

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Pala adalah tanaman asli dari Maluku, Kepulauan Banda. Pala tumbuh terutama pada iklim tropis basah. Pala biasa digunakan sebagai obat dan untuk makanan. Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yaitu tanaman asli Indonesia yang memiliki tinggi 10 meter, tanaman pala juga dapat tumbuh di daerah yang tropis pada ketinggian di bawah 700 meter dari permukaan laut, memiliki daun berwarna hijau berbentuk bulat telur atau lonjong. Ketika sudah tua, buah pala mempunyai warna kuning, memiliki daging buah berwarna putih, biji buah pala mempunyai warna hitam kecoklatan yang dibungkus kulit memiliki warna merah tua (Nurdjannah, 2007).



Gambar 1. Biji pala (*Myristica fragrans* Houtt.) (Hapsah & Hasanah, 2011)

1. Sistematika tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Berdasarkan taksonominya klasifikasi tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt.), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Kingdom	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Myristicaceae
Genus	: <i>Myristica</i>
Spesies	: <i>Myristica fragrans</i> Houtt.

2. Biji pala

Biji pala merupakan salah satu produk utama dari tanaman pala yang telah lama digunakan, baik secara tradisional maupun dengan bantuan teknologi sederhana dalam proses untuk pembuatan minyak pala. Bentuk biji pala bulat memanjang dengan Panjang kurang lebih 1,5 cm sampai 4,5 cm dan lebar antara 1 sampai 2,5 cm. warna biji pala bagian luar berwarna coklat dan tampak mengkilap. Biji pala yang hitam mengkilap menunjukkan bahwa biji pala tersebut sudah matang, sedangkan biji pala dengan warna putih kehitaman menandakan bahwa biji pala tersebut masih muda atau belum matang (Ummah, 2019).

3. Minyak atsiri pala dan Kandungan minyak atsiri pala

Minyak atsiri biji pala mengandung senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis, seperti Myristisin, Safrol, Elemisin, Sabinen, α -Pinene, β -Pinene, Limonen dan Eugenol. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas farmakologi seperti antidepresan, sedatif, antibakteri dan antioksidan. Minyak atsiri pala yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil penelitian (Ansory *et al.*, 2020). Minyak atsiri pala yang diperoleh memiliki warna kuning pucat dengan aroma khas minyak pala. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa minyak atsiri tersebut memiliki berat jenis sebesar 0,87 serta bias indeks sebesar 1,46. Berdasarkan hasil analisis kandungan kimia, senyawa yang teridentifikasi dalam minyak atsiri pala pada penelitian ini adalah sabinen sebesar 26,62%, α -Pinene sebesar 20,96%, β -Pinene sebesar 15,10%, dan Miristisin sebesar 12,94%.

Minyak atsiri memiliki beberapa sifat khas, yaitu bersifat mudah menguap, memiliki rasa yang pedas, aroma yang kuat, serta tidak larut dalam air namun larut dalam pelarut organik. Penamaan minyak atsiri biasa sesuai pada sumber utama tanaman dari mana minyak tersebut diperoleh, seperti minyak nilam, minyak cengkeh, minyak sereh wangi Syahputra (2017).

Prinsip penyulingan uap mengekstraksi minyak atsiri dari bahan tanaman dengan mengalirkan uap melalui bahan tersebut. Uap panas membantu melepaskan molekul minyak volatil tanpa merusak struktur tanaman atau minyak. Uap yang mengandung minyak kemudian didinginkan sehingga mengembun menjadi cair, sehingga minyak atsiri dapat dipisahkan dari air. Penggunaan tekanan uap lebih tinggi dari atmosfer memungkinkan ekstrak berlangsung lebih cepat pada suhu diatas 100°C (Suryawanshi, & Kumbhar, 2017).

Minyak atsiri pala yang digunakan pada penelitian ini telah dianalisis menggunakan GC-MS dan menghasilkan 31 kandungan senyawa pada minyak atsiri dengan kadar miristisin sebesar 12,94% (Ansory *et al.*, 2020) seperti yang ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Minyak Atsiri Biji Pala

No	Waktu Retensi (menit)	Kandungan	Konsentrasi (%) Minyak atsiri Biji pala
1	9,661	α - pinen	1,41
2	10,008	α - pinen	20,96
3	10,557	Camper	0,29
4	11,548	Sabinen	26,62
5	11,720	β -pinen	15,10
6	12,079	Mirsen	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	alpha-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	Amilanisol	0,43
23	23,923	Mirtanil asetat	0,31
24	24,241	Eugenol	0,09
25	24,771	α -Copaen	0,46
26	25,496	Metil eugenol	0,09
27	26,038	β -caryophyllene	0,07
28	28,321	α -bergamoten	0,10
29	28,320	β -bisabolen	0,04
30	28,632	β -cadinen	0,06
31	28,858	Miristisin	12,94

4. Destilasi Uap

Metode destilasi uap merupakan teknik utama yang sering digunakan untuk

Mengekstraksi minyak atsiri dari bahan tanaman aromatik karena mampu memisahkan senyawa volatil pada suhu yang relatif rendah tanpa merusak komponen kimianya. Dalam proses ini, uap dialirkan, sehingga senyawa minyak yang mudah menguap ikut terbawa dan kemudian

dikondensasikan untuk dipisahkan dari uap (Vidiyastutik *et al.*, 2024). Keuntungan metode ini mampu memisahkan senyawa volatil pada suhu yang relatif rendah, sehingga komponen kimia minyak atsiri tidak rusak.

Pengendalian suhu dan tekanan menjadi faktor penting untuk memperoleh rendemen dan kualitas minyak yang optimal. Beberapa penelitian menunjukkan penggunaan destilasi uap dengan pengaturan suhu dan tekanan mampu mengekstraksi minyak atsiri dari kunyit (*Curcuma loga*) dan kulit jeruk secara efisien tanpa merusak senyawa aktif (Cahyati *et al.*, 2008; Suyono *et al.*, 2024).

Prinsip dasar destilasi uap ini didasarkan pada titik didih senyawa volatil dalam minyak atsiri. Senyawa dengan titik didih lebih rendah akan menguap lebih dahulu, sedangkan senyawa dengan titik didih lebih tinggi akan tertinggal. Prinsip ini yang menjadi dasar dalam proses fraksinasi minyak atsiri, termasuk dalam penelitian minyak pala, dimana pengendalian suhu 170°C dan tekanan 760 mmHg dan 600 mmHg digunakan untuk memisahkan fraksi minyak yang berbeda berdasarkan volatilitas senyawa.

5. Aktivitas farmakologi

Minyak atsiri biji pala memiliki aktivitas biologi yang telah banyak diteliti oleh berbagai studi di dunia. Pemberian minyak atsiri ini secara oral pada mencit menunjukkan efek depresi setelah sebelumnya diinduksi dengan amitriptilin. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri biji pala diduga memiliki efek antidepresan, yang kemungkinan besar disebabkan oleh kandungan miristisin sebagai komponen utama. Miristisin diketahui memiliki sifat sebagai *inhibitor monoamine oksidase* (MAO) yang lemah. Selain itu, senyawa ini seperti limonen juga berpotensi menimbulkan efek antidepresan dengan cara meningkatkan pelepasan monoamine seperti dopamine, mirip dengan mekanisme kerja antidepresan golongan MAO inhibitor. Eugenol, senyawa aktif lainnya, juga diketahui memiliki aktivitas yang serupa sebagai penghambat MAO dengan potensi antidepresan (Nabila *et al.*, 2024).

Selain berfungsi sebagai antidepresan, minyak atsiri biji pala juga memiliki aktivitas farmakologi lainnya seperti sedatif, antibakteri, dan antioksidan yang bekerja melalui kandungan senyawa aktif yang terdapat didalamnya.

6. Antidepresan

Penelitian oleh Nabila *et al.*, (2024) menunjukkan bahwa minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans*) memiliki aktivitas antidepresan yang signifikan pada mencit Jantan Swiss Webster, dengan senyawa utama yang berperan adalah Sabinene, α -Pinene, β -Pinene, dan Miristisin, Miristisin diduga sebagai komponen utama yang memberikan efek antidepresan melalui mekanisme penghambat enzim *Monoamine Oxidase* (MAOI).

Selain miristisin, senyawa lain seperti limonen dan linalool, meskipun dalam kadar yang lebih rendah, juga dilaporkan berkontribusi terhadap efek antidepresan. Senyawa-senyawa tersebut bekerja dengan mekanisme peningkatan ketersediaan neurotransmitter monoamin, seperti serotonin dan dopamin, di sistem saraf pusat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri biji pala pada dosis 5 mg/Kg BB mampu menurunkan durasi imobilitas serta meningkatkan aktivitas eksplorasi, yang ditunjukkan oleh peningkatan durasi *central square* dan perilaku rearing. Efek tersebut dilaporkan tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol positif amitriptilin dosis 3,25 mg/KgBB, sehingga menunjukkan efek antidepresan yang setara secara statistik.

7. Sedatif

Aktivitas sedatif biji pala (*Myristica fragrans*) berkaitan dengan kandungan senyawa aktif seperti miristisin, elemisin, dan safrol. Miristisin diketahui berperan dalam menekan aktivitas sistem saraf pusat melalui peningkatan aktivitas neurotransmitter inhibitori, terutama GABA, sehingga menimbulkan efek penenang. Elemisin dan safrol juga berkontribusi dalam memperkuat penghambatan rangsangan saraf melalui modulasi sistem saraf pusat. Selain itu, biji pala mengandung senyawa fitokimia lain seperti flavonoid dan terpenoid yang dapat mendukung efek sedatif.

Pemberian ekstrak etanol biji pala pada dosis 6 mg/KgBB pada mencit menunjukkan potensi sedatif sebesar 87,7%, yang mendekati efek kontrol positif diazepam (91,6%). Meskipun demikian, dalam penelitian ini aktivitas sedatif tidak menjadi fokus utama. Informasi tersebut digunakan sebagai dasar pertimbangan pemilihan *Open Field Test* (OFT) untuk memastikan bahwa perubahan durasi imobilitas pada *Forced Swimming Test* (FST) tidak disebabkan oleh penurunan aktivitas lokomotor akibat efek sedatif (Ahidin *et al.*, 2022).

8. Antibakteri

Aktivitas antibakteri minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans*) berkaitan dengan kandungan senyawa aktif utamanya, yaitu α -pinene, sabinene, β -pinene, dan miristisin, yang teridentifikasi sebagai komponen dominan melalui analisis GC–MS. Senyawa monoterpen seperti α -pinene dan β -pinene diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui gangguan pada adhesi sel, inaktivasi enzim, serta kerusakan protein dan membran sel bakteri. Miristisin juga berkontribusi dalam mendukung aktivitas antibakteri melalui mekanisme penghambatan proses inflamasi dan penguatan efek antimikroba.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi menunjukkan bahwa minyak atsiri biji pala pada konsentrasi 7,5% mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat. Efek tersebut menunjukkan adanya kontribusi sinergis antar senyawa aktif dalam minyak atsiri biji pala (Ansory *et al.*, 2018).

9. Antioksidan

Aktivitas antioksidan dalam minyak atsiri biji pala mengandung berbagai senyawa aktif yang memiliki aktivitas farmakologi, salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan biji pala adalah golongan fenolik, yang terdiri dari senyawa fenilpropanoid, lignan, dan neolignan. Senyawa fenol memiliki gugus hidroksil (-OH) yang mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi di dalam tubuh. Selain fenol, minyak atsiri biji pala juga mengandung senyawa volatil seperti α -Terpineol, α -Pinena, β -Pinena, Eugenol, dan Safrol, yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan secara sinergis. Aktivitas antioksidan minyak atsiri biji pala di uji menggunakan metode DPPH yang menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat mereduksi radikal bebas DPPH ditandai dengan perubahan warna larutan. Hasil dari penelitian ini menunjukkan kadar total fenolik dalam minyak atsiri biji pala sebesar $55,36 \pm 0,38$ mg GAE/g dan nilai IC_{50} sebesar 116,47 μ g/mL, yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sedang. Kandungan senyawa fenolik yang relatif lebih tinggi dalam pelarut polar seperti etanol dibandingkan minyak atsiri yang bersifat non-polar, menjelaskan perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari berbagai jenis ekstrak biji pala. Minyak atsiri biji pala memiliki efektivitas antioksidan yang cukup baik (Feninlambir *et al.*, 2023).

B. Antidepresan

Depresi adalah gangguan mental yang banyak dijumpai, yang ditandai oleh penurunan suasana hati secara signifikan dan berlangsung lama, serta dapat menimbulkan gangguan lain seperti perilaku, emosional, dan daya pikir seseorang (Zhao *et al.*, 2020). Berdasarkan studi *neuroimaging*, menunjukkan bahwa penurunan kadar neurotransmitter monoamine, seperti serotonin, norepinefrin, dan dopamin dalam otak, berperan penting pada perkembangan depresi. Kondisi ini mempengaruhi fungsi dan struktur otak yang berperan dalam mengatur suasana hati (mood), serta menyebabkan gangguan pada sistem neuroendokrin yang mempengaruhi munculnya gejala depresi (Anissa, 2025).

Antidepresan adalah obat yang digunakan untuk mengatasi depresi dengan cara meningkatkan kadar neurotransmitter di otak, khususnya serotonin dan norepinefrin. Salah satu jenis antidepresan yang paling umum digunakan adalah *selective serotonin reuptake inhibitors* (SSRIs), yang bekerja dengan menghambat penyerapan Kembali serotonin di sinaps sehingga kadar serotonin di otak meningkat dan membantu mengurangi gejala depresi. Selain SSRIs, ada juga antidepresan golongan trisiklik yang menghambat reuptake serotonin dan norepinefrin secara tidak selektif, namun antidepresan trisiklik cenderung menimbulkan lebih banyak efek samping dibandingkan dengan SSRI karena pengaruh yang lebih luas pada berbagai reseptor di otak (Tampa *et al.*, 2022; Anggraeni & Maulina 2023). Pada bagian selanjutnya akan dijelaskan berbagai golongan obat antidepresan yang umum digunakan.

1. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* (SSRIs)

Selective Serotonin Reuptake Inhibitor SSRI yaitu golongan antidepresan dengan mekanisme kerja yaitu menghambat pengambilan serotonin (5-HT) kembali ke dalam neuron presinaptik, Sehingga meningkatkan kadar serotonin di celah sinaps. SSRIs sering digunakan sebagai lini pertama pengobatan depresi karena efek samping yang cenderung lebih aman (Santarsieri & Schwartz 2015). Jenis obat ini bekerja sangat kuat pada reseptor monoamine di otak, namun tidak mempengaruhi reseptor adrenoreseptor α , histamine, muskarinik dan asetilkolin seperti yang terjadi pada obat antidepresan golongan trisiklik (Ningtyas *et al.*, 2019). Beberapa contoh obat yang termasuk kedalam golongan SSRI yaitu Fluoxetine, sertraline, paroxetine, citalopram,

fluvoxamine (Kauffman, 2009). Efek samping dari obat golongan SSRI yaitu seperti insomnia, sakit kepala, kelelahan, disfungsi seksual, kecemasan, dan peningkatan berat badan (Santarsieri & Schwartz 2015). SSRI diketahui dapat berinteraksi dengan 40 obat lainnya sehingga meningkatkan risiko terjadinya sindrom serotonin. Ciri-ciri sindrom yaitu tremor, demam, kebingungan, dan kekakuan. SSRI juga dapat menyebabkan sindrom serotonin. Namun, pada umumnya obat antidepresan trisiklik (TCA) tidak menyebabkan sindrom serotonin, kecuali amitriptilin. Penelitian terbaru menyebutkan adanya obat golongan SSRI yaitu vortioxetin yang lebih rendah dibandingkan SSRI lainnya. Vortioxetine juga terbukti dapat meningkatkan kualitas hidup pasien depresi secara signifikan (Ningtyas *et al.*, 2019).

2. Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)

MAOI *Monoamine Oxidase Inhibitors* bekerja dengan meningkatkan kadar neurotransmitter seperti norepinefrin, 5-HT, dan dopamine di dalam sel saraf melalui penghambatan enzim monoamine oksidase (MAO). Enzim MAO berfungsi melakukan deaminasi oksidatif terhadap katekolamin dalam mitokondria. MAOI membentuk kompleks dengan MAO, sehingga menghambat proses ini dan meningkatkan kadar neurotransmitter. Selain itu, MAOI juga dapat menghambat enzim lain yang mempengaruhi metabolisme obat di hati. Karena potensi toksisitas dan risiko efek samping seperti tekanan darah yang tidak stabil, penggunaan MAOI kini jarang digunakan. Beberapa contoh obat dalam golongan ini adalah selegiline, tranylcypromine, isocarboxazid, dan phenelzine (Ningtyas *et al.*, 2019).

3. Tricyclic Antidepressants (TCAs)

TCAs *Tricyclic Antidepressants* adalah golongan obat yang bekerja dengan menghambat reuptake neurotransmitter serotonin dan norepinefrin secara tidak selektif, sehingga meningkatkan kadar kedua neurotransmitter tersebut di sinaps otak untuk memperbaiki suasana hati (Putri *et al.*, 2024). TCA telah digunakan dalam pengobatan depresi selama beberapa dekade untuk mengobati depresi dan terbukti mampu mengurangi gejala depresi pada pasien. Selain itu, TCA juga digunakan untuk mengatasi gangguan kecemasan, insomnia, dan beberapa kondisi nyeri kronis (Putu *et al.*, 2024). *Tricyclic antidepressants* TCAs memiliki rentang dosis yang sempit umumnya memiliki indeks terapeutik yang sempit sehingga mudah menyebabkan keracunan jika dikonsumsi berlebihan (Rizal *et al.*, 2021). Contoh obat yang termasuk

kedalam golongan ini adalah, trimipramine, amitriptilin, dan clomipramine (Putri *et al.*, 2024).

4. Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor (SNRI)

SNRI merupakan jenis antidepresan yang bekerja dengan menghambat proses reuptake neurotransmitter norepinefrin dan serotonin di dalam sistem saraf pusat. Mekanisme pengangkutan norepinefrin serupa dengan serotonin, meskipun menunjukkan afinitas yang relatif rendah terhadap dopamine. Sebagian besar obat dalam golongan ini memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap serotonin dibandingkan norepinefrin. Contoh obat-obatan yang termasuk dalam kelompok SNRI antara lain milnacipran, venlafaxine, levomilnacipran, duloxetine, dan desvenlafaxine (Ningtyas *et al.*, 2019).

C. Fluoxetine

Fluoxetine adalah obat antidepresan dari golongan *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* (SSRI) yang digunakan untuk mengatasi depresi, gangguan disforik pramenstruasi, serangan panik, gangguan obsesif-kompulsif (OCD), dan bulimia. Mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat penyerapan Kembali reuptake serotonin 5-HT secara selektif di sinap otak, sehingga kadar serotonin pada celah sinaptik akan terjadi peningkatan. Peningkatan kadar serotonin ini dapat menyebabkan peningkatan ikatan asetilkolin dan menyebabkan peningkatan pada reseptor muskarinik dan pada kelenjar saliva yang mengakibatkan penurunan jumlah sekresi saliva (Satrio *et al.*, 2023).

Dibandingkan dengan jenis antidepresan lain fluoxetine menunjukkan profil keamanan dan efektivitas yang lebih unggul dalam hal efek samping. Penggunaan fluoxetine juga dapat meningkatkan kepatuhan pasien dalam mengkonsumsi obat secara teratur. Selain itu, fluoxetine juga tidak terkait dengan peningkatan resiko bunuh diri. Obat ini terbukti efektif dalam mengobati gangguan depresi mayor, dan gangguan kecemasan. Fluoxetine lebih aman untuk penggunaan pada jangka Panjang dan memiliki efek samping yang lebih ringan dibandingkan antidepresan lainnya. Selain itu, fluoxetin mampu meningkatkan *plasticity* otak dan pembentukan sinaps baru yang dapat membantu memperbaiki suasana hati dan gejala depresi (Rahma & Suzana, 2024).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Hanifah & Suzana (2024) fluoxetine yaitu jenis obat antidepresan golongan SSRI yang bekerja dengan memaksimalkan tingkat serotonin di otak. Mekanisme kerja

fluoxetine yaitu dengan cara meningkatkan zat alami serotonin di dalam otak. Serotonin adalah salah satu zat penghantar yang mengontrol suasana hati, pola tidur, dan nafsu makan. Ketika jumlah serotonin dalam otak meningkat, masalah emosional dan kesehatan mental juga dapat diatasi. Fluoxetine memiliki tingkat keamanan dan efikasi terbaik dalam mengobati gejala negatif jika dibandingkan dengan antidepresan lain. Pada hewan uji mencit, fluoxetine, fluvoxamine, citalopram dan obat antidepresan golongan SSRI lain dapat menurunkan perilaku ketakutan dan putus asa pada hewan. Perilaku ketakutan dan putus asa ini digunakan sebagai parameter untuk skrining tingkat kecemasan dan depresi yang disebabkan oleh penurunan kadar serotonin pada hewan uji.

Fluoxetin dapat menimbulkan beberapa efek samping, seperti mual, diare, penurunan nafsu makan, dan gangguan fungsi seksual. Selain itu, obat ini juga dapat menyebabkan efek negatif seperti insomnia, kecemasan, bahkan berpotensi memicu sindrom serotonin yang ditandai dengan gejala khas seperti aritmia jantung, kebingungan mental, tremor, dan peningkatan suhu tubuh (Perez *et al.*, 2020). Dosis dan frekuensi sesuai dengan literatur dosis fluoxetine 10-20 mg sekali sehari sampai dua kali sehari (Nurfahanum, 2022).

D. Induksi Depresi

Induksi depresi yang digunakan dalam penelitian ini adalah induksi *Chronic Mild Stress* (CMS), yaitu prosedur induksi depresi dengan pemberian berbagai jenis *stressor* secara acak dalam rentang waktu tertentu. Setelah proses induksi, tingkat depresi pada mencit diamati melalui perilaku yang mencerminkan gejala depresi pada manusia. Beberapa perilaku tersebut antara lain imobilitas atau berdiam diri saat diberikan *stressor*, yang setara dengan perilaku pasrah pada manusia, penurunan aktivitas *grooming* sebagai gambaran sikap apatis, serta berkurangnya minat mencit terhadap makanan manis, yang menunjukkan hilangnya ketertarikan terhadap hal-hal yang biasanya menyenangkan (Ardianty & Manurung, 2020).

E. Metode uji antidepresan

Dalam penelitian efektivitas antidepresan, metode uji yang digunakan meliputi metode *in vivo* seperti *Forced Swimming Test* (FST) dan *Open Field Test* (OFT), digunakan untuk mengamati perilaku hewan percobaan dalam menilai afek antidepresan secara langsung,

dengan FST mengukur waktu imobilitas sebagai indikator depresi dan OFT menilai aktivitas motorik serta tingkah kecemasan (Rahma & Suzana, 2024).

1. *Forced Swimming Test (FST)*

Forced Swimming Test merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengetahui efek obat antidepresan yang diukur dari lama tidaknya *immobility time* dari hewan uji. Hewan uji ditempatkan pada kotak berwarna putih yang berisi air, kemudian hewan uji tersebut akan berusaha untuk mencari jalan keluar dengan cara bergerak, jika hewan uji tidak bergerak, maka kondisi tersebut merupakan kondisi depresi yang ditunjukkan dengan kurangnya keinginan untuk mencari jalan keluar dan Bahaya berdiam diri (Apsera, 2010).

Pengujian dengan metode *Forced Swimming Test* dilakukan dengan memasukkan mencit ke dalam kotak uji yang berisi air. Uji dilakukan setelah 1 jam pemberian perlakuan dosis terakhir dengan waktu durasi 6 menit. Mencit dikatakan mengalami imobilitas jika mencit hanya melakukan gerakan kepalanya tetap di atas air dan dikatakan imobilitas jika mencit aktif berenang (Rahma & Suzana, 2024).

Kelebihan metode FST adalah metode yang efektif untuk mengevaluasi efektivitas terapi antidepresan dengan validasi prediktif yang kuat, metode yang sederhana, cepat dan akurat yang menggunakan senyawa dalam sampel yang besar dan dihasilkan secara otomatis. Kekurangan metode FST adalah memiliki tingkat kematian yang tinggi, terdapat banyak faktor gangguan pada saat mengukur waktu imobilitas seperti gangguan lingkungan, dan tidak dapat digunakan untuk mengevaluasi mekanisme etiologi depresi baik pada hewan maupun pada manusia (Hao *et al.*, 2019).

Metode *Forced Swim Test (FST)* merupakan cara yang efektif untuk mengukur aktivitas antidepresan pada hewan uji dengan mengamati durasi imobilitas sebagai indikator tingkat depresi. Dalam studi terbaru, FST digunakan untuk menilai efek minyak atsiri pala tanpa miristisin pada mencit putih Jantan yang diinduksi stress, dimana perubahan signifikan pada durasi imobilitas menunjukkan respon terhadap perlakuan. Meskipun minyak atsiri pala tanpa miristisin tidak memberikan efek antidepresan amitriptilin, FST tetap mampu mendeteksi peningkatan atau penurunan gejala depresi secara akurat, sehingga metode ini sangat layak digunakan dalam penelitian antidepresan untuk menilai efektivitas senyawa atau ekstrak herbal (Wangu *et al.*, 2025).

2. *Open Field Test (OFT)*

Keadaan hewan emosi dapat diwujudkan dengan perilaku awalnya ketika terjebak dalam lingkungan yang asing dan terisolasi. Uji lapangan terbuka (OFT) mengidentifikasi lingkungan yang tidak nyaman, menilai kinerja otonom hewan yang tegang. Secara umum, hewan takut terhadap lingkungan baru dan terus bergerak di area kotak hitam dan jarang berada di area tengah. Hewan memiliki sifat alami untuk mengeksplorasi dan mendorong mereka untuk menjelajahi area pusat, sehingga memungkinkan para peneliti untuk mengidentifikasi depresi tikus (Hao *et al.*, 2019).

Pengujian metode *Open Field Test* dilakukan dengan mengamati perilaku eksplorasi, aktivitas motorik dan tingkah kecemasan dari hewan uji pengujian dilakukan dengan cara tikus atau mencit dimasukan kedalam suatu kotak tanpa penutup, dan diamati selama 5 menit sebelum diberikan perlakuan untuk mendapatkan data pretest, setelah itu tikus atau mencit diberi perlakuan selama 7 hari berturut-turut (Rahma & Suzana, 2024).

Kelebihan metode OFT adalah pengoprasian semi-otomatis (mirip dengan FST) membuatnya lebih efektif dan nyaman dibandingkan tes lainnya, dampaknya lebih kecil terhadap hewan, memiliki efek prediktif yang besar terhadap kemiripan terapeutik, sangat baik untuk mengukur rasa takut dan keputusasaan, dan memiliki fungsi ganda karena dapat digunakan untuk mengukur kecemasan. Kelemahan metode OFT adalah memakan waktu, memiliki validitas yang rendah untuk investigasi etiologi dan peka pada perubahan lingkungan (Hao *et al.*, 2019).

Penelitian menggunakan metode *Open Field Test (OFT)* menunjukkan bahwa metode ini efektif untuk menilai aktivitas antidepresan pada hewan uji. Pada tikus Jantan, kelompok yang diberikan fluoxetine dan minyak atsiri daun kemangi mengalami peningkatan signifikan dalam jumlah perlintasan garis, yang menandakan peningkatan aktivitas motorik dan penurunan gejala depresi. Dari hasil data menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok fluoxetine dan minyak atsiri kemangi, dan membuktikan bahwa OFT mampu mengidentifikasi perubahan perilaku antidepresan dan efektif digunakan sebagai metode pengujian aktivitas antidepresan (Rahma & Suzana 2024).

F. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Mus musculus*, salah satu hewan yang sering dipakai untuk percobaan. Penggunaan mencit sebagai model laboratorium berkisar 40%. Mencit sering dipilih karena taksonomi fisiologi hewan uji dengan manusia, mudah dalam berkembang biak, usia hidupnya pendek, masa produksi cepat dan mudah dalam perawatan dalam hidupnya. *Mus musculus* yang dipilih berjenis kelamin Jantan karena tidak ada fluktuasi hormon dan masa ekstrusi yang dapat sehingga *Mus musculus* Jantan lebih stabil dibandingkan mencit betina (Yusuf *et al.*, 2022).

1. Sistematika *Mus musculus*

Sistematika mencit *Mus musculus* menurut Nugroho *et al.*, (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>



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

2. Karakteristik mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan mamalia yang mempunyai ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia. Mencit memiliki kemampuan fisik yang khas atau unik, kemampuan tersebut yaitu meloncat, mencit dapat meloncat vertical sehingga 25 cm. mencit banyak digunakan sebagai hewan uji karena hewan ini memiliki sistem produksi, pernapasan, dan peredaran darah yang menyerupai manusia. Salah satu keuntungan penggunaan mencit sebagai hewan uji karena mencit memiliki produksi yang singkat dan keturunan yang dihasilkan banyak (Yusuf *et al.*, 2022).

3. Pemilihan mencit (*Mus musculus*)

Pemilihan hewan uji menurut Tolistiawaty *et al.*, (2014) yaitu hewan uji harus terhindar dari patogen, karena patogen dapat mengetahui hasil uji. Hewan uji harus dapat memberikan reaksi imunitas serta sensitivitas yang baik terhadap suatu penyakit. Nutrisi, kebersihan pemeliharaan serta kesehatan dari hewan uji juga harus selalu terjaga dan terkontrol dengan baik. perkembangan hewan uji harus dapat menghasilkan keturunan yang bebas dari parasite, instalasi hewan juga mampu memelihara hewan dengan baik sehingga hewan uji dapat digunakan sebagai hewan uji penelitian.

4. Pemeliharaan Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan uji yang harus dipenuhi selama waktu pengujian yang menggunakan hewan uji. Hewan uji yang digunakan selama masa penelitian harus di perhatikan dengan baik hingga mencit tidak merasakan lapar atau haus. Pemberian pakan pada mencit harus memiliki nutrisi yang kompleks, higienis, bergizi serta memenuhi kebutuhan mencit. Hewan uji harus ditempatkan di lokasi yang terhindar dari matahari langsung dan diposisikan pada kandang yang mirip dengan habitat aslinya terbebas dari luka dan penyakit. Hewan uji juga harus tetap merasa aman tanpa adanya ancaman yang dapat menimbulkan rasa takut ataupun stress (Yusuf *et al.*, 2022).

G. Landasan teori

Depresi adalah suatu kondisi dimana seseorang mengalami gangguan mental yang biasanya ditandai dengan kehilangan minat atau kesenangan, penurunan energi, perasaan bersalah, kesulitan untuk tidur, atau penurunan nafsu makan. Kondisi ini dapat berlangsung lama atau berulang dan dapat mengganggu kemampuan individu dalam menjalankan tanggung jawab sehari-hari di tingkat yang paling parah, depresi dapat menyebabkan seseorang melakukan bunuh diri (Dianovinina, 2018).

Mekanisme terjadinya depresi umumnya berkaitan dengan menurunkan kadar neurotransmitter seperti serotonin dan senyawa lainnya di dalam otak. Penurunan menggunakan fungsi normal sistem saraf, sehingga memicu munculnya gejala depresi (Ardhiasari *et al.*, 2023). Tanda atau gejala depresi dapat ditunjukkan melalui perubahan dalam kemampuan kognitif, pola bicara, serta fungsi vegetatif seperti nafsu makan, pola tidur, keseimbangan biologis, dan aktivitas seksual. Perubahan-perubahan tersebut umumnya berdampak pada terganggunya

fungsi interpersonal, aktivitas kerja, maupun kehidupan sosial seseorang (Sulistiyorini & Sabarisman, 2017).

Penggunaan antidepresan seperti *monoamine oxidase inhibitor* (MAOI), antidepresan trisiklik (TCA), dan *selective serotonin reuptake inhibitor* (SSRI) diketahui dapat menimbulkan efek samping, termasuk resiko ketergantungan. Data menunjukkan bahwa sekitar 30% pasien tidak menunjukkan respon terhadap pengobatan ini, sedangkan 70% lainnya tidak mencapai kesembuhan sepenuhnya. Obat antidepresan sintetis yang berada di masyarakat umumnya tergolong dalam kategori psikotropika, sehingga meninggalkan resiko efek samping dan ketergantungan. Melihat kondisi tersebut, diperlukan alternatif antidepresan yang lebih aman dan minim efek samping. Di Indonesia, masyarakat cenderung pengobatan berbahan dasar tanaman atau bahan alami, karena lebih mudah diperoleh serta dianggap memiliki resiko yang lebih rendah terhadap kesehatan (Ayu *et al.*, 2024).

Biji pala dinilai dapat membantu untuk mengobati depresi pada mencit jantan, senyawa yang berpotensi sebagai antidepresan adalah miristisin. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nabila *et al.*, (2024). Terkait efek antidepresan pada mencit jantan. Hal ini terbukti bahwa minyak biji pala dengan dosis 5 mg/Kg BB mencit sebagai dosis efektif dapat menurunkan *immobility time* pada mencit Jantan.

Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan antidepresan golongan SSRI (*Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*) fluoxetine karena pemakaian golongan SSRI mempunyai toksisitas dan efek samping yang lebih rendah jika dibandingkan dengan golongan antidepresan lainya (Rahma & Suzana, 2024). Cara kerja dari SSRI dalam mengurangi tanda-tanda depresi yaitu penghambatan penyerapan serotonin secara spesifik. Pemilihan fluoxetine dinilai mempunyai mekanisme kerja yang sama dengan senyawa eugenol. Fluoxetine bekerja dengan meningkatkan zat alami serotonin di dalam otak (Rahma & Suzana 2024). Eugenol mempunyai khasiat sebagai antidepresan dengan cara menghambat aksi monoamine oksidase (MAO) sehingga meningkatkan kadar serotonin, epinefrin dalam otak (Lely *et al.*, 2023).

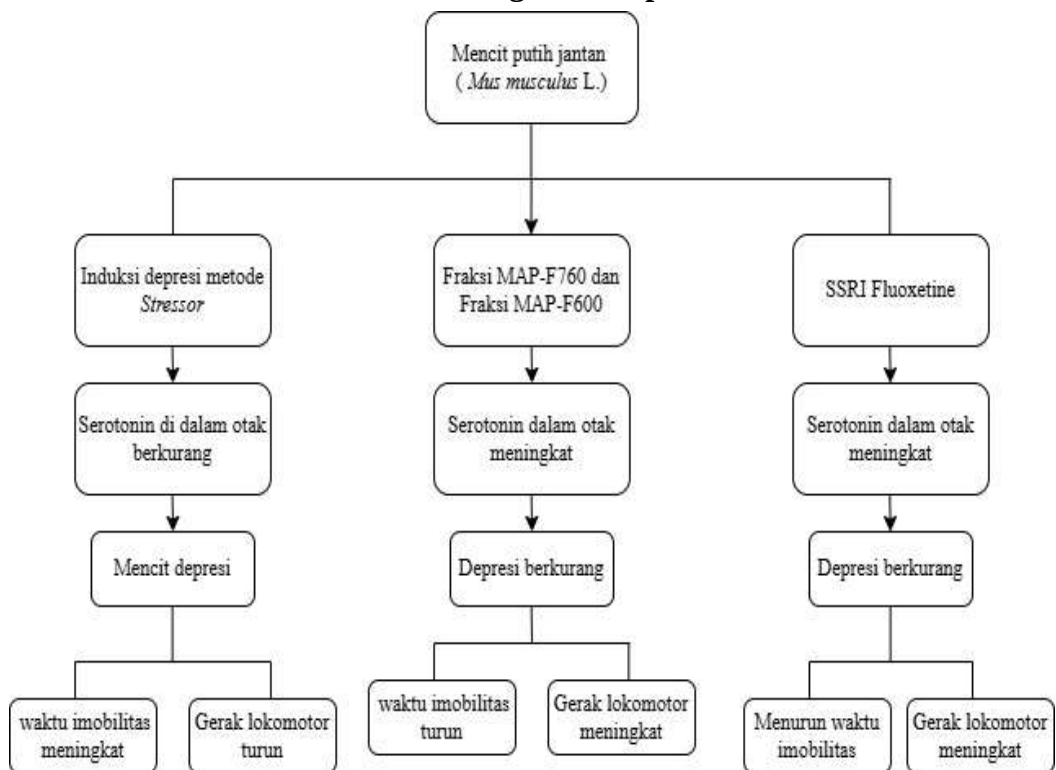
Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan pemilihan mencit jantan dilakukan karena mencit jantan cenderung lebih aktif dalam beraktivitas dibandingkan mencit betina. Selain itu, mencit jantan tidak mengalami perubahan hormonal seperti mencit betina, sehingga dapat mengurangi variable biologis yang

mungkin mengurangi keakuratan hasil penelitian (Yusuf *et al.*, 2022).

Pada penelitian ini digunakan dua metode perilaku, yaitu *Forced Swimming Test* (FST) dan *Open Field Test* (OFT). Metode FST digunakan untuk menilai durasi imobilitas, yang merupakan parameter utama dalam evaluasi efek antidepresan. Penurunan durasi imobilitas mencerminkan berkurangnya perilaku putus asa (behavioral despair) dan menunjukkan adanya aktivitas antidepresan.

Metode OFT tidak digunakan sebagai parameter utama depresi, melainkan untuk menilai aktivitas lokomotor dan perilaku eksplorasi mencit di area terbuka. Penggunaan OFT bertujuan untuk mengontrol kemungkinan faktor, seperti efek sedatif, gangguan motorik, atau perubahan tingkat kecemasan, yang dapat memengaruhi hasil FST. Dengan demikian, peningkatan atau tidak adanya penurunan aktivitas lokomotor pada OFT menunjukkan bahwa perubahan durasi imobilitas pada FST bukan disebabkan oleh penurunan kemampuan gerak, melainkan berkaitan dengan efek antidepresan dari perlakuan yang diberikan.

H. Kerangka konsep



Gambar 3. kerangka konsep penelitian

I. Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap permasalahan yang digunakan untuk menyelesaikan permasalahan dalam suatu penelitian dan dibuktikan kebenarannya. Hipotesis yang dapat disusun dari permasalahan di atas sebagai berikut:

Pertama, fraksi MAP-F760 dan MAP-F600 memiliki efek antidepresan terhadap mencit putih jantan *Mus musculus* dengan metode *Forced Swimming Test* dan *Open Field Test*

Kedua, dapat ditentukan dosis paling efektif dari fraksi MAP yang dapat memberikan efek antidepresan terhadap mencit putih jantan *Mus musculus* menggunakan metode *Forced Swimming Test* dan *Open Field Test*.