

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Minyak Atsiri Pala

1. Deskripsi

Pala merupakan tanaman rempah asli yang berasal dari Indonesia. Bagian pala yang banyak digunakan yaitu biji pala dan fuli. Pada biji pala juga mengandung minyak atsiri sekitar 2-16% dan dengan rata-rata sekitar 10%, dan *fixed oil* (minyak lemak) sekitar 25-40%, karbohidrat sekitar 30% dan protein 6%. Minyak pala merupakan minyak atsiri yang didapatkan dari proses penyulingan biji pala yang telah dikeringkan dan diperoleh cairan bening yang hampir tidak berwarna hingga kuning.



Gambar 1. Biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) (Legoh *et al.*, 2020).

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap yang dapat mengeluarkan bau khas sesuai dengan tanaman asalnya. Minyak atsiri sering digunakan untuk wewangian, aromaterapi, kosmetik, dupa, obat-obatan, rempah masakan dan produk pembersih rumah tangga (Aprilia *et al.*, 2013). Minyak atsiri ini terdiri dari campuran turunan terpen dan alkenylbenzen yang dapat menghasilkan minyak atsiri dari daun, kulit, akar, biji, fuli, dan daging buah pala. Bagian daging buah pala menghasilkan sekitar 0,2-0,3% minyak atsiri dan pada biji pala menghasilkan minyak sekitar 7-14% (Ariantika *et al.*, 2024). Pada suatu tanaman sudah pasti memiliki sifat fisik yang akan menjadi standar mutu pada masing-masing tanaman. Dalam minyak atsiri biji pala yang disebutkan dalam SNI 06-2388-2006 yang meliputi karakteristik fisik dan kimia seperti warna kuning pucat, bau khas minyak pala, bobot jenis yaitu 0,880-0,910, dan indeks bias yaitu 1,470-1,497 (Maryati, 2023).

2. Kandungan minyak atsiri pala

Komponen utama pada senyawa minyak atsiri pala yaitu monoterpen hidrokarbon (61-88% diantaranya yaitu α -pinen, β -pinen, dan sabinen), monoterpena (5-15%), dan aromatik eter (2-18% diantaranya yaitu *miristisin*, *elemisin*, dan *safrol*)(Pareta, 2022).

Isolasi minyak atsiri pala menggunakan biji pala segar yang diproses dengan metode destilasi uap selama 14 jam dan identifikasi kandungan yang terdapat dalam minyak atsiri pala didapatkan dari proses uji analisis GC-MS yang terdapat 31 kandungan senyawa pada minyak atsiri (Ansory *et al.*, 2020).

Tabel 1. Kandungan Minyak Atsiri Pala

No	Waktu Retensi (menit)	Kandungan	Konsentrasi (%) minyak atsiri pala
1	9,661	α -Pinen	1,41
2	10,008	α -Pinen	20,96
3	10,557	Camphen	0,29
4	11,548	Sabinen	26,62
5	11,720	β -Pinen	15,10
6	12,079	Mirsena	2,08
7	12,583	4- (bromometil) sikloheksana	0,04
8	12,698	α -phellandrene	0,50
9	12,773	β -Osimen	0,52
10	13,099	α -Terpinen	2,22
11	13,407	1-metil-2- (1-metiletil) benzen	0,31
12	13,582	Limonen	5,24
13	14,630	γ -Terpinen	3,27
14	15,100	Sabinenhidrat	0,17
15	15,580	α -Terpinolen	1,00
16	16,200	Linalool	0,15
17	17,010	1-terpineol	0,12
18	18,913	4-terpineol	3,71
19	19,431	α -terpineol	0,46
20	22,080	Bornil asetat	0,09
21	22,383	Safrol	1,15
22	22,649	Amilanol	0,43
23	23,923	Mirtanil asetat	0,31
24	24,241	Eugenol	0,09
25	24,771	α -copaen	0,46
26	25,038	Metil eugenol	0,09
27	26,038	β -caryophyllene	0,07
28	26,316	α -Bergamoten	0,10
29	28,320	α -Bisabolen	0,04
30	28,632	α -Cadinen	0,06
31	28,858	Miristisin	12,94

3. Aktivitas Farmakologi

Minyak atsiri biji pala memiliki aktivitas farmakologi yang sudah diteliti oleh beberapa peneliti di dunia. Minyak atsiri yang diberikan kepada mencit dengan perlakuan secara peroral dapat menginduksi depresi pada mencit setelah diinduksi dengan amitriptilin. Menurut penelitian tersebut, minyak atsiri biji pala diduga memiliki efek antidepresan karena memiliki salah satu kandungan yang memuncaki kadar terbesar yaitu miristisin. Miristisin memiliki karakteristik yang memberikan aktivitas penghambat MAO lemah. Selain itu, limonen berpotensi memberikan efek depresi karena bekerja dengan melepaskan monoamine dopamine seperti antidepresan golongan MAO inhibitor, dan eugenol yang termasuk senyawa aktif yang memiliki kesamaan pada aktivitas antidepresan penghambat MAO (Nabila *et al.*, 2024).

Biji pala hingga saat ini tidak sedikit peneliti yang masih penasaran dengan berbagai khasiat dari tumbuhan tersebut. Sehingga banyak ditemukan dari beberapa informasi mengenai berbagai aktivitas farmakologi yang terdapat pada tumbuhan biji pala tersebut, diantaranya yaitu:

3.1 Sedatif. Pada penelitian (Ahidin *et al.*, 2022) menjelaskan, ekstrak etanol pada biji pala (*Myristica Fragrans* Houtt.) memiliki efek sedatif pada mencit putih dengan dosis 6 mg/20 g BB mencit dan kontrol positif (Diazepam) dosis 0,013 mg/20 g BB. Pengukuran efektivitasnya dilakukan dengan menghitung jumlah jatuh mencit pada masing-masing kelompok setiap 15 menit. Dan dari penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil yaitu menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok sampel ekstrak etanol biji pala dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Efek sedatif dari perlakuan ekstrak etanol biji pala menunjukkan potensi sedatif sebesar 87,7% yang lebih rendah dibandingkan potensi kontrol positif yang mencapai 91,6%. Hal ini terjadi dikarenakan biji pala mengandung minyak atsiri yang memiliki berbagai senyawa aktivitas sedatif yang dapat digunakan sebagai obat penenang-hipnotik.

3.2 Antidepresan. Efektivitas antidepresan dalam minyak atsiri biji pala dapat meningkatkan aktivitas eksploratori dan menurunkan imobilitas pada hewan uji mencit jantan galur *Swiss Webster* yang dilakukan pada metode *Forced Swimming Test* dan *Open Field Test* dengan didapatkan hasil penelitian yang menunjukkan dosis optimum yaitu 5 mg/kgBB mencit. Hal ini dikarekan dosis minyak atsiri biji pala

5 mg/kg BB mencit memiliki kesetaraan dengan kelompok kontrol positif amitriptilin dalam dosis 3,25 mg/kgBB mencit. Selain itu, kandungan senyawa yang terdapat pada minyak atsiri biji pala yaitu miristisin memiliki kadar 12,94% yang diduga senyawa tersebut memiliki mekanisme *Monoamine Oxidase Inhibitor* (MAOI) (Nabila *et al.*, 2024).

Hal ini diperkuat oleh penelitian (Maharani *et al.*, 2023) bahwa senyawa Isomiristin yang merupakan senyawa hasil sintesis dari miristisin diketahui memiliki aktivitas antidepresan dengan dosis optimum pada 1,5 mg/kgBB mencit melalui metode *Forced Swimming Test* dan *Open Field Test*. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa senyawa Isomiristin terbukti memiliki efektivitas yang lebih baik daripada senyawa miristisin. Hal ini disebabkan oleh adanya perubahan dalam ikatan rangkap pada alkenil benzen di posisi terkonjugasi, yang menjadikan molekul tersebut lebih stabil akibat efek resonansi yang lebih luas.

3.3 Antioksidan. Menurut penelitian yang dilakukan (Feninlambir *et al.*, 2023) biji pala mengandung senyawa fenolik yang diyakini memiliki aktivitas antioksidan yang dapat dilihat dari laju reaksi oksidasi yang ditimbulkan dari radikal bebas. Kekuatan aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dan penetapan kadar total fenolik menggunakan metode kolorimetri dengan reagen *Folin Ciocalteu*. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan minyak atsiri biji pala memiliki aktivitas antioksidan dengan tingkat kekuatan sedang ditunjukkan pada nilai IC^{50} sebesar 116,47 $\mu\text{g/mL}$ dan kadar total fenolik mencapai $55,36 \pm 0,38$ mg GAE/g. Hal ini disebabkan pada gugus fenol yang bersifat semi polar sehingga etanol dapat larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang tinggi, sehingga menyebabkan aktivitas antioksidan semakin kuat.

3.4 Antibakteri. Biji buah pala mengandung senyawa seperti minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan terpenoid yang telah terbukti efektif melawan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan metode difusi cakram dan hasilnya menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% sudah mulai tampak zona hambat. Selain itu, hasil penelitian juga menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi, zona penghambatan yang terbentuk semakin luas, dan semakin tinggi tingkat antibakterinya, semakin banyak pula mikroorganisme yang terhambat pertumbuhannya (Ifriana *et al.*, 2018).

3.5 Antipiretik. Salah satu senyawa yang dimiliki oleh minyak atsiri biji pala yaitu oleoresin merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antipiretik. Penelitian aktivitas antipiretik pada minyak atsiri biji pala didapatkan hasil dosis terbaik yang memberikan efek antipiretik pada hewan uji yaitu dosis 80 mg/kgBB dengan diinduksi vaksin DPT-Hb. Waktu penurunan suhu dari ekstrak biji pala yaitu pada menit ke 120. Penurunan suhu yang terjadi dikarenakan adanya penurunan tingkat demam pada mencit atau sama dengan adanya peningkatan efektivitas antipiretik(Handayani *et al.*, 2024).

B. Fraksi MAP-F170/500 dan MAP-F170/400

Fraksinasi merupakan suatu proses yang dilakukan untuk memisahkan senyawa aktif dari tanaman biji pala yang memiliki khasiat sebagai antidepresan ditinjau dari kandungan senyawa tersebut. Melalui fraksinasi, kita dapat memprediksi urutan pemisahan komponen-komponen dalam campuran cair, dimana komponen dengan titik didih lebih rendah (volatilitas tinggi) akan terpisah dan menguap terlebih dahulu, diikuti oleh komponen dengan titik didih lebih tinggi (volatilitas rendah). Dalam fraksinasi pengurangan tekanan adalah proses pemisahan campuran cairan dengan mengurangi tekanan sistem. Fraksi yang digunakan pada penelitian adalah fraksi MAP-F170/500 dan fraksi MAP-F170/400.

Fraksi MAP-F170/500 adalah fraksi minyak atsiri hasil distilasi fraksionasi biji pala tekanan 500 mmHg dan suhu 170°C. Sedangkan fraksi MAP-F170/400 adalah fraksi minyak atsiri hasil distilasi fraksionasi biji pala tekanan 400 mmHg dan suhu 170°C. Kedua fraksi tersebut merupakan hasil destilasi fraksionasi yang dilakukan berdasarkan perbedaan titik didih dan tekanan uap senyawa didalamnya. Untuk mendapatkan fraksi tersebut yaitu dilakukannya fraksinasi senyawa dalam minyak atsiri pala dengan perhitungan menggunakan persamaan *Clausius clapeyron*.

C. Antidepresan

Menurut *American Psychiatric Association* (2013) gangguan depresi merupakan gangguan psikologi yang dapat ditandai dengan perasaan yang mudah tersinggung, kesedihan, kehampaan dan perubahan somatik dan kognitif yang dapat mempengaruhi kemampuan seseorang dalam menjalani kesehariannya. Depresi adalah kondisi dimana seseorang mengalami gangguan suasana hati yang dapat mengancam nyawa seseorang. Depresi merupakan penyakit yang dapat merugikan

pikiran, perasaan, dan perilaku seseorang pengidap depresi (Ningtyas *et al.*, 2019). Patofisiologi penyebab terjadinya depresi pada perubahan neurotransmitter, terutama defisiensi serotonin yang dalam kondisi normal serotonin dapat tersebar luas di seluruh sistem saraf. Namun, ketika tubuh mengalami kekurangan serotonin, hal ini dapat menjadi penyebab timbulnya depresi. Selain itu, ketidakseimbangan pada neurotransmitter lain seperti dopamin, norepinefrin, glutamat dan neurotrophin juga dikaitkan dengan munculnya gejala depresi (Putri *et al.*, 2024).

Obat antidepresan merupakan obat-obatan yang digunakan untuk mengatasi depresi. Antidepresan bekerja dengan cara menyeimbangkan kadar serotonin, norepinefrin dan dopamin. Hal itu merupakan neurotransmitter yang berperan penting dalam mengatur suasana hati dan perilaku (Bhakti Natari, 2023).

1. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI)

SSRI bekerja dengan cara menghambat penyerapan serotonin ke dalam neuron presinaptik, sehingga dapat meningkatkan kadar serotonin dalam otak.

Obat golongan SSRI sering digunakan untuk pengobatan lini pertama karena memiliki efek samping yang cenderung aman. Oleh karena itu, memiliki efek yang lebih sedikit pada reseptor adrenergik, kolinergik, dan histaminergik. SSRI menghambat transporter serotonin yang berada di terminal akson presinaptik. Dengan menghambat serotonin, jumlah serotonin yang ada tetap terjaga di celah sinaptik dan dapat menstimulasi reseptor presinaptik dalam waktu yang lebih lama (Andrew and Roopma, 2023).

Efek samping yang akan ditimbulkan oleh obat golongan SSRI adalah insomnia, kelelahan, kecemasan, sakit kepala, disfungsi seksual dan berat badan meningkat. Obat SSRI tersebut dilaporkan dapat berinteraksi dengan 40 obat lainnya yang mengakibatkan serotonin syndrome. Ciri- ciri yang dimiliki serotonin syndrome adalah tremor, demam, kebingungan dan kekakuan. Beberapa obat yang termasuk dalam golongan SSRI antara lain fluoxetine, paroxetine, sertraline, citalopram, dan fluvoxamine (Ningtyas *et al.*, 2019).

2. Serotonin Norepinefrin Reuptake Inhibitors (SNRI)

SNRI bekerja dengan cara mengangkut serotonin dan norepinefrin. Secara struktural, pengangkutan norepinefrin mirip dengan pengangkutan serotonin. Namun, pengangkutan norepinefrin memiliki

afinitas yang lebih rendah terhadap dopamin. Sedangkan sebagian besar SNRI cenderung memiliki afinitas yang lebih besar terhadap pengangkut serotonin dibandingkan dengan norepinefrin. Beberapa contoh obat yang termasuk dalam golongan SNRI antara lain venlafaxin, desvenlafaxine, duloxetine, levomilnacipran, dan milnacipran (Ningtyas *et al.*, 2019).

3. Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOI)

MAOI bekerja dengan cara memaksimalkan kadar norepinefrin, 5-HT, dan dopamin dalam sel saraf yang dilakukan dengan cara menghambat enzim monoamin oksidase. Enzim ini memiliki fungsi utama dalam tubuh yaitu melakukan deaminasi oksidatif terhadap katekolamin yang berada di dalam mitokondria. Pada tahapan ini menjadi terhambat oleh MAOI dikarenakan terbentuknya kompleks antara MAOI dan MAO, yang mengakibatkan peningkatan kadar serotonin, norepinefrin, dan epinefrin. Selain menghambat MAO, MAOI juga berpengaruh terhadap enzim lain yang dapat mengganggu metabolisme obat di hati. Contoh yang termasuk dalam golongan obat MAOI adalah phenelzine, tranylcypromine, isocarboxazid, selegiline (Ningtyas *et al.*, 2019). MAOI memiliki mekanisme aksi yang berperan dalam memblokir enzim monoamine oksidase. Enzim ini bertugas dalam memecah berbagai neurotransmitter yang berasal dari otak seperti, norepinefrin, serotonin, dopamin dan tiramin. MAOI mencegah proses pemecahan neurotransmitter tersebut, sehingga meningkatkan kadar dan dapat mempengaruhi sel-sel yang terdampak depresi (Tahrier Sub and Abdolreza, 2023).

4. Tricyclic Antidepressant (TCA)

Obat golongan trisiklik terbukti efektif dalam mengatasi penyakit depresi. Namun, penggunaannya kini mengalami penurunan karena telah tersedia alternatif obat yang menawarkan efektivitas terapi yang serupa dengan dosis yang lebih aman dan lebih mudah ditoleransi. Obat ini bekerja dengan cara menghambat reabsorpsi norepinefrin dan serotonin, serta menghambat reseptor adrenergik, kolinergik, dan histaminergik. Contoh obat golongan TCA adalah amitriptilin, imipramine, nortriptilin (Ningtyas *et al.*, 2019). TCA memberikan efeknya dengan memodulasi sekitar 5 jalur neurotransmitter yang berbeda. Obat-obatan ini berfungsi dengan menghambat penyerapan kembali serotonin dan norepinefrin di terminal presinaptik, sehingga meningkatkan neurotransmitter di celah sinaps. Peningkatan kadar norepinefrin dan serotonin di sinaps dapat berperan dalam efektivitas antidepresan. Neurotransmitter ini juga

berfungsi sebagai antagonis kompetitif pada reseptor kolinergik postsinaptik, muskarinik dan histamin (H1)(Moraczewski *et al.*, 2023).

D. Fluoxetine

Fluoxetine merupakan salah satu jenis obat antidepresan yang termasuk dalam golongan *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* (SSRI). Obat ini merupakan inhibitor reuptake serotonin spesifik yang digunakan sebagai satu-satunya pengobatan farmakologis yang disetujui untuk pengobatan gangguan depresi mayor terlebih pada anak-anak dan remaja (Reyad *et al.*, 2021). Fluoxetine memiliki mekanisme kerja dengan cara meningkatkan zat alami serotonin di dalam otak. Serotonin adalah salah satu neurotransmitter yang mengatur suasana hati, pola tidur, dan selera makan. Saat kadar serotonin di otak meningkat, masalah kesehatan mental dan emosional dapat diselesaikan. Fluoxetine memiliki tingkat keamanan dan keefektifan yang terbaik dalam menangani gejala negatif dibandingkan dengan tipe antidepresan lainnya. Sementara itu, pemberian fluoxetine juga dapat memaksimalkan kepatuhan pasien terhadap penggunaan obat. Pemakaian fluoxetine pada usia lanjut dan wanita hamil juga dinilai aman dan efektif. Selain itu, tidak ada hubungan antara penggunaan fluoxetine dan peningkatan risiko bunuh diri (Hanifah & Suzana, 2024).

Kelebihan fluoxetine telah terbukti ampuh untuk menangani depresi berat, gangguan obsesif-kompulsif, serta gangguan kecemasan. Oleh karena itu, obat ini dianggap lebih aman untuk pemakaian jangka panjang dan memiliki profil efek samping yang lebih baik dibandingkan dengan obat antidepresan lain. Fluoxetine telah terbukti memaksimalkan *plasticity* dan pembentukan sinaps baru yang dapat memperbaiki suasana hati serta gejala depresi (Rahma & Suzana, 2024).

Fluoxetine memiliki mekanisme aksi yang secara farmakodinamik, fluoxetine bekerja dengan menghambat transporter serotonin pada neuron presinaptik, sehingga meningkatkan kadar serotonin di celah sinaptik dan menghambat transmisi serotonergik. Efek ini berkontribusi pada perbaikan mood dan gejala depresi. Fluoxetine memiliki sedikit pengaruh terhadap penyerapan kembali noradrenalin. Karena aksi obat pada penyerapan kembali serotonin, fluoxetine menimbulkan efek stimulasi dan karena waktu paruhnya yang lama, efek antidepresan awal akan terlihat dalam waktu 2 hingga 4 minggu. Sedangkan secara farmakokinetik, fluoxetine memiliki waktu paruh 2

hingga 4 hari dan norfluoxetine memiliki waktu paruh 7 hingga 9 hari. Hal ini menyebabkan efek fluoxetine bertahan lama dan eliminasi obat relatif lambat bahkan setelah dihentikan penggunaannya dan dapat berpengaruh jika penghentian fluoxetine lalu meresepkan obat yang dapat berinteraksi dengan fluoxetine dan norfluoxetine setelah penghentian (Sohel *et al.*, 2024).

E. Metode Uji Depresan

1. Parameter gerak lokomotor

1.1 *Open Field Test (OFT)*. *Open field test* merupakan metode uji yang digunakan untuk mengamati aktivitas lokomotor dan perilaku hewan uji dengan mengukur aktivitas hewan uji di lingkungan terbuka. Parameter yang diamati adalah aktivitas gerak lokomotor yang terjadi pada hewan uji di arena *central square*. Dalam kondisi depresi, hewan uji akan lebih banyak diam dan menempel di dinding atau tidak melakukan eksplorasi. Hewan uji yang tidak depresi akan lebih mengeksplorasi bagian tengah kotak. Pengujian ini dilakukan dengan cara memasukkan hewan uji ke dalam suatu kotak tanpa penutup, dan diamati selama 5 menit sebelum diberi perlakuan secara oral, lalu hewan uji diberi perlakuan selama 7 hari berturut (Rahma & Suzana, 2024).

Metode ini memiliki kelebihan dalam pengoperasian semi-otomatis yang lebih nyaman dan efektif daripada tes yang lain, memiliki dampak lebih kecil terhadap hewan, sangat baik dalam mengukur rasa takut dan keputusan, dan memiliki fungsi ganda yang digunakan sebagai mengukur kecemasan, yang memiliki dampak besar pada kesamaan terapeutik (Hao *et al.*, 2019).

Kelemahan dalam metode OFT adalah terlalu banyak memakan waktu, peka terhadap perubahan lingkungan dan memiliki validitas konstruk rendah yang digunakan untuk investigasi etiologi (Hao *et al.*, 2019).

2. Parameter durasi immobilitas

2.1 *Forced Swimming Test (FST)*. *Forced swimming test* merupakan salah satu metode yang biasa digunakan untuk mengukur efektivitas pada hewan uji. Efektivitas suatu obat antidepresan dievaluasi melalui durasi immobility time yang lebih singkat dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak menerima obat antidepresan yang memiliki sifat antidepresan.

Immobility time pada tikus diinterpretasikan sebagai kondisi putus asa pada manusia, yang merupakan salah satu faktor penyebab

depresi (Kurama *et al.*, 2013). Kelebihan metode FST adalah terletak pada efektivitasnya dalam mengevaluasi terapi antidepresan, dimana ia memiliki validitas prediktif yang kuat. Metode ini bersifat sederhana, cepat, akurat serta memanfaatkan senyawa dalam jumlah besar yang diproses secara otomatis (Hao *et al.*, 2019).

Kekurangan dari metode ini adalah tingginya tingkat kematian yang dapat ditimbulkan. Selain itu, terdapat banyak faktor pengganggu yang dapat memengaruhi pengukuran waktu immobilitas, seperti gangguan lingkungan. Metode ini juga tidak dapat digunakan untuk mengevaluasi mekanisme etiologi depresi, baik pada hewan maupun manusia (Hao *et al.*, 2019).

Metode uji FST dilakukan dengan menempatkan hewan uji ke dalam kotak akuarium berisi air dengan kedalaman tertentu sehingga kaki belakang hewan uji tidak menyentuh dasar akuarium. Suhu air disesuaikan dengan suhu ruang karena jika suhu air terlalu dingin dapat memicu perilaku renang lebih aktif (Ardianty & Manurung, 2020).

F. Hewan Uji

1. Deskripsi hewan uji

Mencit merupakan hewan uji yang sering digunakan pada penelitian laboratorium, yaitu sekitar 40-80% penggunaan mencit sebagai hewan uji. Hal ini dikarenakan mencit memiliki siklus hidup yang relatif pendek, jumlah keturunan per kelahiran yang banyak, variasi sifat yang tinggi, dan mudah dalam penanganan. Perlakuan pada mencit yang baik akan memudahkan penanganan dan jika perlakuan pada mencit kasar maka akan menimbulkan sifat agresif bahkan dapat menggigit pada kondisi tertentu (Tolistiawaty *et al.*, 2014).



Gambar 2. Mencit putih jantan (*Mus musculus L.*) (Yusuf *et al.*, 2022).

2. Pemilihan hewan uji

Pemilihan mencit sebagai hewan uji harus memenuhi beberapa kriteria diantaranya yaitu hewan uji harus bebas dari patogen, karena patogen dapat mempengaruhi hasil uji penelitian. Hewan uji harus

memiliki reaksi imunitas yang baik terhadap suatu penyakit. Nutrisi, kebersihan, pemeliharaan, dan kesehatan pada hewan uji harus tetap dijaga dan terkontrol dengan baik. Perkembangbiakan pada hewan uji yang akan digunakan juga harus dipastikan bebas dari parasit dan dipelihara dengan baik (Tolistiawaty *et al.*, 2014).

3. Pemeliharaan hewan uji

Pemeliharaan hewan uji harus diterapkan secara konsisten selama penelitian berlangsung agar hewan uji terhindar dari stress atau sakit, karena jika hal itu terjadi pada hewan uji dapat mempengaruhi hasil penelitian. Perlakuan peneliti terhadap hewan uji juga dapat mempengaruhi kualitas hewan uji yang dapat menentukan validitas pada hasil akhir penelitian (Mutiarahmi, *et al.*, 2021). Mencit juga membutuhkan karantina, aklimatisasi, dan stabilisasi yang optimal sebagai hewan uji laboratorium (Conour, *et al.*, 2006).

G. Landasan teori

Depresi merupakan sebuah kondisi yang ditandai oleh gangguan mental, dimana individu mengalami penurunan atau bahkan hilangnya minat terhadap hal-hal yang biasa mereka lakukan. Gejala-gejala yang umum muncul meliputi berkurangnya nafsu makan, kesulitan tidur, perasaan bersalah, dan kurangnya kemampuan untuk berkonsentrasi. Keadaan ini tidak hanya bisa bersifat sementara, tetapi juga dapat menjadi kronis dan berulang, mengganggu kemampuan seseorang dalam menjalankan tugas dan tanggung jawab sehari-hari. Dalam tingkat yang paling parah, depresi dapat meningkatkan risiko bunuh diri pada individu yang mengalaminya (Dianovinina, 2018).

Mekanisme kerja depresi dapat dijelaskan sebagai penurunan kadar neurotransmitter seperti serotonin dan norepinefrin di dalam otak, yang mengakibatkan timbulnya depresi. Gejala depresi sering kali meliputi perubahan dalam kemampuan kognitif, gaya bicara, serta fungsi vegetatif seperti nafsu makan, pola tidur, ritme biologi, dan aktivitas seksual. Semua perubahan ini biasanya berdampak pada gangguan dalam fungsi interpersonal, pekerjaan, dan hubungan sosial (Sulistyorini *et al.*, 2017).

Penggunaan obat antidepresan, meliputi selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), antidepresan trisiklik (TCAs), dan inhibitors monoamine oksidase (MAOIs) sering kali dijumpai dengan berbagai efek samping serta risiko ketergantungan. Data menunjukkan bahwa hampir 30% pasien tidak merespons dengan baik terhadap pengobatan

ini, sementara sekitar 70% pasien gagal mencapai kesembuhan total. Obat sintetik antidepresan memiliki efek samping yang dapat berpotensi menimbulkan ketergantungan, melihat dari banyak nya obat tersebut termasuk dalam golongan psikotropika. Oleh karena itu, sangatlah penting untuk mencari alternatif antidepresan yang lebih aman untuk digunakan. Sebagian besar masyarakat Indonesia cenderung memilih menggunakan tanaman atau bahan alami sebagai pengobatan, karena dianggap lebih aman dan mudah ditemukan di lingkungan sekitar mereka (Ayu *et al.*, 2024).

Pada penelitian ini menggunakan tanaman biji pala (*Myristica Fragrans* Houtt.) yang dinilai dapat membantu untuk mengobati depresi pada mencit. Hasil analisis dari GC-MS didapatkan kandungan senyawa dalam minyak biji pala yaitu 5 senyawa yang paling dominan, senyawa tersebut meliputi γ -terpinene, 3- cyclohexene-1, 4-methyl-1-(methylethyl), safrol, miristisin dan metil ester (Wulandari *et al.*, 2024). Biji pala memiliki efek antidepresan karena memiliki senyawa miristisin. Miristisin merupakan senyawa aktif yang bermekanisme kerja dengan menghambat enzim *Mono Amine Oxidase* (MAO) (Wangu *et al.*, 2025). Penelitian terkait senyawa miristisin yaitu yang memiliki aktivitas antidepresan pada dosis 5 mg/kgBB mampu menghasilkan penurunan durasi immobility time dan peningkatan pada gerak lokomotor yang sebanding dengan kontrol positif, hal itu dibuktikan dengan hasil uji ANOVA Post Hoc yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif tersebut (Nabila *et al.*, 2024).

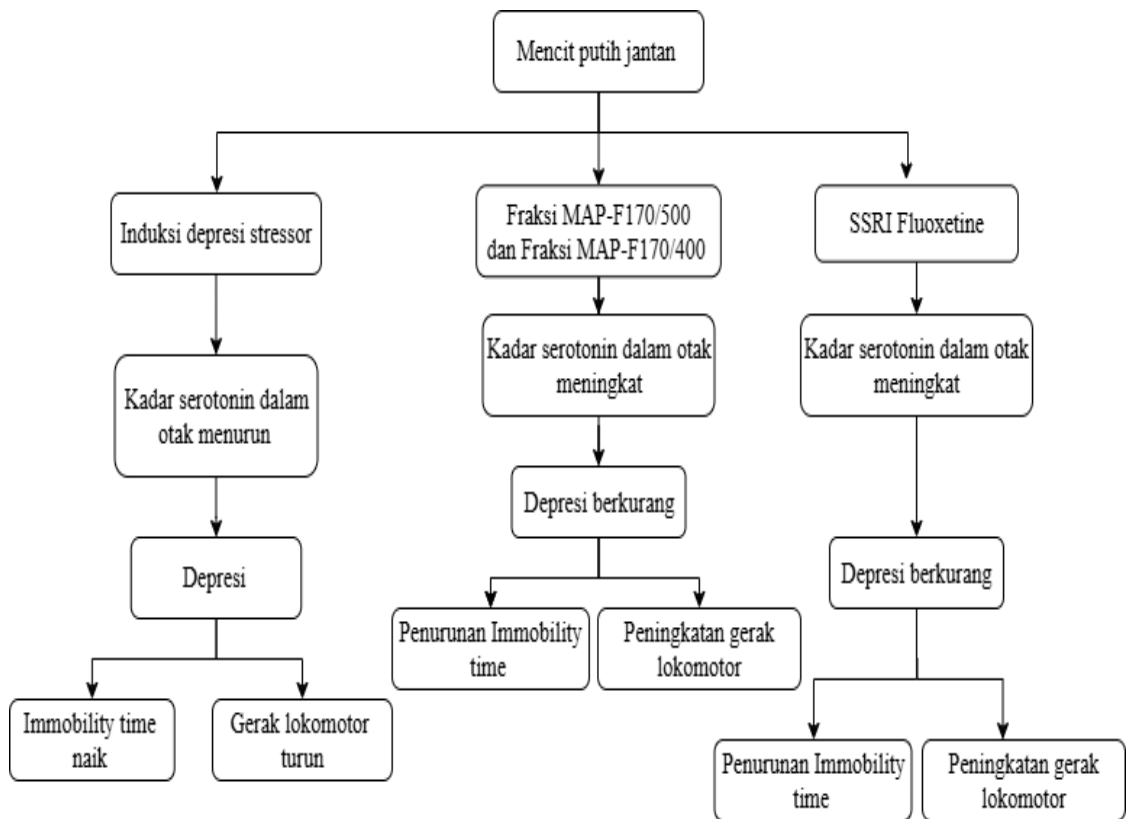
Kontrol positif yang digunakan pada penelitian yaitu antidepresan golongan *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* (SSRI) yaitu Fluoxetine, karena obat tersebut memiliki toksisitas dan efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan golongan antidepresan tipe lain. Selain itu, mekanisme kerja dari golongan SSRI dalam mengurangi tanda-tanda depresi yaitu melalui penghambatan penyerapan serotonin secara spesifik (Rahma & Suzana, 2024). Pemilihan fluoxetine dinilai memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa miristisin (senyawa dengan kadar terbesar). Fluoxetine bekerja dengan cara meningkatkan zat alami serotonin di otak (Hanifah & Suzana, 2024). Sedangkan senyawa miristisin mampu meningkatkan monoamine sehingga mampu meningkatkan kadar serotonin di otak (Maharani *et al.*, 2023).

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih jantan *Mus musculus* L. Mencit jantan dipilih sebagai hewan uji

didasarkan pada pertimbangan yaitu mencit jantan mempunyai kadar estrogen yang lebih rendah daripada mencit betina dan keadaan hormonal mencit jantan yang lebih stabil. Selain itu, mencit betina juga memiliki tingkatan stress yang lebih besar dibandingkan dengan mencit jantan, yang dapat mengganggu penelitian (Sausan *et al.*, 2023).

Penelitian aktivitas antidepresan pada fraksi MAP-F170/500 dan MAP- F170/400 ini adalah menggunakan 2 metode yaitu, *Forced Swimming Test* dan *Open Field Test*. Metode *Forced Swimming Test* dipilih untuk mengukur durasi *immobility time* pada mencit. Mencit dianggap tidak bergerak jika hanya melakukan gerakan untuk menjaga kepalanya agar tetap diatas air dan ketika mencit sudah imobil (tidak bergerak). Dan mencit dianggap mobilitas jika mencit aktif dalam gerakan berenang dan memanjat (Hanifah & Suzana, 2024). Sedangkan metode *Open Field Test* yang digunakan untuk mengamati tingkah laku aktivitas fisik, eksplorasi dan tingkat kecemasan pada hewan uji. Metode OFT digunakan untuk mengevaluasi aktivitas gerak lokomotor pada hewan uji. Yang menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah durasi gerak lokomotor maka dianggap hewan uji tidak mengalami depresi, sedangkan ketika dalam kondisi depresi maka hewan uji akan terjadi penurunan durasi gerak lokomotor (Rahma & Suzana, 2024).

H. Kerangka konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

I. Hipotesis

Hipotesis merupakan dugaan sementara yang digunakan untuk menyelesaikan permasalahan dalam suatu penelitian dan masih harus dibuktikan kebenarannya. Hipotesis yang dapat disusun dari permasalahan diatas sebagai berikut:

Pertama, fraksi MAP-F170/500 dan fraksi MAP-F170/400 memiliki aktivitas antidepresan terhadap penurunan waktu imobilitas dan peningkatan gerak lokomotor mencit putih jantan (*Mus musculus*).

Kedua, fraksi MAP-F170/500 dan fraksi MAP-F170/400 memiliki dosis efektif sebesar 5 mg/KgBB dalam memberikan aktivitas antidepresan terhadap penurunan waktu imobilitas dan peningkatan gerak lokomotor mencit putih jantan (*Mus musculus*).