apabila tikus memasuki kembali lengan yang telah dilalui sebelumnya. Kinerja *maze* radial pra-stres kronik dapat dilihat pada Gambar 1 .

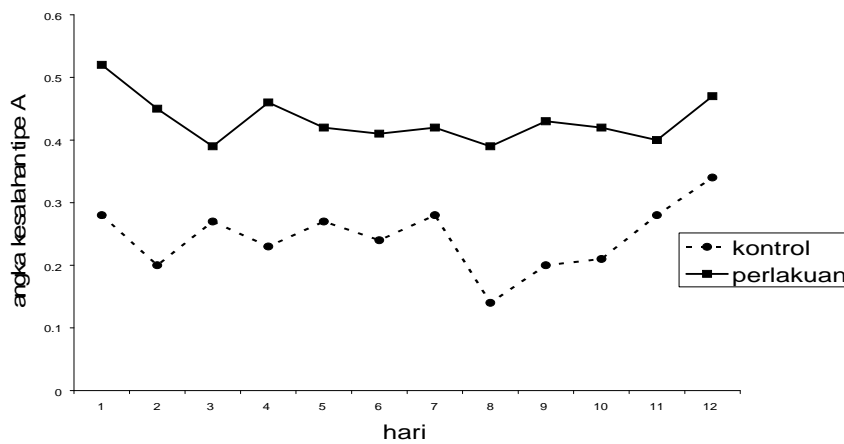
Angka kesalahan tipe A yang dilakukan kedua kelompok tampak berfluktuasi dan angka kesalahan tipe A kedua kelompok relatif sama (Gambar 1). Dari uji-t harian setiap hari selama 12 hari diperoleh hasil tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$) kesalahan tipe A antara kedua kelompok sebelum perlakuan stres kronik.

Kinerja *maze* radial pascastres kronik dapat dilihat pada Gambar 2 .

Angka kesalahan tipe A yang dilakukan oleh kelompok P jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K, dengan fluktuasi hari demi hari (Gambar 4). Dari uji-t harian selama 12 hari, diperoleh hasil adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dan sangat bermakna ($p, 0,01$) angka kesalahan tipe A pada kedua kelompok, kecuali pada hari ke-3, 5, 7 dan 11.



Gambar 1. Angka kesalahan tipe A yang dilakukan kedua kelompok tikus pada uji *maze radial prestres kronik* (n = 5 ekor tiap kelompok)



Gambar 2. Angka kesalahan tipe A yang dilakukan kedua kelompok tikus (n = 5 ekor tikus, masing-masing kelompok) pada uji *maze radial pascastres kronik*.

2. Tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus

Pengukuran tebal lamina piramidalis dilakukan dengan cara gambar dari mikroskop Olympus BX-41 ditransfer ke komputer. Tebal diukur dengan menu *arbitrary distance*. Tebal lamina piramidalis diukur dari paling luar hingga paling dalam untuk tiap lapang pandang pada pembesaran 400 x. Diukur 10 lapang pandang per preparat, kemudian dicari rerata tiap kelompok tikus. Dari hasil pengukuran didapatkan hasil rerata tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus pada kelompok P adalah $505,32 \pm 6,30 \mu$, sedangkan pada kelompok K adalah $558 \pm 17,08 \mu$.

Dengan uji-t, didapatkan ada perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) dalam tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus antara kedua kelompok.

Tabel 1. Tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus (rerata \pm SEM) pada kedua kelompok

	Tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus (μ)
Kontrol (K)	$558,03 \pm 17,08$
Perlakuan (P)	$505,32 \pm 6,30$

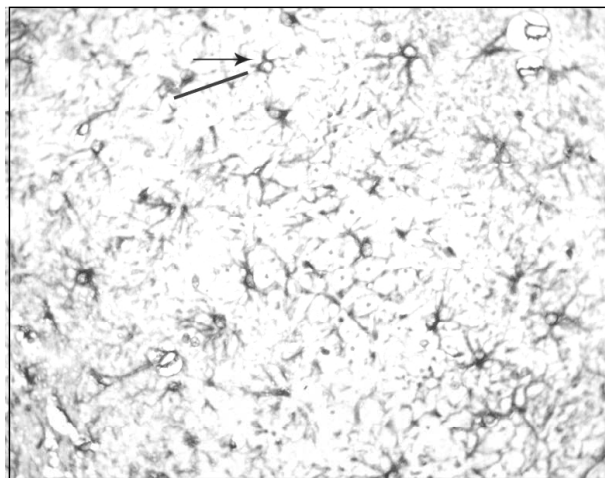
Dengan uji-t, didapatkan ada perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) dalam tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus antara kedua kelompok.

Tabel 2. Tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus (rerata ± SEM) pada kedua kelompok

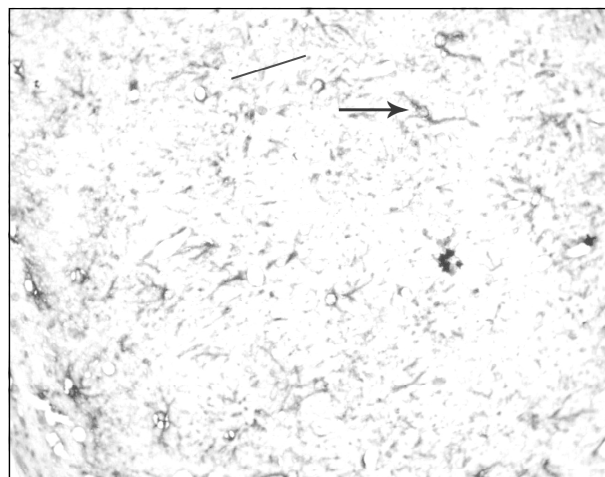
	Tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus (μ)
Kontrol (K)	558,03 ± 17,08
Perlakuan (P)	505,32 ± 6,30

3. Hubungan antara tebal lamina pyramidalis dengan memori kerja pascastres kronik

Selanjutnya dengan uji korelasi antara tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus dengan dengan angka kesalahan tipe A diperoleh (r) sebesar -0,656, ($p < 0,05$). Uji korelasi ini bersifat negatif, artinya makin kecil tebal lamina pyramidalis makin besar angka kesalahan tipe A, yang berarti penurunan ketebalan lamina pyramidalis disertai penurunan fungsi memori kerja.



A



B

Gambar 1. CA1 hippocampus (pembesaran 400 x) A. kelompok kontrol, B. kelompok perlakuan (— : tebal lamina piramidalis).

PEMBAHASAN

1. Pengaruh stres kronik terhadap memori kerja

Memori kerja diukur dengan mengamati kinerja *maze* radial delapan lengan tikus berdasarkan parameter kesalahan tipe A. Pada penelitian ini satu sesi diakhiri selama 10 menit atau apabila tikus telah memakan semua imbalan yang disediakan.

Sebelum tes prastres kronik (selanjutnya disebut tes I) 10 ekor tikus dilatih untuk beradaptasi dengan bagian-bagian *maze*. Hal ini dimaksudkan agar tikus memiliki peta spasial yang merupakan peta kognitif untuk menyimpan kebiasaan-kebiasaan yang harus dilakukannya untuk mendapatkan umpan (*reward*) yang diinginkan, yaitu berupa makanan¹⁴. Setelah beradaptasi selama 3 hari barulah dilakukan tes kinerja tikus dengan prates.

Angka kesalahan tipe A dinilai jika tikus memasuki lengan telah dilalui sebelumnya. Makin sedikit jumlah lengan yang dimasuki, maka makin sedikit angka kesalahan tipe A yang dilakukan oleh kedua kelompok tikus (Gambar 2). Makin kecil angka kesalahan maka makin baik tampilan memori kerja tikus.. Dari tes I, dapat disimpulkan bahwa sebelum diberi perlakuan stres listrik kronik kedua kelompok tikus memiliki memori kerja yang sama.

Selanjutnya tikus kelompok P diberi perlakuan stres selama 25 hari. Stresor berupa sengatan listrik dengan kandang khusus, dengan besar voltase 60 mV selama 10 detik diselingi istirahat 15 detik dan dilakukan selama 15 menit setiap harinya. Setiap kali diberi stres dengan sengatan listrik, tikus terlihat sangat reaktif. Tikus memperlihatkan tanda-tanda stres seperti buang kotoran berlebihan setiap sesi perlakuan, mengeluarkan suara (mencicit), berlarian kesana-kemari, meloncat-loncat, berusaha untuk keluar dari kandang. Dan setiap kali sesi berakhir. Tikus akan meloncat keluar sewaktu tutup kandang dibuka. Bahkan keesokkan harinya tiap kali akan dimasukkan ke kandang stres, tikus meronta-ronta dan menyerang peneliti.

Setelah perlakuan stres listrik selama 25 hari, tikus kemudian menjalani tes memori dengan *maze* radial (selanjutnya disebut tes II). Caranya sama dengan tes I. Dari tes II, terlihat angka kesalahan tipe A yang dilakukan oleh kedua kelompok, walaupun memperlihatkan fluktuasi, namun tetap ada perbedaan yang mencolok antara kelompok K dan P, dimana kelompok P, angka kesalahannya jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K (Gambar 2).

Berdasarkan hasil pengamatan dalam penelitian ini, didapatkan bahwa ada perbedaan tampilan memori

kerja sebelum dan sesudah perlakuan stres kronik. Sebelum perlakuan, kedua kelompok tikus menunjukkan tidak ada perbedaan angka kesalahan tipe A yang dilakukan. Sebaliknya sesudah perlakuan, kedua kelompok tikus menunjukkan adanya perbedaan yang mencolok angka kesalahan tipe A yang dilakukan.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh yang bermakna ($p < 0,05$) stres kronik terhadap tampilan memori kerja tikus. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh bahwa stres kronik dapat menurunkan kinerja tikus pada *learning* dan memori pada *maze*¹⁷. Glukokortikoid pada kadar stres dapat mempengaruhi pembentukan memori¹⁸, bahkan glukokortikoid bukan hanya mempengaruhi dalam memperoleh dan menyimpan informasi tetapi juga dalam *memory retrieval* (mengingat kembali)¹⁹.

Mekanisme terjadinya gangguan memori pada keadaan stres terjadi karena glukokortikoid pada kadar stres dapat menurunkan *long term potentiation* (LTP) dan *primed burst potentiation* (PBP) di hippocampus. Kedua fenomena ini menunjukkan perubahan seluler yang mendasari mekanisme *learning* dan *memory*¹⁷

2. Pengaruh stres kronik terhadap tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus

Dari penelitian ini didapatkan ada perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) dalam tebal lamina pyramidalis CA1 hippocampus untuk kedua kelompok, dimana tebal lamina piramidalis CA1 kelompok P lebih kecil daripada kelompok K. Hal ini menunjukkan bahwa stres kronik menyebabkan penurunan ketebalan lamina piramidalis CA1 hippocampus.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa stres kronik dapat menyebabkan berkurangnya lengan dendrit neuron di hippocampus, atrofi dendrit neuron pyramidal dan kematian neuron piramidil hippocampus^{11,12}. Stres kronik juga dapat menekan neurogenesis di gyrus dentatus (gyrus dentatus merupakan bagian otak yang masih menghasilkan neuron hingga dewasa)²⁰.

3. Hubungan antara tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus dengan memori kerja

Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa stres kronik dapat menyebabkan berkurangnya lengan dendrit neuron di hippocampus, atrofi dendrit neuron piramidalis dan kematian neuron di hippocampus^{6,11}. Dari penelitian ini didapatkan adanya korelasi positif antara ketebalan CA1 hippocampus dengan memori kerja. Makin berkurang ketebalan lamina piramidalis

CA1 akan diikuti dengan penurunan memori kerja. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, yang menunjukkan adanya kerusakan hippocampus, terutama CA1 hippocampus, dapat menyebabkan gangguan kognitif yang tergantung hippocampus (*hippocampal-dependent cognition*). Perubahan di hippocampus akibat stres kronik baik berupa kehilangan neuron piramidal, atrofi dan remodeling dendrit apikal akan disertai gangguan *hippocampal dependent memory*¹². Tikus dengan lesi hippocampus menunjukkan penurunan kinerja pada uji *maze*^{21,22}.

SIMPULAN

Hasil-hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perubahan-perubahan morfologis di hippocampus karena pengaruh stres kronik listrik memberi pengaruh terhadap fungsi hippocampus. Berdasarkan hasil-hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Stres kronik listrik menurunkan memori kerja yang ditunjukkan dengan penurunan kinerja *maze* radial yang diperlihatkan oleh tikus.
2. Stres kronik listrik menurunkan ketebalan lamina piramidalis CA1 hippocampus pada tikus.
3. Ada korelasi positif antara tebal lamina piramidalis CA1 hippocampus dengan memori kerja pascastres kronik pada tikus.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan teknik mikroanatomi perak Golgi dan mikroskop elektron agar dapat diteliti tentang jumlah spina dendrit dan jumlah sinapsis di CA1 hippocampus pascastres kronik. Selain itu perlu diteliti lebih lanjut dengan menggunakan teknik imunohistokimiawi agar dapat dilihat perubahan neurotransmitter dan proses biomolekuler lain yang terjadi pascastres kronik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, dengan pemberian obat, misalnya antidepresan atau senyawa alami yang dapat menghambat penurunan fungsi memori dan perubahan morfologis yang terjadi akibat stres kronik.

KEPUSTAKAAN

1. Anisman H, Merali Z Understanding Stress : Characteristic and Caveats Alc.Res. Health. 1999 23 (4) : 241-248.
2. McEwen BS The neurobiology of stress : from serendipity to clinical relevance, Brain Res. 2000 866 : 172-189.

3. Chrousos GP Stressors, Stress and Neuroendocrine Integration of the Adaptive Response An. N. Y. Acad. Sci. 1997 311-317.
4. Roozental B Stress and memory : Opposing Effects of Glucocorticoid on Memory Copnsolidation and Memory Retrieval Neurobiol. Learn. Mem. 2002 78 : 578-595.
5. Hoschl C, Hajek T Hippocampal damage mediated by corticosteroids – a neuropsychiatric research challenge Eur. Arch. Psychiatry. Clin. Neurosci. 2001 251 Suppl. 2, II/81-88.
6. Krzak JS, Lupina IZ, Czerny K, Stepniewska M, Wrobel A Neuroprotective effect of ACTH(4-9) in degeneration of hippocampal nerve cells caused by dexamethasone : morphological, immunocytochemical and ultrastructural studies Acta Neurobiol. Exp. 2003 63 :1-8.
7. Reagan LP, McEwen BS Controversies surrounding glucocorticoid-mediated cell death in the hippocampus J. Chem. Neuroanat. 1997 13 : 149-167.
8. Gubba EM, Fawcett JW, Herbert J The effects of corticosterone and dehydroepiandrosterone on neurotropic factor mRNA expression in primary hippocampal and astrocyte cultures Mol. Brain Res. 2004 127 : 48-59.
9. Aissouni LH, Berangere Re D, Nieoullon A, Le Golf LK Importance of astrocytic inactivation of synaptically released glutamate for cell survival in the central nervous system – are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? J. Physiol. Par. 2002 96 : 317-322.
10. Matute C, Domercq M, Sanchez-Gomez MV Glutamate-Mediated Glial Injury : Mechanisms and Clinical Importance GLIA 2006 53 : 212-224.
11. Vyas A, Mitra R, Rao BSS, Chattarji S Chronic stress induces contrasting pattern of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons J. Neurosci. 2002 22(15) : 6810-6818.
12. Walesiuk A, Trofimiuk E, Braszko JJ Ginkgo biloba extract diminishes stress-induced memory deficit in rats Pharmacol. Rev. 2005 57 : 176-187.
13. Aswin S Buku Pegangan Metodologi Penelitian Kedokteran 2001 FK UGM, Yogyakarta.
14. Kreezer GL Tehcnics for Investigation of Behavioral Phenomena in the Rat, dalam EJ Farris dan JQ Griffith (eds.) : The Rat in Laboratory Investigation 1971 pp 203-231 Hafner Publishing Company New York.
15. Sari DCS, Aswin S, Soesatyo MHNE Pengaruh etinil estradiol per oral terhadap memori spasial pada tikus (*Rattus norvegicus*) B.I. Ked. 2000 32, (2): 69-76.
16. Paxinos G, Watson C The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates 2nd edition 1986 Academic Press Inc. San Diego California.
17. Krugers HJ, Douma BRK, Andringa G, Bohus B, Korf J, Luiten PGM Exposure to Chronic Psychosocial Stress and Corticosterone in the Rat: Effects on

- Spatial Discrimination Learning and Hippocampal Protein Kinase C α Immunoreactivity Hippocampus 1997 7 : 427-436
18. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory and Preparative Actions End. Rev. 2006 21 (1) : 55-89
 19. de Quervain DJF, Roozendaal B, McGaugh JL Stress and glucocorticoids impair retrieval of long term spatial memory Nature 1998 34 : 787-790.
 20. McEwen BS Stress and hippocampal plasticity Annu. Rev. Neurosci. 1999 22 : 105-122.
 21. Lupien SJ, Gaudreau S, Tchiteya BM, Maheu F, Sharma S, Nair NPV, Hauger RL, McEwen BS, Meaney J Stress-Induced Declarative Memory Impairment in Healthy Elderly Subjects: Relationship to Cortisol Reactivity J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006 82 (7) : 2070-2075.
 22. Lynch M Long Term Potentiation and Memory Physiol. Rev. 2004 84 : 87-136.