

**EVALUASI ANTIDEPRESAN LILIN AROMATIK MINYAK
KENANGA (*Cananga odorata (l.) Hook F. & Thoms*) DAN
OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) PADA
MENCIT (*Mus musculus*) SERTA GAMBARAN HISTOLOGI
OTAK**

Oleh

AGNES DESWITA KINANTI

211148201173

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Ujian
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
2025**

LEMBAR PENGESAHAN

EVALUASI ANTIDEPRESAN LILIN AROMATIK MINYAK KENANGA (*Cananga odorata (L.) Hook F. & Thoms*) DAN OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) SERTA GAMBARAN HISTOLOGI OTAK

Dipersiapkan dan disusun oleh
AGNES DESWITA KINANTI
211148201173

Telah dipertahan di depan Tim Penguji pada tanggal 19 Mei 2025

(Program Studi Sarjana Farmasi)
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

Pembimbing Utama



Maria Elvina Tresia Butar Butar, M.Farm.
NIDN: 1117049501

Mengetahui
Ketua Program Studi S-1 Farmasi



apt. Raymon Simanullang, M.Pharm.
NIK: 0924.A4.18

Pembimbing Pendamping



Nurillahi Febria Leswana, M.Sc.
NIDN: 1108029403

Tim Penguji

Ketua: apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm.

Anggota:

1. Risny Oklyan, M.Farm.

2. Nurillahi Febria Leswana, M.Sc.



PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan Bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, 08 Mei 2025

Yang membuat pernyataan,

(Agnes Deswita Kinanti)

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik
Sebagai ataupun seluruh Naskah,
harus menyebut nama Pengarang
dan sumber Aslinya,
yaitu Sekolah Tinggi
Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

LEMBAR PERSEMBAHAN

*Tuhan Yesus Kristus, Mama, Papa,
Semua Keluarga, Sahabat, Teman
Serta semua pihak yang membantu*

ABSTRAK

Minyak atsiri Kenanga (*Cananga odorata (L.) Hook.F. & Thoms*) dan Oleoresin Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*) diketahui memiliki aktivitas antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi mutu fisik sediaan lilin aromatik dan potensi efek antidepresan sediaan lilin aromatik yang mengandung kombinasi kedua bahan tersebut terhadap mencit jantan (*Mus musculus*). Penelitian dilakukan secara eksperimental, mencakup evaluasi fisik sediaan serta uji aktivitas antidepresan dengan metode *Conditional Place Preference* (CPP). Evaluasi fisik menunjukkan bahwa semua sediaan lilin memiliki titik leleh stabil (55–65°C), serta waktu pembakaran yang konsisten. Tidak terdapat perubahan warna dan bau setelah penyimpanan selama 30 hari pada suhu ruang. Uji aktivitas antidepresan dilakukan pada enam kelompok mencit, dengan empat kelompok perlakuan (rasio minyak atsiri:oleoresin berturut-turut 20:5, 15:10, 10:15, 5:20), satu kelompok kontrol negatif (lilin tanpa zat aktif), dan satu kelompok kontrol normal (tanpa perlakuan). Hasil uji statistik dengan *Welch* Anova menunjukkan nilai signifikansi 0,427, yang mengindikasikan tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik. Namun, hasil histologi menunjukkan bahwa kelompok dengan konsentrasi 20:5 mengalami kerusakan jaringan yang paling minimal. Dengan demikian, meskipun tidak signifikan secara statistik, formulasi tersebut menunjukkan potensi sebagai antidepresan secara histologis.

Kata kunci: Lilin aromaterapi, Keruing, Kenanga, Antidepresan, Histopatologi

ABSTRACT

*The essential oil of Ylang-Ylang (*Cananga odorata* (L.) Hook.F. & Thoms) and Keruing's oleoresin (*Dipterocarpus grandiflorus*) are known to possess antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant activities. This study aims to evaluate the physical quality of aromatic candle formulations and their potential antidepressant effects when containing a combination of these two active ingredients in male mice (*Mus musculus*). This experimental study included physical evaluation of the candle formulations and assessment of antidepressant activity using the Conditional Place Preference (CPP) method. Physical evaluation showed that all candle formulations had a stable melting point (55–65°C) and consistent burning time. No changes in color or odor were observed after 30 days of storage at room temperature. Antidepressant activity was tested on six groups of mice: four treatment groups with essential oil:oleoresin ratios of 20:5, 15:10, 10:15, and 5:20; one negative control group (aromatic candle without active ingredients); and one normal control group (no treatment). Statistical analysis using Welch's ANOVA showed a significance value of 0.427, indicating no statistically significant differences. However, histological examination revealed that the group with the 20:5 ratio exhibited the least tissue damage compared to other test groups. Therefore, although not statistically significant, the formulation shows potential as an antidepressant based on histological observations..*

Keywords: *Aromatherapy candles, Keruing, Ylang Ylang, Antidepressants, Histopathology*

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan kasihnya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini yang Berjudul **EVALUASI ANTIDEPRESAN LILIN AROMATIK MINYAK KENANGA (*Cananga odorata (L.) Hook F. & Thoms*) DAN OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) SERTA GAMBARAN HISTOLOGI OTAK**. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M.Farm., dan Ibu Nurillahi Febria Leswana, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyusun proposal ini. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah dilimpahkan kepada penulis, sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Suster Ns. Andrea Theofrida Bone, S.Kep., MAN. Selaku Ketua Stikes Dirgahayu Samarinda.
3. Bapak apt. Raymond Simanullang, M.Pharm., Selaku Kepala Prodi Stikes Dirgahayu Samarinda atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk melanjutkan studi di Prodi Stikes Dirgahayu Samarinda
4. Bapak apt. Adhe Septa Ryant Agus, M.Farm., AAAK., yang sudah sangat membantu penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan skripsi serta pengetahuan yang diberikan kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik
5. Kedua orang tua saya, Kakak saya, Keponakan saya, dan sepupu sepupu saya yang selalu mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan proposal ini
6. Florensia Cahyani yang selalu menemani penulis saat melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik

7. Teman-teman Angkatan 2021, terkhusus Pikmi Girl (Icha, Agnes Elisa, Floren, dan Feli) yang selalu menemani dan membantu penulis selama berkuliah di Stikes Dirgahayu Samarinda
8. Seluruh Staf, Dosen, Karyawan, Serta Teman-Teman Stikes Dirgahayu Samarinda yang telah banyak membantu penulis selama berkuliah di Stikes Dirgahayu Samarinda
9. Dan terakhir, untuk diri sendiri. Terima kasih untuk tidak menyerah dan selalu berproses, sehingga dapat sampai di titik ini.

Dengan segala rendah hati penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna dan masih banyak kekurangan. Sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bisa bermanfaat baik bagi penulis maupun bagi para pembaca dan semoga segala jasa dan amal baik dari semua pihak yang banyak membantu akan mendapatkan imbalan yang sesuai dari Tuhan Yang Maha Esa.

Samarinda, 08 Mei 2025

Agnes Deswita Kinanti

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI | iii |
| LEMBAR PERNYATAAN | iv |
| KUTIPAN | v |
| LEMBAR PERSEMBAHAN | vi |
| ABSTRAK | vii |
| ABSTRACT | viii |
| KATA PENGANTAR | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR TABEL | xv |
| BAB I PENDAHULUAN | 2 |
| 1.1 Latar Belakang | 2 |
| 1.2 Identifikasi Masalah..... | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 5 |
| 1.5 Hipotesis | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1. Depresi | 6 |
| 2.1.1. Definisi Depresi..... | 6 |
| 2.1.2. Etiologi Depresi..... | 6 |
| 2.1.3. Patofisiologi Depresi..... | 7 |
| 2.1.4. Epidemiologi Depresi..... | 8 |
| 2.1.5. Gejala Klinis Depresi | 8 |
| 2.1.6. Antidepresan..... | 8 |
| 2.2. Keruing (<i>Dipterocarpus grandiflorus</i>)..... | 10 |
| 2.2.1 Morfologi dan Sistematika Keruing..... | 10 |
| 2.2.2 Hasil Oleoresin Keruing..... | 11 |
| 2.3. Bunga Kenanga (<i>Cananga odorata</i> (L.) Hook.F. & Thoms)..... | 12 |
| 2.4. Aromaterapi | 14 |
| 2.5. Uji Mutu Fisik Sediaan Lilin Aromaterapi | 17 |
| 2.6. Mencit (<i>Mus musculus</i>) | 17 |

| | | |
|---------------------------------------|--|-----------|
| 2.7. | <i>Conditioned Place Preference (CPP)</i> | 19 |
| 2.8. | <i>Foot Shocked Inducer</i> | 20 |
| 2.9. | Histopatologi..... | 21 |
| 2.10. | Kerangka Konsep..... | 22 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | | 23 |
| 3.1 | Tempat dan Waktu Penelitian..... | 23 |
| 3.1.1. | Waktu Penelitian..... | 23 |
| 3.1.2. | Tempat Penelitian..... | 23 |
| 3.2 | Alat dan Bahan..... | 23 |
| 3.2.1 | Alat..... | 23 |
| 3.2.2 | Bahan..... | 23 |
| 3.3 | Metode Penelitian..... | 23 |
| 3.3.1. | Jenis Penelitian..... | 23 |
| 3.3.2. | Definisi Operasional..... | 24 |
| | Tabel 3.1 Definisi Operasional Penelitian..... | 24 |
| 3.4 | Populasi dan Sampel Penelitian..... | 25 |
| 3.4.1 | Populasi Penelitian..... | 25 |
| 3.4.2 | Sampel Penelitian..... | 25 |
| 3.4.3 | Teknik Pengambilan Sampel..... | 25 |
| 3.4.4 | Variabel Bebas..... | 25 |
| 3.5 | Uji Kode Etik..... | 26 |
| 3.6 | Determinasi Hewan Uji..... | 26 |
| 3.7 | Uji GCMS Sediaan Minyak Kenanga..... | 26 |
| 3.8 | Formulasi Lilin Aromatik Kombinasi Oleoresin Keruing Dan Minyak Kenanga..... | 27 |
| 3.9 | Pembuatan Lilin Aromaterapi..... | 27 |
| 3.10 | Uji Mutu Fisik Lilin Aromaterapi..... | 27 |
| 3.10.1 | Uji Organoleptik..... | 27 |
| 3.10.2 | Uji Titik Leleh..... | 27 |
| 3.10.3 | Uji Waktu Bakar..... | 28 |
| 3.11 | Pengujian Aktivitas Antidepresan..... | 28 |
| 3.12 | Induksi Sampel..... | 29 |
| 3.13 | Metode <i>Conditioned Place Preference (CPP)</i> | 29 |
| 3.14 | Pemberian Lilin Aromatik dengan Metode CPP..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 3.15 Validasi Metode | 29 |
| 3.16 Pewarnaan Jaringan Otak..... | 30 |
| 3.17 Kerangka Operasional..... | 32 |
| 3.18 Analisis Data | 32 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 33 |
| 4.1 Hasil Pemeriksaan GC-MS Minyak Kenanga | 33 |
| 4.2 Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Lilin..... | 34 |
| 4.2.1 Organoleptis | 35 |
| 4.2.2 Uji Titik Leleh..... | 36 |
| 4.2.3 Uji Waktu Bakar..... | 36 |
| 4.3 Validasi Metode | 37 |
| 4.4 Evaluasi Efek Antidepresan | 38 |
| 4.5 Gambaran Histopatologi Otak | 40 |
| BAB V PENUTUP | 45 |
| 5.1 Kesimpulan | 45 |
| 5.2 Saran | 45 |
| DAFTAR PUSTAKA | 46 |
| LAMPIRAN 1 | 51 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2. 1 Pohon Keruing..... | 10 |
| Gambar 2. 2 β -bisabolene | 12 |
| Gambar 2. 3 Caryophyllene..... | 12 |
| Gambar 2. 4 Humulene..... | 12 |
| Gambar 2. 5 Phthalic acid, di(3-methoxybenzyl)ester..... | 12 |
| Gambar 2. 6 Phthalic acid, 5-ethyl-1,3-dioxan-5-octyl ester..... | 12 |
| Gambar 2. 7 Bunga Kenanga [<i>Cananga odorata</i> (L.) Hook. F. & Thoms] | 13 |
| Gambar 2. 8 Mencit (<i>Mus musculus</i>) | 18 |
| Gambar 2. 9 Alat CPP | 19 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Golongan Obat Antidepresan | 9 |
| Tabel 2.2 Hasil GC-MS Oleoresin Keruing..... | 12 |
| Tabel 2.3 Kandungan Senyawa Keruing | 12 |
| Tabel 3.1 Definisi Operasional Penelitian | 24 |
| Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan GC-MS Minyak Kenanga | 34 |
| Tabel 4.2 Hasil Uji Organoleptis Sediaan Lilin Aromatik | 35 |
| Tabel 4.3 Hasil Uji Titik Leleh Lilin Aromatik..... | 36 |
| Tabel 4.4 Hasil Uji Waktu Bakar Lilin Aromatik | 37 |
| Tabel 4.5 Hasil Data <i>Immobility Time</i> pada Validasi Metode..... | 37 |
| Tabel 4.6 Hasil <i>T-Test</i> dari Validasi Metode | 37 |
| Tabel 4.7 Hasil Uji Homogenitas | 38 |
| Tabel 4.8 Hasil Uji Normalitas | 38 |
| Tabel 4.9 Data <i>Immobility Time</i> mencit setelah pemaparan lilin aromatik | 39 |
| Tabel 4.10 Hasil <i>Welch Anova Immobility Time</i> Mencit..... | 39 |
| Tabel 4.11 Hasil Histopatologi Otak Mencit..... | 39 |
| Tabel 4.12 Hasil Skoring Histopatologi..... | 41 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1 Surat Izin Melakukan Penelitian | 49 |
| Lampiran 2 Surat Izin Penelitian di Laboratorium Stikes Dirgahayu..... | 50 |
| Lampiran 3 Surat Lolos Etik..... | 51 |
| Lampiran 4 Hasil Pemeriksaan GC-MS Minyak Kenanga..... | 52 |
| Lampiran 5 Certificate Of Analysis Minyak Kenanga | 55 |
| Lampiran 6 Certificate Of Analysis <i>Beeswax</i> dan Asam Stearat | 56 |
| Lampiran 7 Data Uji Homogenitas, Uji Normalitas dan Uji <i>Welch</i> Anova | 12 |
| Lampiran 8 Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Lilin Aromatik..... | 58 |
| Lampiran 9 Perlakuan Terhadap Hewan Uji | 59 |
| Lampiran 10 Surat Pemeriksaan Histopatologi Otak | 61 |
| Lampiran 11 Hasil Uji Statistik Evaluasi Antidepresan | 62 |
| Lampiran 12 Surat Determinasi Hewan Uji | 63 |
| Lampiran 13 Hasil Histologi F1 dan F2 | 63 |
| Lampiran 14 Hasil Histologi F3 dan F4 | 63 |
| Lampiran 15 Hasil Histologi K- dan Normal | 63 |

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Depresi merupakan salah satu penyakit gangguan kejiwaan yang umum terjadi di masyarakat. Gangguan depresi ditandai dengan kesedihan, perasaan bersalah, cepat lelah, kehilangan minat atau kesenangan, nafsu makan terganggu, gangguan tidur dan gangguan konsentrasi. Depresi dapat menetap atau berulang, meskipun demikian, depresi adalah penyakit yang tidak terdeteksi secara luas. Depresi ringan mempengaruhi aktivitas sehari-hari seseorang, sedangkan depresi berat dapat menyebabkan upaya bunuh diri. Namun, sebagian besar kasus depresi bisa diobati dan semakin dini suatu perawatan dilakukan, semakin efektif perawatan tersebut (WHO, 2017).

Penduduk dunia yang menderita gangguan depresi pada data tahun 2015 diperkirakan mencapai 4,4% setara dengan 322 juta orang. Untuk Asia Tenggara menjadi wilayah dengan prevalensi depresi tertinggi di dunia yaitu sebesar 85,67 juta jiwa setara dengan 27% (Utama *et al.*, 2023). Berdasarkan laporan *GoodStads* 2023, sebagai benua terbesar di dunia, kondisi mental masyarakat di tiap negara yang ada di benua Asia berbeda. Pada Asia Utara, rata-rata orang yang mengalami depresi dan kecemasan sebesar 19.93%, sedangkan di Asia Tenggara, rata-rata orang yang mengalami depresi dan kecemasan berada di rentang 20-30%, kecuali di Vietnam sebesar 31%. Pada Asia Timur, 12,8% orang mengalami depresi dan kecemasan, dan Asia Selatan mencapai 20%. (*GoodStads* 2023). Prevalensi gangguan depresi pada populasi dunia adalah 3-8 % dengan 50% kasus terjadi pada usia produktif yaitu 20-50 tahun. Jawa Barat menjadi provinsi dengan prevalensi depresi tertinggi, yaitu mencapai 3,3%. Sementara itu, Kalimantan Timur menempati posisi kedua dengan prevalensi depresi sekitar 2,2%. Fakta ini tentu cukup mengejutkan, karena menunjukkan adanya peningkatan masalah kesehatan mental yang signifikan di masyarakat Kalimantan Timur (Kemenkes RI, 2018). Depresi dapat ditangani melalui terapi farmakologi dan non farmakologi. Dalam penelitian (Wulansari, 2019) terapi farmakologi menggunakan obat-obatan tertentu yang umumnya dapat mengakibatkan ketergantungan (Sari, 2016). Sedangkan

terapi non farmakologi merupakan terapi pengobatan tanpa menggunakan obat-obatan (Fajri *et al.*, 2022). Terapi farmakologi antidepresan umumnya dibagi menjadi enam golongan diantaranya *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI)*, *Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor (SNRI)*, *Tricyclic Antidepressant (TCA)*, Tetrasiklik dan Unisiklik, *5-HT Receptor Modulators*, dan *Monoamine Oxidase Inhibitor (MAOI)* (Katzung, 2020).

Selain terapi farmakologi, terapi non-farmakologi seperti refleksologi, yoga, akupunktur, meditasi, musikoterapi, hipnoterapi, terapi seni, dan aromaterapi telah terbukti efektif dalam mengelola stres, kecemasan, dan masalah kesehatan mental lainnya pada remaja (Argaheni *et al.*, 2023). Salah satu terapi non-farmakologi pada pasien depresi yang sering digunakan adalah aromaterapi, yang dapat membantu mengurangi kecemasan, meningkatkan suasana hati, serta menghasilkan relaksasi (Winkelman, 2018). Pasien kanker cenderung mencari terapi perawatan paliatif untuk membantu mengurangi kecemasan dan stres serta meningkatkan harapan hidup. Aromaterapi dapat merangsang *system olfactory* dan otak, saat pemberian aromaterapi, aroma akan masuk ke rongga hidung dan kemudian merangsang sistem saraf di otak yang berperan dalam pengaturan emosi. Secara fisiologis, kandungan terapeutik dari bahan-bahan yang dihasilkan akan mencerminkan keseimbangan yang terjadi pada sistem tubuh. Respons terhadap aroma yang menyenangkan akan merangsang daerah otak untuk meningkatkan daya ingat dan mengurangi depresi (Butar-Butar *et al.*, 2024).

Indonesia dikenal sebagai negara dengan kekayaan serta keanekaragaman hayati yang melimpah. Terdapat 30.000 spesies tumbuhan di hutan tropis Indonesia, untuk saat ini sekitar 9.600 spesies diketahui memiliki khasiat sebagai obat namun semuanya belum dimanfaatkan dalam obat herbal (BPOM, 2020). Contoh tanaman yang memiliki potensi sebagai antidepresan ialah tanaman keruing dan tanaman dengan kandungan minyak atsiri lainnya, seperti kenanga. Kandungan keruing banyak didominasi oleh kelompok terpena. Beberapa macam terpena yang ditemukan pada oleoresin dan minyak keruing misalnya β - *bisabolene*, *Caryophyllene*, *humulene*, dan senyawa turunannya (Wahyudianto *et al.*, 2022). Selain keruing, tanaman yang mengandung minyak atsiri adalah bunga kenanga

dengan kandungan kimia antara lain 10,0% β -*caryophyllene*; 14,9% farnesen; 13,2% linalool; 11,8% (Agus & Maimunah, 2023).

Histopatologi otak mencit merupakan metode penting untuk mengamati perubahan struktur mikroskopis jaringan otak, terutama pada area hipokampus yang berperan dalam regulasi emosi dan stres. Pemeriksaan ini dapat mengungkap adanya kerusakan sel saraf, edema, atau peradangan yang tidak selalu terdeteksi melalui uji perilaku atau data statistik. Dalam penelitian efek antidepresan, analisis histopatologi menjadi pelengkap penting untuk menilai dampak biologis suatu perlakuan secara langsung pada jaringan otak. Penelitian oleh Lucassen *et al.* (2015) menunjukkan bahwa stres kronis dapat menyebabkan perubahan struktural pada hipokampus, termasuk penurunan volume dan kepadatan sinap. Selain itu, studi oleh McEwen *et al.* (2016) menegaskan bahwa hipokampus sangat rentan terhadap stres, yang dapat memengaruhi plastisitas struktural dan fungsional otak.

Mengacu kepada latar belakang di atas, maka akan dilakukan penelitian yang menguji potensi antidepresan dari tumbuhan keruing dengan menggunakan media lilin aromatik kombinasi keruing dan minyak kenanga pada mencit jantan yang telah diinduksi. Penelitian ini menggunakan metode CPP (*Conditioned Place Preference*) yang bertujuan untuk menilai *behavioral* hewan uji.

1.2 Identifikasi Masalah

Identifikasi masalah dari penelitian ini adalah:

- 1.2.1 Apakah lilin aromatik kombinasi oleoresin Keruing dan minyak kenanga memiliki potensi sebagai pengobatan alternatif untuk gangguan depresi?
- 1.2.2 Bagaimana Gambaran histologi otak dari hewan coba yang diinduksi dan diberi lilin aromatik

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini dibedakan menjadi, tujuan umum dan tujuan khusus:

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh dari lilin aromatik kombinasi oleoresin Keruing

dan minyak kenanga sebagai terapi non farmakologi untuk gangguan depresi dengan metode CPP.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui lilin aromatik kombinasi oleoresin Keruing dan minyak kenanga memiliki potensi sebagai pengobatan alternatif untuk gangguan depresi
2. Mengetahui gambaran histologi otak dari hewan coba yang diinduksi dan diberi lilin aromatik

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan serta pengetahuan mengenai potensi lilin aromatik minyak kenanga dan oleoresin Keruing sebagai terapi non farmakologi untuk gangguan depresi dengan metode CPP.

1.4.2 Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai tambahan referensi serta bahan ajar mengenai pengembangan bahan alam farmasi.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan pertimbangan untuk mengembangkan bahan alam minyak kenanga dan Keruing sebagai salah satu alternatif pengobatan non farmakologi dalam penanganan gangguan depresi, sehingga dapat digunakan oleh masyarakat dan industri farmasi untuk menghasilkan temuan baru dalam dunia farmasi.

1.5 Hipotesis

H₀: Lilin aromatik kombinasi oleoresin Keruing dan minyak kenanga tidak memiliki potensi sebagai antidepresan

H₁: Lilin aromatik kombinasi oleoresin Keruing dan minyak kenanga memiliki potensi sebagai antidepresan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Depresi

2.1.1. Definisi Depresi

Menurut *World Health Organization* depresi merupakan penyakit gangguan mental yang ditandai dengan gejala penurunan mood, kehilangan minat terhadap sesuatu, perasaan bersalah, serta menarik diri dari kehidupan sosial (WHO, 2017). Depresi merupakan suatu keadaan yang mempengaruhi seseorang secara afektif, fisiologis, kognitif dan perilaku sehingga mengubah pola dan respon yang biasa dilakukan (Hadi *et al.*, 2017). Gangguan depresi adalah gangguan kejiwaan yang sangat umum yang tidak hanya berdampak negatif pada kesejahteraan emosional tetapi juga menyebabkan dampak yang signifikan pada biaya perawatan kesehatan dan produktivitas di tempat kerja. Kesehatan jiwa menjadi suatu masalah yang belum dapat sepenuhnya terselesaikan baik pada tingkat global maupun pada tingkat nasional (Agus & Khotib, 2023). Gangguan depresi menurut *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder 5 (DSM-5)* meliputi gangguan disregulasi mood disruptif, gangguan depresi berat, gangguan depresi menetap (*distimia*), gangguan disforik pramenstruasi, gangguan depresi yang diinduksi substansi/medikasi, gangguan depresi akibat kondisi medis lain, gangguan depresi spesifik lain, dan gangguan depresi yang tidak spesifik (APA, 2013).

2.1.2. Etiologi Depresi

Sampai saat ini penyebab dari depresi secara pasti masih belum dipahami dengan jelas. Para peneliti memperkirakan bahwa sebagian kecil kasus depresi disebabkan oleh cedera pada otak, pengaruh sistem endokrin atau farmakologis. Namun pada sebagian besar kasus, faktor genetik dan lingkungan mengambil peran terhadap pathogenesis depresi (Maina *et al.*, 2016). Sama seperti kanker dan penyakit kardiovaskuler yang memiliki berbagai faktor risiko yang mungkin menimbulkan penyakit tersebut,

terdapat berbagai faktor yang mungkin menimbulkan depresi klinis (Donohue & Luby, 2016).

2.1.3. Patofisiologi Depresi

Gejala depresi berhubungan dengan pengurangan ketersediaan monoamina di celah sinaptik. Oleh karena itu, agen antidepresan yang meningkatkan kadar monoamine digunakan sampai saat ini untuk mengembalikan fungsi normal pada pasien depresi (Ramos-Hryb *et al.*, 2017). Meskipun antidepresan monoaminergik mampu meningkatkan konsentrasi monoamin secara akut, kemanjuran klinisnya hanya terjadi beberapa minggu setelah pengobatan. Periode waktu panjang diperlukan untuk suatu antidepresan menunjukkan efek klinis bahwa pengurangan gejala depresi berhubungan perubahan neuroplastik (C. Pittenger, 2008). Terdapat fakta bahwa pemberian antidepresan kronis mampu meningkatkan ekspresi neurotrofin dan neurogenesis (pertumbuhan saraf) hipokampus (Matheus-Pinheiro, 2013).

Berdasarkan Hipotesis Neurotrofik Katzung 2020, terdapat banyak bukti bahwa faktor pertumbuhan saraf, misalnya *Brain-Derivate Neurotrophic Factor* (BDNF) penting dalam regulasi plastisitas, ketahanan, dan neurogenesis. Dikatakan juga faktor neurotropik yang berasal dari otak (BDNF) dan reseptornya, tropomyo-sin reseptor kinase B (TrkB), terutama di hipokampus dan korteks prefrontal, dua wilayah otak yang memainkan peran penting dalam patofisiologi depresi. Studi Postmortem menunjukkan bahwa kadar BDNF dan TrkB mengalami penurunan pada otak subjek bunuh diri. Lebih dari 30 studi pencitraan struktural menyatakan bahwa depresi mayor menyebabkan pengurangan 5-10% volume hipokampus. Depresi dalam keadaan stres kronik juga dilaporkan berkaitan dengan pengurangan substansial volume di girus singuli anterior dan korteks frontalis orbital medialis. Berkurangnya volume di struktur seperti hipokampus, tampaknya bertambah seiring dengan lama sakit dan seberapa lama depresi tidak diobati.

2.1.4. Epidemiologi Depresi

Menurut *World Health Organization* (WHO) menetapkan tanggal 10 September sebagai Hari Pencegahan Bunuh Diri Sedunia. Berdasarkan data WHO pada 2019, tingkat bunuh diri di Indonesia menunjukkan angka 2,6 per 100.000 penduduk. Angka ini jauh lebih rendah dibandingkan dengan negara-negara seperti Lesotho, yang memiliki tingkat bunuh diri tertinggi di dunia pada 2019 dengan 87,5% per 100.000 orang, dan Guyana dengan 40,9% per 100.000 orang. Prevalensi gangguan kesehatan mental di Indonesia diperoleh melalui pengukuran pada umur > 15 tahun dengan hasil 6% atau sebesar 37.728 orang pada 2013 dan meningkat ditahun 2018 sebanyak 9,8% mengalami masalah kesehatan mental seperti gejala depresi dan kecemasan (Monit et al., 2019) Sedangkan prevalensi gangguan kesehatan mental di Kalimantan Timur pada tahun 2013 mencapai nilai 5,8% dan meningkat pada tahun 2018 mencapai angka 9,8% (Riskesdas, 2018).

2.1.5. Gejala Klinis Depresi

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Desi, dkk tahun 2020 menunjukkan bahwa gejala depresi banyak dialami oleh siswa perempuan yaitu sebanyak 22,9%, dan sejumlah 40% mengalami gejala depresi. Gejala yang ditemukan berupa perasaan sedih yang berkepanjangan, memilih menarik diri dan, kurang konsentrasi, kurang nafsu makan atau makan berlebihan, gangguan pola makan, gangguan pola tidur, sering merasa lelah (Desi et al., 2020). Gejala-gejala dari depresi pada remaja sering ditandai dengan perasaan mudah tersinggung, tertekan, takut, tidak bersemangat, sedih, konflik dengan teman, dan konflik dengan keluarga (Rahmawati & Rahmayanti, 2019).

2.1.6. Antidepresan

Seseorang dengan gangguan mental yang tidak segera ditangani dapat berujung pada tindakan bunuh diri. Untuk mencegah kejadian tersebut, penderita gangguan mental harus mendapatkan farmakoterapi seperti antidepresan, psikoterapi, atau kombinasi keduanya. Menurut

Katzung 2020, terdapat 6 golongan obat antidepresan yang dapat digunakan pada gangguan mental depresi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2. 1 Golongan Obat Antidepresan (Katzung, 2020).

| Subkelas, obat | Mekanisme Kerja | Efek | Penggunaan klinis |
|--|---|---|---|
| <i>Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI)</i> | | | |
| Fluoksetin Sitalopram Esitalopram | Blokade yang sangat selektif terhadap transporter serotonin (SERT), dan efek minimal terhadap transporter norepinefrin (NET) | Peningkatan akut aktivitas sinaps serotoninergik | Depresi Mayor, gangguan panik, gangguan obsesif kompulsif, gangguan stres pascatrauma. |
| <i>Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitor (SNRI)</i> | | | |
| Duloksetin Venlafaksin | Blokade selektif moderat terhadap NET dan SERT | Peningkatan akut aktivitas sinaps serotoninergik dan adrenergik | Depresi mayor, gangguan nyeri kronik, fibromialgia, gejala perimenopaus |
| <i>Antidepresan Trisiklik (TCA)</i> | | | |
| Imipramin Klomipramin | Blokade campuran dan bervariasi terhadap NET dan SERT | Seperti SNRI, dan blokade signifikan reseptor sistem saraf otonom dan reseptor histamin | Depresi mayor yang tidak berespon terhadap obat lain, gangguan nyeri kronik, gangguan obsesif kompulsi |
| <i>Modulator Reseptor 5-HT</i> | | | |
| Nefazodon Trazodon | Menghambat reseptor 5-HT _{2A} . Nefazodon juga menghambat SERT secara lemah | Trazodon membentuk suatu metabolit (m-cpp) menghambat reseptor 5-HT _{2A-2C} | Depresi mayor, sedasi dan hipnosis (trazodon) |
| <i>Tetrasiklik, Unisiklik</i> | | | |
| Bupropion Amoksapin Maprotilin Mirtazapin | Meningkatkan aktivitas norepinefrin dan dopamin (bupropion). Inhibisi NET > SERT (amoksapin, maprotilin) Meningkatkan pelepasan norepinefrin, 5-HT (mirtazapin) | Pelepasan katekolamin prasinaps tetapi tanpa efek pada 5-HT (bupropion) Amoksapin dan maprotilin mirip TCA | Depresi mayor, berhenti merokok (bupropion), sedasi (mirtazapin), amoksapin dan maprotilin jarang digunakan |
| <i>Inhibitor Monoamin Oksidase (MAOI)</i> | | | |
| Fenelzin Tranilsipromin Selegilin | Blokade MAO-A dan MAO-B (fenelzin, non-selektif), Inhibisi selektif MAO-B ireversibel (selegilin dosis rendah) | Sediaan transdermal selegilin mencapai kadar yang menghambat MAO-A | Depresi mayor yang tidak berespons terhadap obat lain, penyakit parkinson (selegilin) |

2.2. Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*)

Keruing atau yang dikenal dengan nama latin *Dipterocarpus grandiflorus* merupakan spesies pohon besar yang ditemukan di kanopi atas, hutan tropis dataran rendah di seluruh distribusinya. Spesies ini berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara, diantaranya adalah India (Kepulauan Andaman), Vietnam, Myanmar, Thailand, Semenanjung Malaysia dan Singapura. Spesies ini juga ditemukan di pulau Sumatra di Indonesia, lalu di Sabah serta Kalimantan dan setidaknya di enam pulau di Filipina. Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*) telah dikenal sebagai salah satu jenis tumbuhan dari famili *Dipterocarpaceae* yang memiliki kayu bernilai tinggi. Selain kayu, minyak keruing yang merupakan resin cair (oleoresin) banyak digunakan sebagai pernis bangunan interior, bahkan di dunia industri juga dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan (Wahyudianto *et al.*, 2022). Keanekaragaman tersebut akan memberikan perbedaan pada oleoresin yang diperoleh dari penyadapan, serta sifat fisik dan kimianya (Fernandes & Maharani, 2022).

2.2.1 Morfologi dan Sistematika Keruing



Gambar 2. 1 Pohon Keruing

Sumber; (Wahyudianto *et al.*, 2022).

Berikut adalah klasifikasi tanaman keruing menurut Fernandes, 2020;

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Malvales
Famili : *Dipterocarpaceae*

Genus : Dipterocarpus C. F. Gaertn

Spesies : *Dipterocarpus grandiflorus*

Secara umum keruing memiliki ciri warna, yaitu kayu terasnya berwarna coklat merah, coklat, kelabu-cokelat atau merah cokelat-kelabu. Kayu gubal berwarna kuning atau coklat muda agak kelabu dan mempunyai batas yang jelas dengan kayu teras, lebar 2-10 cm. Tanaman ini memiliki tabung yang terbentuk dari kelopak buah yang memiliki sayap lurus atau berombak dari ujung ke pangkal bahkan sampai bagian tengah tabung. Bentuk buahnya elips dengan ukuran yang sedang (Adriyanti *et al.*, 2016).

2.2.2 Hasil Oleoresin Keruing

Pohon *Dipterocarpus grandiflorus* merupakan penghasil kayu, minyak, dan oleoresin. Minyak keruing berwarna kuning kecoklatan, sedangkan oleoresin berwarna putih susu, lengket dan kental.

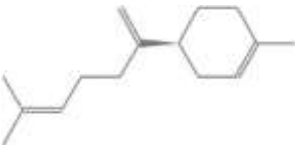
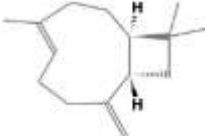
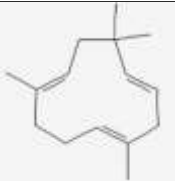
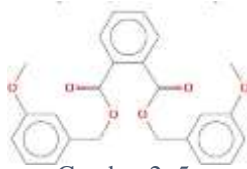
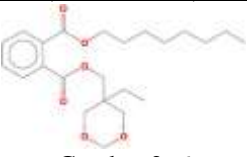
Tabel 2.2 Hasil GC-MS Oleoresin Keruing (Wahyudianto *et al.*, 2022)

| Peak | Retention Time | Area (%) | Senyawa Kimia |
|------|----------------|----------|--|
| 1 | 13,625 | 0,01 | <i>N-Acrylonitril-2,2-dimethylaziridine</i> |
| 2 | 13,765 | 0,01 | <i>4H-4a,7-Methanooxazirino[3,2-I][2,1]benzisothiazole, tetrahydro-9,9-dimethyl-, 3,3-dioxide, [4as-(4a.alpha.,7.alpha.,8ar@)]</i> |
| 3 | 14,503 | 69,14 | <i>Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4 hexenyl)-, (S)</i> |
| 4 | 14,675 | 14,74 | <i>Phthalic acid, di(3-methoxybenzyl) ester</i> |
| 5 | 14,855 | 15,92 | <i>Phthalic acid, 5-ethyl-1,3-dioxan-5-yl octyl ester</i> |

Komponen kimia minyak keruing berdasarkan hasil uji menggunakan GCMS Shimadzu QP 2010; jenis kolom RTx-5MS; dan database NIST

Namun kandungan keruing secara umum didominasi oleh kelompok terpene. Beberapa macam terpene yang ditemukan pada oleoresin dan minyak keruing misalnya *β-bisabolene*, *Caryophyllene*, *humulene*, dan senyawa turunannya. (Wahyudianto *et al.*, 2022). Berikut pada Tabel 2.3 kegunaan dari masing-masing kandungan kimia yang terdapat pada pohon keruing;

Tabel 2. 3 Kandungan senyawa keruing

| Senyawa Kimia | Struktur Kimia | Kegunaan |
|---|---|---|
| <i>β-bisabolene</i> |  <p>Gambar 2. 2 (Wahyudianto <i>et al.</i>, 2022)</p> | β -bisabolene dapat digunakan sebagai anti-konvulsan atau obat yang dapat mencegah dan mengobati kejang (Elbali <i>et al.</i> , 2018) |
| <i>Caryophyllene</i> |  <p>Gambar 2. 3 (Wahyudianto <i>et al.</i>, 2022)</p> | Senyawa ini diketahui memiliki beragam manfaat di bidang kosmetik, misalnya aditif pada sampo (Wahyudianto <i>et al.</i> , 2022) |
| <i>Humulene</i> |  <p>Gambar 2. 4 (PubChem)</p> | Humulene digunakan sebagai obat luka pada saluran pencernaan dan bahan pewangi pada parfum (Yeo <i>et al.</i> , 2021) |
| <i>Phthalic acid di(3-methoxybenzyl)ester</i> |  <p>Gambar 2. 5 (KLHK, 2019)</p> | (Bang-Andersen <i>et al.</i> , 2011) menjelaskan bahwa kelompok ester dari senyawa phthalate memiliki aroma wangi yang khas, digunakan dalam industri parfum, pewarna kuku, pewarna rambut yang disemprot, dan berbagai kosmetik lainnya. |
| <i>Phthalic acid, 5-ethyl-1,3-dioxan-5-yl octyl ester</i> |  <p>Gambar 2. 6 National Institute of Standards and Technology (NIST)</p> | |

2.3. Bunga Kenanga (*Cananga odorata* (L.) Hook.F. & Thoms)

Indonesia adalah negara produsen untuk 40-50 tanaman minyak atsiri yang berbeda dari 80 jenis minyak atsiri yang dijual di seluruh pasar dunia. Sumber minyak atsiri adalah akar, batang, daun, bunga, buah dan lain-lain (Lusiana *et al.*, 2023). Salah satu tanaman yang mengandung minyak atsiri yang diketahui memiliki efek sebagai antimikroba adalah bunga kenanga (Agus & Maimunah, 2023). Minyak kenanga merupakan salah satu jenis minyak atsiri yang memiliki

aroma yang khas yaitu beraroma floral dan berwarna kuning muda hingga kuning tua (Supartono, 2014). Bunga kenanga merupakan salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai obat tradisional. Selain memiliki efek antimikroba, ekstrak bunga kenanga juga memiliki efek sebagai antioksidan, antibiofilm, anti inflamasi, antivektor, repellent, antidiabetes, antifertilitas dan antimelanogenesis (Rahma Yulis *et al.*, 2020).

2.3.1. Morfologi dan Sistematika Bunga Kenanga [*Cananga odorata* (L.) Hook.F. & Thoms]



Gambar 2. 7

Bunga Kenanga Sumber: (Kasem, 2023)

Cananga odorata memiliki nama lokal yaitu kenanga, *ylang-ylang*. Berdasarkan *United States Department of Agriculture* (2022), taksonomi kenanga adalah sebagai berikut:

| | |
|-------------|--|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Superdivisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Subkelas | : Magnoliidae |
| Ordo | : Magnoliales |
| Family | : <i>Annonaceae</i> |
| Genus | : <i>Cananga</i> |
| Spesies | : [<i>Cananga odorata</i> (L.) Hook.F. & Thoms] |

2.3.2. Kandungan Kimia Bunga Kenanga

Berdasarkan hasil penelitian Rahma Yulis, 2020 bunga kenanga positif mengandung flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Juga pada bunga kenanga, diketahui mengandung 10,0% *β -caryophyllene*; 14,9% *farnesen*;

13,2% *linalool*; 11,8%, *benzyl benzoate*; 1,8% (*Z-E farnesol*); 1,7% geraniol; 0,8% eugenol dan lain lain (Agus & Maimunah, 2023). Dengan hadirnya kandungan metabolit sekunder pada tanaman ini memungkinkan untuk dijadikan bahan baku berpotensi obat karena adanya kandungan metabolit aktif yang mengindikasikan tanaman tersebut mempunyai aktivitas antioksidan ataupun antibakteri lainnya. Dengan adanya senyawa ini maka bunga kenanga dapat dijadikan bahan baku berpotensi obat karena kemungkinan mengandung antioksidan cukup tinggi. Antioksidan dapat menangkal radikal bebas yang ada di tubuh, sehingga dapat mencegah sel kanker muncul dan berkembang (Rahma Yulis *et al.*, 2020).

2.4. Aromaterapi

Aromaterapi adalah metode pengobatan alternatif yang mudah menguap yang dikenal sebagai minyak atsiri. Minyak atsiri yang diuapkan juga penting dalam aromaterapi, karena memberikan bermacam efek seperti antiinflamasi, anti-septik, merangsang nafsu makan, dan meningkatkan sirkulasi. Ada berbagai macam bentuk aromaterapi yaitu, minyak essential aromaterapi, dupa aromaterapi, lilin aromaterapi, minyak pijat aromaterapi, dan sabun aromaterapi (Dede Lestari, 2019). Aromaterapi pun memiliki beragam aroma diantaranya mawar, rosemary, lavender, melati, kayu cendana, mint, jahe, lemon, jeruk, dan ylang-ylang. Efek dari semua aroma tersebut secara langsung atau tidak langsung menyebabkan aspek psikologis (Lusiana *et al.*, 2023).

2.4.1. Lilin Aromaterapi

Salah satu contoh produk aromaterapi adalah lilin aromaterapi. Lilin aromaterapi memberikan efek terapi dan bersifat menenangkan (Yerizam *et al.*, 2022). Lilin biasanya hanya pengganti lampu dan tidak menarik. Tetapi, lilin beraroma dibuat dari beberapa bahan yang berbeda dan salah satunya menggunakan minyak essential (Zuddin *et al.*, 2019). Penggunaan lilin sebagai aromaterapi dapat dimanfaatkan karena hemat energi dan tidak memerlukan listrik untuk menggunakannya, memiliki efek negatif yang minim karena tidak memakai campuran bahan kimia yang berbahaya.

Lilin aromaterapi terbuat dari berbagai bahan dan salah satunya minyak esensial yang mempunyai bau aromaterapi (Rahma Yulis *et al.*, 2020). Lilin beraroma digunakan bukan karena baunya saja tetapi karena dapat merubah suasana hati menjadi lebih tenang dan mempunyai kegunaan sebagai pembuat suasana yang nyaman, menaikkan energi, mengurangi stress, dan meredakan rasa sakit. Sehingga pembuatan sediaannya semakin meningkat dengan menggunakan bahan alam untuk alternatif pengobatan komplementer yang ketenarannya semakin meningkat di dunia kesehatan (Herawaty, 2021). Dalam pembuatannya pun, lilin aromaterapi memiliki bermacam-macam basis yang digunakan, diantara nya;

1. Soywax

Soy wax merupakan *wax* yang terbuat dari minyak kedelai yang dicampur dengan larutan hidrogen. Penggunaan *soy wax* menghasilkan polutan yang lebih sedikit dibandingkan dengan penggunaan *paraffin wax*. Dibandingkan dengan *paraffin wax* dan *beeswax*, *soy wax* terbakar secara signifikan lebih lambat dan membutuhkan lebih sedikit udara (Sasri *et al.*, 2023).

2. Beeswax

Beeswax memiliki berbagai aplikasi, diantaranya sebagai bahan tambahan makanan. Lilin lebah dapat dimakan, tetapi tidak memiliki nilai nutrisi yang berarti karena tidak dihidrolisis dengan sempurna di dalam saluran pencernaan manusia. Selain itu, lilin lebah dapat digunakan sebagai bahan kosmetik, farmasi, semir sepatu, campuran zat pewarna untuk lukisan dan ornamen, pengisi lubang pada gigi, dan lilin. Selain itu, semakin banyak beeswax yang digunakan membuat struktur lilin menjadi tidak halus yang berakibat banyak benjolan pada lilin (Sitohang, 2023).

3. Palm Wax

Palm wax merupakan bahan untuk pembuatan lilin yang ramah lingkungan karena terbuat dari suling minyak kelapa sawit (Aulia *et al.*, 2023). *Palm wax* mempunyai sifat mudah larut dalam air dan tingkat allergen kecil. Selain itu *palm wax* mempunyai titik leleh

yang besar dan gampang mengikat aroma dan menguapannya ke udara (Ayu *et al.*, 2020)

4. Paraffin Wax

Paraffin wax terbuat dari minyak bumi yang tersusun dari senyawa organik mudah menguap yang berpotensi meracuni tubuh. Meningkatkan resiko terkena gangguan organ pernapasan, dan kanker jika terhirup dalam jangka panjangnya (Munabari, 2019). Penggunaan lilin parafin secara terus menerus menghasilkan polutan yang berdampak buruk bagi kesehatan dan lingkungan. Sedangkan lilin *soy wax* dan *beeswax* menghasilkan polutan yang lebih sedikit.

2.4.2. Dupa Aromaterapi

Aromaterapi Dupa merupakan terapi yang menggunakan minyak essensial yang dimodifikasi berbentuk Dupa (*aromatic incense stick*). Penggunaan aromaterapi dupa ini dengan cara dibakar pada ujungnya. Hasil pembakaran aromatik *incense stick* ini maka akan menimbulkan respon bau, hal ini yang akan merangsang kerja sel neurokimia otak. Bau yang menyenangkan akan menstimulasi talamus untuk mengeluarkan enkefalin yang menghasilkan perasaan tenang dan dipercaya mampu mempengaruhi bagian otak yang berhubungan langsung dengan 4 suasana hati, rasa emosi, dan memori (Widayani, Sutrisno, 2013)

2.4.3. Pijat Aromaterapi

Aromaterapi digunakan bersamaan dengan pengobatan konvensional untuk memodifikasi atau mengobati penyakit, dan mencakup dua metode: aromaterapi inhalasi dan pijat aromaterapi. Dalam pijat aromaterapi, minyak aromatik diserap melalui kulit ke dalam darah dan memberikan efek terapeutik seperti vasodilatasi, peningkatan suhu kulit, pereda nyeri, relaksasi tubuh, mengurangi kecemasan, dan depresi (Mehrabian *et al.*, 2022).

2.4.4. Sabun Aromaterapi

Sabun aromaterapi merupakan sabun yang dibuat dengan menambahkan minyak atsiri atau aromaterapi ke dalam formula sabun yang berfungsi sebagai penghalus kulit, pencegah jerawat, pengharum alami,

sekaligus sebagai aroma yang bersifat menenangkan. (Hermani, 2010). Jenis sabun yang banyak dikembangkan saat ini adalah sabun aroma terapi terutama untuk memenuhi kebutuhan industri jasa spa. Berdasarkan data industri kecantikan global, industri spa dunia termasuk Indonesia dan Bali mengalami peningkatan 7% setiap tahun. Seiring dengan berkembangnya industri spa di Bali, kebutuhan akan sabun aroma terapi pun juga meningkat (Putra *et al.*, 2017).

2.5. Uji Mutu Fisik Sediaan Lilin Aromaterapi

1. Uji Organoleptik

Organoleptik adalah penilaian suatu mutu produk berdasarkan panca indera manusia. Penilaian dengan panca indera banyak dilakukan oleh para peneliti untuk menilai mutu suatu produk terutama produk. Kriteria yang biasa digunakan untuk menilai suatu produk yaitu dengan meliputi rasa, bau, warna dan tekstur (Suryono, 2018).

2. Uji Titik Leleh

Tujuan dari uji titik leleh adalah untuk mengetahui suhu pada saat lilin melebur/meleleh. Uji titik leleh dilakukan dengan menggunakan pipa kapiler, Berdasarkan SNI 0386-1989-A/SII 0348-1980 standar titik leleh lilin ialah 50 - 58°C (Lusiana *et al.*, 2023).

3. Uji Waktu Bakar

Uji waktu bakar berhubungan dengan uji titik leleh yaitu semakin tinggi titik leleh maka semakin lama waktu bakar suatu lilin. Berdasarkan SNI 0386-2989-A/SII 0348-2980 waktu bakar lilin adalah terbakar habis bersama sumbunya (Lusiana *et al.*, 2023).

2.6. Mencit (*Mus musculus*)

Penggunaan hewan percobaan pada penelitian kesehatan banyak dilakukan untuk uji kelayakan atau keamanan suatu bahan obat dan juga untuk penelitian yang berkaitan dengan suatu penyakit. Hewan laboratorium yang sering digunakan adalah mencit (*Mus musculus*), tikus putih (*Rattus*

norvegicus), kelinci, dan hamster. Sekitar 40-80% mencit digunakan sebagai hewan model laboratorium. Mencit banyak digunakan karena siklus hidupnya relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat anatomis dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik. Mencit betina dapat dikenali dengan kedekatan lubang anus dan lubang genital. Saat dewasa kelamin, testis mencit jantan sangat jelas terlihat, berukuran sedang, dan biasanya tidak berambut. Testis dapat masuk dalam tubuh. Mencit betina memiliki lima pasang ambing dan puting susu (Lestari, 2020).

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan karena kondisi biologisnya lebih stabil dibandingkan dengan betina yang dipengaruhi siklus estrus. Mencit yang digunakan juga mempunyai keseragaman berat badan (antara 20-30 gram) dan berumur 8 minggu saat akan di uji. Tujuannya untuk memperkecil variabilitas biologis antar hewan coba yang digunakan, sehingga dapat memberikan respons yang relatif lebih seragam terhadap rangsangan bahan uji.

Adapun rumus yang digunakan untuk perhitungan hewan uji ialah menggunakan rumus Federer 1991, dengan rumus $(n-1)(k-1) \geq 15$. Rumus ini akan digunakan dalam penentuan penggunaan hewan dalam suatu kelompok percobaan

2.5.1. Sistematika Mencit (*Mus musculus*)



Gambar 2. 8
Mus musculus (Lestari, 2020)

Menurut (Musser, 2016), mencit diklasifikasikan sebagai berikut:

| | |
|---------|------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Chordata |
| Kelas | : Mammalia |
| Ordo | : Rodentia |
| Family | : <i>Muridae</i> |

Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus L.*

2.7. *Conditioned Place Preference (CPP)*



Alat CPP (Dokumentasi Pribadi)

Gambar 2. 9

Conditional Place Preference (CPP) adalah metode yang umum digunakan dalam penelitian untuk melihat apakah suatu obat memberikan efek yang menyenangkan (disukai) atau tidak menyenangkan bagi hewan uji. Desain alat ini biasanya terdiri dari tiga ruang: dua ruang di sisi luar yang sengaja dibuat berbeda, misalnya dengan warna dinding yang berbeda (hitam dan putih), jenis alas lantai yang berbeda (serutan kayu pinus dan jagung), atau bentuk lantai yang berbeda (garis lurus dan silang). Pada tahap pelatihan, hewan uji seperti tikus atau mencit akan diberikan dengan obat yang sedang diteliti, lalu ditempatkan di salah satu ruang luar selama beberapa menit. Di hari berikutnya, hewan akan mendapat suntikan plasebo (obat netral) dan ditempatkan di ruang luar yang berbeda. Proses ini biasanya dilakukan selama 2 atau 3 hari secara bergantian. Setelah masa pelatihan selesai, hewan akan ditempatkan di ruang tengah, dan pintu ke kedua ruang luar dibuka. Jika hewan menghabiskan lebih banyak waktu di ruangan yang sebelumnya dipasangkan dengan obat, berarti obat tersebut memberikan efek yang menyenangkan atau menarik bagi hewan (Prus AJ *et al.*, 2009)

Namun pada penelitian yang akan dilakukan, telah dirancang suatu modifikasi dari alat CPP, dimana pada kompartemen tidak akan dipasangkan sediaan lilin aromatik yang telah dibuat. Sediaan lilin yang telah dibuat akan diberikan kepada hewan uji didalam alat tersendiri, setelah itu dipindahkan ke dalam tempat CPP untuk menilai perilaku atau *behavioral* dari hewan uji. Prinsip dasar dari metode ini didasarkan pada perilaku alami hewan pengerat yang memiliki kecenderungan untuk menghindari area terbuka dan terang

(photophobia) serta preferensi terhadap area gelap yang tertutup, sebagai bentuk mekanisme perlindungan diri. Namun, hewan pengerat juga menunjukkan dorongan eksploratif terhadap lingkungan baru, sehingga menimbulkan konflik perilaku yang dapat diamati dan dianalisis. Maka skor CPP akan dicatat selama hewan uji menghabiskan waktu di kedua tempat (Kuleskaya & Voikar, 2014)

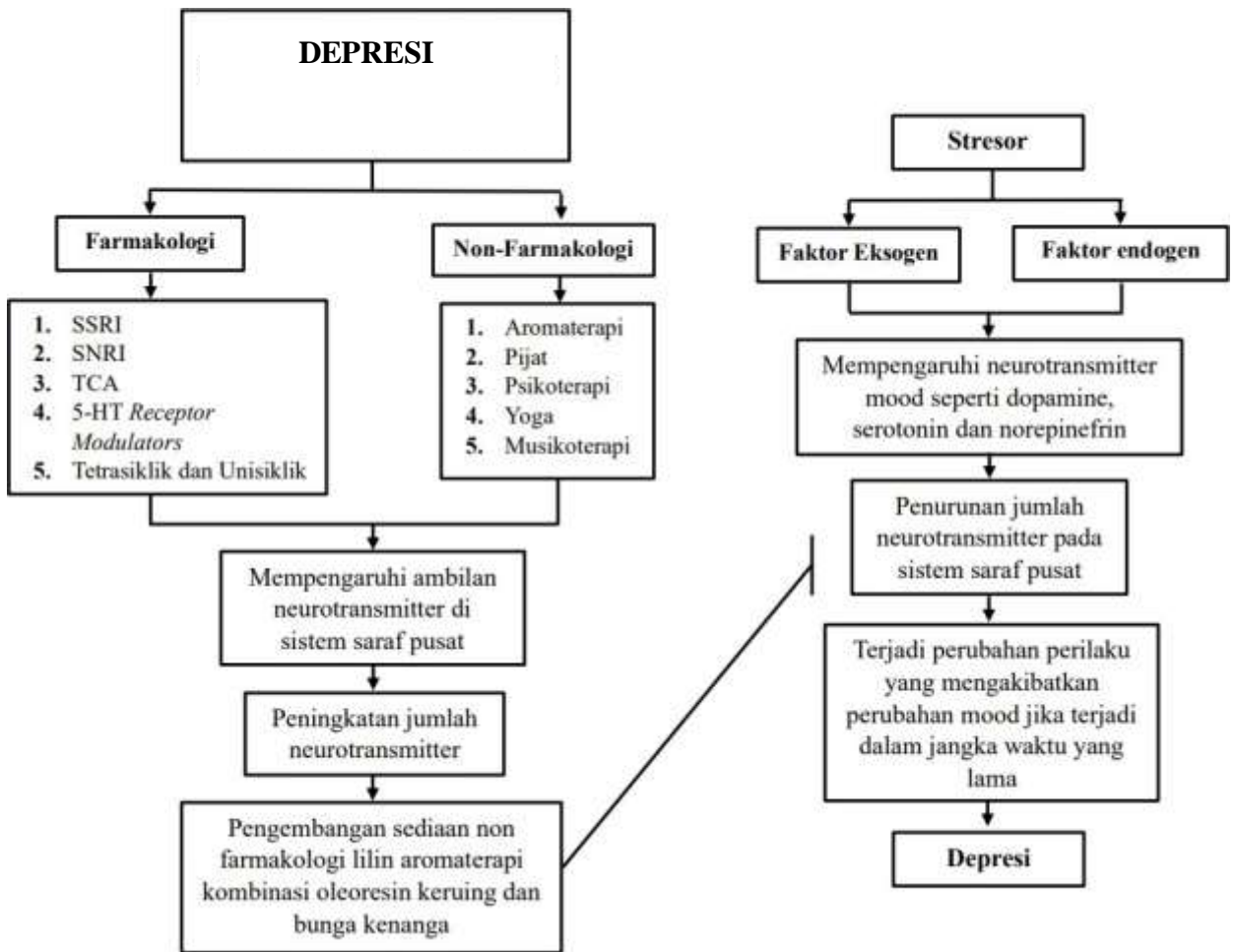
2.8. *Foot Shocked Inducer*

Foot Shocked Inducer atau kejutan kaki listrik dengan kekuatan listrik 0,6mA – 2mA, pada mencit digunakan arus listrik sebesar 0,6mA dan diinduksi dengan siklus setiap sepuluh detik listrik *on* dan *off* selama satu menit. Alat ini merupakan pemicu stres yang kompleks dengan komponen fisik dan emosional. Kejutan kaki listrik telah digunakan sebagai alat penting untuk mengembangkan berbagai model hewan di bidang psikofarmakologi. Paradigma kejutan kaki listrik mencakup paparan akut atau kronis terhadap kejutan dengan intensitas dan durasi yang bervariasi pada lantai yang terbuat dari plat besi dan diberi arus listrik dalam peralatan kejutan kaki listrik. Bukti penelitian mengungkapkan bahwa kejutan kaki dengan intensitas yang bervariasi menghasilkan perubahan perilaku dan neurokimia yang mencerminkan depresi, kecemasan, dan gangguan stres pascatrauma (PTSD) pada manusia. Hewan umumnya tidak terbiasa dengan kejutan kaki dibandingkan dengan pemicu stres lainnya, termasuk suara keras, cahaya terang, dan suhu panas dan dingin. Selain itu, kejutan kaki listrik memberikan keuntungan eksperimental berupa kontrol atas intensitas dan durasi dari alat itu sendiri. 'Ketidakberdayaan yang dipelajari' yang disebabkan oleh sengatan listrik yang tak terhindarkan meniru simptomatologi depresi, dan fenomena ini telah digunakan untuk mengembangkan model depresi. Tinjauan ini menjelaskan model kecemasan, depresi, dan PTSD yang divalidasi secara farmakologis yang melibatkan sengatan listrik pada kaki sebagai stimulus yang tidak menyenangkan (Bali & Jaggi, 2015).

2.9. Histopatologi

Histopatologi merupakan cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi sangat penting dalam kaitan dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu. Pemeriksaan histopatologi dilakukan melalui pemeriksaan terhadap perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan (misalnya seperti dalam penentuan kanker payudara) atau dengan mengamati jaringan setelah kematian terjadi. Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk memeriksa penyakit berdasarkan pada reaksi perubahan jaringan. Pemeriksaan ini hendaknya disertai dengan pengetahuan tentang gambaran histologi normal jaringan sehingga dapat dilakukan perbandingan antara kondisi jaringan normal terhadap jaringan sampel (abnormal). Dengan membandingkan kondisi jaringan tersebut maka dapat diketahui apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak.

2.10. Kerangka Konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2024 – April 2025

3.1.2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Stikes Dirgahayu Samarinda, Laboratorium Konservasi Kimia Biomaterial Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada, serta Laboratorium Central Riset & Diagnostik Satwa Sehat Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Obyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah *waterbath*, timbangan analitik, induksi listrik, CPP (*Conditioned Place Preference*), *hotplate*, gelas ukur (Pyrex), *beaker glass* (Pyrex), cawan porselen (Pyrex), pembakar spiritus, kaki tiga, kasa asbes termometer, sendok besi.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah oleoresin keruing, *beeswax*, asam stearat, minyak kenanga, alumuniun foil, wadah lilin, sumbu lilin dan perekatnya.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian Eksperimental Laboratorik. Penelitian menggunakan metode eksperimen. Objek penelitian ini adalah lilin aromatik kombinasi keruing dan minyak kenanga dengan subjek nya adalah mencit sebagai hewan uji.

3.3.2. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional Penelitian

| Variabel | Definisi |
|---|--|
| Depresi | Depresi adalah suatu kondisi seseorang merasa sedih, kecewa saat mengalami suatu perubahan, kehilangan, kegagalan dan menjadi patologis ketika tidak mampu beradaptasi (Hadi <i>et al.</i> , 2017) |
| Oleoresin Keruing | Oleoresin keruing merupakan salah satu contoh biomassa hasil hutan bukan kayu asal Kalimantan yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan yang belum banyak dilirik oleh pihak industri (Wahyudianto <i>et al.</i> , 2022) |
| Minyak Kenanga | Minyak atsiri yang berasal dari tanaman bunga kenanga dengan kandungan 10,0% β -caryophyllene; 14,9% farnesen; 13,2% linalool; 11,8% benzyl benzoate; 1,8% (Z-E) farnesol; 1,7% geraniol; 0,8% eugenol dan lain-lain (Agus & Maimunah, 2023) |
| Lilin Aromatik | Lilin aromaterapi adalah alternatif aplikasi aromaterapi secara inhalasi (penghirupan) dan akan menghasilkan aroma yang memberikan efek terapi bila dibakar seperti anti serangga, pengobatan alternatif, penghias, dan pengharum ruangan (Melviani <i>et al.</i> , 2021). |
| CPP (<i>Conditioned Place Preference</i>) | CPP adalah metode yang digunakan untuk menilai behavioral suatu subjek penelitian. CPP terjadi ketika subjek lebih lama menghabiskan waktu pada satu tempat daripada yang lain karena lokasi yang tersebut dianggap memberikan kenyamanan |
| <i>Foot Shocked Inducer</i> | <i>Foot Shocked Inducer</i> atau kejutan kaki listrik merupakan pemicu stres yang kompleks dengan komponen fisik dan emosional (Bali & Jaggi, 2015). |
| Histologi Otak | Histologi otak adalah cabang ilmu histologi yang mempelajari struktur mikroskopis jaringan otak, termasuk neuron, sel glial (seperti astrosit, oligodendrosit, dan mikroglia), serta komponen pendukung lainnya seperti pembuluh darah dan matriks ekstraseluler. |

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah oleoresin keruing dan minyak kenanga yang dibuat menjadi sediaan lilin dengan variasi konsentrasi.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah lilin aromaterapi yang diberikan pada mencit serta hasil histologi otak mencit.

3.4.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel mencit dibeli dalam keadaan sehat dari perternakan mencit yang ada di daerah kota Samarinda. Dalam melakukan pengambilan perlakuan dan urutan sampel, dilakukan suatu teknik pengambilan sampel atau elemen secara acak, dimana setiap elemen atau anggota populasi

$$(n-1)(k-1) \geq 15$$

memiliki kesempatan yang sama untuk terpilih menjadi sampel (random sampling), yaitu dengan cara memberikan nomor dari setiap kandang sampel tersebut. Mencit yang akan digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor, dan terbagi dalam 6 kelompok yang semuanya berjenis kelamin Jantan. Jumlah ini diambil berdasarkan rumus Federer, yaitu:

$$(n-1)(k-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$6n - 6 - 1n + 1 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$n \geq \frac{20}{5}$$

$$n = 4 \text{ ekor hewan uji untuk 1 kelompok}$$

3.4.4 Variabel Bebas

Variabel Bebas : Lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak kenanga dengan berbagai variasi konsentrasi

Variabel Terikat : Perubahan perilaku hewan uji dan perubahan histopatologi pada sistem saraf pusat hewan uji.

3.5 Uji Kode Etik

Kode etik merupakan pedoman dan prinsip moral yang mengatur penggunaan hewan sebagai subjek dalam penelitian ilmiah. Prinsip utama dari kode etik ini adalah untuk memastikan bahwa hewan yang digunakan dalam penelitian diperlakukan dengan cara yang humanis dan dihormati, dengan meminimalkan penderitaan, risiko, dan dampak negatif terhadap kesejahteraan mereka. Uji kode etik dapat diusulkan melalui website DigiTEPP, dan dewan kode etik akan menentukan apakah penelitian yang diajukan memenuhi syarat keamanan untuk melakukan penelitian dengan makhluk hidup.

3.6 Determinasi Hewan Uji

Determinasi hewan uji dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Mulawarman.

3.7 Uji GCMS Sediaan Minyak Kenanga

Uji ini dilakukan di Laboratorium Konservasi Kimia Biomaterial Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada. Dan Uji Kondisi pengukuran: RTx-5 kapilari kolom (30 m x 0.25 mm I.D. and 0.25 μ m); Suhu kolom 70 °C; Suhu injeksi 290°C; suhu pemrograman: suhu awal 50°C (ditahan 5 min) hingga suhu akhir 300°C pada kenaikan 5°C/menit (di tahan 12 menit); suhu interface 270°C; Split ratio 1:0; tekanan 108.1 kPa; gas helium digunakan sebagai gas pembawa. Identifikasi komponen berdasarkan National Institute of Standards and Technology (NIST) database library (NIST 11 library Version). Kuantifikasi setiap komponen berdasarkan luas persen area setiap puncak GCMS.

3.8 Formulasi Lilin Aromatik Kombinasi Oleoresin Keruing Dan Minyak Kenanga

| Bahan | Formula (%) | | | | |
|-------------------|-------------|----|----|----|----|
| | F0 | F1 | F2 | F3 | F4 |
| Oleoresin Keruing | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 |
| Minyak Kenanga | 0 | 20 | 15 | 10 | 5 |
| Asam Stearat | 25 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| <i>Beeswax</i> | 75 | 60 | 60 | 60 | 60 |

Keterangan: Setiap formula dibuat sebanyak 15 gram.

3.9 Pembuatan Lilin Aromaterapi

Pembuatan lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak kenanga diawali dengan dilelehkan *beeswax* dan asam stearat terlebih dahulu diatas cawan porcelain yang diletakkan diatas hoplate dengan suhu 75°C, digunakan suhu 75°C karena *beeswax* memiliki titik leleh 65°C sedangkan asam stearat memiliki titik leleh 70°C -75°C (Oktarina *et al.*, 2021). Ditunggu hingga *beeswax* dan asam stearat mencair dengan suhu 75°C sambil diaduk. Setelah mencair, diangkat lelehan *beeswax* dan tunggu suhu turun hingga 60°C. Kemudian ditambahkan oleoresin keruing dan minyak kenanga sesuai dengan perbandingan F1, F2, F3, dan F4. Diaduk hingga homogen. Setelah itu, campuran lilin cair dimasukkan kedalam jar yang telah dipasang dengan sumbu.

3.10 Uji Mutu Fisik Lilin Aromaterapi

3.10.1 Uji Organoleptik

Uji ini dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, bau dan tekstur dari sediaan lilin aromatik yang telah dibuat dengan menggunakan panca indera.

3.10.2 Uji Titik Leleh

Uji titik leleh dilakukan dengan metode pipet tetes. Lelehan lilin dihisap kedalam pipet tetes, kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 4 sampai 10⁰ C selama 16 jam. Pipet tetes diikatkan pada termometer dan dimasukkan ke dalam gelas beker 500 ml yang berisi air setengah bagian.

3.10.3 Uji Waktu Bakar

Uji waktu bakar dengan cara menghitung waktu dari lilin mulai dibakar lalu meleleh, hingga lilin padam. Waktu bakar lilin adalah selisih antara waktu awal pembakaran dan waktu saat lilin padam.

3.11 Pengujian Aktivitas Antidepresan

Hewan uji mencit putih jantan disiapkan sebanyak 24 ekor, mencit ditimbang dan diberi tanda pengenal pada bagian ekor. Kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Pada pengujian ini, masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit dengan pembagian kelompok:

- | | |
|--------------------------|---|
| Kelompok F1 | : Hewan uji diinduksi dan diberikan lilin aromaterapi dengan konsentrasi Oleoresin keruing 5% dan minyak kenanga 20% |
| Kelompok F2 | : Hewan uji diinduksi dan diberikan lilin aromaterapi dengan konsentrasi Oleoresin keruing 10% dan minyak kenanga 15% |
| Kelompok F3 | : Hewan uji diinduksi dan diberikan lilin aromaterapi dengan konsentrasi Oleoresin keruing 15% dan minyak kenanga 10% |
| Kelompok F4 | : Hewan uji diinduksi dan diberikan lilin aromaterapi dengan konsentrasi Oleoresin keruing 5% dan minyak kenanga 20% |
| Kelompok Kontrol Negatif | : Hewan Uji diinduksi tetapi tidak diberikan terapi |
| Kelompok Kontrol Normal | : Hewan Uji tidak diberikan perlakuan apapun |

3.12 Induksi Sampel

Hewan uji yang menjadi sampel diletakkan pada induksi listrik yang dilapisi dengan plat besi dan akan dialirkan listrik sebesar 0,4mA-2mA. Setelah hewan uji diletakkan, listrik akan dialirkan. Selama sepuluh detik listrik akan mati dan hidup secara bergantian dalam waktu satu menit. Induksi listrik hanya dilakukan satu kali. Hal ini dikarenakan saraf yang sudah rusak tidak dapat tumbuh atau mengalami regenerasi, sehingga hanya diperlukan satu siklus induksi untuk membuat hewan uji mengalami depresi akibat paparan induksi stress yang berulang selama satu menit.

3.13 Metode *Conditioned Place Preference* (CPP)

Hewan uji yang telah diinduksi akan diletakkan didalam tempat CPP yang di desain dengan dinding terang gelap. Hewan uji yang telah di induksi akan menunjukkan gejala stress, dilihat dari lama hewan uji menghabiskan waktu di kedua tempat. Pada dasarnya, mencit merupakan hewan nokturnal dan menyukai tempat gelap. Namun pada keadaan depresi, mencit tidak akan membedakan tempat gelap dan terang, dan akan cenderung berdiam tempat.

3.14 Pemberian Lilin Aromatik dengan Metode CPP

Hewan uji yang telah diinduksi akan diletakkan didalam sebuah kompartemen yang berisi dengan lilin aromatik kombinasi oleoresin keruing dan minyak kenanga. Pemberian lilin aromatic akan diberikan selama 2-3 minggu. Setelah pemberian lilin aromatik, hewan uji akan ditempatkan didalam kotak CPP dan akan dibiarkan bebas bergerak mengakses kedua kompartemen gelap terang dari alat CPP. Bila hewan uji yang telah diinduksi stress terlihat aktif diberi lilin aromatic, dan cenderung menghabiskan waktu didalam kompartemen gelap, maka CPP berhasil dilakukan dan akan dihitung skor CPP nya.

3.15 Validasi Metode

Validasi metode dilakukan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan memberikan hasil yang benar dan dapat diandalkan, sesuai dengan nilai yang diharapkan atau standar yang sudah ditetapkan. Validasi metode

dilakukan dengan cara membandingkan output waktu yang didapatkan dari kelompok kontrol negatif dengan kelompok normal pada metode atau alat yang digunakan, yaitu CPP. Setelah output waktu didapatkan, akan dilanjutkan dengan pengujian statistik *T-Test* menggunakan SPSS. Hasil nilai signifikansi ditetapkan pada 0,05 (5%). Jika nilai *p* kurang dari 0,05, maka hasil *T-Test* dianggap signifikan secara statistik, artinya perbedaan antara dua kelompok tidak mungkin terjadi secara kebetulan, sehingga metode yang digunakan dinyatakan valid.

3.16 Pewarnaan Jaringan Otak

1. Terminasi Hewan Uji

Hewan Uji diterminasi dengan cara dislokasi tulang belakang. Cara ini merupakan cara yang memiliki efek sakit dan rasa takut yang minimal. Cara ini dilakukan karena meminimalkan efek kerusakan pada otak hewan uji, seperti cara pembiusan yang dapat berpengaruh pada otak hewan uji (Tan *et al.*, 2023).

2. Persiapan Preparat

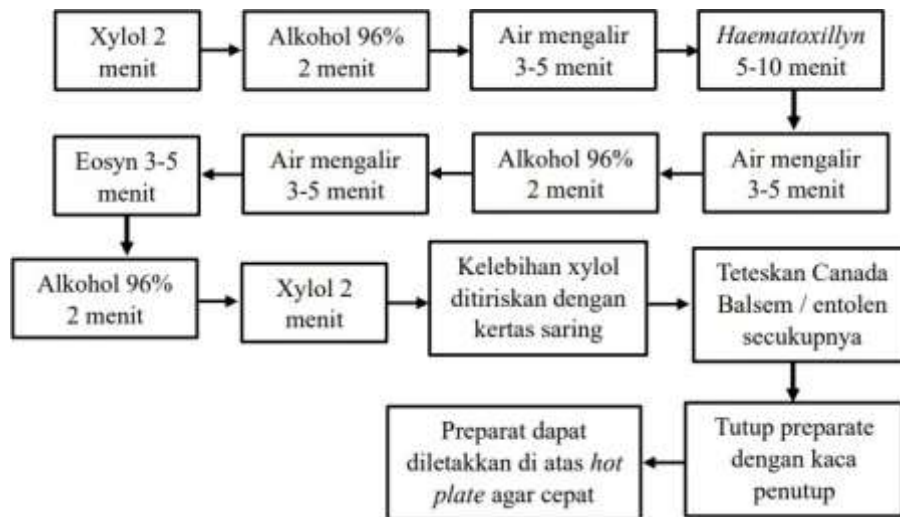
Jaringan otak dimasukkan ke dalam larutan fiksasi selama 24 jam. Dehidrasi jaringan dengan cara dimasukkan ke dalam larutan alkohol selama 9 hari. Jaringan dimasukkan ke dalam larutan *xylol/benzene* 1 – 2 jam untuk pembersihan dan impregnasi jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair panas pada temperatur 56°C –59°C selama 3 jam (diperlakukan setiap1 jam) (Tan *et al.*, 2023).

3. Preparat *Blocking*

Preparate jaringan otak yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam tempat yang sudah dipersiapkan, lalu diisi dengan paraffin cair, lalu permukaan jaringan yang akan diiris menghadap ke bawah. Setelah blok paraffin mengeras, dimasukkan ke dalam lemari es agar mengeras dengan baik. Selanjutnya dilakukan pemotongan dengan menggunakan mikrotom. Diletakan bagian yang akan dipotong menghadap ke pisau mikrotom, lalu diatur ketebalan irisannya 5 sampai 7 mm. Prosedur pemrosesan preparat histologi hipokampus diawali dengan pengambilan dan preparasi otak bagian kanan, kemudian diiris tepat dibagian tengah. Hipokampus terletak di bagian mid-dorsolateral. Setelah blok paraffin diiris dengan mikrotom, irisannya akan membentuk lembar pita dan sedikit mengkerut. Kerutan ini akan dihilangkan dengan digembungkan di atas

air hangat dengan suhu 40°C– 50°C. Setelah itu gelas objek yang akan digunakan harus diolesi dengan *Mayer's egg albumin* yang berfungsi sebagai perekat. Kemudian 2/3 dari gelas objek dimasukkan ke dalam air hangat dan irisan jaringan yang sudah rata diletakkan di atas gelas objek, lalu gelas objek diangkat dan dimiringkan agar air mengalir keluar. Selanjutnya gelas objek diletakkan di atas *hot plate/oven* dengan suhu 60°C, untuk mengeringkan dan mengkoagulasikan albumin. Setelah 2 jam preparat dapat diwarnai (Tan *et al.*, 2023).

4. Pewarnaan Preparat

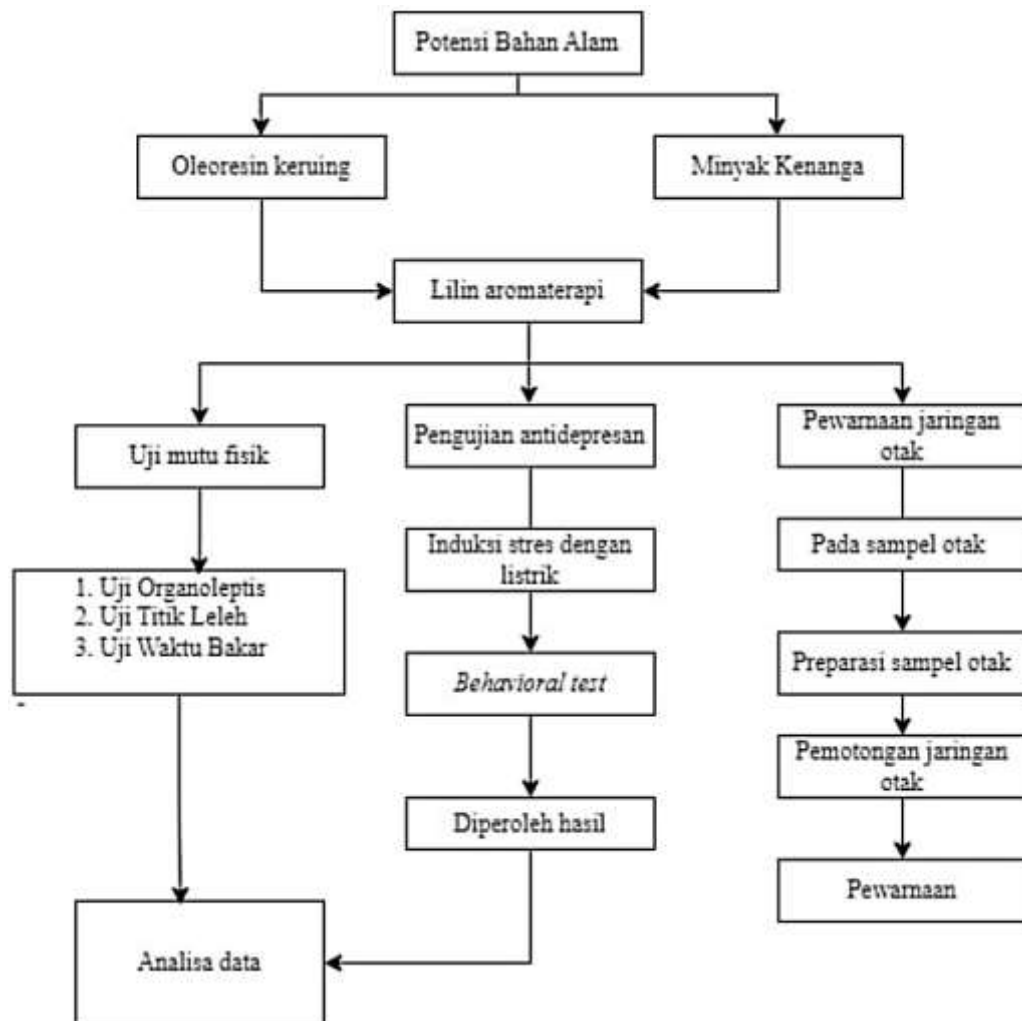


(Tan *et al.*, 2023)

5. Metode Pemeriksaan

Pengamatan sediaan histopatologi otak yang diberi perlakuan dan menggunakan metode skoring pada 5LP (Lapang Pandang) berbeda dengan perbesaran 400x yang kemudian direrata, yang dilakukan pengamatan langsung pada gambar. Pengamatan ini menggunakan mikroskop cahaya (*Nikon Eclipse tipe Ei*) dengan bantuan *Optilab Microscope Camera* yang terhubung pada komputer.

3.17 Kerangka Operasional



3.18 Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data waktu. Percobaan ini dilakukan terhadap hewan coba yang dirancang dengan menggunakan metode statistik analisis. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan SPSS (*Statistic Package The Social Science*) versi 22. Uji kenormalan (Uji Kolmogrov-smirnov) dan homogenitas (Uji Levene) akan dilakukan pada data yang telah dikumpulkan. Setelah data terdistribusi normal dan homogen, uji statistik parametrik akan dilakukan menggunakan metode analisis varian (ANOVA) satu arah. Jika hasilnya menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan, uji *Post Hoc* LSD (*Least Significant Difference*) akan digunakan untuk menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok perlakuan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pemeriksaan GC-MS Minyak Kenanga

Pengujian kuantitas minyak atsiri berupa pengujian komponen penyusun minyak kenanga pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Pengujian kualitas minyak kenanga dilakukan berdasarkan pada SNI 06-3949-1005, yaitu uji komposisi kimia.

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan GC-MS Minyak Kenanga

| No Puncak | Waktu Retensi (Menit) | Konsentrasi (%) / Perbandingan luas | Nama Komponen | Formula | Similarity Index (%) |
|-----------|-----------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|----------------------|
| 1 | 4,40 | 34,61 | <i>.alpha.-Pinene</i> | C ₁₀ H ₁₆ | 96 |
| 2 | 6,32 | 7,68 | <i>3-Carene</i> | C ₁₀ H ₁₆ | 96 |
| 3 | 6,72 | 1,18 | <i>Limonene</i> | C ₁₀ H ₁₆ | 93 |
| 4 | 6,85 | 5,63 | <i>Benzyl Alcohol</i> | C ₇ H ₈ O | 98 |
| 5 | 7,87 | 0,89 | <i>Terpinolene</i> | C ₁₀ H ₁₆ | 96 |
| 6 | 8,04 | 17,12 | <i>Linalool</i> | C ₁₀ H ₁₈ O | 98 |
| 7 | 9,10 | 9,26 | <i>Benzyl Acetate</i> | C ₉ H ₁₀ O ₂ | 97 |
| 8 | 9,56 | 1,96 | <i>Methyl Salicylate</i> | C ₈ H ₈ O ₃ | 97 |
| 9 | 10,26 | 9,05 | <i>Geranyl Butyrate</i> | C ₁₄ H ₂₄ O ₂ | 92 |
| 10 | 11,30 | 4,25 | <i>Piperonal</i> | C ₈ H ₆ O ₃ | 99 |
| 11 | 11,50 | 3,29 | <i>Eugenol</i> | C ₁₀ H ₁₂ O ₂ | 98 |
| 12 | 12,44 | 1,30 | <i>Cis-Isoeugenol</i> | C ₁₀ H ₁₂ O ₂ | 97 |
| 13 | 12,95 | 0,60 | <i>.alpha.-Bergamotene</i> | C ₁₅ H ₂₄ | 93 |
| 14 | 13,24 | 1,11 | <i>Isoamyl Salicylate</i> | C ₁₂ H ₁₆ O ₃ | 97 |
| 15 | 13,58 | 2,07 | <i>Pentyl Salicylate</i> | C ₁₂ H ₁₆ O ₃ | 97 |

Pengujian kuantitas minyak atsiri berupa pengujian komponen penyusun minyak kenanga pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat GC-MS. Hasil uji GC-MS menunjukkan bahwa minyak kenanga yang dihasilkan memiliki 15 komponen kimia berupa senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok senyawa monoterpen teroksigenasi, sesquiterpen teroksigenasi, sesquiterpen hidrokarbon, dan senyawa teroksigenasi lainnya (Tabel 4.1). Berdasarkan studi Chakira *et al.*, (2022) yang melakukan penelitian serupa terhadap bunga kenanga dengan menggunakan metode GC-MS, menganalisis 70 senyawa volatil yang terbagi menjadi kelompok ester, alkohol, terpen, dan oksida eter. Hasilnya menunjukkan variasi signifikan pada komposisi GC-MS, dengan dominasi

senyawa-senyawa teroksigenasi monoterpen dan seskuiterpen, yang sejalan dengan hasil GC-MS yang dilakukan dan menunjukkan 15 komponen dari monoterpen teroksigenasi, seskuiterpen hidrokarbon, dan seskuiterpen teroksigenasi (Chakira *et al.*, 2022). Hasil ini memperkuat bahwa penggunaan GC-MS pada minyak kenanga menghasilkan klasifikasi komponen kimia yang serupa dan menegaskan dominasi kelompok terpen, terutama kelompok seskuiterpen hidrokarbon dan teroksigenasi sesuai dengan hasil yang didapat. Penelitian ini juga memberikan hasil bahwa komponen utama minyak kenanga yang diperoleh adalah *alpha.-Pinene* (34,61%), dan komponen utama lainnya (persentase kimianya lebih dari 5%) adalah *Linalool* (17,12%), *Benzyl acetate* (9,26%), *Geranyl Butyrate* (9,05%), dan *3-Carene* (7,68%). *Alpha-pinene*, senyawa utama dalam minyak esensial bunga kenanga, berfungsi sebagai modulator parsial pada reseptor GABA_A-benzodiazepin. GABA_A-benzodiazepin bekerja dengan meningkatkan aktivitas GABA, neurotransmitter penghambat utama di otak. Mekanisme ini memungkinkan *alpha-pinene* melalui pengikatan langsung ke reseptor yang berperan dalam efek sedatif dan ansiolitik. Selain itu, sifat antiinflamasi *alpha-pinene* mampu menekan peradangan neurogenik yang berkontribusi pada gangguan mood, serta menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi dalam otak, terbukti memperbaiki gangguan perilaku akibat hipoksia pada tikus (Bakhtazad *et al.*, 2024). *Linalool*, komponen utama minyak esensial dari tanaman kenanga menunjukkan potensi sebagai antidepresan melalui beberapa jalur. Ia bertindak sebagai antagonis glutamat dan reseptor NMDA, menekan eksitotoksisitas dan stres oksidatif. *Linalool* juga meningkatkan kadar neurotransmitter serotonin dan dopamin, serta merangsang ekspresi BDNF yang penting untuk fungsi dan plastisitas neuron. Efek antiinflamasi *linalool* memperkuat mekanisme ini dengan menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, yang sering ditemukan tinggi pada penderita depresi (Guzmán-Gutiérrez *et al.*, 2015).

4.2 Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Lilin

Evaluasi sifat fisik lilin aromaterapi bertujuan untuk mengetahui bahwa formulasi yang telah disusun sebelumnya dapat menghasilkan lilin aromaterapi terbaik. Pengujian evaluasi sifat fisik lilin dibagi menjadi tiga yaitu uji organoleptik

yang meliputi warna, bentuk, keretakan lilin, dan aroma, kemudian dilanjutkan dengan pengujian titik leleh, dan uji waktu bakar.

Adapun hasil yang didapatkan dari evaluasi sifat fisik lilin dibawah:

4.2.1 Organoleptis

Uji organoleptik bertujuan untuk mengamati bentuk, warna, dan bau dari sediaan lilin aromaterapi. Perbedaan variasi komposisi basis asam stearat dan *beewax* sangat mempengaruhi hasil uji organoleptik sehingga diperoleh perbedaan bentuk warna dan kepadatan yang teramati secara fisik pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Uji Organoleptis Sediaan Lilin Aromaterapi

| Formula | Warna | Bentuk | Bau |
|----------------|--------------|---------------|------------------|
| F0 | Putih | Padat | Berbau lilin |
| F1 | Putih Pucat | Padat | Bau khas kenanga |
| F2 | Putih Pucat | Padat | Bau khas kenanga |
| F3 | Putih Pucat | Padat | Bau khas kenanga |
| F4 | Putih Pucat | Padat | Bau khas kenanga |

Lilin aromaterapi yang dihasilkan dari formulasi diatas pada dasarnya memiliki warna yang hampir sama dan bau aromaterapi dari minyak kenanga yang khas, kecuali pada lilin pada formulasi F0 dengan kandungan 0% minyak kenanga dan oleoresin keruing. Formula F1, F2, F3, dan F4 dengan perbandingan minyak kenanga(%) : oleoresin keruing(%) berturut-turut 20:5, 15:10, 10:15, 20:5 memiliki bentuk yang cekung, dan lilin cenderung padat dengan kekeruhan warna yang berbeda-beda, dimana F4 memiliki warna yang cenderung lebih pucat dan terlihat keruh. Hal ini dikarenakan kandungan oleoresin keruing pada formula ini sebanyak 20%. Berdasarkan bentuk fisik dari oleoresin keruing sendiri berupa cairan kental dan lengket, berwarna coklat muda. Sehingga apabila semakin tinggi konsentrasi dari oleoresin keruing, semakin keruh pula warna dari lilin. Formula F0 yang tidak memiliki aroma khas minyak kenanga karena tidak mengandung minyak kenanga. Formula basis dengan perbandingan *beewax*(%) : asam stearat(%) 75:25 memiliki bentuk yang lebih kokoh dan berwarna putih. Warna putih juga dihasilkan dari warna basisnya itu sendiri yaitu *beewax* yang digunakan juga berwarna putih dan juga tanpa tambahan minyak atsiri dan oleoresin keruing. Sediaan lilin pun

tidak mengalami perubahan warna, bentuk, maupun bau meski disimpan selama 30 hari dalam suhu ruang.

4.2.2 Uji Titik Leleh

Tabel 4.3 Uji titik leleh Lilin Aromatik

| F0 (°C) | F1 (°C) | F2 (°C) | F3 (°C) | F4 (°C) |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 54 | 56 | 57 | 56 | 55 |

Berdasarkan SNI 0386-1989-A/SII 0348-1980, standar titik leleh lilin berada pada kisaran 50°C hingga 58°C. Sementara itu, menurut Lintang Pancarani (2020), titik leleh standar untuk lilin aromaterapi berkisar antara 53,25°C hingga 55,84°C. Hasil pengujian menunjukkan bahwa titik leleh yang diperoleh berada dalam rentang 54°C hingga 57°C. Rentang ini masih berada dalam batas standar titik leleh lilin, yaitu 50°C–58°C.

4.2.3 Uji Waktu Bakar

Uji waktu bakar adalah suatu pengujian selang waktu yang menunjukkan daya tahan lilin dibakar sampai habis, waktu bakar diperoleh dari selisih antara waktu awal pembakaran dan waktu saat sumbu lilin habis terbakar (api padam). Hasil dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Uji Waktu Bakar Lilin Aromatik

| F0 (Menit) | F1 (Menit) | F2 (Menit) | F3 (Menit) | F4 (Menit) |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 163,28 | 132,42 | 144,19 | 141,54 | 158,33 |

Berdasarkan hasil penelitian, hasil menunjukkan bahwa lilin yang memiliki durasi pembakaran tercepat yaitu 132 menit 42 detik dari F1. Dimana pada F1 memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 20% dan oleoresin keruing 5%. Sebaliknya, F0 memiliki waktu pembakaran terlama, yaitu mencapai 163 menit 28 detik. Hal ini dapat terjadi karena sifat minyak atsiri yang mudah menguap, dimana semakin tinggi minyak atsiri maka semakin cepat terbakar (Inaku *et al.*, 2023). Sehingga diperoleh hasil waktu pembakaran tercepat pada lilin F1 dengan kandungan minyak kenanga tertinggi, sedangkan waktu pembakaran terlama terdapat pada lilin F0 yang tidak mengandung minyak kenanga.

4.3 Validasi Metode

Tabel 4.5 Hasil data *Immobility Time* mencit pada Validasi Metode

| Kelompok | Formula | n | Nilai Rerata <i>Immobility Time</i> | |
|-----------|---------|---|-------------------------------------|----------|
| | | | (Detik) | Nilai SD |
| K Negatif | F0 | 4 | 187,25 | 45,40 |
| Normal | - | 4 | 158 | 32,39 |

Hasil nilai rerata didapatkan dari rata-rata perilaku keempat mencit dari setiap kelompok saat pemberian perlakuan yaitu Dimana mencit normal ditempatkan didalam CPP selama 5 menit tanpa intervensi apapun. Namun pada kelompok Negatif diberikan induksi *Foot Shocker* dengan tegangan 0,4 mA terlebih dahulu sebelum ditempatkan pada CPP. Setelah data waktu didapatkan, dapat dilanjutkan dengan pengujian *T-Test* pada *software* SPSS, hasil dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil *T-Test* dari Validasi Metode

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|--------------------------|--------------------|--------|----------------|---|----------|--------|----|-----------------|
| | Mean | SD | SD. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Normal - KN | -170.375 | 39.209 | 13.862 | -203.155 | -137.594 | -12.29 | 7 | .000 |

Validasi metode merupakan tahapan penting dalam memastikan bahwa prosedur analisis yang digunakan dalam penelitian menghasilkan data yang akurat, presisi, dan dapat direproduksi. Salah satu bentuk validasi dilakukan melalui analisis statistik menggunakan uji T (*T-Test*) antara kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif. Berdasarkan hasil *T-Test*, diperoleh nilai $p < 0,05$, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kedua kelompok. Hal ini menandakan bahwa parameter yang digunakan dalam penelitian, seperti durasi imobilitas, aktivitas motorik, atau biomarker yang diukur, mampu membedakan dengan jelas antara kondisi normal dan kondisi depresi yang diinduksi. Dengan demikian, metode yang digunakan dalam penelitian ini dinyatakan valid secara statistik, karena mampu mendeteksi efek farmakologis dari senyawa uji secara meyakinkan.

4.4 Evaluasi Efek Antidepresan

Melalui pendekatan kuantitatif, data yang diperoleh telah dianalisis guna menilai sejauh mana antidepresan memberikan pengaruh terhadap perbaikan gejala depresi. Berikut hasil evaluasi yang mencakup uji efektivitas, perubahan skor depresi sebelum dan sesudah intervensi, serta hasil uji statistik yang mendukung interpretasi dampak dari terapi antidepresan yang diberikan.

Tabel 4.7 Hasil Uji Homogenitas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,772E+15 | 5 | 6 | .000 |

Berdasarkan hasil uji homogenitas varians dengan menggunakan Levene's Test, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan varians yang signifikan antar kelompok, sehingga dapat disimpulkan bahwa data tidak memenuhi asumsi homogenitas. Dengan hasil data yang tidak homogen, maka dapat dilanjutkan dengan *Welch* Anova.

Tabel 4.8 Hasil Uji Normalitas

| | Shapiro-Wilk | | |
|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. |
| Skor | .901 | 12 | .162 |

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk (karena jumlah sampel ≤ 50), diperoleh nilai signifikansi sebesar 0.162 ($p > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa distribusi data tidak berbeda secara signifikan dari distribusi normal, sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Dengan demikian, asumsi normalitas terpenuhi dan analisis statistik parametrik dapat digunakan dalam penelitian ini.

Tabel 4.9 Data *Immobility Time* mencit setelah pemaparan lilin aromatik

| Kelompok | Formula | n | Nilai Rerata <i>Immobility Time</i> (Detik) | | Nilai SD | |
|----------|---------|---|---|-------------|------------|-------------|
| | | | <i>Pre</i> | <i>Post</i> | <i>Pre</i> | <i>Post</i> |
| | | | K Negatif | F0 | 4 | 201 |
| K I | F1 | 4 | 183 | 83 | 141 ± 239 | 116 ± 60 |
| K II | F2 | 4 | 165 | 148 | 125 ± 209 | 197 ± 110 |
| K III | F3 | 4 | 150 | 162,25 | 117 ± 194 | 191 ± 36 |
| K IV | F4 | 4 | 181,75 | 121 | 109 ± 201 | 165 ± 83 |
| Normal | - | 4 | 199,25 | 179,75 | 150 ± 210 | 205 ± 145 |

Berdasarkan data waktu ini, telah diambil rata-rata dari waktu *pre* dan *post* dari setiap hewan uji yang telah diberi perlakuan. Terlihat bahwa Kelompok III yang diberi perlakuan dengan formula 3 dengan rasio perbandingan kenanga dan oleoresin keruing adalah 10%:15% menunjukkan peningkatan *immobility time*. Adapun *immobility time* yang dicatat adalah *immobility time* ditempat gelap. Adapun alasan dari pencatatan ditempat gelap ini dikarenakan tempat gelap merupakan zona aman bagi mencit, karena tempat gelap sendiri sesuai dengan karakteristik dari mencit sendiri yaitu nokturnal dan suka berada ditempat gelap. Terlihat pada kelompok III dengan pemberian perlakuan F3 menunjukkan peningkatan *immobility time* yang selaras dan dapat didukung dengan hasil histopatologi pada tabel 4.12, yang dimana F3 menunjukkan angka kongesti terendah. Dan pada Kelompok I dan II menunjukkan penurunan angka *immobility time*, namun hasil histopatologi pada tabel 4.12 Kelompok I dan II yang diberikan perlakuan F1 dan F2 memiliki nilai edema terendah.

Tabel 4.10 Hasil *Welch Anova Immobility Time* Mencit Setelah Pemaparan Lilin Aromatik

| | Statistic ^a | df1 | df1 | Sig |
|----------------|------------------------|-----|-------|------|
| Welch | 1.391 | 5 | 2.786 | .427 |
| Brown-Forsythe | 1.971 | 5 | 4.492 | .250 |

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan uji *Welch One-Way ANOVA*, diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0,427. Nilai ini jauh lebih besar dari batas probabilitas kesalahan (α) yang ditetapkan sebesar 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan yang diuji dalam penelitian ini. Adapun alasan dari penggunaan *Welch Anova* dikarenakan data yang diuji tidak memenuhi syarat homogenitas, dimana nilai signifikansi uji homogenitas $< 0,05$. Syarat dari Anova standar sendiri adalah data harus diasumsikan homogen, apabila data tidak homogen, *output* yang dihasilkan pun dikatakan tidak valid. Maka, hipotesis nol (H_0) yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar rata-rata kelompok perlakuan, tidak dapat ditolak. Artinya, perbedaan nilai rata-rata antar kelompok yang diamati dalam penelitian ini kemungkinan besar terjadi secara acak dan bukan disebabkan oleh efek perlakuan yang diberikan. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diterapkan tidak memberikan pengaruh yang

signifikan terhadap variabel respon yang diamati. Secara visual, meskipun mungkin terdapat perbedaan nilai rata-rata antar kelompok, namun perbedaan tersebut tidak cukup besar secara statistik untuk dapat dianggap bermakna.

4.5 Gambaran Histopatologi Otak

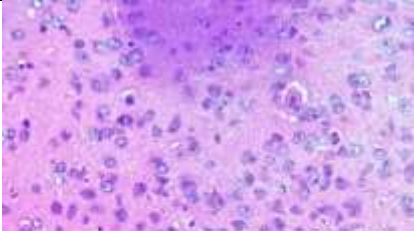
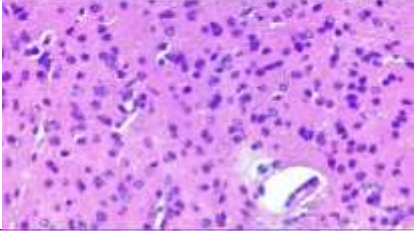
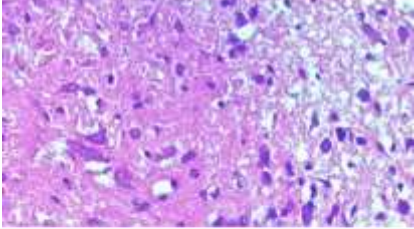
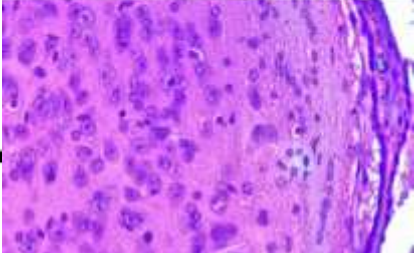
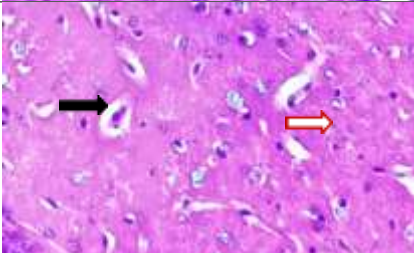
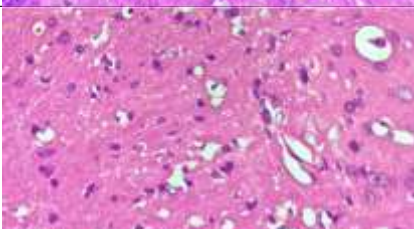
Gambaran histopatologi otak mencit dilakukan sebagai data pendukung untuk memperkuat hasil kuantitatif dari penelitian mengenai efek antidepresan lilin aromatik yang merupakan kombinasi minyak kenanga dan oleoresin keruing. Meskipun berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa paparan lilin aromatik tersebut tidak memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan gejala depresi pada mencit, namun pengamatan histopatologis memberikan informasi deskriptif yang penting. Informasi ini berguna untuk menilai kemungkinan adanya perubahan morfologis pada jaringan otak yang tidak terdeteksi melalui data kuantitatif.

Pemeriksaan histologi dilakukan secara khusus pada bagian hipokampus, yaitu salah satu area otak yang berperan penting dalam regulasi emosi dan memori, serta sering menjadi target dalam studi tentang stres dan depresi. Jaringan otak diambil setelah mencit menjalani rangkaian perlakuan, yaitu induksi stres menggunakan alat kejut listrik pada hari pertama dan hari terakhir pemaparan, disertai pemaparan terhadap aroma lilin setiap harinya dalam kurun waktu 14 hari. Pada hari ke-15, mencit dimatikan dengan metode dislokasi tulang leher (dislokasi servikal), yang kemudian dilanjutkan dengan proses dekapitasi untuk memperoleh jaringan otak secara utuh. Metode dislokasi dipilih untuk menghindari penggunaan anestesi yang dapat memengaruhi struktur jaringan otak atau mengubah integritas hasil histopatologi.

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400X untuk memperoleh visualisasi detail dari morfologi seluler dan kemungkinan adanya kelainan histologis, seperti nekrosis, degenerasi sel saraf, edema, atau infiltrasi sel inflamasi. Hasil histopatologi otak mencit disajikan dalam Tabel 4.11

Meski tidak menunjukkan perubahan mencolok yang signifikan secara statistik, deskripsi histologis ini tetap penting dalam menilai efek biologis lilin aromatik secara lebih komprehensif dan memberikan landasan bagi penelitian lanjutan dengan desain yang lebih sensitif.

Tabel 4.11 Hasil Histopatologi Otak Mencit

| Kelompok | Hasil | Keterangan |
|----------|---|---|
| Normal |  | Terlihat banyak sel yang masih sehat dengan intisel yang utuh dan tidak terdapat kerusakan pada sel saraf |
| F1 |  | Pada pemberian lilin dengan konsentrasi minyak kenanga: oleoresin keruing 20:5, kerusakan yang ditimbulkan minim, dan masih banyak terdapat sel sehat |
| F2 |  | Pada pemberian lilin dengan konsentrasi minyak kenanga: oleoresin keruing 15:10, terlihat adanya kerusakan sel, namun terdapat sel saraf yang masih sehat |
| F3 |  | Pada pemberian lilin dengan konsentrasi minyak kenanga: oleoresin keruing 10:15 menunjukkan lebih banyak sel yang mengalami kerusakan, namun masih ada sedikit sel sehat yang terlihat |
| F4 |  | Pada pemberian lilin dengan konsentrasi minyak kenanga: oleoresin keruing 5:20 menunjukkan banyak sekali sel-sel yang rusak dan terlihat banyak kongesti dan edeme yang terjadi, sel sehat sangat sedikit |
| F0 |  | Pemberian lilin tanpa zat akti (kontrol negatif) terlihat terjadi banyak sekali kerusakan di sel otak mulai dari edeme, kongesti, serta sel sel pun rusak. |

➡ Menunjukkan Sel Rusak

➡ Menunjukkan Sel Sehat

Berdasarkan gambaran histopatologi otak mencit, induksi kejutan listrik memberikan efek kerusakan pada sel otak mencit yang signifikan, namun pada

pemberian lilin aromatik dengan konsentrasi minyak atsiri yang tinggi, terlihat adanya regenerasi sel saraf, serta edema dan kongesti relative minim. Namun pada F0, Dimana lilin tidak memiliki zat aktif, yang artinya berperan juga sebagai kontrol negatif, terlihat bahwa hasil histopatologi menunjukkan sel banyaknya nekrosis sel, banyaknya edema serta kongesti yang terjadi. Sehingga pada gambaran histopatologi otak, dapat dikatakan bahwa, semakin tinggi pemberian minyak atsiri kenanga, mempengaruhi regenerasi sel saraf. Adapun hasil skoring pembacaan kerusakan sel terlihat pada tabel 4.12

Tabel 4.12 Hasil Skoring Histopatologi

| Kode Sampel | Kongesti | | | | | | Edema | | | | | |
|-------------|----------|---|---|---|---|--------|-------|---|---|---|---|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Rerata | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Rerata |
| F1 | 1 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1,8 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1,4 |
| F2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 3 | 1,8 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,4 |
| F3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1,6 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,6 |
| F4 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2,4 | 2 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2,2 |
| K- | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1,2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1,2 |
| KN | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1,6 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1,2 |

Keterangan: 0 = Tidak ada kongesti/edema
 1 = Kongesti/edema bersifat fokal atau ringan
 2 = Kongesti/edema bersifat multilokal atau sedang
 3 = Kongesti/edema bersifat difusa atau berat

Stres tidak secara langsung menyebabkan kongesti atau edema otak, namun dapat memperburuk keduanya melalui peningkatan tekanan darah, vasokonstriksi, gangguan aliran vena, serta kerusakan sawar darah-otak akibat inflamasi dan hormon stress (Medina-Rodriguez & Beurel, 2022). Hasil skoring histopatologi pada tabel 4.12 tidak bisa menjadi parameter utama dalam pengukuran antidepresan, namun dapat menjadi data pendukung yang menunjang hasil dari antidepresan itu sendiri. Menurut Abdullah *et al.*, 2024 Kelompok normal menunjukkan adanya sel neuron normal yang memiliki inti tetapi masih terlihat adanya nekrosis (kematian sel), hal ini bisa disebabkan karena adanya faktor dari makanan, usia, suhu, serta faktor eksternal lainnya. Nekrosis sel otak ditandai dengan bentuk sel tidak beraturan, inti yang memadat dan tidak memiliki inti sel. Sehingga apabila dibandingkan dengan hasil kelompok normal yang diuji, terlihat banyak sel sehat yang masih memiliki intisel, serta ada beberapa nekrosis sel yang mungkin terjadi karena faktor lain yang tidak jauh berbeda dengan penelitian

sebelumnya. Pada kelompok perlakuan F4 terlihat banyak sel yang mengalami nekrosis sel yang juga pada. Nekrosis sel terjadi karena kurangnya aktifitas minyak kenanga dan oleoresin keruing sebagai antidepresan, dimana kandungan minyak atsiri kenanga pada sediaan F4 hanya sebesar 5%. Hal ini juga dapat dibuktikan dari aroma F4 yang tidak sekuat aroma kelompok sediaan lain. Menurut Butar-Butar *et al.*, (2024) Respons terhadap aroma yang menyenangkan akan merangsang daerah otak untuk meningkatkan daya ingat dan mengurangi depresi sehingga ketajaman suatu aroma juga mempengaruhi efek terapi. Kelompok perlakuan F1 terlihat sedikit sel yang mengalami nekrosis sel. Hal ini juga dikarenakan kandungan dari minyak atsiri kenanga 20%. Hasil F1 hampir mendekati kontrol normal. Kenanga dan oleoresin sendiri diketahui memiliki metabolit sekunder yaitu salah satunya linalool memiliki efek yang positif terhadap otak, termasuk efek neuroprotektif, anti-inflamasi, dan antioksidan (Sabogal-Guáqueta *et al.*, 2019). Sedangkan untuk F2 dan F3 menunjukkan nekrosis sel yang tidak separah F4 dan F0.

Alasan F1, F2 dan F3 memiliki kerusakan paling sedikit dibanding dengan formulasi lainnya dikarenakan ketigaformula itu sendiri memiliki konsentrasi minyak atsiri sebesar 20%, 15% dan 10% yang dimana konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terbanyak daripada formula F4. Semakin banyak kandungan senyawa atsiri dalam suatu minyak atsiri cenderung meningkatkan potensi *recovery* sel karena adanya efek sinergis antar komponen bioaktif. Senyawa atsiri umumnya mengandung berbagai monoterpen, seskuiterpen, dan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas farmakologis beragam seperti antioksidan, antiinflamasi, neuroprotektif, dan imunomodulator. Kombinasi ini bekerja secara simultan untuk melindungi sel dari stres oksidatif, menekan peradangan, dan memperbaiki fungsi mitokondria serta sinyal molekuler yang rusak akibat cedera atau stres. Sebagai contoh, senyawa seperti *linalool*, *alpha-pinene*, dan *limonene* masing-masing memiliki mekanisme berbeda dalam memperbaiki sel, mulai dari peningkatan ekspresi protein neurotropik (seperti BDNF), penghambatan sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-6), hingga penangkapan radikal bebas. Ketika senyawa-senyawa ini hadir dalam jumlah yang lebih banyak dan beragam, mereka tidak hanya memperluas cakupan target biologis, tetapi juga saling memperkuat efeknya, sehingga meningkatkan efisiensi pemulihan jaringan atau sel yang rusak. Dengan

kata lain, keberagaman dan kelimpahan senyawa atsiri dalam suatu formulasi memberikan pendekatan multi-target terhadap proses pemulihan seluler, yang sangat penting dalam kondisi kompleks seperti neurodegenerasi, inflamasi kronis, atau gangguan mood. Inilah yang menjadi alasan F1, F2, dan F3 memiliki kerusakan paling sedikit dibanding dengan formulasi F4.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian Evaluasi Lilin Aromatic Minyak Kenanga (*Cananga odorata (L.) Hook. F. & Thoms*) dan Oleoresin Keruing (*Dipterocarpus grandifloras*) sebagai antidepresan terhadap mencit jantan putih (*Mus musculus*) diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Lilin aromatic Minyak Kenanga dan Oleoresin Keruing secara statistik tidak memiliki efek antidepresan pada mencit jantan.
2. Berdasarkan hasil histologi, terlihat F1 dengan konsentrasi minyak kenanga: oleoresin keruing 20:5 memiliki kerusakan pada otak paling minim dibanding dengan kelompok lainnya. Hal ini menandakan bahwa semakin besar kandungan minyak atsiri dalam lilin aromaterapi, semakin minim kerusakan sel otak pada mencit yang telah diinduksi stress.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas antidepresan Minyak Kenanga dan Oleoresin Keruing dengan metode lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu Imunohistokimia (IHC) untuk menghitung serta mengetahui lokasi spesifik sesuai dengan reseptor yang dituju

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, D., Amelia, R., Purnama Dewi, N., Tetivani, A., & Kedokteran, F. (2024). Efek Pemberian Lilin Aromaterapi Pada Pengobatan Gangguan Cemas: A Literature Review. *Journal Of Psychology*, *1*(1), 21–32.
- Adriyanti, D. T., Soekotjo, S., Na'iem, M., & Rimbawanto, A. (2016). Pengelompokan Keruing (*Dipterocarpus Spp.*) Di Indonesia Menurut Karakter Buah. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, *10*(1), 33. <https://doi.org/10.22146/jik.12629>
- Agus, A. S. R., & Khotib, J. (2023). Explanation Of The Molecular Mechanism Of Anti-Depression Therapy Using Webinars As Learning Communication Media. *Jurnal Layanan Masyarakat (Journal Of Public Services)*, *7*(3), 316–325. <https://doi.org/10.20473/jlm.v7i3.2023.316-325>
- Agus, A. S. R., & Maimunah, S. (2023). Uji Antibakteri Bagian Minyak Dan Air Destilat Bunga Kenanga [*Cananga Odorata (L.) Hook.F. & Thoms*] Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* Dan Kesetaraanya Pada Tetrasiklin Hcl. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, *6*(2), 174–183. <https://doi.org/10.36387/jifi.v6i2.1639>
- Argaheni, N. B., Amir, N., Dewi, S. U., Sari, P. I. A., Harahap, Y. W., Rahmi, U., Sepang, L., Utami, R. A., Wuisang, M., Nasution, J. D., & Nasution, E. M. (2023). Terapi Komplementer Pada Remaja. In *Angewandte Chemie International Edition*, *6*(11), 951–952. [http://repo.iain-tulungagung.ac.id/5510/5/Bab 2.Pdf](http://repo.iain-tulungagung.ac.id/5510/5/Bab%20.pdf)
- Aulia, T., Arrahman, S., Sabila, Y. R., Putri, C. H., Silaban, L. E., Ardila, M., & Disti, M. F. A. (2023). Optimalisasi Potensi Sumber Daya Pertanian Melalui Inovasi Pertanian. *Jurnal Pengabdian Pada Masyarakat*, *8*(3), 721–728. <https://doi.org/10.30653/jppm.v8i3.444>
- Ayu, G., Jyoti, P., Utami, P., Tjandrawibawa, P., & Ciputra, U. (2020). Peran Aroma Terapi Melalui Media Lilin Sebagai Sarana Untuk Mengurangi Stres Pada Generasi Melenial. *Seminar Nasional Envisi 2020 : Industri Kreatif*, 188–195.
- Bakhtazad, S., Ghotbeddin, Z., Tabandeh, M. R., & Rahimi, K. (2024). Alpha-Pinene Ameliorate Behavioral Deficit Induced By Early Postnatal Hypoxia In The Rat: Study The Inflammatory Mechanism. *Scientific Reports*, *14*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56756-1>
- Bali, A., & Jaggi, A. S. (2015). Electric Foot Shock Stress: A Useful Tool In Neuropsychiatric Studies. *Reviews In The Neurosciences*, *26*(6), 655–677. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2015-0015>

- Bang-Andersen, B., Ruhland, T., Jørgensen, M., Smith, G., Frederiksen, K., Jensen, K. G., Zhong, H., Nielsen, S. M., Hogg, S., Mørk, A., & Stensbøl, T. B. (2011). Discovery Of 1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)Phenyl]Piperazine (Lu Aa21004): A Novel Multimodal Compound For The Treatment Of Major Depressive Disorder. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 54(9), 3206–3221. <https://doi.org/10.1021/jm101459g>
- Butar-Butar, M. E. T., Agus, A. S. R., Leswana, N. F., Fernandes, A. (2024). Formulation Of Keruing (*Dipterocarpus Grandiflorus*) Oleoresin Aromatherapy Candles. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 6(4), 542–546.
- Chakira, A., Garcia, C., Soria, C., Minier, J., & Chillet, M. (2022). Effect Of Flower Development Stages On The Dynamics Of Volatile Compounds In Ylang-Ylang (*Cananga Odorata*) Essential Oil. *Horticulturae*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8110986>
- Desi, D., Felita, A., & Kinasih, A. (2020). Gejala Depresi Pada Remaja Di Sekolah Menengah Atas. *Care : Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 8(1), 30. <https://doi.org/10.33366/jc.v8i1.1144>
- Fajri, I., Nurhamsyah, D., Aisyah, S., Mudrikah, K. A., & Azjurnia, A. R. (2022). Terapi Non-Farmakologi Dalam Mengurangi Tingkat Nyeri Pada Pasien Kanker Payudara Stadium 2-4: Literature Review. *Jurnal Ilmiah Keperawatan Indonesia (Jiki)*, 5(2), 106. <https://doi.org/10.31000/jiki.v5i2.6139>
- Fernandes, A., & Maharani, R. (2022). The Potential Of Production And Characteristic Of Oleoresin Tapped From *Dipterocarpus Verrucosus* As Natural Ingredient For Multi Purposes . *Proceedings Of The 7th International Conference On Biological Science (Icbs 2021)*, 22(Icbs 2021), 59–65. <https://doi.org/10.2991/absr.k.220406.009>
- Guzmán-Gutiérrez, S. L., Bonilla-Jaime, H., Gómez-Cansino, R., & Reyes-Chilpa, R. (2015). Linalool And B-Pinene Exert Their Antidepressant-Like Activity Through The Monoaminergic Pathway. *Life Sciences*, 128, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.02.021>
- Hadi, I., Fitriwijayati, Usman, R. D., & Rosyanti, L. (2017). Gangguan Depresi Mayor: Mini Review. *Hijp: Health Information Jurnal Penelitian*, 9(1), 34–49. <https://myjurnal.poltekkes-kdi.ac.id/index.php/hijp>
- Inaku, C., Yusuf, M., & Praktisi, S. (2023). Formulasi Dan Uji Efek Lilin Aromaterapi Minyak Atsiri Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Immobility Time Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Yang Dibuat Stres. *Jops (Journal Of Pharmacy And Science)*, 6(2), 132–142. <https://doi.org/10.36341/jops.v6i2.3363>
- Kasem, F. M. (2023). *Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Bunga Kenanga (Cananga Odorata) Dan Uji Efektivitas Aromaterapi Secara In Vivo*.

- Katzung, B. G. (2020). *Farmakologi : Dasar Dan Klinik Vol. 1 (14)*. Jakarta: Egc.
- Klhk. (2019). Pengembangan Hasil Hutan Bukan Kayu Indonesia Untuk Mendukung Sustainable Development Goals. In *Kementerian Lingkungan Hidup Dan Kehutanan* (Issue July 2020).
- Kuleskaya, N., & Voikar, V. (2014). Assessment Of Mouse Anxiety-Like Behavior In The Light-Dark Box And Open-Field Arena: Role Of Equipment And Procedure. *Physiology & Behavior*, *133*, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.006>
- Lestari, F. (2020). Efektivitas Pemberian Infusa Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Anti Hiperglikemia Pada Mencit (*Mus Musculus*). *Skripsi Universitas Wijaya Kusuma Surabaya*, 1–75. [https://repository.uwks.ac.id/6951/1/Buat Univ.Pdf](https://repository.uwks.ac.id/6951/1/Buat%20Univ.Pdf)
- Lusiana, F. R., Iin Indawati, & Tomi. (2023). Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Lilin Aromaterapi Kombinasi Minyak Atsiri Peppermint (*Mentha Piperita*) Dan Lemon (*Citrus Limon*). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *8*(2), 633–640. <https://doi.org/10.37874/MS.V8i2.780>
- Medina-Rodriguez, E. M., & Beurel, E. (2022). Blood Brain Barrier And Inflammation In Depression. *Neurobiology Of Disease*, *175*, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105926>
- Mehrabian, S., Tirgari, B., Forouzi, M. A., Tajadini, H., & Jahani, Y. (2022). Effect Of Aromatherapy Massage On Depression And Anxiety Of Elderly Adults: A Randomized Controlled Trial. *International Journal Of Therapeutic Massage And Bodywork: Research, Education, And Practice*, *15*(1), 37–45. <https://doi.org/10.3822/ijtm.v15i1.645>
- Melviani, M., Nastiti, K., & Noval, N. (2021). Pembuatan Lilin Aromaterapi Untuk Meningkatkan Kreativitas Komunitas Pecinta Alam Di Kabupaten Batola. *Reswara: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, *2*(2), 300–306. <https://doi.org/10.46576/rjpk.v2i2.1112>
- Monit, D. A. D., Rasmun, & Rahman, G. (2019). *Gambaran Kesehatan Mental Anak Yang Berada Di Kelas 4, 5, Dan 6 Sdn 008 Samarinda Ulu 2019*. 1–8.
- Munabari, F. (2019). Profil Jumlah Sel Darah Putih (Leukocyte) Pada Tenaga Kerja Pengrajin Batik Yang Terpapar Parafin. *Majalah Kesehatan Masyarakat Aceh (Makma)*, *2*(3), 31–38. <https://doi.org/10.32672/makma.v2i3.1494>
- Ni Komang Tri Widayani, Sutrisno, W. R. (2013). Pengaruh Aromaterapi Dupa Lavender Terhadap Penurunan Tingkat Stress Saat Penyusunan Skripsi Pada Mahasiswa S1 Keperawatan Stikes An Nur Purwodadi. *20*(3), 36–44.
- Oktarina, T. F., Prabowo, W. C., & Narsa, A. C. (2021). Penggunaan Soy Wax Dan Beeswax Sebagai Basis Lilin Aromaterapi. *Proceeding Of Mulawarman*

Pharmaceuticals Conferences, 14, 307–311.
<https://doi.org/10.25026/Mpc.V14i1.589>

- Putra, G., Wartini, N. M., Wrasiasi, L. P., & ... (2017). Penerapan Teknologi Pembuatan Sabun Aroma Terapi Dari Minyak Kelapa Pada Kwt “Wiguna Mekar” Di Desa Angkah Kecamatan Selemadeg Barat Kabupaten Tabanan. *Buletin Udayana* ..., 16(3), 385–390.
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jum/article/download/37300/22600>
- Rahma Yulis, P. A., Aisyah Meiysa Putri, Anasthasia Oca Muham, Silvia Anggraini, & Siti Maisarmah. (2020). Analisis Kualitatif Kandungan Bunga Kenanga (*Cananga Odorata*) Secara Fitokimia Dengan Menggunakan Pelarut Etanol. *Journal Of Research And Education Chemistry*, 2(1), 43.
[https://doi.org/10.25299/jrec.2020.vol2\(1\).4783](https://doi.org/10.25299/jrec.2020.vol2(1).4783)
- Rahmawati, T., & Rahmayanti, Y. E. (2019). Hubungan Dukungan Keluarga Dengan Kejadian Depresi Pada Remaja Awal. *Jurnal Asuhan Ibu Dan Anak*, 3(2), 47–54. <https://doi.org/10.33867/jaia.v3i2.87>
- Ramos-Hryb, A. B., Cunha, M. P., Kaster, M. P., & Rodrigues, A. L. S. (2017). Natural Polyphenols And Terpenoids For Depression Treatment: Current Status. In *Studies In Natural Products Chemistry* (Vol. 55). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64068-0.00006-1>
- Sabogal-Guáqueta, A. M., Hobbie, F., Keerthi, A., Oun, A., Kortholt, A., Boddeke, E., & Dolga, A. (2019). Linalool Attenuates Oxidative Stress And Mitochondrial Dysfunction Mediated By Glutamate And Nmda Toxicity. *Biomedicine And Pharmacotherapy*, 118(May), 109295.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109295>
- Sasri, R., Hairida, H., Enawati, E., Masriani, M., Lestari, I., Ulfah, M., Muharini, R., Rasmawan, R., Ifriany, A., Sahputra, R., Erlina, E., Junanto, T., Cahyani, M. R., Listra, I. Y., Marisa, M., Agustina, B., Tiaraseta, F., & Sailendra, P. R. (2023). Pelatihan Pembuatan Lilin Aromaterapi Berbahan Dasar Minyak Jelantah, Soy Wax Dan Minyak Atsiri Untuk Meningkatkan Kreativitas Profesional Muda Di Vihara Vimalakirti. *Selaparang: Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan*, 7(3), 2080.
<https://doi.org/10.31764/jpmb.v7i3.17241>
- Sitohang, A. J. (2023). Pembuatan Lilin Aromaterapi Variasi Perbandingan Asam Stearat Dengan Beeswax Dan Penambahan Minyak Kayu Manis. *Agroforetech*, 1(1), 520–535.
- Tan, S., Machrumnizar, M., & Yunus Slamet, M. A. (2023). Monosodium Glutamat (Msg) Dan Gambaran Histologis Otak: Implikasi Terhadap Pembentukan Otak Mencit. *Sanus Medical Journal*, 5(1), 1–9.
<https://doi.org/10.22236/sanus.v5i1.11335>

- Utama, B. S. P., Pramesti, D., & Mahfud. (2023). Hubungan Depresi Dengan Students Engagement Pada Siswa Di Sma Negeri 1 Minggir Sleman. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(4), 5277–5283.
- Wahyudianto, A., Fernandes, A., Saputra, S. H., Laksmi, A. N., Salam, D. M., & Maharani, R. (2022). *Oleoresin Keruing : Pelapis Alami Dari Hutan Kalimantan* (Issue Desember 2022).
- Winkelman, W. J. (2018). Aromatherapy, Botanicals, And Essential Oils In Acne. *Clinics In Dermatology*, 36(3), 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2018.03.004>
- Yeo, D., Hwang, S. J., Song, Y. S., & Lee, H. J. (2021). Humulene Inhibits Acute Gastric Mucosal Injury By Enhancing Mucosal Integrity. *Antioxidants*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antiox10050761>
- Yerizam, M., Jannah, A. M., Rasya, N., & Rahmayanti, A. (2022). Ekstraksi Kulit Jeruk Manis Bahan Pewangi Alami Pada Pembuatan Lilin Aromaterapi. *Metana*, 18(2), 114–120. <https://doi.org/10.14710/Metana.V18i2.49707>
- Zuddin, R. R., Abadi, H., & Khairani, T. N. (2019). Pembuatan Dan Uji Hedonik Lilin Aromaterapi Dari Minyak Daun Mint (*Mentha Piperita L.*) Dan Minyak Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*). *Jurnal Dunia Farmasi*, 3(2), 79–90. <https://doi.org/10.33085/Jdf.V3i2.4479>

LAMPIRAN 1
SURAT IZIN MELAKSANAKAN PENELITIAN

Samarinda, 30 Januari 2025

Nomor : 30S/STIKDS-Far/1/2025
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian

Dengan Hormat,


Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa/I,


Nama : Agnes Deswita Kinanti
NIM : 211148201173
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : UJI ANTIDEPRESAN LILIN AROMATIK KOMBINASI OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) dan MINYAK KENANGA [*Cananga odorata* (L.) Hook & Thoms] PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) SERTA EKSPRESINYA TERHADAP RESEPTOR DOPAMIN
Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Farmasetika STIKES Dirgahayu Samarinda
Waktu Penelitian : Januari 2025 – Maret 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melaksanakan penelitian skripsi.

Wakil Ketua I


Ketua Program Studi


Ns. Gracia Herni Pratiwi, M.Kep, Ph.D.NS
NIK. 0778.A4.08


apt. Liniati Geografi, M.Sc.
NIK. 0419.A4.25

LAMPIRAN 2

SURAT IZIN PENELITIAN DI LABORATORIUM STIKES DIRGAHAYU

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA**
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

FORM 1

**FORMULIR IJIN
PENGUNAAN LABORATORIUM**

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium
Stikes Dirgahayu Samarinda

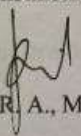
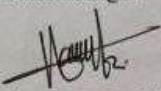

Dengan hormat,
Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

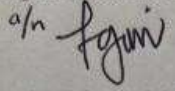
Nama Mahasiswa : Agnes Deswita Kinanti
Nomor Mahasiswa : 211148201173
Judul Skripsi : Uji Antidepresan Lilin Aromatik Kombinasi Oleoresin Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*) Dan Minyak Kenanga (*Cananga odorata*) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Dan Ekspresinya Terhadap Reseptor Dopamin

mohon ijin untuk menggunakan fasilitas laboratorium Farmasetika Teknologi Farmasi dan laboratorium Farmakologi di lingkungan Stikes Dirgahayu Samarinda dengan mematuhi peraturan yang berlaku. Adapun alat dan bahan yang akan saya gunakan terlampir.

Demikian permohonan saya, atas terkabulnya permohonan ini saya sampaikan terima kasih.

Samarinda, 19 November 2024

| | | |
|---|--|--|
| Mengetahui, Pembimbing I | Mengetahui, Pembimbing II | Hormat saya, Peneliti |
|  apt. Adhe Septa R. A., M.Farm., AAK. |  Maria Elvina T. B. B., M.Farm. |  Agnes Deswita Kinanti |

Menyetujui,
Kepala Laboratorium

Yovita Erin, S., M.Kes

Tembusan :

LAMPIRAN 3

SURAT LOLOS ETIK



Komite Etik Penelitian
Research Ethics Committee

Surat Layak Etik
Research Ethics Approval



No:002696/KEP STIKes Dirgahayu Samarinda/2024

Peneliti Utama : Agnes Deswita Kinanti
Principal Investigator

Peneliti Anggota : -
Member Investigator

Nama Lembaga : STIKes Dirgahayu Samarinda
Name of The Institution

Judul : UJI ANTIDEPRESAN LILIN AROMATIK KOMBINASI OLEORESIN KERUING
Title
(*Dipterocarpus grandiflorus*) dan MINYAK KENANGA [*Cananga odorata* (L.) Hook. F. & Thoms] PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) SERTA EKSPRESINYA TERHADAP RESEPTOR DOPAMIN
ANTIDEPRESSANT TEST OF AROMATIC WAX COMBINATION OF KERUING OLEORESIN (Dipterocarpus grandiflorus) AND YELLOW OIL [Cananga odorata (L.) Hook. F. & Thoms] ON MALE MICE (Mus musculus) AND ITS EXPRESSION ON DOPAMINE RECEPTORS

Atas nama Komite Etik Penelitian (KEP), dengan ini diberikan surat layak etik terhadap usulan protokol penelitian, yang didasarkan pada 7 (tujuh) Standar dan Pedoman WHO 2011, dengan mengacu pada pemenuhan Pedoman CIOMS 2016 (lihat lampiran). *On behalf of the Research Ethics Committee (REC), I hereby give ethical approval in respect of the undertakings contained in the above mention research protocol. The approval is based on 7 (seven) WHO 2011 Standard and Guidance part III, namely Ethical Basis for Decision-making with reference to the fulfilment of 2016 CIOMS Guideline (see enclosed).*

Kelayakan etik ini berlaku satu tahun efektif sejak tanggal penerbitan, dan usulan perpanjangan diajukan kembali jika penelitian tidak dapat diselesaikan sesuai masa berlaku surat kelayakan etik. Perkembangan kemajuan dan selesainya penelitian, agar dilaporkan. *The validity of this ethical clearance is one year effective from the approval date. You will be required to apply for renewal of ethical clearance on a yearly basis if the study is not completed at the end of this clearance. You will be expected to provide mid progress and final reports upon completion of your study. It is your responsibility to ensure that all researchers associated with this project are aware of the conditions of approval and which documents have been approved.*

Setiap perubahan dan alasannya; termasuk indikasi implikasi etis (jika ada), kejadian tidak diinginkan serius (KTD/KTDS) pada partisipan dan tindakan yang diambil untuk mengatasi efek tersebut; kejadian tak terduga lainnya atau perkembangan tak terduga yang perlu diberitahukan; ketidakmampuan untuk perubahan lain dalam personel penelitian yang terlibat dalam proyek, wajib dilaporkan. *You require to notify of any significant change and the reason for that change, including an indication of ethical implications (if any); serious adverse effects on participants and the action taken to address those effects; any other unforeseen events or unexpected developments that merit notification; the inability to any other change in research personnel involved in the project.*

10 December 2024
Chair Person

Masa berlaku:
10 December 2024 - 10 December 2025

apt. Adhe Septa Ryant A., M.Farm., AAAK.

LAMPIRAN 4

HASIL GC-MS MINYAK KENANGA



**LAB. KONVERSI KIMIA BIOMATERIAL
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA**

TELEPON & FAX (0274): Biro Dekan: Telp 512102, 550541, 901420 Fax: 550541, Email: ftk-ugm@indo.net.id; Tata Usaha Umum/ Akademik: 901415; Divisi Kerjasama: Telp/Fax: 550543; Program D3: Telp/Fax 523553, Bag. Teknologi Hasil Hutan & Bag. Konservasi SDH: Telp 550542, Bag. Budidaya Hutan: 901400 & 545639; Bag. Menejemen Hutan: 901420

Nama : Adrian Fernandes
Sampel : Minyak Serai Wangi, Melati, Kenanga, Lavender
Jumlah sampel : 4 (Empat)
Metode uji : Analisis Kromatografis (GC-MS Shimadzu QP 2010)

HASIL UJI LABORATORIUM

Tabel 1. Serai Wangi

| No Puncak | Waktu retensi (menit) | Konsentrasi (%) / perbandingan luas | Nama komponen | Formula | Similarity Index (%) |
|-----------|-----------------------|-------------------------------------|---------------------|----------|----------------------|
| 1 | 4,40 | 9,71 | .alpha.-Pinene | C10H16 | 96 |
| 2 | 6,32 | 1,39 | 3-Carene | C10H16 | 97 |
| 3 | 6,72 | 2,83 | Limonene | C10H16 | 93 |
| 4 | 8,83 | 1,22 | Isopulegol | C10H18O | 96 |
| 5 | 8,91 | 41,16 | Citronellal | C10H18O | 96 |
| 6 | 9,013 | 0,79 | dl-Isopulegol | C10H18O | 95 |
| 7 | 9,93 | 12,18 | Citronellol | C10H20O | 97 |
| 8 | 10,27 | 18,53 | Geraniol | C10H18O | 96 |
| 9 | 11,36 | 2,16 | Citronellol acetate | C12H22O2 | 97 |
| 10 | 11,68 | 1,90 | Geranyl acetate | C12H20O2 | 97 |
| 11 | 11,87 | 1,61 | .beta.-Elemene | C15H24 | 96 |
| 12 | 12,22 | 2,33 | Caryophyllene | C15H24 | 97 |
| 13 | 12,81 | 0,85 | D-Germacrene | C15H24 | 95 |
| 14 | 13,15 | 1,35 | .delta.-Cadinene | C15H24 | 93 |
| 15 | 13,39 | 2,01 | Elemol | C15H26O | 97 |

Tabel 2. Melati

| No Puncak | Waktu retensi (menit) | Konsentrasi (%) / perbandingan luas | Nama komponen | Formula | Similarity Index (%) |
|-----------|-----------------------|-------------------------------------|-----------------------------|----------|----------------------|
| 1 | 8,04 | 11,39 | Linalool | C10H18O | 99 |
| 2 | 8,33 | 0,12 | Fenchol | C10H18O | 95 |
| 3 | 8,75 | 0,29 | trans-Pinocarveol | C10H16O | 95 |
| 4 | 9,11 | 55,17 | Benzyl acetate | C9H10O2 | 96 |
| 5 | 9,17 | 0,59 | .delta.-Terpineol | C10H18O | 92 |
| 6 | 9,31 | 2,45 | Terpinen-4-ol | C10H18O | 96 |
| 7 | 9,49 | 7,17 | .alpha.-Terpineol | C10H18O | 97 |
| 8 | 9,79 | 0,12 | .alpha.-Citronellol | C10H20O | 94 |
| 9 | 9,92 | 5,18 | Citronellol | C10H20O | 97 |
| 10 | 10,26 | 11,79 | Linalyl acetate | C12H20O2 | 97 |
| 11 | 10,83 | 1,53 | Indole | C8H7N | 97 |
| 12 | 11,50 | 1,37 | Eugenol | C10H12O2 | 98 |
| 13 | 12,41 | 0,14 | Aromandendrene | C15H24 | 96 |
| 14 | 15,02 | 2,69 | .alpha.-Hexylcinnamaldehyde | C15H20O | 96 |

Tabel 3. Kenanga

| No Puncak | Waktu retensi (menit) | Konsentrasi (%) / perbandingan luas | Nama komponen | Formula | Similarity Index (%) |
|-----------|-----------------------|-------------------------------------|---------------------|----------|----------------------|
| 1 | 4,40 | 34,61 | .alpha.-Pinene | C10H16 | 96 |
| 2 | 6,32 | 7,68 | 3-Carene | C10H16 | 96 |
| 3 | 6,72 | 1,18 | Limonene | C10H16 | 93 |
| 4 | 6,85 | 5,63 | Benzyl alcohol | C7H8O | 98 |
| 5 | 7,87 | 0,89 | Terpinolene | C10H16 | 96 |
| 6 | 8,04 | 17,12 | Linalool | C10H18O | 98 |
| 7 | 9,10 | 9,26 | Benzyl acetate | C9H10O2 | 97 |
| 8 | 9,56 | 1,96 | Methyl salicylate | C8H8O3 | 97 |
| 9 | 10,26 | 9,05 | Geranyl butyrate | C14H24O2 | 92 |
| 10 | 11,30 | 4,25 | Piperonal | C8H6O3 | 99 |
| 11 | 11,50 | 3,29 | Eugenol | C10H12O2 | 98 |
| 12 | 12,44 | 1,30 | cis-Isoeugenol | C10H12O2 | 97 |
| 13 | 12,95 | 0,60 | .alpha.-Bergamotene | C15H24 | 93 |
| 14 | 13,24 | 1,11 | Isoamyl salicylate | C12H16O3 | 97 |
| 15 | 13,58 | 2,07 | Pentyl salicylate | C12H16O3 | 97 |

Tabel 4. Lavender

| No Puncak | Waktu retensi (menit) | Konsentrasi (%)/ perbandingan luas | Nama komponen | Formula | Similarity Index (%) |
|-----------|-----------------------|------------------------------------|---------------------|----------|----------------------|
| 1 | 4,40 | 13,53 | .alpha.-Pinene | C10H16 | 96 |
| 2 | 4,80 | 0,53 | Camphene | C10H16 | 97 |
| 3 | 5,56 | 1,25 | .beta.-Pinene | C10H16 | 96 |
| 4 | 6,32 | 1,75 | 3-Carene | C10H16 | 96 |
| 5 | 6,63 | 0,90 | o-Cymene | C10H14 | 97 |
| 6 | 6,72 | 4,56 | D-Limonene | C10H16 | 93 |
| 7 | 6,79 | 8,12 | Cineole | C10H18O | 96 |
| 8 | 8,05 | 31,91 | Linalool | C10H18O | 99 |
| 9 | 8,85 | 1,95 | Camphor | C10H16O | 96 |
| 10 | 9,16 | 0,59 | L-Borneol | C10H18O | 91 |
| 11 | 9,50 | 0,58 | .alpha.-Terpineol | C10H18O | 96 |
| 12 | 10,26 | 33,27 | Linalyl acetate | C12H20O2 | 98 |
| 13 | 10,47 | 0,29 | 1,2-Dihydrolinalool | C10H20O | 86 |
| 14 | 12,22 | 0,40 | Caryophyllene | C15H24 | 95 |
| 15 | 13,79 | 0,38 | Caryophyllene oxide | C15H24O | 91 |

Kondisi pengukuran : RTx-5 kapilari kolom (30 m x 0.25 mm I.D. and 0.25 μ m); Suhu kolom 70 °C; Suhu injeksi 290°C; suhu pemrograman: suhu awal 50°C (ditahan 5 min) hingga suhu akhir 300°C pada kenaikan 5°C/menit (di tahan 12 menit); suhu interface 270°C; Split ratio 1:0; tekanan 108.1 kPA; gas helium digunakan sebagai gas pembawa. Identifikasi komponen berdasarkan National Institute of Standards and Technology (NIST) database library (NIST 11 library Version). Kuantifikasi setiap komponen berdasarkan luas persen area setiap puncak GC-MS

Yogyakarta, 4 Februari 2025

Kepala Laboratorium,



Prof. Dr. Ganis Lukmandaru, S.Hut. M.Agr.

LAMPIRAN 5

CERTIFICATE OF ANALYSIS MINYAK KENANGA

Certificate of Analysis Sheet

YLANG-YLANG OIL – MINYAK YLANG-YLANG

Cananga odorata

Date : March 16, 2022
Lot.# : 0.1 Kgs
DO Number :
Sold to :
Product Code : YLO 4.207.01
Origin : INDONESIA

Product Information

Extraction Method : STEAM DISTILLED
Parts Used : FLOWER
Quality : 100% PURE & NATURAL
Cultivation : FARMED

Analysis Specifications

| PARAMETER | SPECIFICATION | RESULT |
|--------------------------------------|---|---------------------|
| Appearance | Mobile liquid | Conform to standard |
| Color | Almost colorless to dark yellow | Conform to standard |
| Odor | Floral, woody, and balsamic | Conform to standard |
| Specific Gravity (20°C) | 0.920-1.020 | 1.008 |
| Refractive Index (20°C) | 1.490-1.520 | 1.507 |
| Optical Rotation | (-30°) – (0°) | (-0.06°) |
| Methyl p-cresol Content (GC) | Max 10% | 5.21% |
| Trans Caryophyllene Content (GC) | Min 20% | 23.18% |
| E,E- α Farnesene Content (GC) | Max 15% | 10.38% |
| Benzyl Benzoate (GC) | Max 5% | 3.05% |
| Solubility | Soluble in alcohol and oils Not soluble in water | Conform to standard |
| Fatty oil | Negative | Negative |
| D E P | 0% | 0% |
| D O P | 0% | 0% |

Note:

This report pertains only to the sample taken by the lot. This is indicative and may be vary according to the raw material and climate variation.


Issued by : Quality Control

This computer generated Certificate of Analysis is valid without signature

Additional Product Information :

LAMPIRAN 6

CERTIFICATE OF ANALYSIS BEESWAX DAN ASAM STEARAT



Arjun WAX REFINERY


An ISO 9001:2015 Certified Company
 We Produce Pure Phosphoric Acid, Calcium & other Industrial Substances
 Dep. Office: Arjun Corporate Park, Plot No. 421 & 430, G.12/C, Wagholia, Dist. Solapur - 431765, Gujarat, India
 Factory: Plot No. C10A521, G.12/C, Wagholia, Dist. Solapur - 431765, Gujarat, India
 Ph. : +91 2348 25285, 25282, 25281; M. : +91 91277 69941
 Email: arjunwaxrefinery@yahoo.com; Website: www.arjunwaxrefinery.com; www.arjunwaxrefinery.co.uk

**FINISHED PRODUCT
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

| | | | |
|--|--|--|--|
| Name of the Product: WHITE BEES WAX SYNTHETICS | | Analytical Report No.: AP-0066/2023 | |
| Date of Receipt: 07/09/2023 | | Date of Analysis: 05/04/2024 | |
| Batch No.: MB 4 006/06/2420 | | Batch Size: 4000 kg. | |
| Mfg. Date: JUNE-2023 | | Exp. Date: 5 year from the date of manufacturing | |
| Sample Qty: 100 gms | | Testing as per: [I.L.23/SYNTHETICS] | |

| No. No. | Units | Test/Description | Results |
|---------|----------------------|--|--|
| 1 | Description | Yellowish-white color, partially soluble and clear and characteristic odor | Yellowish-white color, partially soluble and clear and characteristic odor |
| 2 | Solubility | Practically insoluble in water, partially soluble in hot ethanol and completely soluble in fatty and essential oils. | Practically insoluble in water, partially soluble in hot ethanol and completely soluble in fatty and essential oils. |
| 3 | Melting range | 62-70°C | 64.2° C |
| 4 | Acid value | 17-25 | 20.83 |
| 5 | Ester value | 76-87 | 76.46 |
| 6 | Saponification value | 85-110 | 88.55 |

Opinion: The sample complies with prescribed standard of quality with respect to above tests.





PT. WILMAR NABATI INDONESIA

Quality Control Department




Date: 01 November 2024

CERTIFICATE OF ANALYSIS

| | |
|--------------------------|---------------------------|
| Ref No: | FA00002630 0001 |
| Customer: | |
| Product: | WILFARM STEARIC ACID 103B |
| Manufactured Date: | OCTOBER 19, 2024 |
| Best Before: | OCTOBER 19, 2025 |
| Date of Sample Received: | OCTOBER 19, 2024 |
| Date of Analysis: | OCTOBER 19, 2024 |
| Lot No.: | BD410-1-211W |

| Parameter | Unit | Result | Specification | Test Method |
|-------------------------------|------------------------------|--------|---------------|-----------------------|
| Appearance * | | Becks | Becks | 1,7/WNA-FIN-002-01 |
| Acid Value | mg KOH/g | 211 | 208 - 216 | AOCS Tc 1a - 04, 2017 |
| Saponification Value | mg KOH/g | 210 | 207 - 215 | AOCS Tc 1a - 04, 2017 |
| Iodine Value | % of absorbed I ₂ | 0.1 | 1 max | AOCS Tc 1a - 04, 2017 |
| Color 51° Lev | ° | 0.1 | 0.6 max | AOCS Ca 19a-02, 2017 |
| Color 51° Lev | Y | 0.5 | 2 max | AOCS Ca 19a-02, 2017 |
| Temp | °C | 35.6 | 34 - 37 | AOCS Tc 1a - 04, 2017 |
| Carbon (total) distribution * | % | | | |
| - C12 | | ND | 1 max | |
| - C14 | | 5.2 | 2 max | AOCS Ca 1a - 02, 2017 |
| - C16 | | 90.7 | 90 - 93 | AOCS Ca 2 - 05, 2017 |
| - C18 | | 36.8 | 37 - 42 | |
| - Others | | 0.3 | 1 max | |

* Not accredited parameter



LAMPIRAN 7

DATA UJI NORMALITAS DAN UJI HOMOGENITAS SERTA UJI WELCH ANOVA

Data Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

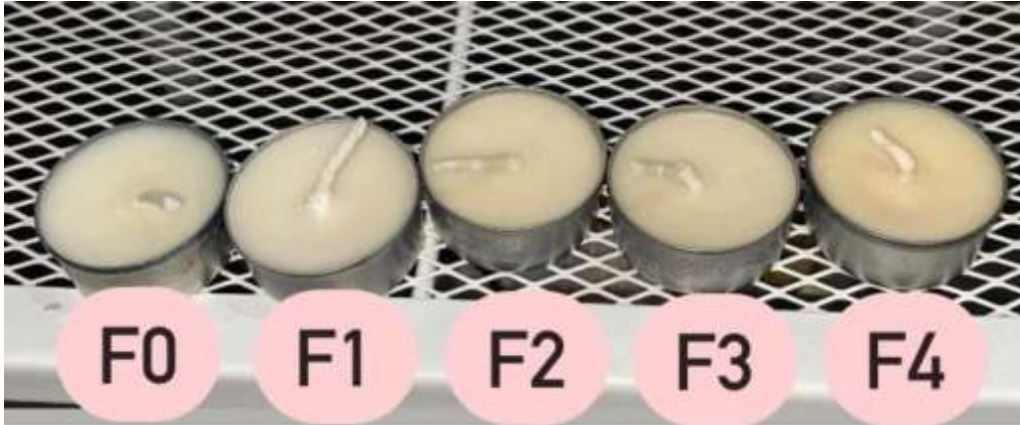
| Kelompok | Score |
|----------|--------|
| F1 | 201,00 |
| F1 | 83,00 |
| F2 | 183 |
| F2 | 148,25 |
| F3 | 150,50 |
| F3 | 162,25 |
| F4 | 181,75 |
| F4 | 121 |
| F0 | 201,00 |
| F0 | 105,75 |
| Normal | 199,25 |
| Normal | 179,75 |

Data Uji *Welch* Anova

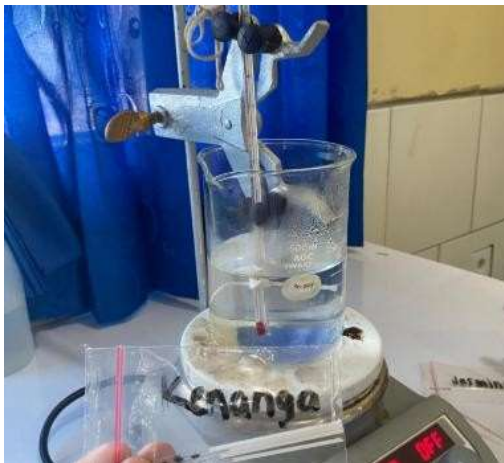
| Kelompok | Formula | n | Nilai Rerata | | | |
|-----------|---------|---|------------------------|-------------|------------|-------------|
| | | | <i>Immobility Time</i> | | Nilai SD | |
| | | | (Detik) | | <i>Pre</i> | <i>Post</i> |
| | | | <i>Pre</i> | <i>Post</i> | <i>Pre</i> | <i>Post</i> |
| K Negatif | F0 | 4 | 201 | 105,75 | 150 ± 242 | 161 ± 65 |
| K I | F1 | 4 | 183 | 83 | 141 ± 239 | 116 ± 60 |
| K II | F2 | 4 | 165 | 148 | 125 ± 209 | 197 ± 110 |
| K III | F3 | 4 | 150 | 162,25 | 117 ± 194 | 191 ± 36 |
| K IV | F4 | 4 | 181,75 | 121 | 109 ± 201 | 165 ± 83 |
| Normal | - | 4 | 199,25 | 179,75 | 150 ± 210 | 205 ± 145 |

LAMPIRAN 8
EVALUASI MUTU FISIK SEDIAAN LILIN AROMATIK

Uji Organoleptis



Uji Titik Leleh



Uji Waktu Bakar

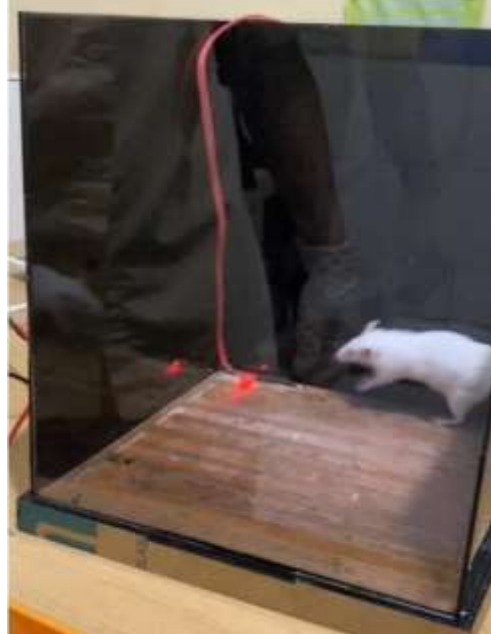


LAMPIRAN 9
PERLAKUAN TERHADAP HEWAN UJI

Aklimatisasi Hewan Uji



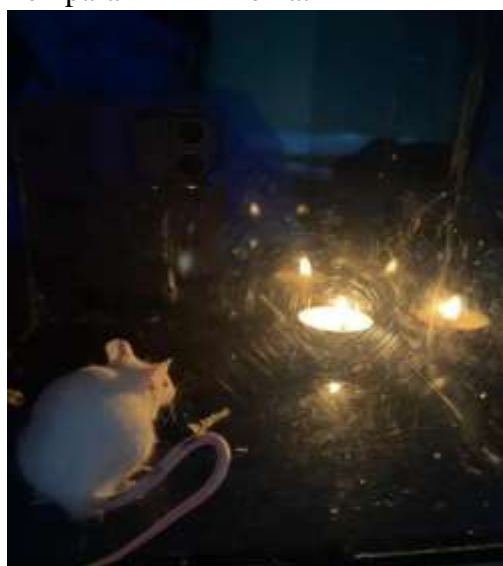
Induksi Hewan Uji dengan Kejut Listrik



Uji Perilaku dengan metode CPP di Tempat Gelap Dan Tenang



Pemaparan Lilin Aromatik



Pengambilan Otak Mencit

Contoh Sampel Otak



LAMPIRAN 10

SURAT PEMERIKSAAN HISTOPATOLOGI OTAK

 **LABORATORIUM
CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK
KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG**
Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

Kepada
Agnes Deswita Kinanti
082357301575
Jl. Latsitarda Blok I No.4a Rt.29,
Kel. Karang Asam Ulu, Kec.
Sungai Kunjang, Kota
Samarinda, Kalimantan Timur
agnesdeswita11@gmail.com

Pemeriksa Sampel :
drh. Dewi Mariyam

Intansi : Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
Dirgahayu Samarinda Kalimantan Timur

Jenis Sampel : *Slide object*

Metode Pemeriksaan : Pengamatan sediaan histopatologi otak yang diberi perlakuan dan menggunakan metode skoring pada **SLP (Lapang Pandang)** berbeda dengan perbesaran 400x yang kemudian direrata, yang dilakukan pengamatan langsung pada gambar. Pengamatan ini menggunakan mikroskop cahaya (*Nikon Eclipse tipe Ei*) dengan bantuan *Optilab Microscope Camera* yang terhubung pada komputer.

Jenis Dokumen
Hasil Pemeriksaan

Jenis Pemeriksaan
X **Histopatologi**
Biomolekuler
Patologi Klinik

Malang, 7 Mei 2025
Dokter Hewan Pemeriksa


(drh. Dewi Mariyam)



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

LAMPIRAN 11

HASIL UJI STATISTIK EVALUASI ANTIDEPRESAN

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

skor

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.772E+15 | 5 | 6 | .000 |

Uji Normalitas

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| skor | .194 | 12 | .200* | .901 | 12 | .162 |
| kjp | .133 | 12 | .200* | .929 | 12 | .372 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji *Welch* Anova

Robust Tests of Equality of Means

skor

| | Statistic ^a | df1 | df2 | Sig. |
|----------------|------------------------|-----|-------|------|
| Welch | 1.391 | 5 | 2.786 | .427 |
| Brown-Forsythe | 1.971 | 5 | 4.492 | .250 |

a. Asymptotically F distributed.

LAMPIRAN 12

SURAT DETERMINASI HEWAN UJI



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI

LABORATORIUM EKOLOGI DAN SISTEMATIKA HEWAN

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda – Kalimantan Timur 75123 Indonesia
Telp./Fax: +62541 747974, Email : lab.eko.sis.hewan@fmipa.unmul.ac.id, <https://www.biologi.fmipa.unmul.ac.id>

SURAT KETERANGAN HASIL DETERMINASI HEWAN

Nomor : 014/UN17.7.025.11/LL/I/2025

Bersama ini menerangkan bahwa sampel yang dikirimkan kepada kami oleh :

Nama : 1. Agnes Deswita Kinanti
2. Florensia Cahyani
3. Liaunardo Kevin Wajenra
4. Muhammad Rizal Azmi
Institusi : Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
KALTIM
Bentuk Bahan/Sampel : 1 sampel mencit
Kode Sampel : -
Tanggal Kirim Bahan/Sampel : 21 Januari 2025
Bentuk Bahan/Sampel : Sampel hidup/segar

berdasarkan identifikasi secara morfologi, memiliki klasifikasi sebagai berikut :

1). Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus*
(Linnaeus, 1758)

Nama Indonesia/Lokal : Mencit, Tikus, Sremet, Nyinying (Sunda), Tikus Piti (Jawa)

Mencit merupakan hewan pengerat yang berukuran kecil, sekitar 50 - 200 mm dengan tubuh ramping silindris agak membesar ke belakang dan ringan. Panjang kepala dan tubuh 67 – 80 mm, ekor 80 – 95 mm (lebih dari 100% kepala-tubuh), telapak kaki belakang 14 – 17 mm, tengkorak 18 – 20 mm. Berat tubuh bervariasi, betina dewasa 25 - 40 gr dan jantan dewasa 20 - 40 gr. Tubuh ditutupi rambut halus, warna tubuh bagian atas coklat dengan rambut bagian dalam abu-abu atau coklat muda dengan warna bagian bawah atau perut agak lebih pucat. Memiliki ekor yang panjang dan ramping (untuk ukuran tubuhnya) yang seluruhnya kecoklatan tua dan ditutupi rambut dibandingkan dengan ekor tikus yang lebih pendek, lebih tebal, dan tidak berambut. Mayoritas semua galur tikus laboratorium umumnya berwarna putih atau albino dikarenakan adanya mutasi umum pada gen tirosinase. Moncong berbentuk segitiga atau kerucut terpotong. Rumus gigi adalah 2(I 1/1 gigi seri, C 0/0, P 0/0 dan M 3/3) = 16, terbuka di gigi seri-berakar dan tumbuh terus menerus. Ekstremitas depan (kaki depan) dan ekstremitas belakang (kaki belakang) masing-masing memiliki 5 jari. Mencit betina



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI
LABORATORIUM EKOLOGI DAN SISTEMATIKA HEWAN

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda – Kalimantan Timur 75123 Indonesia
Telp./Fax: +62541 747974, Email : lab.eko.sis.hewan@fmipa.unmul.ac.id, <https://www.biologi.fmipa.unmul.ac.id>

memiliki 5 pasang puting, yaitu 3 pasang puting pada toraks bagian ventral dan 2 pasang puting pada abdomen (Gambar sampel terlampir).

Bersifat omnivora, makanan meliputi berbagai bahan tumbuhan dan binatang dan sangat aktif. Aktif pada malam hari sehingga tergolong hewan nokturnal. Merupakan hewan yang mudah dipelihara dalam jumlah banyak serta dapat berkembang biak dengan cepat. Memiliki keanekaragaman genetik yang luas, memiliki karakter anatomi dan fisiologi yang mudah dipahami. Mencit seringkali dipergunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium dan merupakan mencit yang dikembangkan melalui proses seleksi. Strain yang umum dipergunakan dari galur *Mus musculus domesticus*, *Mus musculus musculus*, *Mus musculus molossius* beserta turunan dari masing-masing substrain tersebut. Distribusi tersebar luas di semua benua. Penyebaran kosmopolitan dan hasil introduksi manusia. Status IUCN Red list termasuk dalam Least Concern (LC)

Demikian surat keterangan hasil identifikasi hewan ini dibuat, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



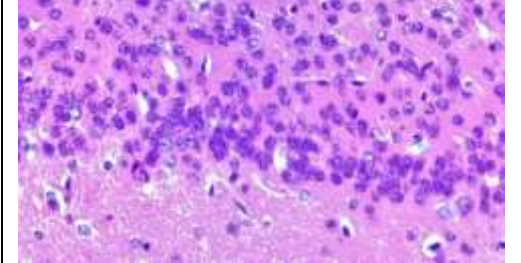
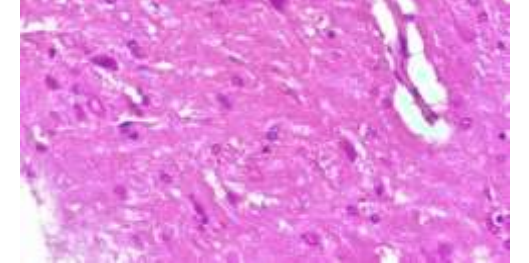
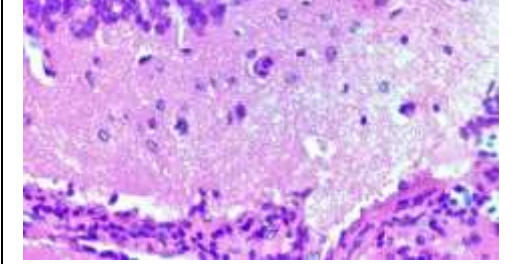
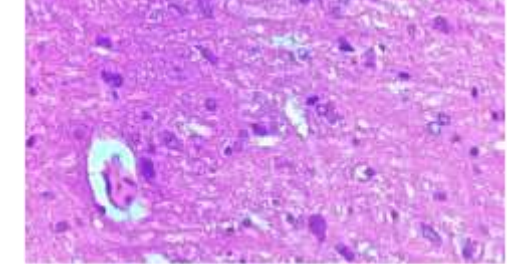
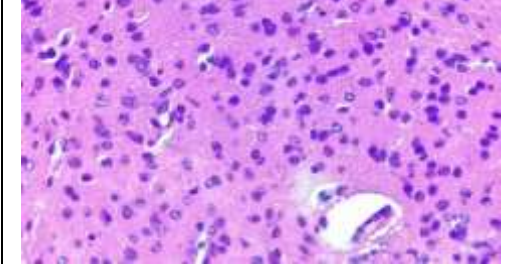
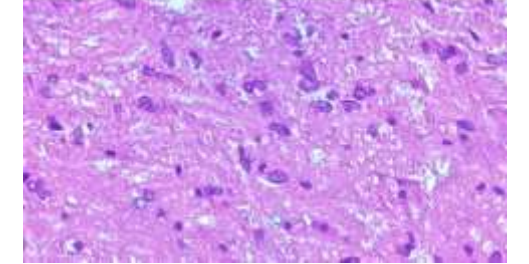
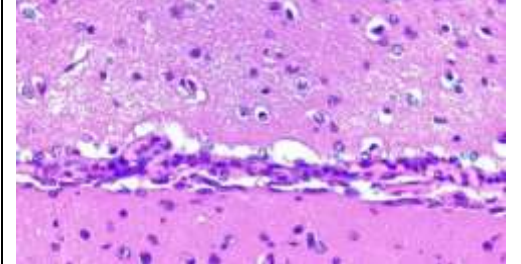
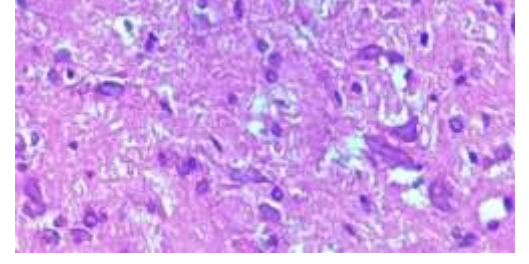
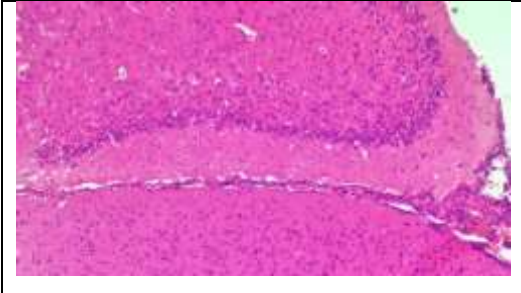
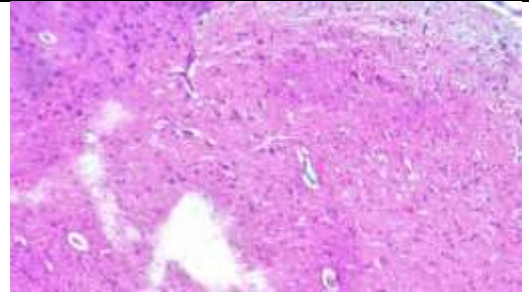
Diketahui :
Ketua Jurusan Biologi Fak. MIPA UNMUL
Dr. Nura Hariani, M.Si.
NIP. 19711127 200012 2 001

Samarinda, 22 Januari 2025
Kepala Laboratorium
Ekologi dan Sistematika Hewan

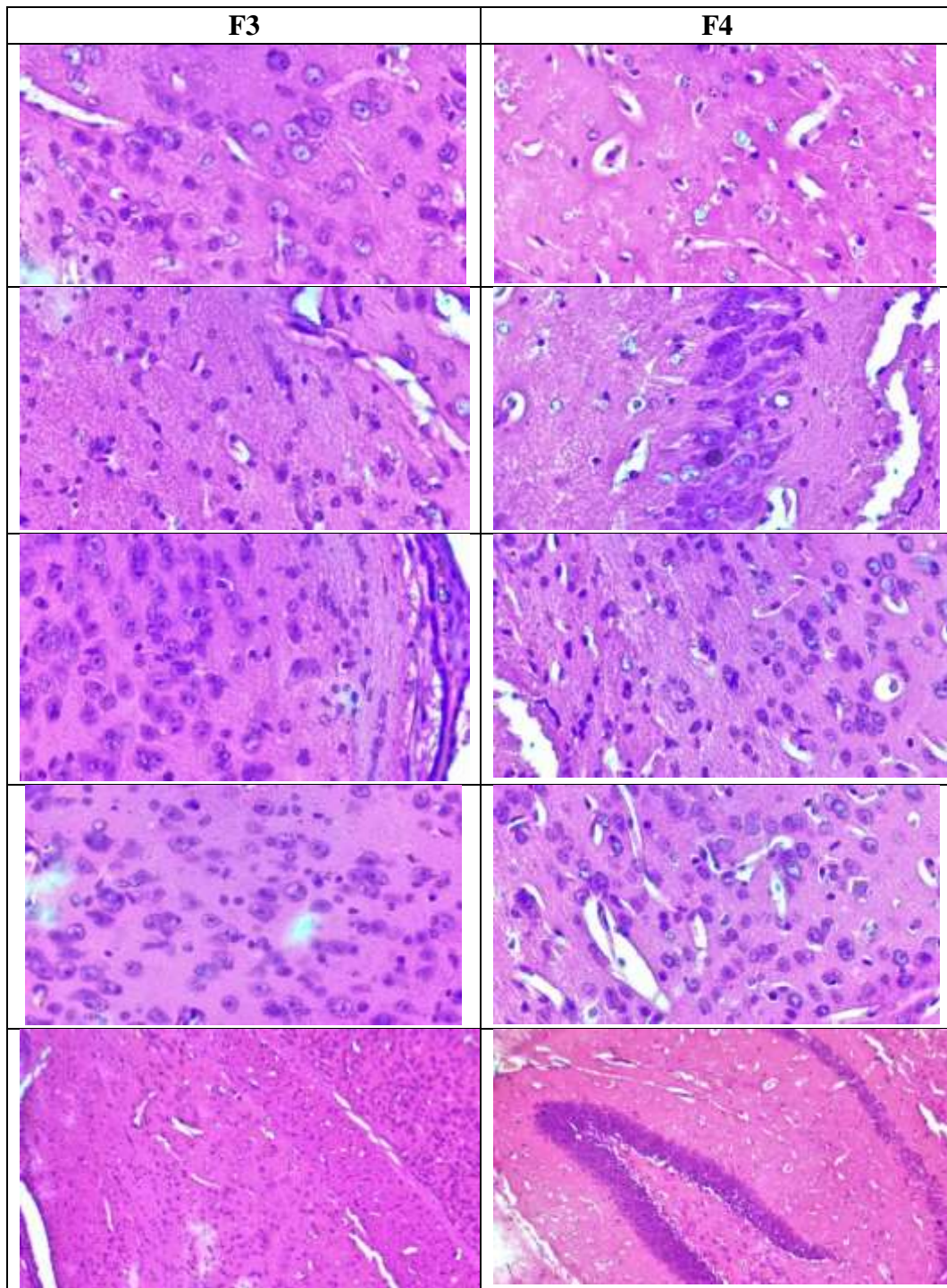
Dr. Lariman, M.Si.
NIP. 19640210 199303 1 001

| Tanggal Identifikasi | Dibuat oleh : | Jabatan | Tanda Tangan |
|----------------------|---|--|--------------|
| 21 Januari 2025 | <u>Ardhiatul Khatimah, S.Si</u> NIP. - | PLP Laboratorium Ekologi dan Sistematika Hewan | |

LAMPIRAN 13
HASIL HISTOLOGI F1 DAN F2

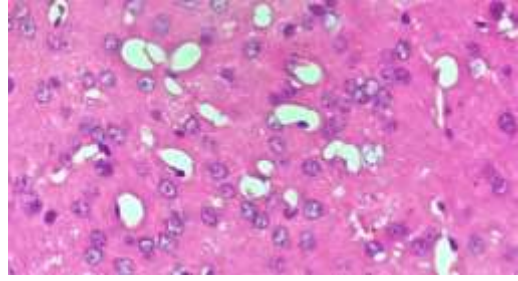
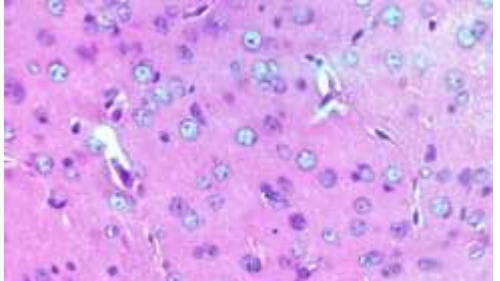
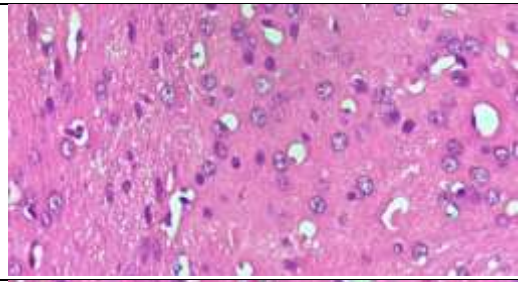
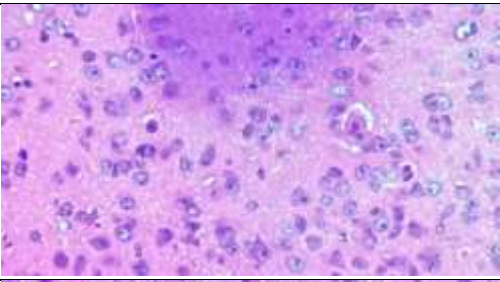
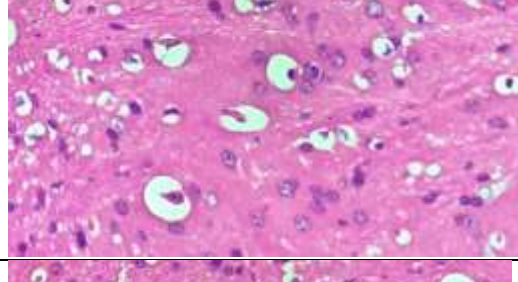
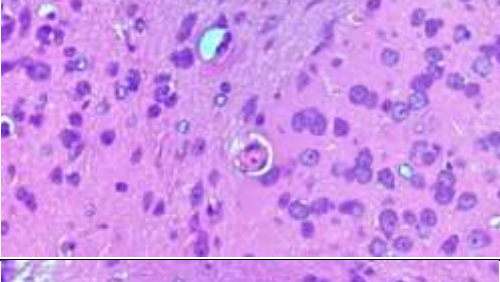
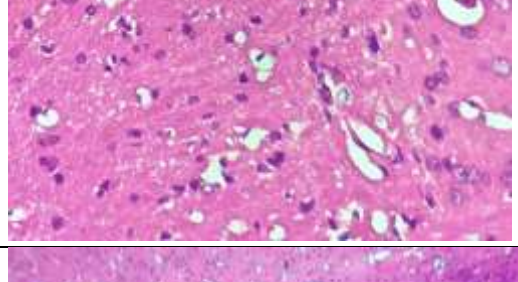
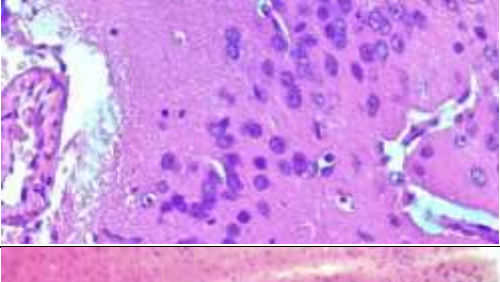
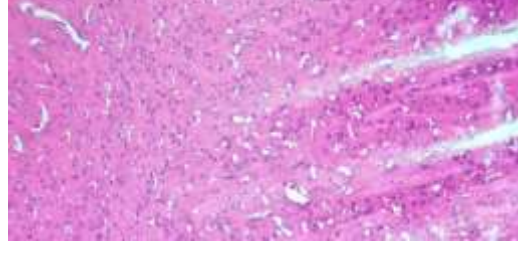
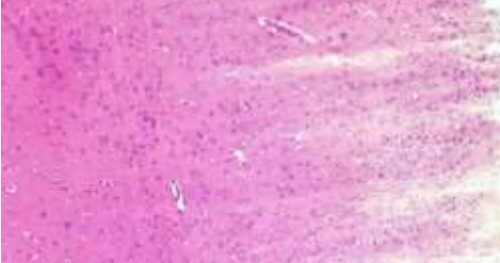
| F1 | F2 |
|---|--|
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

LAMPIRAN 14
HASIL HISTOLOGI F3 DAN F4



LAMPIRAN 15

HASIL HISTOLOGI K- DAN NORMAL

| K- | NORMAL |
|---|--|
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |