

Kompleksitas Obyek dan *Running-Wheel* Mempengaruhi Novel *Object Recognition Test* pada Mencit (*Mus musculus*)

Objectual Complexity and Running-Wheel Affect Novel Object Recognition Test on Mice (*Mus musculus*)

NISFA HANIM, SALMAH WIDYASTUTI, ACHMAD ALFIYAN, MUHAMMAD AZHARI AKBAR,
BERRY JULIANDI*

*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor,
Bogor, Indonesia*

Diterima 30 Mei 2018 /Disetujui 25 Juli 2018

This research aimed to confirm the tendency of mice to novel object, effect of exercise (in running-wheel) toward memory of mice and to test tendency of mice in avoiding predator signal in novel object. Novel object recognition test (NORT) used to test the memory the day after acquisition phase (NORT I) and memory one week after exercise was given (running-wheel) (NORT II). The result showed that there was no tendency of mice in exploring toward novel object in both NORT I and NORT II. This might happen because the complexity of familiar object higher than novel object, so the familiar object could accommodate more activities. Exercise using running-wheel in mice had an effect on memory, it could be seen in decreasing duration of object exploration time from NORT I to NORT II. There was no tendency in avoiding predator's signal on novel object which was attached by urine addition (odor signal).

Key words: odor, exercise, memory, mice, object recognition

PENDAHULUAN

Preferensi terhadap suatu obyek yang baru dikenali (*novelty*) sering digunakan untuk mengetahui proses suatu individu dalam mengenal suatu obyek baru. Hal tersebut berkaitan dengan memori yang diatur oleh otak sebagai sistem saraf pusat. Suatu individu dapat mengenali suatu obyek dengan berinteraksi secara intensif terhadap obyek tersebut. Preferensi terhadap suatu obyek juga dipengaruhi oleh bentuk fisik suatu obyek yang dapat diterima oleh suatu individu secara internal atau fisiologi dari individu ataupun pengalaman (Ennaceur *et al.* 2005). Menurut Leger *et al.* (2013) mencit dengan kemampuan kognitif yang baik, akan menghabiskan waktu yang lebih lama untuk mengeksplorasi obyek baru. Kemampuan kognitif suatu makhluk hidup dipengaruhi oleh daya ingat yang dimiliki oleh hewan. Salah satu cara untuk meningkatkan daya ingat yaitu dengan melakukan latihan fisik (Gage *et al.* 1998).

Novel Object Recognition Test (NORT) merupakan suatu uji yang digunakan untuk melihat kemampuan daya ingat dari suatu hewan uji. Penelitian mengenai NORT mengkaji tentang parameter yang diukur maupun desain percobaannya, misalnya tentang obyek yang digunakan dalam uji tersebut. Dalam NORT suatu obyek harus berukuran besar agar dapat menarik perhatian hewan, karena obyek yang

berukuran kecil memiliki sedikit bagian atau karakter yang dapat dieksplorasi oleh hewan (Ennaceur 2010). Berdasarkan penelitian Chemero dan Heyser (2005) mengungkapkan bahwa, tikus lebih menyukai obyek yang bisa dipanjat dibandingkan dengan yang tidak, sehingga bisa diasumsikan bahwa hewan lebih menyukai obyek yang mampu mendukung aktivitas umum yang biasa hewan lakukan. Selain dua hal diatas, Ennaceur (2010) berasumsi bahwa obyek dengan tingkat similaritas yang tinggi mungkin tidak dapat dibedakan oleh hewan pengerat (Rodentia) karena keterbatasan daya ingatnya. Obyek uji yang banyak digunakan dalam uji NORT memiliki bentuk dasar yang mirip seperti pada Leger *et al.* (2013) menggunakan 2 buah obyek uji berupa lego yang disusun membentuk menara dan botol dengan dasar kotak yang diisi pasir, yang hasilnya menunjukkan bahwa hewan uji mengalokasikan waktu yang lebih pada obyek baru. Informasi mengenai pengaruh bentuk yang berbeda pada dua buah obyek (lama dan baru) yang dikenalkan dalam NORT masih terbatas.

Interaksi mangsa dengan predator menyebabkan adanya perilaku kewaspadaan mangsa terhadap predator. Kemampuan indera dan perilaku adaptasi pada hewan mangsa telah berkembang untuk meningkatkan kemampuan mendeteksi dan menghindari predator. Sebagian besar mamalia memiliki kemampuan mendeteksi predator melalui bau yang dihasilkan predator. Satu dari beberapa bau yang digunakan oleh hewan mangsa sebagai penanda adanya predator yaitu bau urin (Nolte *et*

*Penulis korespondensi:
E-mail: bjuliandi@ipb.ac.id

al. 1994). Spesies dari kelompok Rodentia mampu mendeteksi keberadaan Felinae berdasarkan bau hewan predator tersebut, yang kemampuan ini dimiliki rodentia sejak lahir atau diturunkan secara genetis (Dickman 1998, Dielenberg dan McGregor 2001). Informasi pengaruh urin kucing secara langsung terhadap mencit masih terbatas dan juga mengenai pengaruh urin kucing terhadap respon mencit dalam uji NORT. Dalam penelitian ini, dilakukan pengujian kembali kecenderungan *M. musculus* mengeksplorasi obyek baru dan menguji hipotesis bahwa mencit yang diberi *running-wheel* memiliki daya ingat yang lebih tinggi, serta menguji kecenderungan untuk menghindari predator dibandingkan dengan mengeksplorasi benda baru bila benda baru diberi urin predator. Selain itu dalam menguji ketiga hipotesis tersebut, penelitian ini juga menguji perbedaan jenis kelamin mempengaruhi ketiga uji tersebut.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 7-25 April 2018, bertempat di Rumah Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Alat dan Bahan. Bahan yang digunakan dalam penelitian berupa mencit jantan dan betina berumur 10-12 minggu sebanyak 12 ekor (masing-masing jenis kelamin 6 ekor). Berat badan tikus jantan yang digunakan berkisar 30.5-34.5g sedangkan tikus betina berkisar 27.5-31.5g. Mencit yang digunakan berasal dari Unit Pengelola Hewan Laboratorium (UPHL), Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Alat yang digunakan berupa kandang tikus (suhu 22-25°C; kelembapan udara 55-63%; pengaturan cahaya lampu 12 jam terang dan 12 jam gelap). Tempat uji berbentuk sirkular, berbahan plastik, dengan diameter ± 50 cm. Dua buah *running-wheel*, 3 jenis obyek uji (2 obyek berbahan plastik, 1 obyek berbahan kertas karton), kamera dan tripod.

Pemeliharaan. Pemeliharaan hewan uji (mencit) dilakukan dengan membagi 12 mencit menjadi 4 kelompok, yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit dengan jenis kelamin yang sama. Kemudian ke-4 kelompok mencit tersebut ditempatkan ke-4 kandang yang berbeda. Dua kelompok mencit yang berbeda jenis kelamin diberikan akses terhadap *running-wheel*, sedangkan dua kelompok lainnya tidak. Empat kelompok mencit dipelihara sampai dengan proses pengujian selesai. Selama pemeliharaan, mencit diberikan akses air minum dan diberikan pakan 2 kali sehari.

Stimulan Bau. Stimulan bau predator yang digunakan berasal dari urin kucing rumahan. Urin dikoleksi dari pasir, tempat kucing defekasi dan urinasi, dengan mengambil pasir yang masih basah oleh urin dan ditambahkan dengan air dengan perbandingan 1:1 (v/v). Setelah itu, air hasil pencampuran dengan pasir tersebut diteteskan ke potongan kain kanebo berukuran

2.2 x 1.8 cm sampai permukaan kain tersebut basah. Setelah itu, kain tersebut ditempelkan ke obyek uji berbahan karton (C).

Pengujian Novel Object Recognition (NORT). Pengujian dilakukan dengan menggunakan uji *novel object recognition test* (NORT) dengan tahapan-tahapan melakukan uji tersebut mengacu pada Leger *et al.* (2013). Uji NORT dilakukan sebanyak 3 kali. Pengujian (NORT I) dilakukan dalam 2 tahapan, yaitu tahap akuisisi/pengenalan dan tahapan uji. Tahapan akuisisi dilakukan dengan menempatkan 2 buah obyek yang sama (jenis/bentuknya) dalam suatu tempat uji (*apparatus*), disebut obyek A. Pada penelitian yang dilakukan menggunakan sebuah *apparatus* berbahan plastik dengan bentuk sirkular (diameter ± 50 cm). Mencit menunjukkan perilaku yang sama pada berbagai bentuk tempat uji (Kalueff *et al.* 2006). Obyek uji diletakkan ± 5 cm dari dinding *apparatus*. Mencit kemudian diletakkan pada *apparatus* (mencit tidak diberikan proses habituasi), dengan posisi kepala menghadap dinding *apparatus* (membelakangi obyek uji). Setelah itu pengamatan perilaku yang ditunjukkan oleh mencit terhadap obyek direkam dengan menggunakan kamera selama 10 menit. Dengan perekaman video, data perilaku yang diamati berupa jumlah dan waktu mencit mengeksplorasi masing-masing obyek. Mencit diartikan mengeksplorasi suatu obyek jika mencit mengendus obyek dan memegang dan atau menggigit obyek dan atau memanjat obyek (Leger *et al.* 2013).

Satu hari setelah tahap akuisisi, dilakukan tahapan uji, dengan mengganti salah satu obyek yang digunakan (A) pada tahapan akuisisi dengan obyek yang baru (B). Kemudian dilakukan dengan runutan tahap yang sama yang ada pada tahapan akuisisi. Tujuh hari kemudian, dilakukan uji NORT (NORT II) dengan obyek uji yang sama dengan tahap uji dari NORT I (A dan B). Uji NORT III dilakukan 1 hari setelah NORT II. Uji NORT III dilakukan seperti pada NORT II dengan obyek uji A diganti dengan obyek uji baru (C). Obyek uji C merupakan obyek uji yang telah ditambahkan dengan air rendaman dari pasir tempat kucing urinasi.

Analisis data dilakukan dengan menghitung nilai rata-rata dari total durasi setiap mencit melakukan eksplorasi terhadap obyek pada setiap perlakuan. Analisis statistika menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dan uji T yang dilakukan dengan perangkat lunak SPSS Statistics 22.

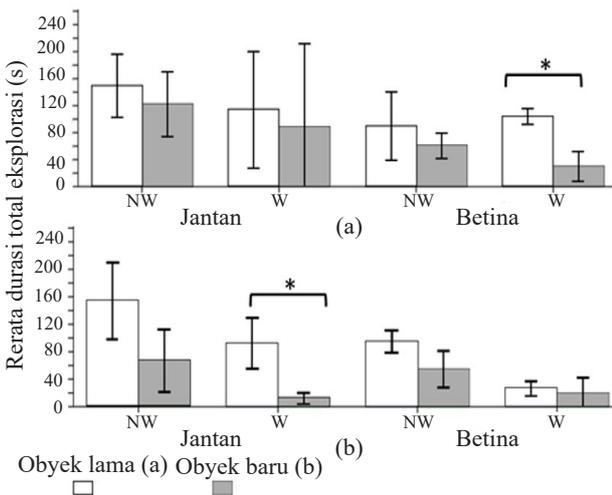
HASIL

Kecenderungan Mencit terhadap Obyek Lama. Pada pengujian *novel object recognition test* (NORT) I dan NORT II (masing-masing selama 10 menit), semua mencit lebih banyak menghabiskan waktu untuk mengeksplorasi obyek lama daripada obyek baru, namun sebagian besar pada kategori jenis kelamin dan kategori pemberian *running-wheel* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, kecuali pada

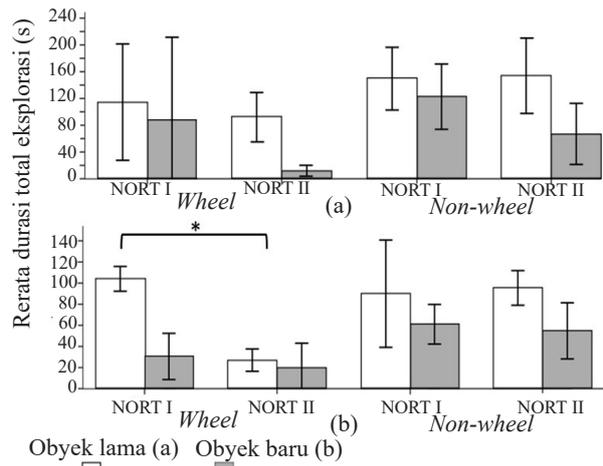
mencit betina dengan pemberian *running-wheel* ketika NORT I ($P= 0.012$) dan pada mencit jantan dengan pemberian *running-wheel* ketika NORT II ($P= 0.048$) (Gambar 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa mencit yang diuji baik pada NORT I maupun NORT II lebih cenderung menyukai obyek lama, yaitu yang telah dikenali ketika tahap pengenalan, bukan pada obyek baru.

Running-Wheel Meningkatkan Daya Ingat Mencit. Pola penurunan durasi eksplorasi obyek, baik untuk obyek lama maupun obyek baru, dari NORT I ke NORT II hanya ditunjukkan pada kelompok mencit yang diberi *running-wheel*, sedangkan durasi eksplorasi kelompok mencit yang tidak diberi *running-wheel* tidak menunjukkan pola penurunan durasi. Pola penurunan yang signifikan dari NORT I ke NORT II terlihat pada durasi eksplorasi individu betina terhadap obyek lama ($P=0.014$) (Gambar 2). Hal tersebut mengindikasikan bahwa latihan fisik dengan *running-wheel* yang diberikan pada mencit dapat meningkatkan daya ingat, dalam hal ini ditunjukkan jelas oleh kelompok mencit betina.

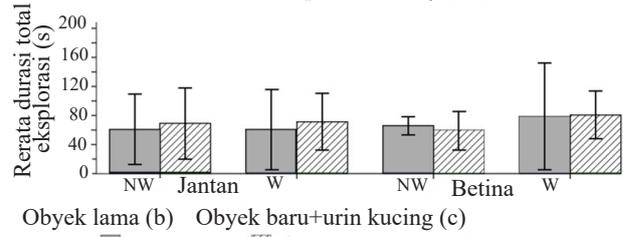
Mencit tidak Memperlihatkan Perilaku Menghindari Sinyal Bau Urin Predator. Kelompok mencit jantan menunjukkan durasi eksplorasi pada obyek baru yang telah diberi urin kucing lebih tinggi dibandingkan pada obyek lama, namun tidak signifikan (Gambar 3). Secara keseluruhan, tidak ada perbedaan yang signifikan antara durasi eksplorasi pada obyek lama dengan obyek baru. Hasil ini menunjukkan bahwa mencit tidak menghindari sinyal bau urin kucing yang diberikan pada obyek baru.



Gambar 1. Waktu yang digunakan mencit mengeksplorasi obyek lama (a) dan obyek baru (b) pada *novel object recognition test* (NORT) I (a) dan NORT II (b), dengan kelompok mencit yang diberi *running-wheel* (W) dan kelompok kontrol (NW). Masing-masing kelompok terdiri dari kelompok jantan dan kelompok betina (N=3). Data merupakan rerata total durasi dengan *standard error*. Simbol bintang bermakna adanya perbedaan yang signifikan



Gambar 2. Perbandingan waktu yang dihabiskan mencit dalam mengeksplorasi obyek saat *novel object recognition test* (NORT) I dan saat NORT II pada kelompok mencit jantan (a) dan kelompok mencit betina (b). Masing-masing kelompok jenis kelamin terdiri dari kelompok mencit yang diberi perlakuan *running-wheel* (W) dan kelompok kontrol (NW) (N=3). Data merupakan rerata total durasi dengan *standard error*. Simbol bintang bermakna adanya perbedaan yang signifikan



Gambar 3. Waktu yang dihabiskan mencit mengeksplorasi obyek lama (b) dan obyek baru (c) yang ditambahkan cairan urin, dengan kelompok mencit yang diberi *running-wheel* (W) dan kelompok kontrol (NW). Masing-masing kelompok terdiri dari kelompok jantan dan kelompok betina (N=3). Data merupakan rerata total durasi dengan *standard error*

PEMBAHASAN

Hasil observasi pada *novel object recognition test* (NORT) I dan NORT II menunjukkan adanya pola penurunan durasi eksplorasi kelompok mencit *running-wheel* terhadap obyek lama maupun obyek baru. Terbentuknya pola penurunan durasi tersebut menunjukkan adanya daya ingat yang lebih pada kelompok perlakuan ini. Hal tersebut berkaitan dengan penelitian yang dilakukan Gaskin *et al.* (2010) bahwa hewan coba (dalam hal ini tikus) yang melakukan eksplorasi terhadap benda yang sama akan semakin berkurang intensitas perilaku eksplorasinya dari waktu ke waktu. Kesadaran tikus akan kesamaan obyek yang dilihatnya tersebut tentunya dikarenakan tikus mengingat bahwa benda tersebut pernah dilihatnya.

Running-wheel yang bertujuan memberikan latihan fisik terhadap mencit menunjukkan pengaruh yang berbeda antar jenis kelamin sebagaimana hasil penelitian ini. Mahmoodzadeh *et al.* (2012) telah memaparkan bahwa hal tersebut dapat dipengaruhi

oleh faktor internal yakni hormon yang berbeda antara jantan dan betina. Betina memiliki kemampuan yang lebih dalam hal mengingat dibandingkan jantan karena memiliki hormon estrogen yang berperan lebih pada kemampuan jantung dalam proses respirasi. Proses respirasi yang baik berbanding lurus terhadap kemampuan otak untuk mengingat karena dalam ingatan yang baik diperlukan suplai oksigen dalam darah (dari jantung) yang lebih baik pula (Mahmoodzadeh *et al.* 2012).

Mencit yang diuji baik pada NORT I maupun NORT II memperlihatkan kecenderungan pada obyek lama. Hal ini bertentangan dengan kecenderungan mencit untuk mengeksplorasi obyek baru dibandingkan obyek yang telah dikenal (Leger *et al.* 2013). Fenomena seperti ini telah dijelaskan oleh Ennaceur *et al.* (2005) bahwa preferensi terhadap suatu obyek dipengaruhi oleh bentuk fisik obyek tersebut dan dapat diterima oleh suatu individu secara internal atau fisiologis melalui individu lain ataupun pengalaman. Lebih lanjut Ennaceur menjelaskan bahwa suatu individu dapat lebih mengenal suatu obyek dengan interaksi yang intensif terhadap obyek tersebut. Preferensi terhadap suatu obyek yang baru dikenali atau yang lebih dikenal dengan *novelty* sering digunakan untuk mengetahui bagaimana suatu individu mengenal suatu obyek baru. Hal tersebut berkaitan dengan memori yang diatur oleh otak sebagai sistem saraf pusat.

Chemero dan Heyser (2005) melaporkan adanya keterkaitan antara kemampuan hewan uji dan karakteristik obyek yang sangat berkaitan, dimana hewan uji (dalam hal ini tikus) lebih menyukai suatu obyek yang bisa dipanjat dibandingkan dengan yang tidak. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa tikus lebih suka pada obyek yang mampu untuk mendukung aktivitas umum dari tikus tersebut sehingga menyebabkan kontak yang lebih sering terhadap obyek. Sebagaimana yang terjadi pada penelitian ini, obyek lama dengan bentuk yang kompleks, sehingga memungkinkan mencit melakukan lebih banyak aktivitas, lebih sering dikunjungi oleh mencit dibandingkan obyek baru dengan kompleksitas bentuk yang lebih sederhana (Gambar 1). Kompleksitas bentuk obyek diduga lebih dominan dibanding dengan rasa penasaran mencit, sehingga mencit tidak lebih sering melakukan kontak dengan obyek baru.

Kucing merupakan predator bagi Rodentia. Mencit sebagai salah satu hewan Rodentia mampu mendeteksi keberadaan kucing dari bau urin, yang sudah dimiliki dari sejak lahir (*innate*). Tikus yang dipelihara di laboratorium tetap memiliki kemampuan mendefinisikan bau urin kucing sebagai tanda bahaya walaupun tidak pernah mendapat pengalaman dengan kucing sebagai predator (Dielenberg dan McGregor 2001). Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, mencit secara alamiah akan lebih banyak mengeksplor benda baru dibandingkan dengan benda lama, namun dalam penelitian ini

benda baru ditempelkan substrat yang mengandung bau urin kucing. Berdasarkan hal tersebut diduga mencit akan cenderung mengeksplorasi obyek lama dan menghindari obyek baru, namun hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya perilaku menghindari obyek baru yang dimanipulasi sebagai sinyal keberadaan predator. Total waktu yang dihabiskan mencit untuk mengeksplorasi kedua obyek relatif sama. Hal ini dapat terjadi karena konsentrasi bau urin kucing kurang tinggi atau diduga karena dalam penelitian ini pemberian bau tidak menyeluruh pada obyek baru, melainkan hanya pada sebagian kecil permukaan obyek baru. Tidak terjadinya perilaku menghindari sinyal predator juga terjadi pada mencit jantan CD-1 yang diberikan stimulus bau yang berasal dari molekul *3-mercapto-3-methylbutyl-1-formate* (molekul yang ditemukan pada urin kucing) (Sievert dan Laska 2016). Hal ini mungkin disebabkan karena berbagai hal yaitu konsentrasi, strain mencit, habituasi terhadap bau atau berubahnya struktur molekul kimia dari molekul bau (Sievert dan Laska 2016).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pola penurunan durasi kontak mencit terhadap obyek yang sama dari NORT I ke NORT II pada kelompok *Running-wheel* menunjukkan adanya peningkatan daya ingat (memori). Pengaruh *Running-wheel* terhadap daya ingat pada betina lebih terlihat dibandingkan pada mencit jantan. Mencit cenderung memilih untuk mengeksplorasi obyek lama dengan bentuk yang lebih kompleks dibandingkan obyek baru yang memiliki bentuk sederhana. Pemberian sinyal bau predator pada obyek baru tidak berpengaruh terhadap perilaku eksplorasi mencit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Program Studi Magister Biosains hewan, Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor. Kami menghaturkan terima kasih kepada Dr. Rika Raffiudin, M. Si atas bimbingan yang diberikan selama penelitian hingga penulisan naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chemero A, Heyser C. 2005. Object exploration and a problem with reductionism. *Synthese* 147:403-423.
- Dickman CR. 1998. The cat and its prey in Australia: behavioural, population and prey interaction. *Proceeding of the Australia Association of Veterinary Conservation Biologist*. pp. 1-11.
- Dielenberg R, McGregor S. 2001. Defensive behavior in rats towards predatory odors: A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25:597-609.
- Ennaceur A. 2010. One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behav Brain Res* 215:244-254.
- Ennaceur MS *et al.* 2005. Detailed analysis of the behavior of Lister and Wistar rats in anxiety, object recognition and object location tasks. *Behav Brain Res* 159:247-266.
- Gaskin S *et al.* 2010. Object familiarization and novel-object preference in rats. *Behav Proc* 83:61-71.

- Kalueff AV *et al.* 2006. Temporal stability of novelty exploration in mice exposed to different open field tests. *Behav Processes* 72:104–112.
- Leger M *et al.* 2013. Object recognition test in mice. *Nat Protoc* 8:2531-2537.
- Mahmoodzadeh S *et al.* 2012. *Sex Differences in Animal Models for Cardiovascular Diseases and the Role of Estrogen.* in V. Regitz-Zagrosek (ed.). Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin Heidelberg (DE): Springer-Verlag pp. 23.
- Nolte D *et al.* 1994. Why are predator urines aversive to prey. *J Chem Ecol* 20:1505–16.
- Sievert T, Laska. 2016. Behavioral Responses of CD-1 Mice to Six Predator Odor Components. *Chemical senses* 41:399-406.