

Uji Aktivitas Antidepresan Minyak Atsiri Pala Tanpa Miristisin Dengan Metode *Open Field Test* dan *Forced Swimming Test*

Antidepressant Activity Test of Nutmeg Essential Oil without Myristicin using Open Field Method Test and Forced Swimming Test

Chelsy Fauziah Wangu¹, Inaratul Rizkhy Hanifah², Dian Marlina², Hery Muhamad Ansory^{2*}

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

² Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

Corresponding author: Hery Muhamad Ansory | Email: hery.ansory89@gmail.com

Submitted: 20-01-2023

Revised: 03-01-2025

Accepted: 05-03-2025

ABSTRAK

Minyak atsiri pala dilaporkan memiliki aktivitas antidepresan, dengan miristisin sebagai zat aktif utama. Namun, miristisin juga diketahui bersifat halusinogen dan toksik pada dosis berlebih. Penelitian ini menguji aktivitas antidepresan minyak atsiri pala tanpa miristisin, yang menjadi kebaruan dari penelitian. Sebanyak enam kelompok hewan uji digunakan, yaitu kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, serta kelompok perlakuan dengan dosis 5, 10, dan 20 mg/kgBB. Metode yang digunakan meliputi *open field test*, *forced swimming test*, dan *tail suspension test*. Analisis normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dilanjutkan dengan One Way ANOVA untuk melihat perbedaan signifikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri pala tanpa miristisin tidak memiliki aktivitas antidepresan yang signifikan berdasarkan parameter penurunan immobility time dan peningkatan lokomotor. Analisis *post hoc* LSD juga menunjukkan tidak ada kelompok perlakuan yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif amitriptilin (3,25 mg/KgBB, sig. $p < 0,05$). Meskipun demikian, minyak atsiri pala tanpa miristisin berpotensi mencegah penurunan aktivitas lokomotor dan mempertahankan durasi imobilitas pada tingkat tertentu.

Kata Kunci: antidepresi; minyak atsiri pala; miristisin; imobilitas; lokomotor

ABSTRACT

Nutmeg essential oil has been reported to have antidepressant activity, with myristicin being the active compound responsible for this effect. However, myristicin is also known to be hallucinogenic and toxic at high doses. This study examined the antidepressant activity of nutmeg essential oil without myristicin, representing a novel research aspect. Six groups of test animals were used: normal control, positive control, negative control, and treatment groups with doses of 5, 10, and 20 mg/kgBW. The methods employed included the open field test, forced swimming test, and tail suspension test. Normality analysis was conducted using the Shapiro-Wilk test and One-way ANOVA to assess significant differences. The results showed that nutmeg essential oil without myristicin did not exhibit significant antidepressant activity based on parameters of reduced immobility time and increased locomotor activity. Post hoc LSD analysis also revealed no significant differences between the treatment groups and the positive control (amitriptyline 3.25 mg/kgBW, sig. $p < 0.05$). Nonetheless, nutmeg essential oil without myristicin has the potential to prevent a decline in locomotor activity and maintain immobility duration to some extent.

Keywords: antidepressant; nutmeg essential oil; myristicine; immobility; locomotor

PENDAHULUAN

Minyak pala adalah minyak atsiri yang dihasilkan melalui proses penyulingan dengan metode destilasi uap, sampel yang dapat digunakan adalah biji dan fuli pala (Suprihatin, 2012). Kandungan utama dalam minyak atsiri pala adalah sabinen (26,62%), α -pinen (20,96%), β -pinen (15,10%), miristisin (12,94%), limonene (5,24%), dll (Ansory et al., 2020).

Miristisin yang terdapat dalam minyak pala bersifat racun (sitasi), memiliki bau yang sangat intens, dapat digunakan sebagai obat bius dan campuran obat-obatan tertentu dalam bidang farmasi.

Zat ini merupakan agen yang bersifat halusinogen dan toksik yang dapat menyebabkan keracunan pada dosis yang berlebih (Nichols., 2004; Stein et al., 2001). Meskipun demikian, miristisin sangat bermanfaat dalam pencegahan terbentuknya tumor, dan dapat digunakan dalam teknik pingsan ikan ekspor sehingga kondisi ikan selalu segar selama transportasi (Suprihatin et al., 2012). Selain itu, kemampuan mencegah terjadinya keracunan hati karbon tetraklorida pada tikus (Wallis, 1960).

Biji pala merupakan bahan alam yang berperan dalam aktivitas sebagai antidepresan. Kandungan senyawa kimia dari biji pala yang dapat memberikan efek antidepresan yaitu miristisin. Miristisin memiliki mekanisme kerja dengan menghambat enzim Mono Amine Oxidase (MAO) (Istriningsih et al., 2018).

Senyawa yang dianggap memberikan aktivitas antidepresan pada minyak atsiri pala adalah senyawa miristisin (Dhingra & Sharma, 2006; Iwata et al., 2022; Wandita, 2019), sampai saat ini belum ada penelitian yang membuktikan kandungan senyawa lain selain miristisin dalam minyak atsiri pala tidak memiliki aktivitas sebagai antidepresan, maka kebaruan dari penelitian ini adalah sampel yang digunakan merupakan minyak atsiri pala tanpa miristisin yang diuji aktivitasnya sebagai antidepresan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antidepresan minyak atsiri pala tanpa miristisin dari tanaman pala (*Myristica fragrans*) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode *Open Field Test* dan *Forced Swimming Test*.

METODE

Penelitian ini telah lolos kelayakan etik dengan nomor: 1.099/VIII/HREC/2022

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah kotak kaca uji *open field test* 40x40x40 cm dengan garis hitam di tengah kotak sebagai pusat area persegi kotak uji *forced swimming test* yang terbuat dari kaca dengan ukuran 44 x 20,5 x 23 cm, tiang uji *tail suspension test* yang dilengkapi penjepit dengan tinggi 50 cm, kandang mencit 75 cm x 50 cm, spuit oral 1 mL, video recorder 48 MP, stopwatch, pipet volume (Pyrex®), labu takar (Pyrex®), pengereng rambut (Han River).

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak atsiri pala tanpa miristisin (Ansory et al., 2020). Hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur swiss berusia 2-3 bulan, akuades, amitriptilin 25 mg (INDO FARMA), propilen glikol (USP DOW).

Pengelompokan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 ekor mencit jantan putih. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok dengan masing-masing 5 ekor mencit yaitu kelompok kontrol normal yang tidak diinduksi depresi serta tidak diberikan sediaan tetapi tetap mendapatkan perlakuan, kelompok kontrol negatif yang diinduksi dan diberikan Propilen Glikol 10% dan mendapatkan perlakuan, kelompok kontrol positif yang diberikan amitriptilin 3,25 mg/KgBB mencit, kelompok dosis pada penelitian ini mengacu pada dosis yang digunakan oleh (Wandita, 2020) yaitu 5 mg/KgBB mencit, 10 mg/KgBB mencit dan 20 mg/KgBB mencit.

Pembuatan Larutan Uji

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini untuk kontrol negatif adalah propilen glikol 10%, kontrol positif suspensi amitriptilin 3,25 mg/KgBB mencit dengan pelarut propilen glikol 10%, larutan induk minyak pala 1 mg/mL, larutan seri konsentrasi minyak pala dosis 0,2 mg/mL untuk dosis 5 mg/KgBB mencit, larutan minyak pala 0,4 mg/mL untuk dosis 10 mg/KgBB mencit dan larutan minyak pala 0,8 mg/mL untuk dosis 20 mg/KgBB mencit.

Penginduksian Depresi Hewan Uji dengan Metode *Tail Suspension Test*

Mencit diinduksi depresi dengan metode *tail suspension test*. Ekor mencit digantung pada batang yang diletakkan secara horizontal dengan tinggi sekitar 50 cm. Ekor mencit digantung menggunakan tali yang sudah direkatkan dengan alat perekat pada ekor mencit, jarak antara ujung

ekor dan tiang horizontal sebesar 1 cm. Induksi depresi dilakukan 3 menit setiap hari, dan perlakuan ini dilakukan selama 10 hari (Fahrudin et al., 2021; Kurama et al., 2013; Novelni et al., 2022).

Pengujian Antidepresan dengan Metode *Open Field Test*

Mengambil 30 ekor mencit putih jantan yang sudah dipilih dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan 3 kelompok perlakuan dosis 5; 10; 20 mg/KgBB mencit setelah itu dipelihara dan diadaptasi selama 7 hari. Setelah diadaptasikan lalu pada hari ke-1 mencit kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dosis 5; 10; 20 mg/KgBB dilakukan pengukuran waktu lokomotor (T0) yaitu dengan cara masing-masing mencit dimasukkan kedalam kotak uji *open field test* lalu diukur waktu lokomotornya dengan melihat 3 parameter yaitu *rearing*, dan *central square* selama 5 menit. Penginduksian depresi dikatakan berhasil apabila terjadi penurunan durasi pada parameter *central square*, *rearing* dan peningkatan pada durasi *grooming* dan imobilitas (Kalueff, 2006).

Pada hari ke-2 masing-masing mencit kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dosis 5; 10; 20 mg/KgBB diinduksi depresi dengan *Tail Suspension Test* dengan jangka waktu 10 hari selama 3 menit/ hari. Pada hari ke-10 setelah mencit diinduksi maka dilakukan pembuatan larutan uji dan pada hari ke-11 pengukuran waktu lokomotor (T1) dengan cara masing-masing mencit dimasukkan kedalam kotak uji *open field test* lalu diukur waktu lokomotornya dengan melihat 2 parameter yaitu *rearing*, dan *central square* selama 5 menit. Pada hari ke-12 melakukan pemberian 1x/ hari secara oral hingga hari ke-18. Setelah melakukan pemberian secara oral maka ditunggu 2 jam lalu melakukan pengukuran waktu lokomotor (T2) masing-masing mencit dimasukkan kedalam kotak uji *open field test* lalu diukur waktu lokomotornya dengan melihat 3 parameter yaitu *rearing*, dan *central square* selama 5 menit. hingga hari ke-18 kemudian dilakukan analisis data (Shewale et al., 2012; Mishra et al., 2013).

Pengujian Anidepresi dengan Metode *Forced Swimming Test*

Mengambil 30 ekor mencit putih jantan yang sudah dipilih dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan 3 kelompok perlakuan dosis 5; 10; 20 mg/KgBB mencit setelah itu dipelihara dan diadaptasi selama 7 hari. Setelah diadaptasikan lalu pada hari ke-1 mencit kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dosis 5; 10; 20 mg/KgBB dilakukan pengukuran waktu imobilitas (T0) yaitu dengan cara masing-masing mencit dimasukkan kedalam akuarium lalu diukur waktu imobilitasnya dengan melihat mencit tidak bergerak/ berenang didalam akuarium selama 6 menit.

Pada hari ke-2 masing-masing mencit kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dosis 5; 10; 20 mg/KgBB diinduksi depresi dengan *Tail Suspension Test* dengan jangka waktu 10 hari selama 3 menit/ hari dan melakukan pembuatan larutan uji dan pada hari ke-11 dilakukan pengukuran waktu lokomotor (T1) dengan cara masing-masing mencit dimasukkan kedalam akuarium lalu diukur waktu imobilitasnya dengan melihat mencit tidak bergerak/ berenang didalam kolam uji selama 6 menit. Pada hari ke-12 melakukan pemberian secara oral hingga hari ke-18. Setelah melakukan pemberian 1x/ hari secara oral maka ditunggu 2 jam lalu melakukan pengukuran waktu lokomotor (T2) masing-masing mencit dimasukkan kedalam akuarium lalu diukur waktu imobilitasnya dengan melihat mencit tidak bergerak/ berenang didalam akuarium selama 6 menit hingga hari ke-18 kemudian dilakukan analisis data.

Analisa Data

Data yang diperoleh dari Uji Efektivitas Antidepresan Minyak Atsiri Pala Tanpa Miristisin dianalisis menggunakan SPSS (*Solutions for Statistical Products and Services*) versi 25. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas berbagai dosis minyak atsiri pala tanpa miristisin. Penelitian ini melakukan uji distribusi normal dengan menggunakan uji Saphiro Wilk untuk melihat apakah data berdistribusi normal. Data menunjukkan distribusi normal ($p > 0,05$), kemudian dilakukan analisis uji parameter uji T berpasangan untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara data masing-masing kelompok sebelum induksi, setelah induksi dan sebelum induksi. ($p < 0,05$) selama dan setelah perawatan diberi perlakuan. Dilakukan one-way ANOVA dengan nilai signifikan ($p < 0,05$) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data yang signifikan

antar kelompok studi. Analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata minimal *post hoc* untuk mencari kelompok perlakuan yang berbeda nyata. Namun jika hasil ANOVA tidak normal ($p < 0,05$), maka uji ANOVA diganti dengan uji nonparametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis. Di sisi lain, uji T berpasangan telah digantikan oleh uji Wilcoxon nonparametrik

HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak atsiri pala anpa miristisin yang digunakan pada penelitian ini adalah hasil penelitian sebelumnya (Ansory *et al.*, 2020). Kandungan terbesar pada minyak atsiri pala tanpa miristisin yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini, yaitu *sabinene* (31,32%), *α -pinene* (24,66%), *β -pinene* (17,76%).

H0 menunjukkan kondisi awal kelompok kontrol normal yang tidak diinduksi depresi dan H11 menunjukkan kondisi mencit kelompok kontrol normal yang tidak diinduksi depresi dimana kelompok uji lainnya diinduksi depresi selama 10 hari. Berdasarkan Tabel I dan Tabel II menunjukkan tiap kelompok mengalami depresi T0 ke T1. Pada kelompok kontrol normal memiliki persentase penurunan sebesar 0% yang menunjukkan bahwa tidak terjadi peningkatan maupun penurunan pada durasi *central square* & rearing. Waktu sebelum diinduksi (T0) mencit berada dalam kondisi normalnya memiliki aktivitas lokomotor yang lebih tinggi, lalu setelah diinduksi (T1) durasi *central square* menurun dibandingkan dengan durasi saat sebelum diinduksi.

Hasil pengujian *paired t-test* menunjukkan perbedaan bermakna antara data *central square* & rearing sebelum diinduksi (T0) dengan setelah diinduksi (T1) dengan nilai sig. $p < 0,05$ Perbedaan bermakna dengan nilai sig. $p < 0,05$ dimiliki oleh semua kelompok kecuali pada kelompok kontrol normal. Hal tersebut dapat terjadi karena kelompok kontrol normal tidak diinduksi dan hanya diberikan makan serta minum selama 10 hari masa induksi, sehingga kelompok kontrol normal tetap menunjukkan durasi *central square* & rearing sama seperti sebelumnya.

Tabel III dan Tabel IV Terjadi efek antidepresan yang dapat meningkatkan aktivitas lokomotor *central square* dan rearing. Kontrol normal dan negatif tidak mengalami penurunan melainkan terjadi peningkatan lokomotor terutama kontrol negatif. Hal tersebut dikarenakan kedua kelompok tidak diberikan sediaan yang dapat memberikan efek antidepresan.

Pada pengujian statistik ANOVA yang dilanjutkan dengan *Post Hoc* baik *central square* dan rearing kelompok kontrol negatif tidak berbeda bermakna terhadap kelompok normal yang menunjukkan kontrol negatif yang diberikan induksi depresi tetapi tidak diberikan sediaan yang dapat memberikan efek antidepresan dan kontrol normal tidak diinduksi depresi dan tidak diberikan sediaan yang memberikan efek antidepresan. Semua kelompok variasi dosis tidak dapat memberikan efek antidepresan selayaknya kelompok kontrol positif amitriptilin.

Hasil analisis pengujian *paired t-test* pada tabel menunjukkan tidak berbeda bermakna secara statistik dari data sebelum perlakuan (T1) dengan setelah perlakuan (T2) kecuali kelompok kontrol negatif. Pada tabel terlihat bahwa kelompok positif dan dosis mengalami peningkatan *central square* yang sangat jelas. Untuk kelompok kontrol normal mengalami perbedaan signifikan karena pengujian penggunaan OFT dapat menyebabkan gangguan kecemasan dikarenakan terisolasinya ruangan dan ketakutan dikarenakan lingkungan yang baru dan ruangan yang terbuka (Rebecca *et al.*, 2017), sehingga kelompok kontrol normal yang menggunakan metode OFT dapat mengalami perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Kelompok kontrol negatif mengalami penurunan *central square* yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna dikarenakan setelah diinduksi tidak diberikan perlakuan tetapi selama berada di media OFT akan menambah tingkat stress dari mencit tersebut membuat hewan uji semakin mengalami penurunan terhadap aktivitas *central square*-nya.

Induksi depresi telah berhasil yang dapat dilihat melalui persentase induksi stress pada setiap kelompok hewan uji. Penginduksian depresi dianggap berhasil apabila terjadi kenaikan pada durasi imobilitasnya dan pada hasil induksi parameter imobilitas semua kelompok kecuali kontrol normal terjadi peningkatan imobilitas dengan persentase yang berbeda-beda pada rentang 42- 98%. Pada kelompok kontrol normal memiliki persentase peningkatan sebesar 0% yang menunjukkan bahwa tidak terjadi peningkatan maupun penurunan pada durasi imobilitasnya.

Setiap kelompok memiliki kondisi awal yang berbeda-beda sebelum diinduksi depresi yang menyebabkan rata-rata dari tiap kelompok juga tidak sama dengan kelompok 5 mg/KgBB paling rendah dan kelompok kontrol normal durasi T0 paling tinggi. Waktu sebelum diinduksi (T0) mencit

Tabel I. Durasi Central Square Sebelum Diinduksi (T0) dan Setelah Diinduksi (T1)

Kelompok	Central Square (Detik)				% Peningkatan
	T0	T1	H0	H11	
Kontrol Normal	-	-	29,85 ± 4,78	30,03 ± 6,38	0 ± 6
Kontrol Negatif	56,94 ± 18,94	36,71 ± 16,55	-	-	36 ± 21
Kontrol Positif	62,26 ± 46,09	39,63 ± 39,65	-	-	44 ± 17
Dosis 5 mg/KgBB mencit	43,55 ± 18,72	34,89 ± 18,64	-	-	22 ± 10
Dosis 10 mg/KgBB mencit	47,41 ± 17,20	38,52 ± 17,50	-	-	15 ± 13
Dosis 20 mg/KgBB mencit	41,39 ± 15,71	32,86 ± 15,67	-	-	22 ± 9

Keterangan: T0 (Sebelum diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur sebelum hewan uji diberikan induksi stres atau perlakuan lainnya sebagai baseline awal; T1 (Setelah diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diinduksi stres untuk memodelkan kondisi depresi atau stres.

Keterangan *paired t-test* durasi *central square* setelah induksi: Kontrol normal: $p=0,854$ (tidak berbeda bermakna); Kontrol negatif: $p=0,031$ (berbeda bermakna); Kontrol positif: $p=0,007$ (berbeda bermakna); Dosis 5 mg/ KgBB: $P=0,003$ (berbeda bermakna); Dosis 10 mg/ KgBB: $p=0,040$ (berbeda bermakna); Dosis 20 mg/ KgBB: $P=0,007$ (berbeda bermakna).

Tabel II. Durasi Rearing Sebelum Diinduksi (T0) dan Setelah Diinduksi (T1)

Kelompok	Rearing (Detik)				% Penurunan
	T0	T1	H0	H11	
Kontrol Normal	-	-	12,79 ± 9,25	13,53 ± 9,41	-8 ± 6
Kontrol Negatif	24,36 ± 21,25	16,43 ± 16,79	-	-	43 ± 17
Kontrol Positif	21,75 ± 8,23	9,71 ± 6,20	-	-	58 ± 11
Dosis 5 mg/KgBB mencit	31,81 ± 12,95	20,03 ± 10,69	-	-	35 ± 14
Dosis 10 mg/KgBB mencit	23,3 ± 4,18	17,14 ± 3,83	-	-	27 ± 5
Dosis 20 mg/KgBB mencit	35,27 ± 11,64	27,18 ± 9,09	-	-	22 ± 1

Keterangan: T0 (Sebelum diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur sebelum hewan uji diberikan induksi stres atau perlakuan lainnya sebagai baseline awal; T1 (Setelah diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diinduksi stres untuk memodelkan kondisi depresi atau stres.

Keterangan *paired t-test* durasi *rearing* setelah induksi: Kontrol normal: $p=0,075$ (tidak berbeda bermakna); Kontrol negatif: $p=0,018$ (berbeda bermakna); Kontrol positif: $p=0,003$ (berbeda bermakna); Dosis 5 mg/ KgBB: $p=0,027$ (berbeda bermakna); Dosis 10 mg/ KgBB: $p=0,001$ (berbeda bermakna); Dosis 20 mg/ KgBB: $p=0,003$ (berbeda bermakna).

Tabel III. Durasi Central Square Setelah Diinduksi (T1) dan Setelah Perlakuan (T2)

Kelompok	Central Square (Detik)				% Peningkatan
	T1	T2	H11	H18	
Kontrol Normal	-	-	30,03 ± 6,38	28,62 ± 6,36	-5 ± 3
Kontrol Negatif	36,71 ± 16,55	23,67 ± 12,24	-	-	-75 ± 78
Kontrol Positif	39,63 ± 39,65	82,82 ± 47,33	-	-	59 ± 18
Dosis 5 mg/KgBB mencit	34,89 ± 18,64	34,97 ± 18,68	-	-	0 ± 1
Dosis 10 mg/KgBB mencit	38,52 ± 17,50	38,68 ± 17,53	-	-	1 ± 1
Dosis 20 mg/KgBB mencit	32,86 ± 15,67	33,18 ± 15,24	-	-	2 ± 3

Keterangan: T1 (Setelah diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diinduksi stres untuk memodelkan kondisi depresi atau stress; T2 (Setelah perlakuan 7 hari): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diberikan perlakuan selama 7 hari untuk mengevaluasi efek intervensi.

berada dalam kondisi normalnya, lalu setelah diinduksi (T1) durasi imobilitas meningkat dibandingkan dengan durasi imobilitas saat sebelum diinduksi. Hal tersebut menunjukkan bahwasannya telah terjadi perubahan imobilitas pada mencit yang awalnya aktif menjadi pasif tidak menggerakkan tubuhnya di dalam air (Cryan *et al.*, 2005).

Pengukuran depresi hewan uji menggunakan metode FST dan hewan uji dikatakan depresi ketika terjadi peningkatan imobilitas atau memiliki imobilitas yang tinggi dibandingkan dengan sebelumnya dan dikatakan tidak depresi ketika waktu imobilitas hewan uji tidak meningkat dengan nilai analisis *paired t-test* sig. $p (>0,05)$, sehingga data tersebut dapat dilanjutkan dengan pengujian analisis menggunakan *paired t-test*. Hasil pengujian menggunakan *paired t-test* menunjukkan

Tabel IV. Durasi Rearing Setelah Diinduksi (T1) dan Setelah Perlakuan (T2)

Kelompok	rearing (detik)				% Peningkatan
	T1	T2	H11	H18	
Kontrol Normal	-	-	13,53 ± 9,41	11,55 ± 9,17	-29 ± 22
Kontrol Negatif	16,43 ± 16,79	11,09 ± 14,36	-	-	-41 ± 29
Kontrol Positif	9,71 ± 6,20	58,37 ± 18,27	-	-	84 ± 6
Dosis 5 mg/KgBB mencit	20,03 ± 10,69	20,12 ± 10,70	-	-	0 ± 1
Dosis 10 mg/KgBB mencit	17,14 ± 3,83	17,20 ± 3,76	-	-	0 ± 0
Dosis 20 mg/KgBB mencit	27,18 ± 9,09	27,36 ± 9,26	-	-	1 ± 0

Keterangan: T1 (Setelah diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diinduksi stres untuk memodelkan kondisi depresi atau stress; T2 (Setelah perlakuan 7 hari): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diberikan perlakuan selama 7 hari untuk mengevaluasi efek intervensi.

Tabel V. Durasi Imobilitas Sebelum Diinduksi (T0) dan Setelah Diinduksi (T1)

Kelompok	Imobilitas (Detik)				% Penurunan
	T0	T1	H0	H11	
Kontrol Normal	-	-	19.66±10.86	19.88±11.18	0 ± 4
Kontrol Negatif	18.31±14.94	22.43±14.78	-	-	42 ± 34
Kontrol Positif	3.46±3.58	13.00±4.65	-	-	77 ± 22
Dosis 5 mg/KgBB mencit	1.01±0.89	54.29±9.79	-	-	98 ± 2
Dosis 10 mg/KgBB mencit	1.29±1.51	30.90±14.62	-	-	97 ± 4
Dosis 20 mg/KgBB mencit	3.63±2.21	31.41±10.87	-	-	89 ± 7

Keterangan: T0 (Sebelum diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur sebelum hewan uji diberikan induksi stres atau perlakuan lainnya sebagai baseline awal; T1 (Setelah diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diinduksi stres untuk memodelkan kondisi depresi atau stress.

Tabel VI. Durasi imobilitas Sebelum Diinduksi (T0) dan Setelah Diinduksi (T1)

Kelompok	Imobilitas (Detik)				% Penurunan
	T1	T2	H11	H18	
Kontrol Normal	-	-	19.88±11.18	22.80±11.27	-19 ± 13
Kontrol Negatif	22.43±4.78	24.20±15.90	-	-	-11 ± 27
Kontrol Positif	13.00±4.65	1.38±0.98	-	-	88 ± 9
Dosis 5 mg/KgBB mencit	54.29±9.79	53.88±9.99	-	-	1 ± 1
Dosis 10 mg/KgBB mencit	30.90 ± 4.62	30.52±15.32	-	-	2 ± 3
Dosis 20 mg/KgBB mencit	31.41 ± 0.87	30.366±0.59	-	-	3 ± 4

Keterangan: T1 (Setelah diinduksi): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diinduksi stres untuk memodelkan kondisi depresi atau stress; T2 (Setelah perlakuan 7 hari): Durasi aktivitas yang diukur setelah hewan uji diberikan perlakuan selama 7 hari untuk mengevaluasi efek intervensi.

perbedaan bermakna antara data sebelum diinduksi (T0) dengan setelah diinduksi (T1) dengan nilai sig. p (<0,05) Sebelum diuji menggunakan *paired t-test*, data tersebut diuji terlebih dahulu kenormalitasannya. Hasil uji normalitas data T0 maupun T1 imobilitas menunjukkan data yang diperoleh terdistribusi normal dengan nilai sig. p (>0,05), sehingga data tersebut dapat dilanjutkan dengan pengujian analisis menggunakan *paired t-test*.

Hasil pengujian menggunakan *paired t-test* menunjukkan perbedaan bermakna antara data sebelum diinduksi (T0) dengan setelah diinduksi (T1) dengan nilai sig. p (<0,05). Perbedaan bermakna dengan nilai sig. p (<0,05) dimiliki oleh semua kelompok kecuali pada kelompok kontrol normal. Hal tersebut dapat terjadi karena kelompok kontrol normal tidak diinduksi depresi dan hanya diberikan makan serta minum selama 10 hari masa induksi, sehingga kelompok kontrol normal tetap menunjukkan imobilitas yang sama seperti sebelumnya.

Terjadi efek antidepresan yang dapat meningkatkan aktivitas imobilitas. Persentase tertinggi dimiliki oleh amitriptilin 3,25 mg/KgBB. Rentang persentase penurunan imobilitas berada pada -11%-88%. Kontrol normal dan negatif tidak mengalami penurunan melainkan terjadi peningkatan

imobilitas terutama kontrol negatif hingga -19%. Hal tersebut dikarenakan kedua kelompok tidak diberikan sediaan yang dapat memberikan efek antidepresan.

Hasil analisis pengujian *paired t-test* pada gambar menunjukkan tidak berbeda bermakna secara statistik dari data sebelum perlakuan (T1) dengan setelah perlakuan (T2) kecuali kelompok kontrol negatif. Pada gambar terlihat bahwa kelompok positif mengalami penurunan imobilitas yang sangat jelas hingga menyentuh angka 0. Kelompok normal mengalami perbedaan yang signifikan dari data sebelum perlakuan (T1) dan setelah perlakuan (T2) padahal kelompok kontrol normal tidak diinduksi melainkan hanya diuji tanpa diberikan perlakuan. Paparan FST yang dilakukan berulang-ulang terhadap hewan uji dapat menyebabkan hewan uji mengalami stress, yang berarti media FST jika digunakan terus menerus dapat menginduksi depresi terhadap hewan uji. Hal tersebut juga dapat terjadi apabila hewan uji terkena hipotermia (Pesarico *et al.*, 2020), sehingga kontrol normal dapat terjadi kenaikan imobilitas dengan nilai sig. ($p=0,000$). Kelompok kontrol negatif mengalami peningkatan imobilitas yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna dikarenakan setelah diinduksi tidak diberikan perlakuan tetapi selama berada di media FST akan menambah tingkat stress dari mencit tersebut membuat hewan uji semakin mengalami penurunan terhadap aktivitas imobilitasnya dengan nilai sig. ($p=0,310$).

Kandungan Minyak atsiri pala tanpa miristisin adalah Sabinen, α -pinen, β -pinen, limonene, α -terpineol, γ -terpinen, alfa-terpinen, myrcene (Ansory *et al.*, 2020). Kandungan senyawa kimia biji pala yang memiliki efek antidepresan adalah miristisin. Pada penelitian ini tidak terkandung miristisin dalam sampelnya. Hal tersebut akan menunjukkan adanya senyawa lain pada minyak atsiri pala tanpa miristisin yang dapat memberikan efek antidepresan selain miristisin.

Limonen yang terkandung dalam minyak atsiri pala tanpa miristisin berpotensi memberikan efek antidepresan yang bekerja dengan melepaskan *monoamine dopamine* layaknya antidepresan golongan MAO Inhibitor (Fukumoto *et al.*, 2006). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Fahrudin *et al.*, (2021) serbuk biji salak yang dikombinasikan dengan minyak atsiri dari kulit jeruk (3 mL + 1,5 mL) memiliki potensi sebagai antidepresan yang efektif dalam menurunkan imobilitas menggunakan metode FST. Dengan limonen dan linalool sebagai senyawa aktif dari minyak atsiri kulit jeruk. Dalam sampel minyak atsiri pala yang digunakan terkandung limonen dengan kadar sebesar 6,16% dan sehingga memungkinkan untuk limonen dalam memberikan efek antidepresan walaupun kecil.

KESIMPULAN

Semua kelompok variasi dosis memberikan aktivitas antidepresan, tetapi tidak dapat memberikan efek antidepresan yang sebanding dengan kelompok kontrol positif amitriptilin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih banyak kepada Yayasan Pendidikan Setia Budi dan CV. ANS Chem yang telah memberikan bantuan pendanaan dan bahan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansory. H. M., PKK Putri, NA Hidayah, A Nilawati. 2020. The analysis of nutmeg mace essential oil compound using GC-MS and antibacterial activity test toward *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Majalah Farmaseutik* 16(1):1-8
- Cryan, J. F., C. Mombereau, dan A. Vassout. 2005. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience & Behavioral Reviews* 29: 571-625. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.009
- Dhingra, D., & Sharma, A. (2006). Antidepressant-Like Activity of n-Hexane Extract of Nutmeg (*Myristica fragrans*) Seeds in Mice. In *Journal Of Medicinal Food*. J Med Food (Vol. 9, Issue 1).
- Fahrudin, F., Haribowo, D. R., Hamida, F., Mirliana, F. dan Wardhana, H. I. 2021. Aktivitas Herbal Antidepresan Kombinasi Biji Salak dan Kulit Jeruk Terhadap Mencit yang Diperlakukan Tail Suspension Test (TST). *Jurnal Biotek Medisiana* 10 (2); 143-154.
- Fukumoto, S., Sawasaki, E., Okuyama, S., Miyake, Y., & Yokogoshi, H. (2006). Flavor components of monoterpenes in citrus essential oils enhance the release of monoamines from rat brain slices. *Nutritional Neuroscience*, 9(1-2), 73–80. doi:10.1080/10284150600573660

- Hasanusi, Irin N., Parningotan Y. Silalahi, Johan B. Bension, Laura BS. Huwae, Ony W. Angkejaya, Yuniasih MJ Taihuttu. 2020. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Ansietas Mencit (*Mus musculus*). PAMERI. 2 (1)
- Istriningsih. E., Khoirunnisa., K. S. I. Devi. 2018. Efek antidepresan kombinasi infusa biji pala (*Myristica fragrans*) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum*) padamencit jantan putih (*Mus musculus*). Jurnal Para Pemikir 7(2): 254-258.
- Iwata, N., Kobayashi, D., Kawashiri, T., Kubota, T., Kawano, K., Yamamuro, Y., Miyagi, A., Deguchi, Y., Chijimatsu, T., & Shimazoe, T. (2022). Mechanisms and Safety of Antidepressant-Like Effect of Nutmeg in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 45(6), 738–742. <https://doi.org/10.1248/bpb.b21-01059>
- Kalueff, A. V. 2006. *Neuroethological Models of Anxiety and Depression. Animal Models in Biological Psychiatry*. Newyork: Nova Science Publishers Inc.
- Kurama Nofri P, 2013. Uji Efek Antidepresan Ekstrak Metanol Jamur Tlethong (*Psilocybe cubensis*) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*): Ditinjau Dari Immobility Time Dengan Metode Forced Swim Test. Manado ; Universitas Sam Ratulangi.
- Mishra S, Jena M, Pal A. Evaluation of antidepressant activity of *Eclipta alba* using animal models. *Asian J Pharm Clin Res*. 2013;6(SUPPL.3):118–20
- Nichols DE. 2004. Hallucinogen. *Journal Pharmacology and Therapeutics*. 101:131- 181.
- Novelni R, Aria M, Minerva P, Putri AU. Uji Aktivitas Antidepresan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *J Katalisator*. 2022;7(1):82–9.
- Rebecca, E.N., Ellen, M., Franz, J. van der S., Saskia, S.A. 2017. *Animal Models for the*
- Shewale PB, Patil RA, Hiray YA. Antidepressant-like activity of anthocyanidins from *Hibiscus rosa-sinensis* flowers in tail suspension test and forced swim test. *Indian J Pharmacol*. 2012;44(4):454–7.
- Suprihatin. S, Kentara. S, Ngudiwahyo. Dan A, Friyadi. 2012. Isolasi Miristisin Dari Minyak Pala (*Myristica fragrans*) DENGAN Metode Penyulingan Uap. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. Vol. 17(1)
- Wandita, A. M. 2019. Aktivitas Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) terhadap Stress Oksidatif Mencit (*Mus musculus* L.) dengan Metode Forced Swim Test. Skripsi. Program Sarjana Universitas Atma Jaya Yogyakarta.