

**EVALUASI LILIN AROMATERAPI MINYAK MELATI (*Jasminum*) DAN
OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) PADA MENCIT
(*Mus musculus*) SEBAGAI ANTIDEPRESAN SERTA GAMBARAN
HISTOLOGI**

Oleh

FLORENSIA CAHYANI

211148201175

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

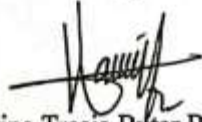
**EVALUASI LILIN AROMATERAPI MINYAK MELATI (*Jasminum*)
DAN OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*)
PADA MENCIT (*Mus musculus*) SEBAGAI ANTIDEPRESAN
SERTA GAMBARAN HISTOLOGI**

Dipersiapkan dan disusun oleh :
FLORENSIA CAHYANI
211148201175

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji pada tanggal 20 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 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 saya 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 dari Tim Penelaah/Tim penguji
3. Dalam karya 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.

Samarinda, 10 Agustus 2025

Yang membuat pernyataan
(Florensia Cahyani)

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik
Sebagai ataupun seluruh naskah
Harus menyebut nama Pengarang
Dan sumber Aslinya,
Yaitu Sekolah Tinggi
Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

PERSEMBAHAN

Tuhan Yesus Kristus,
Bapak dan Mamak, serta semua orang baik yang
mendampingi dan membantu penulis selama perkuliahan hingga selesai

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini yang berjudul **EVALUASI LILIN AROMATERAPI MINYAK MELATI (*Jasminum*) DAN OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) SEBAGAI ANTIDEPRESAN SERTA GAMBARAN HISTOLOGI.**

Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat-syarat untuk dapat mencapai gelar Sarjana Farmasi di Stikes Dirgahayu Samarinda. Penulis menyadari mengenai penulisan ini tidak bisa terselesaikan tanpa pihak-pihak yang mendukung baik secara moril dan juga materil. Maka, penulis menyampaikan banyak-banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini terutama kepada:

1. Kepada yang terhormat Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S. Kep., MAN selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
2. Bapak apt. Raymon Simanullang, M. Pharm. selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi,
3. Ibu Maria Elvina Tresia Butar-Butar M.Farm. dan Ibu Nurillahi Febria Leswana, M.Sc. selaku dosen pembimbing yang begitu banyak membantu dan mengarahkan penulis serta Bapak apt. Adhe Septa Ryant Agus, M. Farm., AAK. yang telah banyak memberikan bantuan dan arahan kepada penulis.
4. Bapak apt. Taufiqurrahman, M. Farm. selaku Pembimbing Akademik yang telah banyak membantu selama perkuliahan,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
6. Kedua orang tua penulis yang banyak memberikan dukungan baik tenaga maupun finansial dibalik terbuatnya skripsi ini,
7. Diri saya sendiri yang sudah bertanggung jawab menggenapi pendidikan dengan tidak menyerah untuk menuliskan skripsi ini sampai selesai,

8. Agnes Deswita Kinanti selaku sobat seperjuangan yang telah banyak membantu, mendukung dan meluangkan waktu untuk membantu penulis,
9. Seluruh anak-anak kos hijau yang telah sama-sama berjuang untuk skripsi dan memberi dukungan kepada penulis,
10. Seluruh teman-teman angkatan 2021 yang telah berjuang bersama-sama di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis menyadari bahwa skripsi masih memiliki banyak kekurangan, Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ini. Penulis mengharapkan dengan adanya skripsi ini dapat menjadi referensi dan bahan pembelajaran.

Samarinda, 20 Mei 2025

Florensia Cahyani

ABSTRAK

Penggunaan minyak atsiri sebagai aromaterapi cenderung meningkat diantaranya adalah minyak atsiri melati (*Jasminum*) dan oleoresin keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*) yang mengandung senyawa yang dapat menjadi antidepresan berupa *linalool*, *benzyl acetate*, *linalyl acetate* dan *phthalate*. Tujuan penelitian ini menguji efek antidepresan lilin aromaterapi kombinasi keduanya pada mencit serta evaluasi mutu fisik dari lilin. Kombinasi dari kedua minyak atsiri kemudian diformulasikan dalam bentuk sediaan lilin aromaterapi dengan konsentrasi melati : keruing sebesar 20:5, 15:10, 10:15, 5:20 dan formula kontrol negatif tanpa konsentrasi. Pengujian mutu fisik lilin aromaterapi memenuhi SNI meliputi uji organoleptis dengan bau khas melati dan berbentuk padat kecuali kontrol negatif tidak memiliki bau khas melati, uji waktu bakar menunjukkan formula yang didominasi oleh melati waktu bakar lebih singkat yaitu 110 menit, lalu uji titik leleh lilin memiliki rentang 54 - 58 °C. Pengujian efek antidepresan dilakukan dengan mengukur waktu mencit pada *Elevated Plus Maze* yang kemudian diuji dengan SPSS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima formula tidak memiliki perbedaan yang signifikan (p value = 0,856) antar kelompok perlakuan. Namun, hasil histologi otak menunjukkan kelompok mencit yang diberi kombinasi (20:5) memiliki kerusakan sel jaringan otak yang minimal dan mendekati normal. Kesimpulan dari penelitian meski analisis histologis mengindikasikan adanya efek positif lilin aromaterapi pada struktur jaringan tetapi dampaknya belum terdeteksi signifikan secara statistik.

Kata Kunci : Antidepresan, Lilin aromaterapi, Keruing, Melati, Histologi, *Elevated Plus Maze*.

ABSTRACT

The use of essential oils as aromatherapy tends to increase, including jasmine essential oil (Jasminum) and keruing oleoresin (Dipterocarpus grandiflorus) which contain compounds that can be antidepressants in the form of linalool, benzyl acetate, linalyl acetate and phthalate. The purpose of this study was to test the antidepressant effect of aromatherapy candles of a combination of both on mice and to evaluate the physical quality of the candles. The combination of the two essential oils was then formulated in the form of aromatherapy candle preparations with jasmine: keruing concentrations of 20:5, 15:10, 10:15, 5:20 and a negative control formula without concentration. Testing the physical quality of aromatherapy candles meets SNI including organoleptic tests with a distinctive jasmine odor and solid form except for the negative control which does not have a distinctive jasmine odor, the burning time test shows that the formula dominated by jasmine has a shorter burning time of 110 minutes, then the melting point test of the candle has a range of 54 - 58 ° C. The antidepressant effect test was conducted by measuring the time of mice on the Elevated Plus Maze which was then tested with SPSS. The results showed that the five formulas did not have a significant difference (p-value = 0.856) between treatment groups. However, the results of brain histology showed that the group of mice given the combination (20:5) had minimal and near-normal brain tissue cell damage. The conclusion of the study, although histological analysis indicated a positive effect of aromatherapy candles on tissue structure, the impact had not been detected statistically significant.

Keywords: *Antidepressant, Aromatherapy Candles, Keruing, Jasmine, Histology, Elevated Plus Maze.*

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
KUTIPAN	v
PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi peneliti	4
1.4.2 Bagi Institusi	4
1.4.3 Bagi masyarakat	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Keruing (<i>Dipterocarpus grandiflorus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi Keruing (<i>Dipterocarpus grandiflorus</i>).....	5
2.1.2 Kandungan Oleoresin Keruing.....	6
2.2 Melati	8
2.2.1 Klasifikasi Melati	8
2.2.2 Kandungan Melati (<i>Jasminum</i>)	8

2.3	Depresi	9
2.4	Antidepresan	11
2.4.1	Terapi Farmakologi Depresi	11
2.4.1.1	<i>Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI)</i>	11
2.4.1.2	<i>Serotonine Norepinephrine Reuptake Inhibitor (SNRI)</i>	12
2.4.1.3	<i>Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)</i>	12
2.4.1.4	Trisiklik (TCA).....	13
2.4.1.5	Modulator Reseptor 5-HT	13
2.4.1.6	Tetrasiklik, unisiklik	14
2.4.2	Terapi Non Farmakologi	14
2.4.2.1	Psikoterapi	14
2.4.2.2	Terapi kebiasaan kognitif	14
2.4.2.3	Aromaterapi.....	15
2.4.2.4	Terapi tertawa	17
2.4.2.5	Terapi musik.....	17
2.5	Lilin.....	18
2.5.1	Bahan- Bahan Pembuatan Basis Lilin	18
2.5.2	Evaluasi Mutu Fisik Lilin.....	19
2.5.2.1	Uji Organoleptis	19
2.5.2.2	Uji Titik Leleh	19
2.5.2.3	Uji Waktu Bakar	20
2.6	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	20
2.6.1	Klasifikasi mencit	20
2.6.2	Mencit jantan dan galur BALB/C	21
2.7	Pengujian Antidepresan	23
2.7.1	Instrumen Pengujian.....	23
2.7.1.1	<i>Tail suspension Test (TST)</i>	23
2.7.1.3	<i>Sucrose Splash Test (SST)</i>	24
2.7.1.4	<i>Open Field Test (OFT)</i>	24
2.7.1.5	<i>Conditioned Place Preference (CPP)</i>	24
2.7.1.6	<i>Elevated Plus Maze (EPM)</i>	25
2.7.2	Induksi Hewan Uji	26

2.7.2.1	<i>Electrical Foot Shock</i> (Renjatan Listrik di Kaki)	26
2.7.2.2	Induksi Stres Kronik Ringan.....	26
2.8	Histologi otak.....	26
2.9	Kerangka Konseptual.....	28
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		29
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	29
3.1.1	Waktu Penelitian	29
3.1.2	Tempat Penelitian.....	29
3.2	Alat dan Bahan.....	29
3.2.1	Alat.....	29
3.2.2	Bahan	29
3.3	Metode Penelitian	29
3.3.1	Jenis Penelitian.....	29
3.3.2	Rancangan Penelitian	30
3.3.3	Definisi Operasional.....	30
3.3.4	Fokus Penelitian	31
3.4	Populasi dan Sampel Penelitian	31
3.4.1	Populasi Penelitian	31
3.4.2	Sampel penelitian	31
3.4.3	Variabel Penelitian.....	31
3.5	Determinasi Sampel	31
3.6	Uji Mutu Minyak Melati dengan GC-MS.....	32
3.7	Formulasi lilin aromaterapi	32
3.8	Pembuatan lilin aromaterapi	32
3.9	Evaluasi Mutu Fisik Lilin aromaterapi	33
3.9.1	Uji Organoleptik.....	33
3.9.2	Uji Waktu Bakar.....	33
3.9.3	Uji Titik Leleh.....	33
3.10	Uji Antidepresan lilin aromaterapi.....	33
3.10.1	Preparasi hewan uji	33
3.10.2	Determinasi hewan uji.....	34
3.1.1	Etika Penelitian.....	35

3.10.4	Induksi stres pada hewan uji	35
3.10.5	Pengujian Efek Antidepresan dengan lilin aromaterapi	35
3.10.6	Histologi otak mencit	36
3.11	Alur Penelitian	38
3.12	Analisis Data	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		39
4.1	Analisa Komposisi Dan Kualitas Minyak Atsiri.....	39
4.2	Evaluasi Lilin Aromaterapi	41
4.3	Validasi Metode	42
4.4	Evaluasi Aktivitas Antidepresan Pada Mencit.....	43
BAB V PENUTUP		49
5.1	Kesimpulan	49
5.2	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN.....		60

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Kimia Oleoresin Keruing	7
Tabel 2.2 Kandungan Minyak Melati.....	9
Tabel 3.1 Definisi Operasional	30
Tabel 3.2 Formula sediaan lilin aromaterapi	32
Tabel 3.3 Perlakuan penghirupan lilin aromaterapi	35
Tabel 4.1 Hasil GC-MS Minyak Melati	39
Tabel 4.2 Hasil Analisa Kualitas Minyak Atsiri Bunga Melati	41
Tabel 4.3 Evaluasi Mutu Fisik Lilin	41
Tabel 4.4 Hasil Uji T dari validasi metode	42
Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas	43
Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas	44
Tabel 4.7 Hasil Uji <i>Welch's Anova</i>	44
Tabel 4.8 Hasil Skoring Histologi Otak.....	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pohon keruing yang disadap.....	6
Gambar 2.2 <i>Jasminum</i>	8
Gambar 2.3 <i>Fluoxetine</i>	12
Gambar 2.4 <i>Duloxetine</i>	12
Gambar 2.5 Phenelzine.....	13
Gambar 2.6 <i>Imipramine</i>	13
Gambar 2.7 <i>Nefazodone</i>	13
Gambar 2.8 Bupropion	14
Gambar 2.9 Mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	21
Gambar 2.10 <i>Elevated Plus Maze</i>	25
Gambar 2.11 Kerangka konseptual	28
Gambar 3.1 Rumus Federer (1991).....	33
Gambar 3.2 Bagan Alur Penelitian	38
Gambar 4.1 Hasil histologi otak mencit.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Surat Izin Penelitian	60
Lampiran 2 Surat Izin Melakukan Penelitian di Laboratorium	61
Lampiran 3 Surat Determinasi Hewan	62
Lampiran 4 Surat Layak Etik	64
Lampiran 5 <i>Certificate Of Analysis</i> Beeswax.....	65
Lampiran 6 <i>Certificate Of Analysis</i> Asam Stearat.....	66
Lampiran 7 <i>Certificate Of Analysis</i> Minyak Melati	67
Lampiran 8 Surat Hasil Uji GC-MS Minyak Melati.....	68
Lampiran 9 Surat Pemeriksaan Histologi Otak.....	71
Lampiran 10 Data Pengamatan perilaku	73
Lampiran 11 Data Hasil Uji Statistik.....	74
Lampiran 12 Dokumentasi evaluasi mutu fisik lilin aromaterapi	76
Lampiran 13 Dokumentasi perlakuan terhadap Hewan Uji	77
Lampiran 14 Lapang Pandang Hasil Histologi Otak.....	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Depresi adalah suatu keadaan dimana terganggunya fungsi normal manusia yang hubungannya dengan perasaan yang sedih yang ditandai dengan gangguan *mood*, gangguan pola tidur, gangguan makan, gangguan kecemasan dan konsentrasi menurun bahkan keparahan dari depresi menyebabkan kematian (Arafat *et al.*, 2022; Ningtyas *et al.*, 2019). Prevalensi dari gejala-gejala dari depresi yaitu pada gangguan pola tidur setiap tahun dilaporkan sekitar 20%-50% pada orang dewasa (Rohmah & Santik, 2020). Gangguan makan di lima negara ASEAN memiliki prevalensi 11,5% (Permanasari & Arbi, 2022). Gangguan kecemasan di dunia pada tahun 2021 sebanyak 4,4% (Dattani *et al.*, 2023). Kematian akibat depresi mencapai angka 700.000 pada tahun 2019 (WHO, 2021).

Prevalensi depresi di Indonesia yang diperkirakan oleh WHO mencapai 3,7% atau sekitar 9 juta orang dengan 6,6% penduduk yang hidup dengan disabilitas atau *Years Lived with Disability* (YLD) (WHO, 2017; Simanjuntak *et al.*, 2023). Kalimantan Timur menduduki peringkat kedua depresi di Indonesia pada tahun 2023 dengan angka 2,2 % (BKPK, 2023). Depresi dipengaruhi oleh penurunan neurotransmitter terutama norepinefrin, dopamin dan serotonin dalam otak. Rendahnya kadar norepinefrin, dopamin dan serotonin di dalam otak akan mencetuskan depresi dan gejala-gejala depresi (Haryanto *et al.*, 2019). Maka dari itu terapi untuk depresi adalah antidepresan yaitu senyawa yang mampu meningkatkan kadar neurotransmitter di otak (Yuniastuti, 2013).

Terapi untuk depresi memiliki dua metode yaitu farmakologi dan nonfarmakologi. Terapi non farmakologi ini dilakukan dengan perawatan psikologis, terapi tertawa, mendengarkan musik, dan terapi aromaterapi (Khoirunnisa *et al.*, 2022). Terapi non farmakologi dengan metode aromaterapi menggunakan minyak essensial yang merupakan suatu pengobatan dengan mekanisme mengurangi stres dan menimbulkan perasaan

ketenangan dengan merangsang saraf penciuman yang akan mempengaruhi pusat penghasil transmitter dalam hal ini adalah serotonin atau dopamin (Suriyati, 2019; Manalu, 2019). Terapi non farmakologi yang digunakan sebagai aromaterapi antara lain adalah dupa, sabun, garam, dan lilin. Penggunaan lilin sebagai media aromaterapi dipilih karena merupakan produk alternatif yang dapat dirasakan manfaatnya dengan indra penciuman dan penggunaannya sangat mudah dilakukan serta lilin memiliki titik leleh yang tinggi dan mudah mengikat aroma dan melepaskannya ke udara, hasil pembakarannya bersih dan tidak mengeluarkan zat-zat yang beracun (Herawaty, 2021; Putri dkk., 2020).

Terapi Farmakologi adalah terapi dengan penggunaan obat-obatan. Golongan obat antidepresan merupakan terapi utama pada gangguan depresi (Anggreani & Maulina, 2023). Jenis obat antidepresan yang ada seperti *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors* (SSRIs) dan *Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors* (SNRIs) digunakan pada depresi mayor, *Monoamine Oxidase B Inhibitors* (MAOI-B) untuk depresi yang tidak responsif terhadap antidepresan lain, antidepresan trisiklik (TCA) pada depresi yang tidak responsif terhadap antidepresan umum (SSRI dan SNRI), antagonis 5-HT₂ pada depresi mayor dan gangguan cemas, tetrasiklik dan unisiklik pada depresi mayor yang tidak responsif terhadap obat lain (Katzung, 2020). Namun, penggunaan obat-obatan antidepresan ini dikaitkan dengan berbagai efek samping diantaranya yaitu kehilangan nafsu makan, penurunan berat badan, kantuk, pusing, kelelahan, sakit kepala, peningkatan pikiran untuk bunuh diri, mual/muntah, disfungsi seksual, dan peningkatan risiko kejadian kardiovaskular dan serebrovaskular (Braund dkk., 2021).

Terdapat beberapa tanaman yang memiliki fungsi sebagai aromaterapi dikarenakan adanya kandungan minyak atsiri sebagai metabolit sekundernya seperti kenanga, melati, lavender, mawar dan keruing (Kotsasi dkk., 2022). Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*) memiliki kandungan oleoresin yang berisi terpena yang merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan mengobati depresi (Ramos-Hryb *et al.*, 2018), flavonoid dan senyawa fenolik yang memiliki sifat antiinflamasi melawan peningkatan peradangan dalam

patofisiologi depresi (Agus *et al.*, 2024; Lin *et al.*, 2021; Hritcu *et al.*, 2017). Tanaman yang juga mengandung minyak atsiri adalah melati (*Jasminum*) dengan komposisi *lynalol*, *benzyl acetat*, *methyl salicilat*, *benzyl alcohol*, *Z. Jasmone*, *neurol idol*, dan *indole* (Hidayah *et al.*, 2020) yang fungsinya sebagai zat sedatif untuk meringankan depresi (Yuliana *dkk.*, 2023).

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini akan menguji potensi aktivitas antidepresan dari kombinasi senyawa oleoresin keruing dan minyak melati yang dibuat menjadi sediaan lilin sebagai terapi non farmakologi menggunakan objek hewan uji mencit (*Mus musculus*) dengan metode pengukuran perilaku (*behavioral test*) berdsasarkan instrumen *Elevated Plus Maze* (EPM). Sebagai evaluasi juga dilakukan analisa pada gambaran histologi dengan pewarnaan jaringan otak untuk melihat peningkatan ekspresi reseptor di saraf karena adanya neurotransmitter yang bertanggung jawab terhadap pengaturan mood dan perilaku di sistem saraf pusat (SSP) hewan uji.

1.2 Identifikasi Masalah

- 1.2.1** Apakah lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati memiliki potensi sebagai antidepresan?
- 1.2.2** Bagaimana gambaran histologi sistem saraf pusat dari hewan yang diberikan lilin aromaterapi kombinasi variasi konsentrasi oleoresin keruing dan minyak melati?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.2 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh dari lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*) dan minyak melati (*Jasminum*) sebagai terapi non farmakologi.

1.3.3 Tujuan khusus

1. Mengetahui apakah lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati memiliki potensi sebagai antidepresan.
2. Mengetahui gambaran histologi pada sistem saraf pusat dari hewan yang diberikan lilin aromaterapi kombinasi variasi konsentrasi oleoresin keruing dan minyak melati.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat membantu dan meningkatkan pengetahuan tentang ilmu farmakologi khususnya pada pencarian obat baru (*drug discovery*) dalam hal ini potensi bahan alam sebagai antidepresan.

1.4.2 Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi tambahan referensi dan rujukan untuk pengembangan sediaan farmasi khususnya sebagai antidepresan.

1.4.3 Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan bagi industri untuk dapat menjadikan penelitian ini referensi pembuatan sediaan farmasi sebagai antidepresan.

1.5 Hipotesis Penelitian

H_0 : Lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati tidak memiliki aktivitas antidepresan dan tidak terdapat gambaran yang baik pada histologi otak.

H_1 : Lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati memiliki aktivitas antidepresan dan terdapat gambaran yang baik pada histologi otak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Berdasarkan tujuan penelitian yang akan dilakukan yaitu mengembangkan potensi bahan alam untuk terapi non farmakologi dengan pembuatan lilin kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati.

2.1 Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*)

Keruing atau *Dipterocarpus grandiflorus* adalah suatu spesies pohon besar dan tinggi yang merupakan penghasil kayu, minyak atsiri dan oleoresin. Pohon ini berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara antaranya adalah India (Kepulauan Andaman), Vietnam, Myanmar, Thailand, Semenanjung Malaysia, dan Singapura. Spesies ini ditemukan juga di Indonesia seperti di Kalimantan dan Sumatra, Sabah di Malaysia yang merupakan satu pulau dengan kalimantan, dan enam pulau di Filipina (Wahyudianto *et al.*, 2022).

Metabolit sekunder keruing yaitu minyak atsiri dan oleoresin mempunyai banyak manfaat yaitu sebagai biokosmetik dan biomedis karena memiliki aktivitas farmakologi. Oleoresin adalah ekstrak pekat dari tanaman yang merupakan campuran dari resin dan minyak atsiri yang mengandung aroma dan senyawa pembawa rasa yang tidak mudah untuk menguap (Christiana, 2021). Berbeda dengan minyak atsiri oleoresin tidak hanya mengandung senyawa volatil (mudah menguap) tetapi senyawa non-volatil (tidak mudah menguap) sehingga ekstraknya menjadi lebih kompleks (Procopio *et al.*, 2022). Oleoresin keruing didapatkan dengan cara disadap, penyadapan keruing hanya dapat dilakukan pada pohon yang memiliki diameter besar (KLHK, 2019).

2.1.1 Klasifikasi Keruing (*Dipterocarpus grandiflorus*)

Berikut klasifikasi tanaman keruing (Wahyudianto *et al.*, 2022)

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

Genus : Dipterocarpus

Spesies : *Dipterocarpus grandiflorus*



Gambar 2.1 Pohon keruing yang disadap (KLHK, 2019)

Oleoresin keruing keluar sebagai eksudat berbentuk cairan kental yang jika terkena udara dalam waktu yang lama akan berubah menjadi massa semi-plastik. Oleoresin ini memiliki konsistensi seperti madu kental yang berbau balsam, dengan warna coklat kemerahan, dan memiliki kandungan 35% minyak atsiri serta resin keras, kuning dan berkilau yang larut sampai 75% dalam alkohol (Jong & Haynes, 1982).

2.1.2 Kandungan Oleoresin Keruing

Minyak keruing berwarna kuning kecoklatan, sedangkan oleoresin berwarna putih susu, lengket dan kental. Komponen kimia minyak keruing yang dominan adalah *caryophyllene* ($C_{15}H_{24}$) berkisar 83,26% yang bermanfaat sebagai antioksidan, antikanker, antimikroorganisme, meningkatkan imunitas tubuh, melindungi fungsi jantung, hati, pencernaan, dan lain-lain. Sedangkan komponen kimia oleoresin keruing mengandung β -bisabolene 69,14% yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai anti oksidan, anti kanker, anti mikroorganisme dan agen anti diabetes. Komponen penting lainnya dalam minyak keruing adalah senyawa *phthalate* (30,66%) yang memiliki aroma wangi khas dan dapat digunakan dalam industri parfum, pewarna rambut dan kuku serta bahan dasar kosmetik lainnya. Beberapa produk turunan telah dihasilkan dari minyak keruing berpotensi untuk memberikan alternatif pendapatan bagi masyarakat sekitar hutan (KLHK, 2019). Kandungan oleoresin keruing berdasarkan hasil uji

menggunakan GCMS Shimadzu QP 2010; jenis kolom RTx-5MS; dan database NIST pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan Kimia Oleoresin Keruing (KLHK, 2019)

Waktu retensi (menit)	Nama Senyawa	Oleoresin (%)	Aktivitas Farmakologi
13.625	<i>N-Acrylonitril-2,2-dimethylaziridine</i>	0,1	-
13.765	<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>	0,1	-
14.503	<i>Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4 hexenyl)-, (S)</i> Atau β -bisabolene	64,14	β -bisabolene yang diisolasi dari minyak <i>Commiphora guidottii</i> sitotoksik terhadap sel kanker (Yeo <i>et al.</i> , 2016).
14.675	<i>Phthalic acid, di(3-methoxybenzyl) ester</i>	14,74	Kelompok ester dari senyawa <i>phthalate</i> mempunyai aroma wangi khas yang digunakan di industri parfum, pewarna kuku, pewarna rambut yang disemprotkan, dan kosmetik lainnya (Bang <i>et al.</i> , 2011).
14.855	<i>Phthalic acid, 5-ethyl-1,3-dioxan-5-yl octyl ester</i>	15,92	

Keruing mengandung kelompok polifenol seperti oligostilbenoid, flavonoid, fenilpropanoid, turunan asam fenolik senyawa bioaktif yang dapat digunakan mengobati depresi, senyawa fenolik yaitu oligomer reserpatrol yang memiliki sifat antiinflamasi peningkatan peradangan dalam patofisiologi depresi dan kelompok non fenolik seperti triterpenoid merupakan senyawa yang terbukti secara praklinis menghasikan efek antidepresan (Agus *et al.*, 2024; Lin *et al.*, 2021; KLHK, 2019; Ramos-Hryb *et al.*, 2018).

2.2 Melati

Melati dikenal dengan *essensial* oil atau minyak *essens*, karena sifatnya sebagai pemberi aroma yang khas (Hidayah *et al.*, 2020).

2.2.1 Klasifikasi Melati

Klasifikasi Melati sebagai berikut (Shukla, 2017)

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Oleales
Famili : *Oleaceae*
Genus : *Jasminum*



Gambar 2.2 *Jasminum* (Shukla, 2017)

2.2.2 Kandungan Melati (*Jasminum*)

Melati (*Jasminum*) mengandung metabolit sekunder yaitu alkaloid, kumarin, flavonoid, tanin, terpenoid, emodine, minyak atsiri dan saponin (Al-Snafi, 2018). Minyak atsiri dari melati mengandung komposisi *linalol*, *benzyl acetat*, *benzyl alcohol*, dan *indole*, *methyl anthranilate*, *3-hexenyl benzoate* dan *alfa-fernesene*. Senyawa-senyawa ini memiliki bau yang menyenangkan yang berfungsi sebagai antidepresan (Lo *et al.*, 2020).

Jasmine mengandung senyawa *linalool* sebagai komponen utama yang berfungsi sebagai zat sedatif. Zat sedatif yang ada pada minyak melati (*jasmine*) akan meningkatkan relaksasi sehingga bisa meringankan insomnia, kecemasan dan depresi (Widyaningsih *et al.*, 2023). Penelitian Nujanah *et al.*, (2016) mengenai minyak melati menunjukkan kandungan melati melalui pemeriksaan dengan GC-MS menganalisis sebanyak 24 komponen senyawa (Nurjanah *et al.*, 2016) yang terdapat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Kandungan Minyak Melati

No	Waktu Retensi	Komponen	Persentase (%)
1	4,414	<i>Benzaldehyde</i>	0,14
2	5,040	<i>Hexen ol acetate</i>	2,65
3	5,184	<i>Hexen ol acetate</i>	0,27
4	6,572	<i>Linalool oxide</i>	0,67
5	6,703	<i>Methyl Benzoate</i>	0,33
6	6,813	<i>Linalool</i>	21,88
7	7,556	<i>Benzeneacetonitrile</i>	0,56
8	8,010	<i>Benzyl Acetate</i>	8,26
9	8,348	<i>Acetic acid, 2-ethylhexyl ester</i>	0,87
10	8,505	<i>Butanoic acid, 4-hexen-1-yl ester</i>	0,34
11	8,626	<i>Butanoic acid, 2-hexenyl ester</i>	0,13
12	9,775	<i>Methyl salicylate</i>	0,29
13	10,585	<i>Acetic acid, phenethyl ester</i>	0,47
14	10,655	<i>Indole</i>	2,94
15	11,457	<i>2- Phenylnitroethane</i>	0,31
16	11,499	<i>Benzoic acid, 2-amino-, methyl ester</i>	0,33
17	12,143	<i>Triacetin</i>	0,35
18	13,984	<i>Cis 3 hexenyl lactate</i>	0,14
19	14,333	<i>Germacrene</i>	0,06
20	14,550	<i>Alpha fernesene</i>	7,27
21	14,685	<i>Germacrene</i>	0,05
22	14,685	<i>Cadina-1 (10), 4-diene</i>	0,14
23	15,483	<i>Benzoic acid cis-3-hexenyl ester</i>	1,44
24	15,707	<i>9-(Benzoyloxy)-9-borabicyclo[3.3.1]nonane</i>	0,30

2.3 Depresi

Depresi merupakan gangguan suasana hati yang ditandai dengan adanya perasaan sedih yang menetap dan hilangnya minat dalam aktivitas yang biasanya disenangi yang diikuti dengan ketidakmampuan untuk melakukan aktivitas sehari-hari kurang lebih selama dua minggu (Dirgayunita, 2016). Stresor menjadi penyebab pada depresi. Terjadinya respon stres adalah akibat adanya stresor yang timbul dari beberapa faktor dalam kehidupan manusia. Berbagai sumber stresor antara lain adalah kondisi fisik, mental dan sosial yang dapat timbul di lingkungan keluarga, pekerjaan dan masyarakat (Nurtanti, 2024). Stresor dapat mengaktifkan respons sistem saraf simpatik proinflamasi dengan pelepasan adrenalin (AD) dan noradrenalin (NA) kemudian dari kelenjar adrenal dan saraf simpatik masing-masing mengaktifkan faktor

transkripsi dalam sel-sel penghasil sitokin. Sitokin mencapai otak dengan merangsang saraf vagus aferen atau dengan melalui molekul aktif atau dengan melintasi sawar darah-otak. Saraf vagus aferen menyampaikan informasi ke daerah otak yang terlibat dalam pengaturan suasana hati, kepekaan terhadap ancaman sosial, motivasi dan gairah. Pada saat sitokin mencapai otak maka dapat mengubah metabolisme neurotransmitter seperti serotonin dan dopamin, yang disregulasinya terkait erat dengan depresi. Oleh karena itu, aktivasi sitokin proinflamasi menyebabkan perubahan kognitif, emosional dan perilaku yang dapat mengakibatkan gangguan kecemasan atau depresi (Lizarraga-Valderrama, 2021).

Depresi dibagi menjadi tiga derajat (ringan, sedang dan berat) yang ditandai dengan kemunculan gejala yang utama, yaitu sedih terus-menerus, hilangnya minat dan rasa gembira, kurang berenergi yang menuju meningkatnya rasa mudah merasa lelah dan adanya penurunan aktivitas. Gejala depresi antara lain penurunan perhatian dan konsentrasi, kurangnya rasa percaya diri dan harga diri, merasa bersalah dan tidak berguna, pandangan tentang masa depan yang suram dan adanya rasa pesimis, berniat ingin membahayakan diri dan bunuh diri, tidur yang terganggu yaitu kesulitan tidur (insomnia) dan tidur berlebihan (hipersomnia) dan nafsu makan menurun. Semakin banyak dan berat gejala yang muncul mengindikasikan semakin berat depresi yang dialami seseorang (Tuasikal & Retnowati, 2019).

Dua faktor penyebab depresi yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi faktor genetik, struktur neurologis otak, hormonal, perbedaan gender dan kematangan emosi. Faktor internal meliputi pengalaman traumatis yang pernah dialami, parenting, lingkungan, permasalahan medis, dan rendahnya dukungan sosial (Tuasikal & Retnowati, 2019; Asmika *et al.*, 2013; K. Dobson & Dozois, 2008).

Faktor yang bisa menjadi pemicu depresi yang sering dikaitkan adalah genetik dan faktor biokimia. Berikut merupakan faktor depresi :

1. Faktor genetik memiliki beberapa bukti yang menunjukkan bahwa faktor genetik memainkan peran yang lebih kecil dalam depresi yang terjadi pada

tahap akhir dibandingkan dengan depresi yang terjadi pada tahap awal (Chand & Arif, 2021).

2. Faktor Biokimia. Sistem monoamina (dopamin, serotonin, dan norepinefrin) otak memainkan peran utama dalam perilaku normal. Pengaruh neurotransmitter monoamina terhadap suasana hati dan perilaku. Norepinefrin terkait dengan kewaspadaan, energi serta kecemasan, perhatian dan minat dalam hidup; serotonin terkait dengan kecemasan, obsesi dan kompulsi; dopamin terkait dengan perhatian, motivasi, kesenangan, penghargaan dan minat dalam hidup (J Nutt, 2008).

2.4 Antidepresan

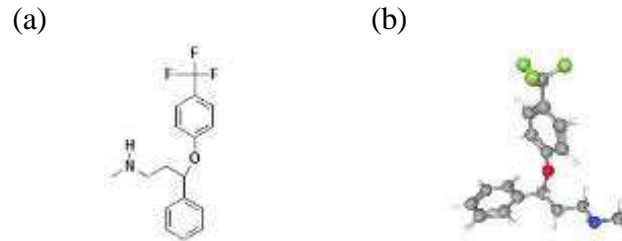
Antidepresan adalah terapi yang tujuannya mengurangi gejala yang timbul dari suatu penyakit dan mencegah terjadinya kekambuhan pada penyakit depresi. Antidepresan yaitu senyawa yang mampu meningkatkan kadar neurotransmitter di otak (Yuniastuti, 2013).

2.4.1 Terapi Farmakologi Depresi

Terapi farmakologi adalah terapi dengan penggunaan obat-obatan. Golongan obat antidepresan merupakan terapi utama pada gangguan antidepresan (Anggraeni & Maulina, 2023). Terapi dengan obat antidepresan sebagai berikut :

2.4.1.1 *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI)*

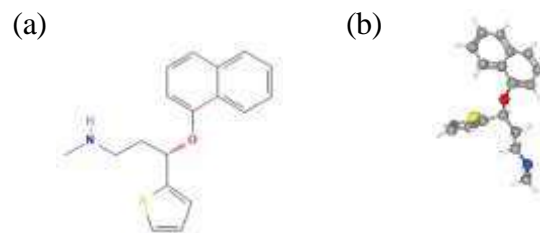
SSRI bekerja dengan memblokir selektif terhadap transporter serotonin. Mekanisme ini meningkatkan secara akut aktivitas sinaps serotoninergik. Penggunaan klinis ketika kondisi depresi mayor, gangguan panik dan cemas dan gangguan stres pasca trauma. Golongan obat SSRI lebih sering digunakan sebagai lini pertama karena cenderung lebih aman dengan efek samping obat yang minim. Contoh dari obat golongan ini adalah *Citalopram*, *Fluoxetine*, *Paroxetine* dan *Escitalopram* (Katzung, 2020).



Gambar 2.3 *Fluoxetine* (a. Gambar 2D, b. Gambar 3D)
(PubChem, 2024)

2.4.1.2 *Serotonine Norepinephrine Reuptake Inhibitor* (SNRI)

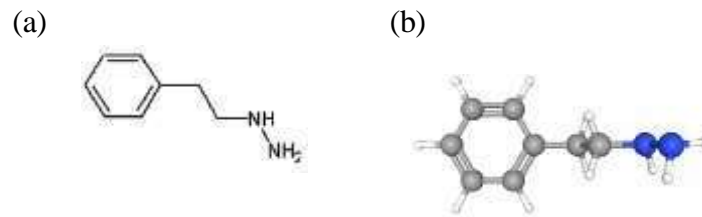
SNRI memiliki mekanisme kerja memblokir secara selektif moderat terhadap transpor serotonin dan transpor norepinefrin. Mekanisme ini menghasilkan peningkatan akut aktivitas sinaps serotonergik dan adrenergik. Penggunaan klinis digunakan pada depresi mayor, gangguan nyeri kronik dan fibromialgia. Contoh obat dari golongan SNRI adalah *duloxetine*, *Venlafaxine*, *Levomilnacipran* (Katzung, 2020).



Gambar 2.4 *Duloxetine* (a. Gambar 2D, b. Gambar 3D)
(PubChem, 2024)

2.4.1.3 *Monoamine Oxidase Inhibitors* (MAOIs)

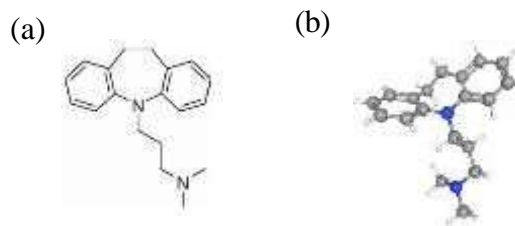
MAOIs memiliki mekanisme kerja dengan meningkatkan konsentrasi norepinefrin, serotonin, dan dopamine di dalam neuron sinaps melalui penghambatan dari sistem enzim *monoamine oxidase* (MAO). Penggunaan klinis pada kondisi depresi mayor yang tidak berespons terhadap obat lain dan penyakit Parkinson dengan Selegiline. Golongan obat ini sudah jarang digunakan dikarenakan dampak efek samping toksik yang paling sering terjadi adalah hipotensi dan hipertensi. Contoh dari golongan obat MAOIs yaitu *Phenelzine*, *Selegiline* dan *Tranylcypromine* (Katzung, 2020).



Gambar 2. 5 *Phenelzine* (a. Gambar 2D, b. Gambar 3D)
(PubChem, 2024)

2.4.1.4 Trisiklik (TCA)

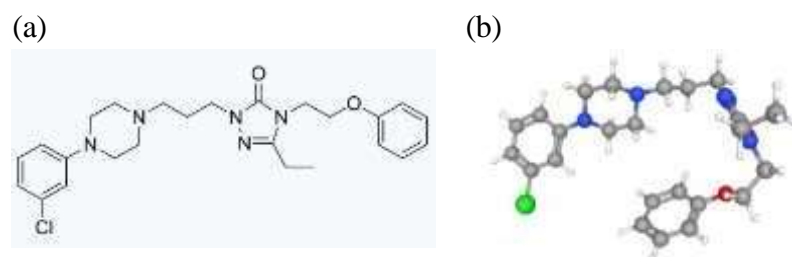
Mekanisme kerja dari TCA yaitu dengan menghambat ambilan dari norepinefrin dan 5-HT, menghambat adrenergik, kolinergik dan reseptro histaminergik. Penggunaan klinis pada kondisi depresi mayor yang tidak berespons terhadap obat lain dan gangguan nyeri kronik. Contoh dari obat golongan ini adalah *imipramine*, (Katzung, 2020).



Gambar 2. 6 *Imipramine* (a. Gambar 2D, b. Gambar 3D)
(PubChem, 2024)

2.4.1.5 Modulator Reseptor 5-HT

Mekanisme kerja dari golongan ini adalah menghambat reseptor 5-HT. Pada nefazodon secara moderat menghambat penyerapan kembali serotonin dan noradrenalin. Penggunaan klinis pada kondisi depresi mayor. Contoh obat dari golongan ini adalah *Nefazodone* dan Trazodon (Katzung,2020).



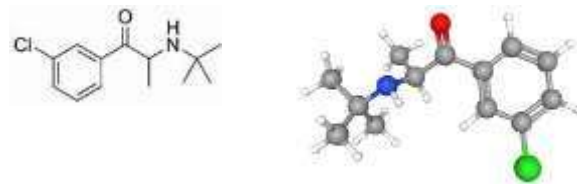
Gambar 2. 7 *Nefazodone* (a. Gambar 2D, b. Gambar 3D)
(PubChem, 2024)

2.4.1.6 Tetrasiklik, unisiklik

Mekanisme dari golongan obat ini yaitu pada Bupropion meningkatkan aktivitas norepinefrin dan dopamin, Mirtazapine meningkatkan pelepasan norepinefrin dan serotonin . Penggunaan klinis pada kondisi depresi mayor dan berhenti merokok. Contoh obat dari golongan obat ini adalah Bupropion, Mirtazapin, dan Maprotilin (Katzung, 2020).

(a)

(b)



Gambar 2. 8 Bupropion (a. Gambar 2D, b. Gambar 3D)
(PubChem, 2024)

2.4.2 Terapi Non Farmakologi

Terapi Non Farmakologi adalah terapi tanpa menggunakan obat (Fajri *et al.*, 2022). Berikut ini merupakan terapi non farmakologi :

2.4.2.1 Psikoterapi

Psikoterapi interpersonal adalah terapi psikologis singkat untuk depresi (Law, 2011). Psikoterapi interpersonal (IPT) merupakan psikoterapi baru yang dikembangkan dan sudah terbukti efektif untuk menangani permasalahan klinis, termasuk dalam kasus depresi. IPT bertujuan sebagai pembantu pasien meningkatkan hubungan interpersonal yang dimilikinya dan belajar untuk mendapatkan dukungan emosional dan praktis. IPT cocok untuk permasalahan yang terkait dengan konflik interpersonal seperti perceraian, kekerasan dalam rumah tangga, konflik berkepanjangan baik antara suami istri maupun anak dan orang tua (Kurniawan & Noviza, 2018).

2.4.2.2 Terapi kebiasaan kognitif

Terapi ini gabungan dari teknik *cognitive* dan *behavioral* merupakan bentuk perawatan secara psikologis dimana terapi ini menekankan upaya membantu klien untuk belajar untuk menjadi

terapis bagi diri sendiri. Terapi ini berfokus pada kegiatan untuk pengelolaan dan monitoring pola pikir klien supaya mengurangi pikiran-pikiran negatif (Rahmawati *et al.*, 2024). *Cognitive* berfokus dengan menganalisis pikiran dan mengubah yang destruktif agar seseorang dapat hidup dengan efektif. Terapi ini berfokus kepada bagaimana manusia membangun pengalamannya dan menjadikan pengalaman tersebut sesuatu yang realistis serta hubungannya dengan masa lalu yang tersimpan di dalam memori. *Behavioral* berfokus pada modifikasi perilaku untuk menolong seseorang meninggalkan perilaku yang maladaptif, sehingga dapat menghasilkan perilaku yang adaptif (Sauran & Salewa, 2022).

2.4.2.3 Aromaterapi

Aromaterapi adalah terapi menggunakan essential oil yang dapat membantu memperbaiki atau menjaga kesehatan. Aromaterapi digunakan sebagai alternatif relaksasi tubuh yang perannya dalam pengaturan emosional dengan mekanisme mengurangi stres dan menimbulkan perasaan ketenangan dengan merangsang saraf penciuman yang akan mempengaruhi pusat penghasil transmitter dalam hal ini adalah serotonin atau dopamin (Suriyati, 2019; Manalu, 2019). Mekanisme aromaterapi yaitu saat aroma dihirup akan menstimulasi reseptor silia saraf olfaktorius yang terdapat di epitel olfaktori sehingga aroma tersebut diteruskan ke bulbus olfaktorius melalui saraf olfaktorius (Muchtaridi, 2015). Bulbus olfaktori akan menerima aroma dan berlanjut pada sistem saraf pusat yang akan memicu emosional dan mengekskresikan zat sedatif yang akan membuat tubuh lebih rileks dan akan memulihkan kondisi psikis seperti emosi, perasaan, pikiran dan keinginan (Pradana *et al.*, 2023; Sundara *et al.*, 2022). Berikut beberapa penggunaan aromaterapi yaitu :

1) Inhalasi

Minyak essential akan lebih efektif penghirupannya dengan menggunakan uap minyak yang dituangkan ke dalam wadah berisi air panas. Penghirupan diarahkan langsung ke dalam rongga hidung dan rongga mulut. Keuntungan dari metode ini adalah pemberiannya tidak memengaruhi saluran cerna (Pratiwi & Subarnas, 2020). Bentuk lain dari metode inhalasi yaitu dengan lilin aromaterapi yang akan menghasilkan aroma dan memberikan efek terapi saat dibakar (Melviani *et al.*, 2021). Dupa juga merupakan bentuk pemberian inhalasi dengan membakar pada bagian ujungnya. Hasil pembakaran akan menimbulkan respon bau, hal ini akan merangsang kerja sel neurokimia otak (Widayani *et al.*, 2013). Sabun aromaterapi juga merupakan sabun yang dibuat dengan adanya penambahan minyak atsiri dalam formula yang berfungsi sebagai pemberi rasa segar pada tubuh (Pratiwi *et al.*, 2023).

2) Pijat Aromaterapi

Metode ini diperlukan perhatian lebih untuk pemilihan minyak essentialnya selain itu teknik pijatan juga memiliki pengaruh terhadap efek terapi yang dihasilkan (Pratiwi & Subarnas, 2020). Pada metode ini biasanya digunakan krim pijat untuk memijat dengan menggunakan minyak atsiri sekitar 2% yang akan memberikan rasa panas pada tubuh dan aroma yang wangi dari minyak atsiri (Sofiani & Pratiwi, 2019).

3) *Aromatherapeutic baths*

Metode ini memiliki mekanisme ketika tubuh terendam dalam air maka minyak essential akan berpenetrasi ke dalam aliran darah melalui sebaceous, kelenjar keringat dan jalan napas yang akan memberi efek terapi pada kulit, saraf dan kardiovaskular. *Aromatherapeutic baths* dilakukan dengan merendamkan sebagian tubuh dalam air hangat dengan suhu sekitar 40°C selama lima belas hingga tiga puluh menit serta tidak menggunakan

sabun yang berbusa. Kemudian minyak essential di teteskan kedalam air (Pratiwi & Subarnas, 2020). Terapi ini juga dapat menggunakan garam aromaterapi yang dapat merelaksasikan tubuh dan perasaan tenang dengan terbentuknya *foaming* (Sofiani & Pratiwi, 2019).

4) Sauna

Sauna dapat meningkatkan produksi oksida nitrat yang berpengaruh pada proses relaksasi, pembuluh darah dan aliran darah. Metode ini dilakukan dengan suhu tinggi yang diberikan di dalam sauna yang akan melebarkan pembuluh darah, sehingga minyak essential akan terfasilitasi untuk berpenetrasi dalam tubuh sehingga akan menstimulasi jalan napas dan membuat tubuh rileks dan meningkatkan kondisi mental, fisik dan emosional (Wulandari *et al.*, 2023; Pratiwi & Subarnas, 2020).

2.4.2.4 Terapi tertawa

Tertawa dapat memperbaiki suasana hati dan membantu membentuk pola pikir yang lebih positif. Tertawa juga dapat melebarkan pembuluh darah sehingga memperlancar aliran darah ke seluruh tubuh, peningkatan oksigen dalam darah akan mempercepat penyembuhan, melatih otot dada, pernafasan, wajah, kaki, dan punggung sehingga seseorang merasa lebih rileks dan bugar. Tertawa bisa mengurangi peredaran dari dua hormon epinefrin dan kortisol yang dapat menghalangi proses penyembuhan penyakit baik fisik maupun mental (Nurwela *et al.*, 2015).

2.4.2.5 Terapi musik

Terapi musik memiliki mekanisme menggetarkan gendang telinga yang kemudian diteruskan ke dalam sistem saraf pusat tepatnya pada sistem limbik yang berkaitan dengan emosi dan perasaan, terapi musik memiliki efek terhadap gelombang alfa. Dengan adanya stimulus yang sampai dari musik akan terjadi pembentukan gelombang alfa yang sempurna dan

merangsang pelepasan neurotransmitter serotonin yang akan dirubah menjadi hormon melatonin yang memberikan efek relaksasi dan perubahan mood sehingga dapat menurunkan depresi. Terapi musik yang diberikan juga harus memiliki sifat relaksasi yaitu dengan tempo sedang dan lambat yaitu 40-80 bpm (*beats per minute*) (Zulkarnain *et al.*, 2023).

2.5 Lilin

Lilin merupakan salah satu sumber penerangan yang terdiri dari sumbu yang diselimuti oleh bahan bakar padat (Minah *et al.*, 2017). Salah satu aplikasi penggunaan minyak atsiri di industri yaitu pembuatan lilin aromaterapi. Lilin aromaterapi sebagai alternatif pengobatan yang dapat dirasakan khasiatnya dengan indra penciuman. Lilin aromaterapi akan menghasilkan aroma dan memberikan efek terapi saat dibakar (Melviani *et al.*, 2021). Lilin aromaterapi memakai minyak aroma yang terbuat dari bahan dasar minyak atsiri (Zuddin *et al.*, 2019).

2.5.1 Bahan- Bahan Pembuatan Basis Lilin

Berikut merupakan basis yang digunakan pembuatan lilin :

2.5.1.1 Paraffin wax

Paraffin wax dibuat dari minyak bumi yang penggunaannya menghasilkan polutan yang buruk bagi kesehatan. Bahan ini tersusun dari senyawa organik yang mudah untuk menguap yang memiliki potensi meracuni tubuh. Jangka panjang dari penggunaan bahan ini adalah meningkatnya risiko terkena gangguan organ napas dan kanker (Oktarina *et al.*, 2021).

2.5.1.2 Beeswax

Lilin lebah merupakan produk kompleks yang disekresikan dalam bentuk cair oleh kelenjar lilin khusus di perut lebah pekerja yang masih muda (Fratini *et al.*, 2016). *Besswax* mempunyai sifat sebagai pengikat yang baik, membantu untuk mendapatkan massa yang homogen dan meningkatkan kekerasan sediaan (Ambari *et al.*, 2020).

2.5.1.3 Soywax

Lilin kedelai terbuat dari minyak kedelai. Minyak kedelai terbuat dari pemisahan biji-bijian kedelai menggunakan alat *press* atau menggunakan pelarut untuk mengekstrak minyaknya. Minyak tersebut kemudian dicampur dengan larutan hidrogen minyak tersebut mengeras dan menjadi lilin. Lilin kedelai merupakan salah satu bahan untuk menggantikan parafin yang ramah lingkungan. Lilin kedelai memiliki durasi pembakaran 60-80% lebih lama dibandingkan dengan lilin paraffin (Muhammad *et al.*, 2022).

2.5.1.4 Asam stearat

Asam stearat adalah campuran dari asam organik padat yang diperoleh dari lemak dan minyak yang sebagian besarnya terdiri atas asam oktadekonat dan asam heksadekonat, yang berupa zat padat keras mengkilat menunjukkan susunan hablur putih atau kuning pucat, mirip seperti lemak lilin (Febriyanti, 2015). Lilin yang terbuat dari asam stearat memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah lebih kokoh atau tidak mudah patah, waktu nyala lebih lama, lelehan lilin lebih sedikit (Yulia *et al.*, 2024).

2.5.2 Evaluasi Mutu Fisik Lilin

Evaluasi mutu fisik terdiri dari :

2.5.2.1 Uji Organoleptis

Uji ini dilakukan melalui pengamatan sensori seperti aroma, rasa, warna, penglihatan, pengecap dan peraba (Styaningrum *et al.*, 2023). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia tentang pembuatan lilin tahun 1989, keadaan fisik lilin adalah warna yang sama dan merata, tidak retak, tidak cacat dan tidak patah. Letak sumbu lilin terletak di pusat lilin (Ginting *et al.*, 2022).

2.5.2.2 Uji Titik Leleh

Uji ini dilakukan untuk mengetahui titik leleh lilin yang telah memenuhi persyaratan SNI berdasarkan konsentrasi bahan

untuk pembuat lilin (Wulandari, 2022). Pengujian dilakukan dengan pipa kapiler, dengan memasukkan lelehan lilin dalam pipa kapiler, disimpan dalam lemari es selama 16 jam dengan suhu 4°C-10°C. Kemudian pipa kapiler diikat pada thermometer dan dimasukkan dalam gelas kimia 500 mL berisi aquadest setengah bagian. Aquadest dipanaskan lalu diperhatikan gerakan pertama lilin dalam pipa kapiler, dicatat angka yang tertera pada *thermometer* sebagai titik leleh lilin (Musdar *et al.*, 2024). Titik leleh lilin berdasarkan SNI yaitu pada 50-58 C (Ginting *et al.*, 2022) .

2.5.2.3 Uji Waktu Bakar

Uji ini merupakan uji yang menunjukkan daya tahan lilin dari bentuk utuh hingga habis terbakar (Wulandari, 2022). Waktu bakar ini didapatkan dari selisih waktu awal pembakaran dan pada waktu sumbu lilin habis terbakar . Ukuran dan letak sumbu juga mempengaruhi waktu bakar, semakin besar ukuran sumbu atau semakin pinggir letak sumbu lilin akan semakin cepat lilin terbakar (Hamdani *et al.*, 2023). Semakin lama waktu bakar yang dibutuhkan maka karakter lilin semakin baik (Lestari *et al.*, 2020).

2.6 Mencit (*Mus musculus L.*)

2.6.1 Klasifikasi mencit

Klasifikasi dari mencit sebagai berikut (Sri Rezeki *et al.*,2018) :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Bangsa : Rodentia
Suku : Muridae
Famili : *Murinae*
Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus L.*



Gambar 2. 9 Mencit (*Mus musculus* L.) (Khairani *et al.*,2024)

2.6.2 Mencit jantan dan galur BALB/C

Mencit merupakan salah satu hewan yang sering digunakan sebagai hewan uji/coba, di laboratorium mencit digunakan sebanyak empat puluh persen. Mencit digunakan karena memiliki kelebihan siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak setiap kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah untuk ditangani, sifat produksi dan karakteristik reproduksi mirip hewan mamalia yang lain. Mencit merupakan hewan mamalia yang mempunyai ciri fisiologi dan biokimia yang hampir serupa dengan manusia (Yusuf *et al.*, 2022). Mencit lebih aktif pada saat malam hari ketika malam hari (nokturnal) ketika ditempatkan bersama-sama.

Mencit jantan banyak digunakan dalam penelitian dikarenakan aktif dalam beraktivitas (Oktiansyah, 2015). Selain itu mencit jantan lebih banyak digunakan dikarenakan tidak dipengaruhi oleh hormonal seperti mencit betina. Mencit jantan memiliki sedikit hormon estrogen serta kondisi hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina, pada mencit betina terdapat perubahan kondisi hormonal pada masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut (Noer *et al.*, 2015). Mencit yang digunakan yaitu galur mencit Balb/C merupakan mencit yang memiliki kepekaan yang tinggi, sifat fisiologi yang lebih kuat, sehingga sering digunakan dalam pengujian histopatologi (Rahmah, 2016; Kadek *et al.*, 2012). Mencit ini dianggap sebagai salah satu galur yang paling konsisten responsif dalam uji perilaku keputusan (Neufeld *et al.*, 2018).

2.6.3 Etika Memanfaatkan Hewan Coba

Konsep yang digunakan adalah 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) yaitu merupakan sarana untuk menghilangkan segi-segi tidak manusiawi (*inhumane*) pada penggunaan hewan coba (KEPPKN, 2020). Pengertian dari 3R yaitu :

2.6.3.1 Replacement (menggantikan)

Upaya untuk menghindari penggunaan hewan dalam penelitian. Namun apabila untuk membuktikan suatu hipotesis diperlukan penggunaan hewan, harus dimulai dengan menggunakan hewan yang paling rendah tingkatannya, yakni hewan yang tidak mampu merasa sakit, tidak mampu merasa nyeri, dan *distress*, atau apabila memungkinkan cukup menggunakan metode *in-vitro* (memakai kultur sel ataupun jaringan) atau simulasi komputer (KEPPKN, 2020).

2.6.3.2 Reduction (pengurangan)

Jumlah hewan harus ditelaah dengan menggunakan berbagai macam penghitungan sehingga digunakan jumlah hewan yang sesedikit mungkin tanpa menghilangkan kesahihan dan arti dari suatu penelitian. Penggunaan hewan coba yang seragam dari sumber yang sama, berkualitas baik (sehat), serta penerapan metode pemeliharaan yang optimal (KEPPKN, 2020).

2.6.3.3 Refinement (perbaikan)

Upaya untuk modifikasi baik dalam manajemen maupun prosedur penelitian dengan tujuan meningkatkan kesejahteraan hewan dan mengurangi serta menghilangkan rasa nyeri dan stres pada hewan. Jumlah hewan harus ditelaah dengan menggunakan berbagai macam penghitungan sehingga digunakan jumlah hewan yang sesedikit mungkin tanpa menghilangkan kesahihan dan arti dari suatu penelitian (KEPPKN, 2020).

Pemeliharaan dan perlakuan yang dilakukan harus mengacu pada asa kesejahteraan hewan yang dikenal dengan *5 Freedoms* atau disingkat dengan 5F (KEPPKN, 2020) yang terdiri dari *Freedom from hunger and*

thirst yaitu bebas dari rasa lapar dan haus. *Freedom from discomfort* yaitu bebas dari rasa tidak nyaman. *Freedom from pain, injury and diseases* yaitu bebas dari rasa sakit, luka dan penyakit. *Freedom from fear and distress* yaitu bebas dari rasa takut dan stres. *Freedom to express their normal behavior* yaitu bebas untuk mengekspresikan tingkah laku normal.

2.7 Pengujian Antidepresan

2.7.1 Instrumen Pengujian

Beberapa instrumen pengujian sebagai berikut yaitu :

2.7.1.1 Tail suspension Test (TST)

Metode ini diukur dengan cara mengukur waktu saat mencit berhenti bergerak saat ekor digantung. Kondisi tidak bergerak (imobilitas) pada saat menggantung tidak bergerak, hanya menggerakkan sedikit kaki depan, atau hanya berayun akibat momentum dari gerakan sebelumnya (Vanessa & Brian, 2020). Box TST terbuat dari papan kayu dengan ukuran 30 x 30 x 35 cm. Terdapat tiga kompartemen yang identik di dalam alat yang disekat-sekat dengan papan kayu guna pengujian beberapa hewan uji sekaligus dan mencegah adanya interaksi satu sama lain. Batang suspensi terbuat dari senar dengan panjang 3cm yang lengkap dengan selang kecil yang berfungsi melindungi ekor mencit dari cedera. Mekanisme kerja dari alat ini adalah dengan menggantungkan mencit dengan melewati ekornya pada selang kemudian direkatkan dengan selotip. Jarak antara kepala mencit dan lantai peralatan kurang lebih 20 cm (Sausan *et al.*, 2023).

2.7.1.2 Forced Swim Test (FST)

Uji ini dilakukan dengan memberenangkan hewan uji secara paksa untuk memicu keputusan. Hewan uji ditempatkan di dalam tangki transparan yang tidak dapat dihindari kemudian diisi dengan air, selanjutnya perilaku akan diukur. Alat induksi ini berbentuk tangki silinder dengan ukuran tinggi 30 cm x diameter 20 cm yang terbuat dari akrilik transparan. Ketinggian air

yang akan diisi adalah 15 cm dari dasar. Pembatas berbentuk persegi panjang berjumlah dua set dengan tinggi 35 cm x lebar 22 cm x kedalaman 22 cm, dilengkapi dengan tiga dinding sebagai latar belakang dan pembatas antar tangki agar hewan uji tidak saling berinteraksi (Can *et al.*, 2012)

2.7.1.3 Sucrose Splash Test (SST)

Metode ini bekerja dengan cara mencit ditempatkan dalam kandang berlapis kain lalu dicipratkan dengan larutan sukrosa yang kental (10%) dengan memakai botol semprot. Durasi mencit membersihkan diri (grooming), baik sedang menjilat maupun menggaruk, dicatat selama 5 menit (Vanessa & Brian, 2020).

2.7.1.4 Open Field Test (OFT)

Metode uji perilaku ini dengan menempatkan hewan uji di lingkungan yang tidak dikenal tanpa rangsangan tambahan. Pada uji perilaku ini dapat dilihat awalnya akan tetap berada di dekat dinding dan menghindari bagian tengah. Hewan normal biasanya akan beradaptasi dengan ruangan tersebut dan akhirnya menjelajahi area tengah sementara hewan yang cemas akan menghabiskan lebih sedikit waktu di area terbuka dan lebih banyak waktu di dekat dinding. Variabel yang diukur biasanya mencakup jarak yang ditempuh hewan tersebut, jumlah kotoran yang dikeluarkan, dan jumlah tinja yang dikeluarkan selama pengujian (Frynta *et al.*, 2018; Carter & Shieh, 2015).

2.7.1.5 Conditioned Place Preference (CPP)

Metode ini menguji perilaku dari hewan dengan melihat hewan lebih menyukai salah satu tempat dari tempat yang lainnya (Huston *et al.*, 2013). Percobaan CPP dilakukan dalam alat yang terdiri dari dua atau tiga kompartemen yang dapat bervariasi. Kompartemen dapat dicat dengan warna yang berbeda, dapat memiliki jenis lantai yang berbeda, dan atau dapat memiliki aroma yang berbeda yang ditempatkan di bawah lantai (Yates, 2023).

2.7.1.6 *Elevated Plus Maze (EPM)*

Metode ini merupakan salah satu tes yang digunakan untuk mengukur perilaku kecemasan. Alat ini berbentuk lengan yang ditinggikan 55 cm di atas tanah. Terdiri dari dua lengan terbuka (masing-masing memiliki panjang dan lebar 45 cm x 10 cm), dua lengan tertutup (masing-masing berukuran panjang, lebar, dan tinggi 45 cm x 10 cm x 30 cm), dan kompartemen tengah (10 cm x 10 cm). Setiap mencit diposisikan di kompartemen tengah dengan menghadap ke lengan terbuka dan dibiarkan bebas mencari labirin selama 5 menit (Knight *et al.*, 2021). Prinsip penilaian pada EPM yaitu semakin ansietas mencit maka semakin sedikit keinginan untuk mengeksplorasi tempat yang tidak aman dan berisiko pada lengan terbuka, mencit lebih memilih tempat yang gelap dan tertutup sebagai tempat aman untuk bersembunyi. Sebaliknya apabila nilai ansietasnya rendah maka mencit akan menghabiskan waktu untuk mengeksplorasi tempat berbahaya dan berisiko di lengan terbuka (Hasanusi *et al.*, 2020).



Gambar 2. 10 *Elevated Plus Maze* (Carter & Shieh, 2015)

2.7.2 Induksi Hewan Uji

Induksi pada hewan uji sebagai berikut yaitu :

2.7.2.1 *Electrical Foot Shock* (Renjatan Listrik di Kaki)

Metode ini dilakukan dengan memberikan perlakuan stres berupa renjatan listrik dengan arus listrik 5-30 mA, dengan tegangan 25V dan frekuensi 60 Hz selama 14 hari (Isramilda & Edward, 2020). Renjatan listrik dengan intensitas yang bervariasi akan menghasilkan perubahan perilaku dan neurokimia yang mencerminkan depresi, kecemasan, dan gangguan stres pascatrauma (PTSD) pada manusia. Hewan umumnya tidak terbiasa dengan kejutan kaki dengan renjatan listrik dibandingkan dengan pemicu stres lainnya, termasuk suara keras, cahaya terang, dan suhu panas dan dingin. Renjatan listrik pada kaki merupakan stimulus paling banyak digunakan untuk menghasilkan jumlah ketidaknyamanan yang terukur pada hewan karena keuntungan eksperimentalnya dalam mengendalikan intensitas dan durasi (Bali & Jaggi, 2015).

2.7.2.2 Induksi Stres Kronik Ringan

Metode ini memberi stresor stres kepada hewan uji selama lima minggu dan tiap satu minggu diberikan dua sampai tiga stresor. Stresor berupa memuaskan mencit selama dua belas jam dengan tidak memberi makan, selanjutnya suara predator dengan suara kucing atau anjing selama empat jam, lalu guncangan pada kandang dengan digoyangkan kanan dan kiri sebanyak lima belas kali per menit, berikutnya pergantian siklus gelap dan terang, menggunakan serbuk gergaji basah dan mengotorkan kandang dengan potongan plastik, taburan tanah atau pasir dan kerikil (Dwiprasetya, 2016).

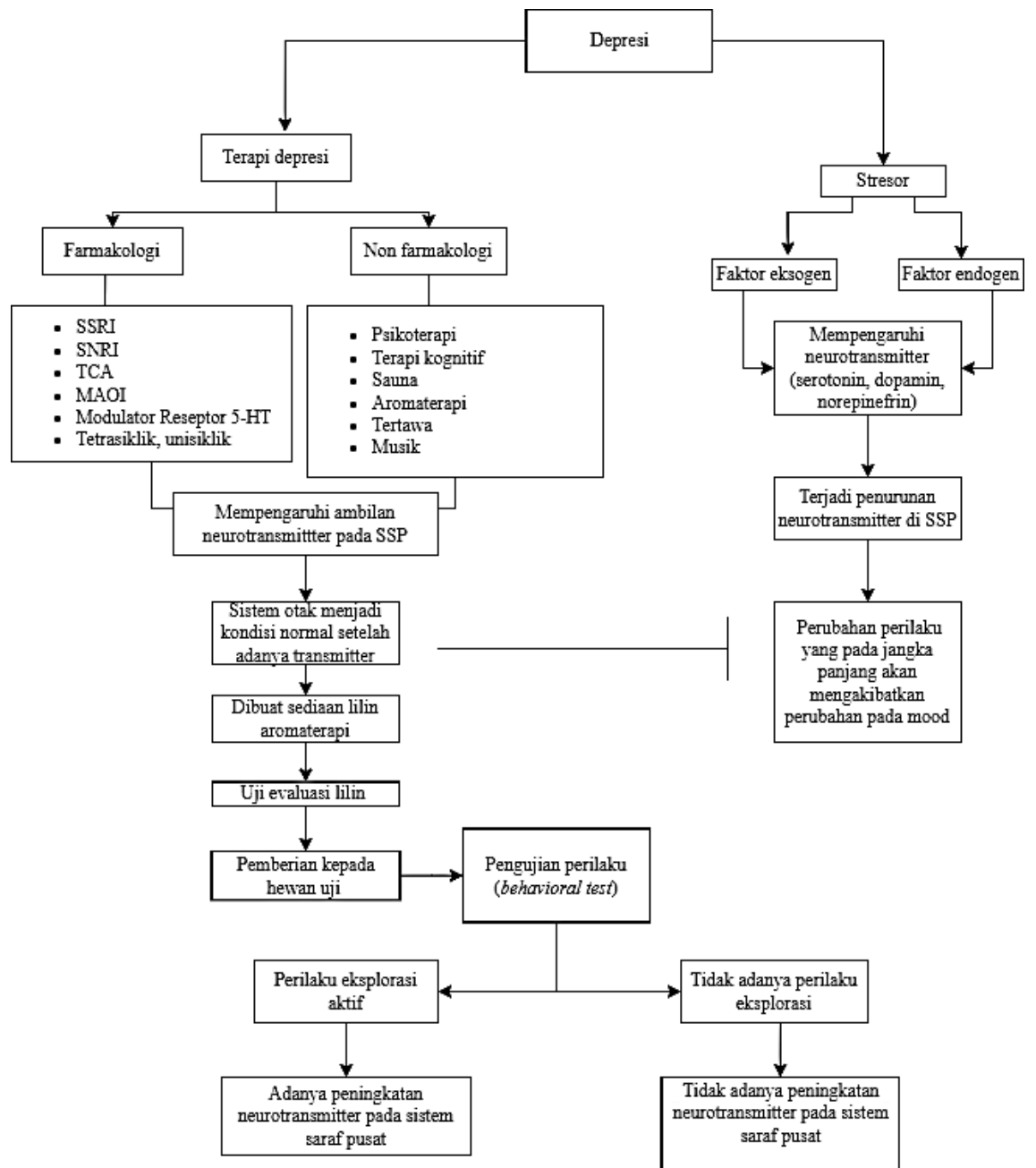
2.8 Histologi otak

Histologi adalah salah satu ilmu yang mempelajari mengenai struktur secara detail menggunakan mikroskop (Wulan *et al.*, 2022). Histopatologi

adalah studi yang mempelajari mengenai jaringan yang bermasalah. Histopatologi merupakan alat medis investigasi penting yang didasarkan pada studi histologi manusia atau hewan, dilakukan dengan cara memeriksa bagian jaringan yang tipis di bawah mikroskop cahaya. Tahapan-tahapan dari histopatologi terdiri dari beberapa prosedur yang dapat memungkinkan visualisasi bagian mikroskopis jaringan dan sel serta dapat mengenali adanya perubahan struktural spesifik penyakit (Slaoui & Fiette, 2011).

Metode pewarnaan rutin yang paling banyak digunakan dalam pembuatan preparat histologis adalah Hematoksin-Eosin. Hematoxylin-Eosin terdiri dari dua jenis zat warna, yaitu hematoxylin dan eosin. Hematoxylin merupakan zat warna alami yang dapat mengikat inti sel sehingga terwarnai menjadi biru dengan ikatan yang lemah. Eosin merupakan zat warna yang berfungsi untuk mewarnai sitoplasma menjadi merah (Jumardi *et al.*, 2023).

2.9 Kerangka Konseptual



Gambar 2. 11 Kerangka konseptual

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2024 - Mei 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi STIKES Dirgahayu Samarinda, Laboratorium Konservasi Kimia Biomaterial Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Klinik Hewan Satwa Sehat Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah *Elevated Plus Maze*, Induksi listrik, *mikrotome blade* (Leica 819), timbangan analitik (PRseries Ohaus), *hotplate* (Scilogex HP380-Pro), cetakan lilin, blok parafin (Indopath), Termometer (Shinwa), alat-alat gelas laboratorium (Pyrex).

3.2.2 Bahan

Oleoresin keruing, minyak melati, *beeswax* (Arjun *Beeswax*), asam stearat (Wilmar), *aquadest*, alkohol 70% p.a (MERCK), Alkohol 95%, p.a (MERCK), alkohol 100% p.a (MERCK), eosyn (Merck), paraffin (Merck), aluminium foil, *xylol* (Scytex), *Mayer's egg albumin* (LOBA CHEMIE PVT.LTD) dan sumbu lilin, Buffered Neutral Formalin 10% (Indopath), mencit jantan (galur BALB/C).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Metode penelitian bersifat eksperimental laboratorik yang melakukan pengujian potensi lilin aromaterapi sebagai antidepresan dengan variasi konsentrasi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati.

3.3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi antidepresan dari beberapa variasi konsentrasi lilin aromaterapi dari kombinasi oleoresin keruing dan melati terhadap penurunan kecemasan pada mencit. Induksi dilakukan menggunakan listrik yang bertujuan untuk membuat hewan uji mengalami depresi. Kemudian perilaku dari hewan uji (*behavioral test*) akan diukur dengan alat *Elevated Plus Maze*. Dilakukan pengamatan untuk melihat gambaran otak dengan cara pewarnaan jaringan pada otak hewan uji.

3.3.3 Definisi Operasional

Beberapa definisi operasional di dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Oleoresin Keruing	Oleoresin keruing adalah hasil sadapan dari pohon keruing yang berupa cairan kental yang memiliki wangi khas (Christiana, 2021; Wahyudianto <i>et al.</i> , 2022))
Minyak melati	<i>Essensial</i> oil atau minyak essens dari bunga melati yang sifatnya sebagai pemberi aroma yang khas. Melati mengandung minyak ester yang akan menghasilkan aroma yang berfungsi sebagai pengatur suasana hati, menghilangkan kecemasan, stres, ketegangan dan depresi (Syafitri <i>et al.</i> , 2019).
Antidepresan	Terapi antidepresan tanpa penggunaan obat-obatan yang mampu meningkatkan kadar neurotransmitter di otak (Yuniastuti, 2013; Fajri <i>et al.</i> , 2022).
Lilin Aromaterapi	Lilin aromaterapi memakai minyak aroma yang terbuat dari bahan dasar minyak atsiri (Zuddin <i>et al.</i> , 2019). Lilin aromaterapi akan menghasilkan aroma dan memberikan efek terapi saat dibakar (Melviani <i>et al.</i> , 2021).
<i>Elevated Plus Maze</i> (EPM)	<i>Elevated Plus Maze</i> merupakan metode yang digunakan untuk mengukur perilaku kecemasan yang berbentuk dua lengan terbuka dan dua lengan tertutup yang ditinggikan 55 cm di atas tanah (Knight <i>et al.</i> , 2021).
Histologi	Histologi adalah salah satu ilmu yang mempelajari mengenai struktur secara detail menggunakan mikroskop (Wulan <i>et al.</i> , 2022)
Depresi	Depresi adalah suatu keadaan dimana terganggunya fungsi normal manusia yang hubungannya dengan perasaan yang sedih yang ditandai dengan gangguan <i>mood</i> , gangguan pola tidur, gangguan makan, gangguan kecemasan dan konsentrasi menurun bahkan keparahan dari depresi menyebabkan kematian (Arafat <i>et al.</i> , 2022; Ningtyas <i>et al.</i> , 2019).

3.3.4 Fokus Penelitian

Fokus penelitian ini adalah untuk menggali potensi dari oleoresin keruing dan minyak melati sebagai antidepresan yang berpotensi dapat mempengaruhi neurotransmitter dengan dibuat sebagai aromaterapi dalam bentuk lilin. Penelitian ini menguji perilaku hewan uji mencit terhadap adanya induksi stres setelah pemberian sediaan lilin aromaterapi. Sebagai evaluasi dengan histologi pada jaringan otak hewan uji dilakukan pewarnaan untuk melihat adanya perubahan jaringan.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian yang digunakan adalah keruing dan melati.

3.4.2 Sampel penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah oleoresin keruing spesies *Dipterocarpus grandiflorus* dan minyak dari bunga melati (*Jasminum*) lilin aromaterapi yang diberikan pada mencit serta otak dari mencit.

3.4.3 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas : Kombinasi lilin aromaterapi variasi konsentrasi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati.
- b. Variabel terikat : Perubahan perilaku hewan uji dan perubahan histopatologi.

3.5 Determinasi Sampel

Determinasi minyak melati dilakukan di Laboratorium Konservasi Kimia Biomaterial Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada dengan menggunakan instrumen GC-MS, melalui teknik ini, setiap komponen volatil dan semi-volatil yang terkandung dalam sampel minyak melati dipisahkan secara efisien berdasarkan sifat fisiko kimianya melalui kolom kromatografi gas.

3.6 Uji Mutu Minyak Melati dengan GC-MS

Uji mutu minyak melati dengan instrumen GC-MS dilakukan dengan kondisi pengukuran : RTx-5 kapilari kolom (30 m x 0,25 mm I.D. dan 0,25 μ m); Suhu kolom 70°C; Suhu injeksi 290 °C; suhu pemrograman: suhu awal 50 °C (ditahan 5 menit) 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.

3.7 Formulasi lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati

Formula lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati dibuat sebanyak 15 gram dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Formula sediaan lilin aromaterapi

Bahan	Formula (%)				
	F0	F1	F2	F3	F4
Oleoresin keruing	0	5	10	15	20
Minyak melati	0	20	15	10	5
Asam stearat	25	15	15	15	15
<i>Beeswax</i>	75	60	60	60	60

Keterangan :

F0 : Formula oleoresin keruing 0%, minyak melati 0%

F1 : Formula oleoresin keruing 5%, minyak melati 20%

F2 : Formula oleoresin keruing 10%, minyak melati 15%

F3 : Formulasi oleoresin keruing 15%, minyak melati 10%

F4 : Formulasi oleoresin keruing 20%, minyak melati 5%

3.8 Pembuatan lilin aromaterapi kombinasi keruing dan minyak melati

Bahan ditimbang sesuai dengan formula, *soywax* dan asam stearat dilelehkan terpisah masing-masing di dalam cawan porselen di atas *waterbath* hingga meleleh (Oktarina *et al.*, 2021). Setelah menjadi basis maka ditambahkan

oleoresin keruing dan minyak melati sesuai dengan masing-masing formulasi sambil diaduk merata hingga homogen. Disiapkan cetakan lilin yang diberi sumbu pada bagian tengahnya kemudian dituangkan dan didiamkan sampai mengeras selama 2 jam (Butar-Butar *et al.*, 2024).

3.9 Evaluasi Mutu Fisik Lilin aromaterapi

3.9.1 Uji Organoleptik

Pengujian ini dilakukan dengan cara mengamati secara visual warna, bentuk lilin serta aroma setiap sediaan lilin aromaterapi yang telah dibuat (Riani *et al.*, 2023).

3.9.2 Uji Waktu Bakar

Sumbu lilin dibakar sampai lilin menyala dan selanjutnya kemudian dihitung waktunya hingga habis terbakar menggunakan stopwatch, maka akan didapatkan waktu bakar lilin dari selisih antara waktu awal pembakaran sumbu lilin serta pada saat sumbu lilin habis terbakar (Riani *et al.*, 2023).

3.9.3 Uji Titik Leleh

Pengujian dilakukan dengan pipa kapiler, dengan memasukkan lelehan lilin dalam pipa kapiler, disimpan dalam lemari es selama 16 jam dengan suhu 4°C-10°C. Kemudian pipa kapiler diikat pada thermometer dan dimasukkan dalam gelas kimia 500 mL berisi aquadest setengah bagian. Aquadest dipanaskan lalu diperhatikan gerakan pertama lilin dalam pipa kapiler, dicatat angka yang tertera pada *thermometer* sebagai titik leleh lilin (Musdar *et al.*, 2024).

3.10 Uji Antidepresan lilin aromaterapi

3.10.1 Preparasi hewan uji

Perhitungan penggunaan hewan uji menggunakan rumus berikut :

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

Gambar 3. 1 Rumus Federer (1991)

Kelompok uji terdiri dari 6 kelompok

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 15 + 5$$

$$n \geq 4$$

$n = 4$ ekor (dalam satu kelompok uji)

Hewan uji disiapkan yaitu mencit jantan sebanyak 36 ekor dengan umur dengan kisaran 2-3 bulan dan berat badan sekitar 25 gram. Banyaknya mencit di setiap kelompok yaitu 4 ekor namun dilebihkan 2 ekor di masing-masing kelompok untuk disiapkan mengantisipasi jika hewan uji utama mengalami masalah seperti kematian. Perlakuan kepada mencit terdapat pada tabel 3.3.

Tabel 3. 3 Perlakuan terhadap hewan uji

Kelompok Normal	Tanpa perlakuan apapun, tidak diinduksi dan tidak diberi pemaparan lilin
Kelompok kontrol negatif (-)	Diinduksi listrik dan diberi pemaparan lilin tanpa zat aktif yaitu F0
Kelompok 1	Diinduksi listrik dan diberi pemaparan lilin F1
Kelompok 2	Diinduksi listrik dan diberi pemaparan lilin F2
Kelompok 3	Diinduksi listrik dan diberi pemaparan lilin F3
Kelompok 4	Diinduksi listrik dan diberi pemaparan lilin F4

Selama satu minggu mencit dilakukan tahapan aklimatisasi, agar dapat melakukan adaptasi dengan lingkungan yang baru dengan cara menyamaratakan sikap kepada semua kelompok mencit sebelum induksi stres dilakukan (Kasem, 2023).

3.10.2 Determinasi hewan uji

Determinasi hewan uji dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Sistemika Hewan Universitas Mulawarman. Fungsi esensial determinasi hewan dalam sebuah penelitian adalah untuk menjamin validitas dan reliabilitas data yang dihasilkan. Determinasi hewan dilakukan dengan mengamati ciri fisik secara cermat. Kemudian, ciri-ciri ini dicocokkan menggunakan kunci determinasi dan dibandingkan dengan spesimen referensi. Apabila diperlukan, konfirmasi dari ahli juga diminta untuk memastikan keakuratan identifikasi.

3.1.1 Etika Penelitian

Dengan merujuk pada pedoman etik penelitian maka pengujian dengan hewan uji mencit mengikuti prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) yang dikombinasikan dengan 5 prinsip *freedom* dalam kesejahteraan hewan yaitu diantaranya *freedom from hunger and thirst, freedom from discomfort, freedom from pain, injury, and diseases, freedom from fear and distress, freedom to express natural behavior.*

3.10.4 Induksi stres pada hewan uji

Hewan uji mencit yang telah disiapkan diletakkan pada alat induksi yang dilapisi dengan plat besi dan akan dialirkan dengan listrik sebesar 0,4 mA. Mencit akan diinduksi dalam waktu satu menit setiap sepuluh detik, listrik akan mati dan hidup secara bergantian dalam waktu satu menit. Alat induksi dimodifikasi dengan dimensi (20 cm x 20 cm x 30 cm).

3.10.5 Pengujian Efek Antidepresan dengan lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati.

Mencit jantan dibagi menjadi 6 kelompok, tiap-tiap kelompok terdiri 4 ekor mencit. Penghirupan lilin aromaterapi ini akan dilakukan dengan menjenuhkan mencit dengan lilin aromaterapi selama 5 menit di dalam chamber. Berikut merupakan perlakuan pemaparan lilin aromaterapi pada masing-masing kelompok hewan uji (Musdar *et al.*, 2024) pada Tabel 3.3.

Tabel 3.4 Perlakuan penghirupan lilin aromaterapi :

Kelompok (-)	Lilin aromaterapi formula oleoresin keruing 0%, minyak melati 0%
Kelompok 1	Lilin aromaterapi formula oleoresin keruing 5%, minyak melati 20%
Kelompok 2	Lilin aromaterapi formula oleoresin keruing 10%, minyak melati 15%
Kelompok 3	Lilin aromaterapi formulasi oleoresin keruing 15%, minyak melati 10%
Kelompok 4	Lilin aromaterapi formulasi oleoresin keruing 20%, minyak melati 5%

Pengujian dengan Elevated Plus Maze dilakukan dengan mencit dimasukkan ke dalam alat EPM dan berada ditengah setelah 5 menit melewati proses penghirupan dari lilin aromaterapi kombinasi oleoresin keruing dan minyak melati. Mencit di alat uji EPM dilakukan dengan durasi

selama 5 menit diamati frekuensi masuknya mencit ke lengan terbuka dan tertutup serta waktu yang dihabiskan mencit di lengan yang terbuka dan tertutup dicatat (Kotsasi *et al.*, 2022).

3.10.6 Histologi otak mencit

Sebelum dilakukan histologi, mencit di terminasi dengan cara dislokasi vertebra *cervikal*, karena teknik pembiusan dapat berefek pada otak mencit. Setelah dilakukan terminasi maka kemudian dibedah bagian kepala mencit dan diambil bagian otaknya, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat hingga pewarnaan sebagai berikut :

3.10.6.1 Pembuatan preparat otak :

Setelah otak mencit diambil selanjutnya jaringan otak dimasukkan dalam dapar formalin dan difiksasi selama 24 jam. Dehidrasi jaringan dengan memasukkan dalam alkohol selama sembilan hari (hari pertama sampai ketiga alkohol 70%, hari keempat sampai keenam alkohol 95%, hari ketujuh sampai kesembilan alkohol 100%). Jaringan otak dimasukkan dalam *xylol/benzene* satu sampai 2 jam lalu dimasukkan dalam parafin cair yang panas dengan suhu 56 -59°C selama 3 jam (diperlakukan setiap 1 jam) (Tan *et al.*, 2023).

3.10.6.2 Preparat *bloking*

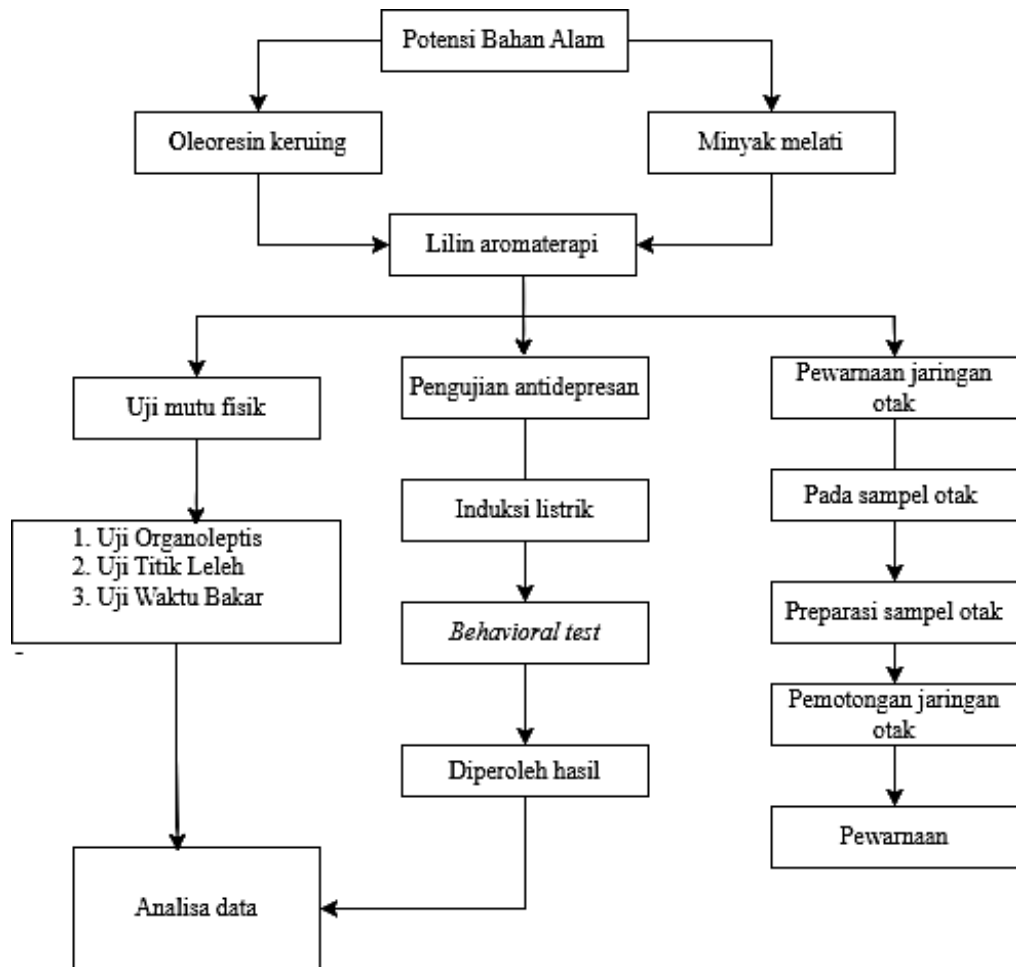
Disiapkan blok paraffin kemudian diisi dengan paraffin cair, permukaan jaringan yang akan diiris menghadap ke arah bawah. Setelah blok paraffin tersebut mengeras dimasukkan dalam lemari es agar lebih keras. Dilakukan pemotongan dengan mikrotom dengan meletakkan bagian yang akan diiris menghadap ke arah pisau mikrotom, diatur ketebalan irisan (5-7 mm). Setelah diiris hasil irisan yang membentuk lembar pita yang sedikit mengkerut harus dihilangkan kerutannya dengan digembungkan di atas air hangat dengan suhu 40 -50°C. Gelas objek diolesi dengan *Mayer's egg albumin* dengan jari tangan. Dimasukkan ke dalam air hangat sekitar 2/3 dari gelas objek hingga irisan jaringan sudah rata diletakkan di atas gelas objek, kemudian gelas objek diangkat dan dimiringkan

supaya air mengalir keluar. Gelas objek diletakkan di atas hot plate dengan suhu 60°C. Setelah dua jam preparat dapat dilakukan pewarnaan (Tan *et al.*, 2023).

3.10.6.3 Pewarnaan preparat

Preparat dimasukkan ke dalam gelas objek secara berturut-turut ke dalam gelas pewarnaan. Perlakuan dengan *xylol* 2 menit sebanyak dua kali kemudian diberikan alkohol 100% 2 menit sebanyak dua kali, selanjutnya dengan alkohol 95% 2 menit sebanyak dua kali, dibilas dengan air mengalir 3-5 menit, selanjutnya diberikan hematoxilin selama lima sampai sepuluh menit dan dibilas air mengalir tiga sampai lima menit kemudian dicelup dalam alkohol tiga sampai lima kali dan dibilas kembali dengan air mengalir tiga sampai lima menit, kemudian diberikan eosyn selama 3-5 menit, lalu diberi alkohol 95% 2 menit sebanyak dua kali dan alkohol 100% 2 menit sebanyak dua kali, kemudian *xylol* selama dua menit sebanyak tiga kali, kemudian kelebihan *xylol* ditiriskan dengan kertas penyerap, lalu ditetaskan *canada balsem/entolen* secukupnya, lalu tutup preparat dengan kaca penutup lalu preparat diletakkan di atas *hotplate* agar cepat kering (Tan *et al.*, 2023).

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3. 2 Bagan Alur Penelitian

3.12 Analisis Data

Data yang akan dikumpulkan merupakan waktu. Percobaan dilakukan terhadap hewan coba (mencit) yang dirancang dengan menggunakan metode statistik analisis menggunakan SPSS (*Statistic Package The Social Sciences*) versi 22. Data yang telah didapat akan diuji kenormalan dan homogenitasnya (Uji *Levene*). Data yang telah terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik menggunakan metode analisis varian (ANOVA) satu arah, apabila hasil menunjukkan perbedaan bermakna, maka akan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yang bertujuan melihat adanya perbedaan pada setiap kelompok perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa Komposisi Dan Kualitas Minyak Atsiri

4.1.1 Identifikasi senyawa minyak melati menggunakan GC-MS

Minyak melati dilakukan identifikasi dengan menggunakan instrumen GC-MS yang dilampirkan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil GC-MS Minyak Melati

No. puncak	Waktu retensi (menit)	Konsentrasi (%) / perbandingan luas	Nama komponen	Formula	Similarity indeks (%)
1	8,04	11,39	<i>linalool</i>	C ₁₀ H ₁₈ O	99
2	8,33	0,12	<i>Fenchol</i>	C ₁₀ H ₁₈ O	95
3	8,75	0,29	<i>trans-Pinocarveol</i>	C ₁₀ H ₁₆ O	95
4	9,11	55,17	<i>Benzyl acetate</i>	C ₉ H ₁₀ O ₂	96
5	9,17	0,59	<i>.delta.-Terpineol</i>	C ₁₀ H ₁₈ O	92
6	9,31	2,45	<i>Terpinen-4-ol</i>	C ₁₀ H ₁₈ O	96
7	9,49	7,17	<i>.alpha.-Terpineol</i>	C ₁₀ H ₁₈ O	97
8	9,79	0,12	<i>.alpha.-Citronellol</i>	C ₁₀ H ₂₀ O	94
9	9,92	5,18	<i>Citronellol</i>	C ₁₀ H ₂₀ O	97
10	10,26	11,79	<i>Linalyl acetate</i>	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	97
11	10,83	1,53	<i>Indole</i>	C ₈ H ₇ N	97
12	11,50	1,37	<i>Eugenol</i>	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	98
13	12,41	0,14	<i>Aromandendrene</i>	C ₁₅ H ₂₄	96
14	15,02	2,69	<i>.alpha.-Hexylcinnamaldehyde</i>	C ₁₅ H ₂₀ O	96

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan teknik kromatografi gas yang digunakan bersama dengan spektrometri massa. Penggunaan Kromatografi gas dilakukan untuk mencari senyawa yang mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (Hotmian *et al.*, 2021). Analisis minyak melati dengan menggunakan instrumen GC-MS bertujuan untuk mengidentifikasi komposisi senyawa-senyawa yang ada didalam minyak atsiri bunga melati. Beberapa komponen yang menjadi penciri minyak melati antara lain *benzyl acetate*, *farnesene*, *cis-hexenyl benzoate* dan *linalool* (Nizar,

2014). Pada hasil analisis menggunakan GC-MS diperoleh hasil terdapat empat belas komponen senyawa dan memiliki dua komponen penciri minyak melati yaitu *benzyl acetate* dan *linalool*. Kedua senyawa ini merupakan pemberi aroma yang kuat pada minyak dari bunga melati yang memiliki mekanisme sebagai antidepresan (Ye *et al.*, 2015).

Penelitian lain yang dilakukan menghasilkan minyak atsiri melati yang mempunyai tiga puluh delapan komponen dengan kandungan komponen terbesarnya yaitu *benzyl acetate* 15,78%, *linalyl acetate* 10,23%, *Cis jasmone* 10,04%, *Z-jasmone* 8,32%, dan *linalool* 6,10% . Perbedaan yang ada pada hasil analisis dapat disebabkan oleh perbedaan varietas bunga melati yang digunakan (Hidayat, 2016). Setiap jenis bunga melati tidak memiliki komposisi minyak atsiri yang sama. Kondisi geografis seperti misalnya daerah budidaya bunga melati dan iklim dapat mempengaruhi karakteristik dari bunga melati (Elwina *et al.*, 2006).

4.1.2 Analisis Kualitas Minyak Atsiri Bunga Melati dengan Parameter SNI

Pengujian warna, indeks bias, bilangan asam, dan bilangan ester pada sampel minyak atsiri bunga melati dilakukan dengan menggunakan metode SNI 06-2385-2006. Hasil pada penelitian ini diantaranya memenuhi standar SNI yaitu warna minyak berwarna kuning yang sesuai dengan rujukan yaitu kuning. Pada pengujian indeks bias minyak atsiri tidak sesuai dengan rujukan yang memiliki rentang 1,478 - 1,492. Besarnya indeks bias suatu bahan dapat menunjukkan panjang pendeknya rantai karbon bahan. Semakin panjang rantai karbon dapat meningkatkan kerapatan bahan. Tingginya kerapatan pada minyak dapat menyulitkan proses pembiasan sinar datang sehingga nilai indeks biasnya meningkat (Nurjanah *et al.*, 2016). Pengujian bilangan ester dan bilangan asam tidak terlampirkan pada *Certificate of analysis* (COA) sehingga tidak dapat dibandingkan dengan nilai rujukan. Hasil yang didapat ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Analisa Kualitas Minyak Atsiri Bunga Melati

Parameter	Hasil	Rujukan
Warna	Kuning	Kuning
Indeks Bias	1,498	1,478 - 1,492
Bilangan asam	-	18,83 - 29,85
Bilangan ester	-	143,408 - 186,559

4.2 Evaluasi lilin aromaterapi

Lilin aromaterapi yang telah diformulasikan dilakukan evaluasi mutu fisik yang terdapat dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Evaluasi Mutu Fisik Lilin terdiri dari organoleptis, waktu bakar dan titik leleh

Formula	F0	F1	F2	F3	F4
	(0:0)	(20:10)	(15:10)	(10:15)	(5:20)
Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
Bau	Berbau lilin	Berbau khas Melati	Berbau khas Melati	Berbau khas Melati	Berbau khas Melati
Tekstur	Keras dan halus	Keras dan halus	Keras dan halus	Keras dan halus	Keras dan halus
Bentuk	Padat	Padat	Padat	Padat	Padat
Waktu bakar (menit)	183	110	179	120	180
Titik leleh (°C)	54	56	58	57	54

Evaluasi mutu fisik dari lilin yang meliputi hasil uji organoleptik yang diperoleh menunjukkan bahwa sediaan lilin aromaterapi kombinasi minyak melati dan oleoresin keruing diperoleh semua formula memiliki warna putih. Namun pada formulasi 4 memiliki warna yang agak kekuningan dikarenakan pada formula ini berisi kandungan keruing yang berwarna kuning keruh paling banyak. Uji organoleptis lainnya yaitu bau dimana semua lilin berbau khas melati kecuali basis lilin (F0) yang tidak ditambahkan minyak melati dan oleoresin keruing, tesktur keras dan halus dan semua lilin berbentuk padat. Hasil uji organoleptis yang diperoleh sesuai dengan standar organoleptis yaitu berdasarkan SNI 0386-1989-A/SII 0348 - 1980 karakteristik padat, tidak retak, tidak cacat dan warna putih hingga kuning. Pada uji titik leleh diperoleh masing-masing titik leleh lilin formula I adalah 56 °C, formula II adalah 58 °C,

formula III adalah 57 °C, formula 4 adalah 54 °C dan basis adalah . Semua formulasi lilin sesuai dengan standar titik leleh lilin yaitu berdasarkan SNI 0386-1989-A/SII 0348-1980 dengan kisaran yaitu 50 °C - 58 °C (Sulhatun *et al.*, 2023).

Berikutnya pada uji waktu bakar hasil penelitian menunjukkan F1 adalah lilin yang paling cepat padam, kemudian pada F3 sumbu lilin posisinya agak miring yang menyebabkan lilin cepat meleleh sehingga lebih cepat padam dibandingkan F2 sedangkan F4 adalah lilin yang memiliki waktu bakar lama dikarenakan konsentrasi minyak atsiri yang rendah serta F0 yang memiliki waktu bakar paling lama dikarenakan tidak ada penambahan minyak atsiri. Konsentrasi bahan aktif mempengaruhi waktu bakar dikarenakan semakin banyak minyak atsiri yang digunakan maka semakin cepat lilin habis dan menguap (Inaku *et al.*, 2023). Selain itu letak sumbu juga dapat mempengaruhi waktu bakar dimana apabila letak sumbu makin ke pinggir maka lilin lebih cepat habis (Rusli & Rerung, 2018).

4.3 Validasi Metode

Validasi metode merupakan salah satu metode penting dalam suatu analisis karena dapat membuktikan keandalan suatu metode dari suatu prosedur yang digunakan (Mariana *et al.*, 2018). Data validasi metode ini merupakan data yang diambil dari rata-rata waktu kelompok mencit kontrol normal berada di lengan terbuka EPM yang kemudian dibandingkan dengan rata-rata kelompok mencit kontrol negatif yang berada di lengan terbuka juga untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan dengan data yang terdapat pada lampiran 10 kemudian hasil validasi metode dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Hasil Uji T dari validasi metode

	Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
	Mean	SD	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower				Upper
Normal - Negatif	-49,000	3,181	2,250	-77,588	-20,411	-21,778	1	,029

Pada penelitian ini, kelompok normal yang tidak diinduksi stress dan kelompok negatif yang diinduksi stres menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan pengujian alat EPM. Nilai signifikansi (*p-value*) untuk uji T ini adalah 0,029 (atau sangat mendekati nol). Nilai *p-value* ini mendapatkan hasil lebih kecil dari tingkat signifikansi umum yang digunakan $\alpha = 0.05$ sehingga dapat menolak hipotesis nol dan menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan uji EPM merupakan metode yang tepat untuk menguji perilaku cemas.

4.4 Evaluasi Aktivitas Antidepresan Pada Mencit

Evaluasi yang dilakukan untuk mengetahui tingkat stres hewan yaitu dengan *elevated plus maze* yang merupakan metode pengujian kecemasan yang berkaitan dengan reaksi spontan dan perilaku ketakutan pada ketinggian dan ruang terbuka. Pengamatan dilakukan dengan mengukur waktu yang dihabiskan mencit selama berada di lengan terbuka dalam waktu 5 menit dengan perangkat EPM yang memiliki dua lengan terbuka dan dua lengan tertutup. Peningkatan kecemasan hewan ditunjukkan dengan penurunan waktu yang dihabiskan mencit di lengan terbuka. Hasil data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi SPSS versi 22 dengan uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk dikarenakan jumlah data kurang dari 50, uji homogenitas menggunakan uji *Levene* dan uji *Welch's Anova* untuk melihat adanya perbedaan. Hasil dari evaluasi dengan uji statistik dapat dilihat data pada lampiran 10 dan hasilnya pada Tabel 4.5 ; Tabel 4.6 dan Tabel 4.7.

4.4.1 Uji Normalitas

Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
<u>Rata-rata waktu</u>	,867	12	,061
<u>Kelompok Uji</u>	,929	12	,372

Pada pengujian normalitas Uji Shapiro-Wilk dilakukan untuk menguji kenormalan data. Hasil dari uji normalitas menunjukkan bahwa

nilai berdistribusi normal dikarenakan $p < 0,05$, hal ini mengartikan bahwa H_0 diterima maka data terdistribusi normal.

4.4.2 Uji Homogenitas

Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,581E+15	5	6	,000

Kemudian pada uji homogenitas digunakan *varians levene* untuk mengetahui apakah varian data telah homogen. Pada hasil uji homogenitas ini didapatkan nilai sig. $< 0,05$ maka H_1 diterima dan H_0 ditolak, maka dapat disimpulkan bahwa data ini yang tidak homogen.

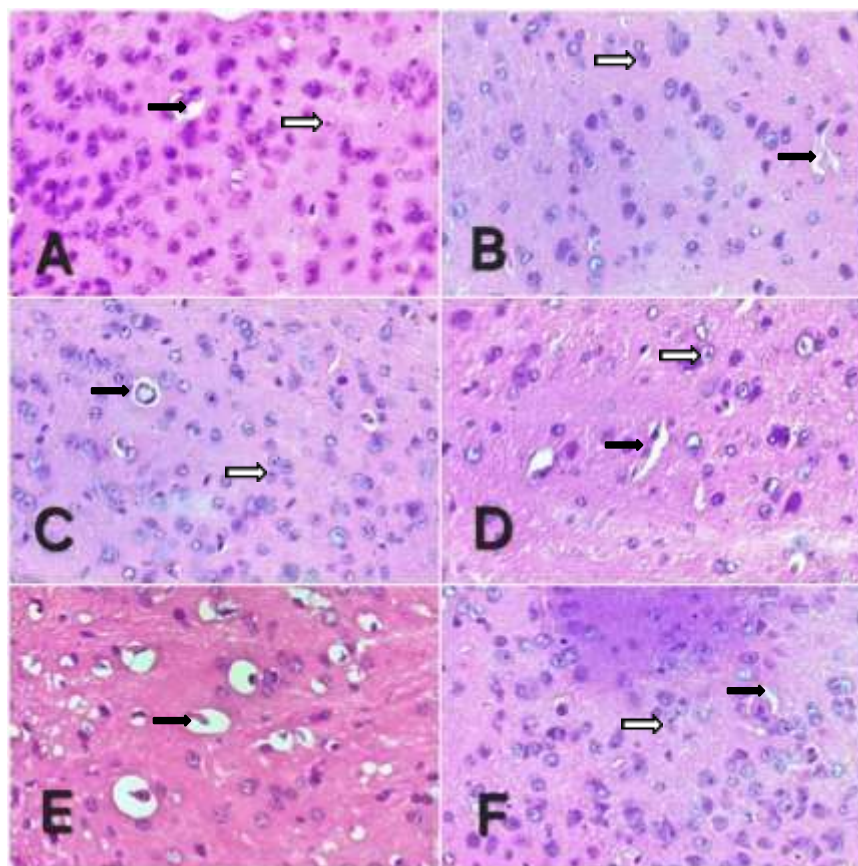
4.4.3 Hasil Uji Welch's Anova

Tabel 4.7 Hasil Uji Welch's Anova

	Statistic	df1	df2	Sig.
Welch	,348	5	2,753	,856

Normalitas dan homogenitas merupakan syarat untuk uji *anova one way*, dikarenakan uji data homogenitas tidak homogen maka tidak dapat diujikan maka dari itu dilakukan pengujian *Welch's Anova* untuk alternatif untuk uji ANOVA satu arah (*One-Way ANOVA*). Fungsinya adalah untuk menguji apakah ada perbedaan rata-rata yang signifikan antara dua atau lebih kelompok independen, sama seperti ANOVA standar. Hasil *Welch's Anova*. menunjukkan hasil $> 0,05$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan sebelum dan sesudah perlakuan antar kelompok bahkan setelah mempertimbangkan heterogenitas varians.

4.5 Gambaran Histologi Otak Mencit



Gambar 4. 1 Hasil histologi otak mencit

Keterangan :

- | | | | |
|---|---------------|---|-------------------------|
| → | = Sel rusak | C | = Kelompok F3 |
| ⇨ | = Sel sehat | D | = Kelompok F4 |
| A | = Kelompok F1 | E | = Kelompok F0 (Negatif) |
| B | = Kelompok F2 | F | = Kelompok Normal |

Histologi otak mencit ini dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada jaringan otak mencit yang dibandingkan dengan kontrol normal. Pada pemeriksaan histologi ini dilakukan pemotongan pada bagian jaringan otak dengan potongan sagital yang berfokus pada bagian hipokampus di otak. Pengamatan dengan mikroskop dilakukan dengan perbesaran 400×. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik terhadap gambaran histologi otak diatas menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok normal, kontrol negatif, konsentrasi F1 - F4. Pada kelompok normal tanpa perlakuan induksi dan pemaparan lilin menunjukkan sel neuron normal yang memiliki inti sel. Pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Tan (2023) dimana hasilnya 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 dan suhu. Nekrosis sel otak ditandai dengan bentuk sel tidak beraturan, inti yang memadat dan tidak memiliki inti sel (Tan *et al.*, 2023).

Pada kelompok negatif yang hanya diberikan basis lilin tanpa bahan aktif terlihat banyaknya kerusakan sel dan edema dibandingkan dengan kelompok lainnya dimana seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Wibowo (2023) menyatakan semakin luas gambaran edema sel otak yang terjadi menunjukkan semakin besar pula beban trauma (Wibowo *et al.*, 2023). Kemudian pada kelompok perlakuan lilin F1 dengan perbandingan minyak melati dan oleoresin keruing sebesar 20 : 5 terlihat sedikit sel yang mengalami kerusakan dan edema cenderung mendekati kontrol normal, lalu pada kelompok perlakuan lilin F2 dengan perbandingan minyak melati dan oleoresin keruing sebesar 15 : 10 terlihat sedikit sel yang mengalami kerusakan namun ada beberapa edema, selanjutnya pada kelompok perlakuan lilin F3 dengan perbandingan minyak melati dan oleoresin keruing sebesar 10 : 15 terlihat cukup banyak sel yang mengalami kerusakan dan beberapa edema, berikutnya pada perlakuan lilin F4 dengan perbandingan minyak melati dan oleoresin keruing sebesar 5 : 20 terlihat cukup banyak sel yang mengalami kerusakan dan ada beberapa edema.

Berikutnya pada hasil skoring histologi otak yang dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4. 8 Hasil Skoring Histologi Otak

Kode sampler	Kongesti						Edema					
	1	2	3	4	5	Rerata	1	2	3	4	5	Rerata
F1	2	0	0	1	1	0,8	2	0	0	1	0	0,6
F2	0	2	2	2	2	1,6	1	2	2	2	1	1,6
F3	2	2	3	1	1	1,8	2	2	1	1	2	1,6
F4	3	2	1	0	0	1,2	3	1	2	0	1	1,4
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

Pada hasil skoring dari histologi otak mencit dapat dilihat kontrol negatif dengan tidak ada penambahan konsentrasi zat aktif memiliki interpretasi

menunjukkan kerusakan otak ringan dengan kongesti dan edema yang rendah. Kemudian pada kontrol normal memiliki kongesti sedang dan edema ringan. Konsentrasi F1 memiliki interpretasi skor rerata terendah yang menunjukkan kerusakan otak sangat minimal. Secara gambaran histologi konsentrasi minyak melati yang lebih tinggi (20 : 5) memperlihatkan kerusakan sel dan edema yang minimal serta mendekati kondisi jaringan saraf normal. Hal yang menyebabkan formulasi F1 menunjukkan perbaikan sel yang baik karena semakin banyak kandungan minyak atsiri terutama *benzyl acetate*, *linalyl acetate* dan *linalool* saling bersinergi. Mekanismenya dengan mengurangi peradangan, bertindak sebagai antioksidan (melindungi sel), dan memiliki efek neuroprotektif/menenangkan.

Semakin banyak minyak melati, semakin kuat efek multi-target ini dalam memperbaiki sel dan mengurangi kerusakan serta mengurangi stres fisiologis yang mendukung proses pemulihan seluler karena tubuh berada dalam kondisi yang lebih optimal untuk regenerasi. Selanjutnya yaitu konsentrasi F2 menunjukkan kerusakan otak tingkat ringan hingga sedang ditunjukkan dengan kongesti dan edema yang rata-ratanya lebih tinggi dibandingkan konsentrasi F1. Berikutnya konsentrasi F3 menunjukkan kerusakan otak tingkat ringan hingga sedang dan sedikit lebih tinggi pada kongesti dibanding F2. Kedua hal ini dapat terjadi karena jumlah minyak atsiri yang mengandung senyawa antidepresan tidak cukup untuk memberikan efek. Kemudian konsentrasi F4 yang menunjukkan kerusakan otak tingkat ringan meski lebih baik daripada konsentrasi F2 dan F3, namun tidak lebih baik dari F1 yang artinya formulasi yang didominasi oleh oleoresin keruing kurang efektif dalam mengurangi kongesti dan edema otak dibandingkan dengan formulasi yang didominasi minyak melati.

Pemaparan lilin aromaterapi selama 14 hari dengan durasi lima menit setiap hari dapat memberikan efek relaksasi yang signifikan dan mengurangi kecemasan. Mekanisme dengan melibatkan molekul volatil yang dilepaskan oleh lilin aromaterapi. Molekul - molekul ini dihirup akan langsung merangsang saraf penciuman yang terletak di bagian atas rongga hidung. Saraf penciuman ini memiliki jalur langsung ke sistem limbik di otak, area yang bertanggung jawab atas emosi, memori, dan motivasi. Setelah stimulasi, sinyal - sinyal ini kemudian dikirimkan ke berbagai bagian otak, termasuk amigdala yaitu pusat pengolahan

emosi, terutama rasa takut dan cemas serta hipokampus yang terkait dengan memori dan regulasi stres. Pemaparan yang teratur meski singkat memungkinkan adanya akumulasi efek yang akan mengurangi kecemasan dan memberikan efek relaksasi dengan meningkatkan jumlah neurotransmitter di otak.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji efektivitas lilin dari kombinasi minyak melati dan oleoresin keruing sebagai antidepresan terhadap mencit jantan (*Mus musculus*) diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Lilin aromaterapi dari kombinasi minyak melati dan oleoresin keruing tidak memiliki efek antidepresan pada mencit jantan (*Mus musculus*) berdasarkan dari hasil statistik.
2. Berdasarkan hasil histologi otak mencit menunjukkan pada F1 memiliki kerusakan sel pada jaringan otak yang lebih sedikit dibandingkan formula yang lainnya. Hal ini dapat menjadi pertanda semakin besar kandungan minyak atsiri di dalam lilin aromaterapi maka akan terjadi penurunan kerusakan sel di jaringan otak. Meski analisis histologis mengindikasikan adanya efek positif lilin aromaterapi pada struktur jaringan, dampaknya belum terdeteksi signifikan secara statistik pada parameter perilaku hewan uji secara keseluruhan.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas antidepresan minyak melati dan oleoresin keruing misalnya dibuat dalam sediaan yang berbeda.
2. Perlu dilakukan pengujian immunohistokimia untuk dapat menghitung dan mengetahui lokasi spesifik sesuai dengan reseptor tujuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, A. S. R., Siswandono, Butar-Butar, M. E. T., Taufiqurrahman, M., Fernandes, A., & Maharani, R. (2024). Molecular Docking Of The Keruing's (Dipterocarpus) Genus, Secondary Metabolites Of The Dipterocarpaceae Family's As Anti-Inflammation Against Cyclooxygenase-2 (Cox-2). *International Journal Of Applied Pharmaceutics*, 16(2), 313–319.
- Al-Snafi, A. S. (2018). Pharmacology And Medicinal Properties Of Jasminum Officinale. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Science*, 05(04), 2191–2197.
- Ambari, Y., Hapsari, F. N. D., Ningsih, A. W., Nurrosyidah, I. H., & Sinaga, B. (2020). Studi Formulasi Sediaan Lip Balm Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Dengan Variasi Beeswax. *Journal Of Islamic Pharmacy*, 5(2), 36–45.
- Anggraeni, N. R., & Maulina, D. (2023). Pola Peresepan Obat Anti Depresan Pada Pasien Rawat Jalan Di Poli Kejiwaan Rs X Periode Agustus – November 2022. *Indonesian Journal Of Health Science*, 3(2), 99–104.
- Arafat, S. M. Y., Saleem, T., Menon, V., Ali, S. A.-Z., Baminiwatta, A., Kar, S. K., Akter, H., & Singh, R. (2022). Depression And Suicidal Behavior In South Asia: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Global Mental Health*, 9, 181–192.
- Azizi Musdar, T., Supardi, N., Profesi Apoteker Universitas Megarezky, P., Studi, P. S., & Kebidanan, K. (2024). Formulasi dan Uji Efektivitas Aktivitas Antistres Lilin Aromaterapi Minyak Atsiri Serai Wangi pada Mencit. 5(1), 252–265.
- Bali, A., & Jaggi, A. S. (2015). Electric Foot Shock Stress Adaptation: Does It Exist Or Not? *Life Sciences*, 130, 97–102.
- Bang, D. Y., Lee, I. K., & Lee, B. M. (2011). Toxicological Characterization Of Phthalic Acid. *Toxicological Research*, 27(4), 191–203.
- Bkpk. (2023). *Survei Kesehatan Indonesia Dalam Angka*.
- 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 (J. Sains Kes.)*, 1–5.
- Can, A., Dao, D. T., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., Bhat, S., & Gould, T. D. (2012). The Tail Suspension Test. *Journal Of Visualized Experiments : Jove*, 59, E3769.

- Carter, M., & Shieh, J. (2015). Animal Behavior. In M. Carter & J. Shieh (Eds.), *Guide To Research Techniques In Neuroscience (Second Edition)* (Second Edi, Pp. 39–71). Academic Press.
- Chand, S. P., & Arif, H. (2021). *Depression*. Statpearls.
- Christiana, H. S. (2021). *Oleoresin Rempah Jahe , Pala Serta Lada Dalam Bidang Pangan*.
- Dattani, S., Rodes-Guirao, L., Ritchie, H., & Roser, M. (2023). Mental Health. *Our World In Data*.
- Dina Khairani, Ilyas, S., & Yurnadi. (2024). *Hewan Percobaan Mencit (Mus Musculus)* (Issue January).
- Dirgayunita, A. (2016). Depresi: Ciri, Penyebab Dan Penangannya. *Journal An-Nafs: Kajian Penelitian Psikologi*, 1(1), 1–14.
- Dwiprasetya, W. K. (2016). Antidepresan Non-Psikotropik Kombinasi Ekstrak Air Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) Dan Ekstrak Aseton Kulit Pisang (*Musa paradisisaca* L.) Sebagai Moodbooster Pada Mencit Stres Kronis Ringan. *Skripsi*.
- Elwina, E., Irwan, I., & U, H. (2006). Proses Ekstraksi Minyak Bunga Melati (*Jasminum sambac*) Dengan Metode Enfleurasi. *Jurnal Reaksi (Journal Of Science And Technology)*, 4.
- 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.
- Febriyanti, R. (2015). Pengaruh Konsentrasi Asam Stearat Sebagai Basis Terhadap Sifat Fisik Sabun Transparan Minyak Jeruk Purut (*Oleum Citrus Hystrix* C.) Dengan Metode Destilasi. *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1).
- Fratini, F., Cilia, G., Turchi, B., & Felicioli, A. (2016). Beeswax: A Minireview Of Its Antimicrobial Activity And Its Application In Medicine. *Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine*, 9(9), 839–843.
- Frynta, D., Kaftanová-Eliášová, B., Žampachová, B., Voráčková, P., Sádlová, J., & Landová, E. (2018). Behavioural Strategies Of Three Wild-Derived Populations Of The House Mouse (*Mus M. musculus* And *M. M. domesticus*) In Five Standard Tests Of Exploration And Boldness: Searching For Differences Attributable To Subspecies And Commensalism. *Behavioural Processes*, 157, 133–141.
- Ginting, Z., Clarita, S., & Dewi, R. (2022). Pemanfaatan Minyak Nilam

- (*Pogostemon cablin* Benth) Dalam Pembuatan Lilin Aromaterapi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 11(2), 157.
- Hamdani, A. G., Indawati, I., & Tomi. (2023). Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Lilin Aroma Jeruk Bergamot (*Citrus bergamia*) Sebagai Aromaterapi. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 8(2), 789–796.
- Haryanto., Wahyuningsih, D., & Nandiroh, S. (2019). Sistem Deteksi Gangguan Depresi Pada Anak-Anak Dan Remaja. *Jurnal Ilmiah Teknik Industri*, 14(2), 142–152.
- Hasanusi, I. N., Silalahi, P. Y., Bension, J. B., Huwae, L. B. S., & Ony, W. (2020). *Effects Of Ethanol Extract Of Nutmeg Seeds (Myristica fragrans Houtt) On Mice Anxiety*. 2(April), 36–46.
- Herawaty, N. (2021). Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Lilin Aromaterapi Kombinasi Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L) Dan Sereh (*Cymbopogon citratus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1(1), 1–9.
- Hidayah, N., Herawati, A., & Habibi, A. (2020). Identifikasi Kandungan Fitokimia Ekstrak Bunga Melati (*Jasminum sambac* (L.)Ai) Komoditas Lokal Yang Berpotensi Sebagai Antilarvasida. *Dinamika Kesehatan Jurnal Kebidanan Dan Keperawatan*, 10(1), 476–483.
- Hidayat, I. A. D. Dan D. A. H. (2016). Ekstraksi Minyak Melati (*Jasminum sambac*) (Kajian Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Industria*, 4(2), 82–88.
- Hotmian, E., Suoth, E., Fatimawali, F., & Tallei, T. (2021). Analisis Gc-MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry) Ekstrak Metanol Dari Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Pharmakon*, 10(2), 849.
- Hritcu, L., Ionita, R., Postu, P. A., Gupta, G. K., Turkez, H., Lima, T. C., Carvalho, C. U. S., & De Sousa, D. P. (2017). Antidepressant Flavonoids And Their Relationship With Oxidative Stress. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5762172>
- Huston, J. P., De Souza Silva, M. A., Topic, B., & Müller, C. P. (2013). What's Conditioned In Conditioned Place Preference? *Trends In Pharmacological Sciences*, 34(3), 162–166.
- 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.
- Isramilda, I., & Edward, Z. (2020). Pengaruh Stres (Renjatan Listrik) Terhadap Aktivitas Motorik Mencit Menggunakan Metode Ketahanan Berenang Di Universitas Andalas. *Zona Kedokteran: Program Studi Pendidikan Dokter*

Universitas Batam, 9(3), 11–17. <https://doi.org/10.37776/Zked.V9i3.296>

- J Nutt, D. (2008). Relationship Of Neurotransmitters To The Symptoms Of Major Depressive Disorder. *American Journal Of Psychiatry*, 138(1), 1–4.
- Jong, K., & Haynes, R. E. H. (1982). Dipterocarps Part I (1939-1972). Annotated Bibliography F18(1). In *Journal Of Biogeography* (Vol. 9, Issue 2).
- Jumardi, M., Iswara, A., Setya, G., Putri, A., & Ariyadi, T. (2023). Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Menggunakan hematoxylin- Eosin Dan Ekstrak Daun Jati Sebagai Pengganti Eosin Comparison Of Quality Of Staining Results Using Hematoxylin-Eosin And Teak Leaf Extract As Eosin Substitute. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 2, 878–887.
- Kadek, E., Purnama, E., & Anas, R. (2012). Steretozotosin Berulang Sebagai Hewan Model Multiple Dose Streptozotocin-Induced Diabetes In Balb-C Mice (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Hewan*, 6(1), 47–50.
- 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* (14th Ed.). Ecg.
- Keppkn, K. E. P. Dan P. K. N. (2020). Animal Welfare Ethics In Research And Testing: Implementation And Its Barrier. *Indonesian Bulletin Of Animal And Veterinary Sciences*, 30(4), 211.
- Khoirunnisa, K., Wardani, L. N., Cahyani, G., & ... (2022). Efektivitas Intervensi Non-Farmakologi Untuk Mengurangi Depresi Pada Ibu Dengan Postpartum Depression: Narrative Review. *Jurnal Keperawatan ...*, 11(1), 1–10.
- Klhc. (2019). Pengembangan Hasil Hutan Bukan Kayu Indonesia Untuk Mendukung Sustainable Development Goals. In *Kementerian Lingkungan Hidup Dan Kehutanan* (Issue July 2020).
- Knight, P., Chellian, R., Wilson, R., Behnood-Rod, A., Panunzio, S., & Bruijnzeel, A. W. (2021). Sex Differences In The Elevated Plus-Maze Test And Large Open Field Test In Adult Wistar Rats. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 204, 173168.
- Kotsasi, F., Chiuman, L., Kurniawan, G. V., & Maze, E. P. (2022). Pengaruh Pemberian Minyak Esensial Sebagai Ansiolitik Terhadap Ansietas Pada Mencit (*Mus Musculus*). 1(2), 67–71.
- Kurniawan, Y., & Noviza, N. (2018). Psikoterapi Interpersonal Untuk Menurunkan Gejala Depresi Pada Perempuan Korban Kekerasan Dalam Rumah Tangga. *Insan Jurnal Psikologi Dan Kesehatan Mental*, 2(2), 96.

- Law, R. (2011). Interpersonal Psychotherapy For Depression. *Advances In Psychiatric Treatment*, 17(1), 23–31.
- Lestari, E., Fatimah, & Khotimah, K. (2020). Penggunaan Lilin Lebah Dengan Penambahan Konsentrasi Minyak Atsiri Tanaman Serai (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Pengusir Lalat (*Musca domestica*). *Agrium: Jurnal Ilmu Pertanian*, 22(3), 131–136.
- Lin, K., Li, Y., Toit, E. Du, Wendt, L., & Sun, J. (2021). Effects Of Polyphenol Supplementations On Improving Depression, Anxiety, And Quality Of Life In Patients With Depression. *Frontiers In Psychiatry*, 12(November), 1–13.
- Lizarraga-Valderrama, L. R. (2021). Effects Of Essential Oils On Central Nervous System: Focus On Mental Health. *Phytotherapy Research*, 35(2), 657–679.
- Lo, C. M., Han, J., & Wong, E. S. W. (2020). Chemistry In Aromatherapy – Extraction And Analysis Of Essential Oils From Plants Of *Chamomilla recutita*, *Cymbopogon nardus*, *Jasminum officinale* And *Pelargonium graveolens*. *Biomedical And Pharmacology Journal*, 13(3), 1339–1350.
- Manalu, T. A. (2019). Pengaruh Aromaterapi Inhalasi Terhadap Penurunan Nilai Kecemasan Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Hemodialisa. *Jurnal Keperawatan Dan Fisioterapi (Jkf)*, 1(2), 13–19.
- Mariana, E., Cahyono, E., Rahayu, E. F., & Nurcahyo, B. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol Dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 7(3), 277–284.
- Mega Yulia, Safitri, R., & Rahmayulis, R. (2024). Formulasi Lilin Aromaterapi Kombinasi Minyak Atsiri Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*) Dan Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin*). *Sitawa : Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional*, 3(1), 18–29.
- 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.
- Minah, F. N., Poespowati, T., Astuti, S., Muyassaroh, Kartika, R., Elvianto, Hudha, I., & Rastini, E. K. (2017). Pembuatan Lilin Aroma Terapi Berbasis Bahan Alami. *Industri Inovatif*, 7(1), 29–34.
- Muchtaridi. (2015). Development Of Essential Oils Their Potential As Pharmaceutical Products. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 17(3), 80–88.
- Muhammad, S., Dirhamsyah, M., Ernawati, E., Lufika, R. D., Khairunnisa, S., & Ledita, N. F. (2022). Making Aromatherapy Candles With Natural Ingredients From Essential Oils And Soybean Oil. *Journal Of Patchouli And Essential Oil*

Products, 1(2), 42–46.

- Neufeld, K. A. M. V., Kay, S., & Bienenstock, J. (2018). Mouse Strain Affects Behavioral And Neuroendocrine Stress Responses Following Administration Of Probiotic Lactobacillus Rhamnosus Jb-1 Or Traditional Antidepressant Fluoxetine. *Frontiers In Neuroscience*, 12(May), 1–7.
- Ningtyas, R. A., Puspitasari, M. I., & Sinuraya, K. A. (2019). Review Artikel : Farmakoterapi Depresi Dan Pengaruh Jenis Kelamin Terhadap Efikasi Antidepresan. *Farmaka*, 16(2), 186–201.
- Nizar, M. N. (2014). *Efek Pulsed Electric Field (Pef) Pada Rendemen Dan Kualitas Minyak Atsiri Bunga Melati (Jasminum sambac) (Kajian Rasio Bahan Berbanding Pelarut Dan Frekuensi Pef)*. X, 30–43.
- Noer, S. F., Rusdi, M., & Bariun, H. (2015). *Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol Akar Trembesi (Samanea saman (Jacq) Merr .) Pada Mencit Jantan (Mus Musculus)*. 3, 16–20.
- Nurjanah, S., Sulistiani, I., Widyasanti, A., & Zain, S. (2016). Study Of Extraction Jasmine Essential Oils (Jasminum sambac) With Enfleuration Method. *Indonesian Journal Of Essential Oil*, 1(1), 12–20.
- Nurtanti, S. (2024). Analisis Tingkat Ansietas Dan Stres Saat Menghadapi Penilaian Akhir Semester Pada Mahasiswa Akper Giri Satria Husada Wonogiri. *Jurnal Keperawatan Gsh*, 13(1), 1–23.
- Nurwela, T. S., Mahajudin, M. S., & Adiningsih, S. (2015). Efektifitas Terapi Tertawa Untuk Menurunkan Tingkat Depresi Pada Lanjut Usia. *Jurnal "Ilmiah Kedokteran,"* 4(1), 62–76.
- 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.
- Oktiansyah, R. (2015). Aktivitas Harian Mencit Jantan (Mus Musculus) Di Laboratorium. *Reseach Gate*, 1(January), 3–5.
- Permanasari, K., & Arbi, D. K. A. (2022). Pengaruh Ketidakpuasan Tubuh Terhadap Kecenderungan Gangguan Makan Pada Remaja. *Buletin Riset Psikologi Dan Kesehatan Mental (Brpkm)*, 2(1), 776–788.
- Pradana, K. E., Agustina, W., Kartikaningtiyas, C., & Arlinda, P. S. (2023). Efektifitas Kombinasi Terapi Rendam Kaki Dan Aromaterapi Rosa Centifolia Terhadap Penurunan Tekanan Darah Pasien Hipertensi. *Jurnal Keperawatan Wiyata*, 4(2), 46–53.

- Pratiwi, F., & Subarnas, A. (2020). Aromaterapi Sebagai Media Relaksasi. *Farmaka*, 18(3), 66–75.
- Pratiwi, M. A., Sutanti, S., Rahayu, L. H., & Khasanah, I. N. (2023). Pembuatan Sabun Mandi Padat Aromaterapi Kopi Berbasis Virgin Coconut Oil Dan Asam Stearat Menggunakan Metode Panas. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 8(1), 1.
- Procopio, F. R., Ferraz, M. C., Paulino, B. N., Do Amaral Sobral, P. J., & Hubinger, M. D. (2022). Spice Oleoresins As Value-Added Ingredient For Food Industry: Recent Advances And Perspectives. *Trends In Food Science & Technology*, 122, 123–139.
- Rahmah, A. R. (2016). Uji Efek Sedatif Ekstrak Daun Gynura Procumbens (Lour.) Merr Dengan Ekstraksi Bertingkat Terhadap Mencit Jantan Galur Balb/C. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Departemen Farmakognosi Dan Fitokimia Surabaya*, 7.
- Rahmawati, E., Richa, F. T., Fatmawati, R. A., Nurhidayati, S., & Wahidah, N. J. (2024). *Literatur Review : Terapi Non-Farmakologis Dalam Upaya Pencegahan Depresi Postpartum*. 6, 3287–3296.
- Ramos-Hryb, A. B., Cunha, M. P., Kaster, M. P., & Rodrigues, A. L. S. (2018). *Chapter 6 - Natural Polyphenols And Terpenoids For Depression Treatment: Current Status* (Atta-Ur-Rahman (Ed.); Vol. 55, Pp. 181–221). Elsevier.
- Riani, Budi, S., & Mahdiyah, D. (2023). Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Lilin Aromaterapi Dari Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Dan Minyak Lavender (*Lavandulla*) Untuk Menghilangkan Stres. *Innovative: Journal Of Social Science Research*, 3(5), 9237–9248.
- Rohmah, W. K., & Santik, Y. D. P. (2020). Determinan Kualitas Tidur Pada Santri Di Pondok Pasantren. *Higeia Journal Of Public Health Research And Development*, 4(3), 649–659.
- Rusli, N., & Rerung, Y. W. R. (2018). Formulasi Sediaan Lilin Aromaterapi Sebagai Anti Nyamuk Dari Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Kombinasi Minyak Atsiri Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(1), 68–73.
- Sauran, A. R., & Salewa, W. (2022). Teknik Cognitive Behavior Therapy (Cbt) Dalam Gangguan Kepribadian Bipolar. *Poimen Jurnal Pastoral Konseling*, 3(1), 74–91.
- Sausan, S., Fitriana, M., Abdillah, L. K., Lisi, F. H., Indriani, Z. I., Hidayat, L. H., & Hasina, R. (2023). Uji Aktivitas Antidepresan Ramuan Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Pada Mencit Jantan (Mus Musculus) Dengan Metode Tail Suspension Test (Tst). *Unram Medical Journal*, 12(2), 157–161.

- Shukla, R. (2017). *Jasminum Officinale* Linn-Ayurvedic Aproach International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine 3 : 1 (2013) 1114 : 1119
Jasminum officinale Linn- Ayurvedic Aproach. *International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine*, January 2013.
- Simanjuntak, T. D., Noveyani, A. E., & Kinanthi, C. A. (2023). Prevalensi Dan Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Simtom Depresi Pada Penduduk Di Indonesia (Analisis Data Ifls5 Tahun 2014-2015). *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia*, 6(2).
- Slaoui, M., & Fiette, L. (2011). Histopathology Procedures: From Tissue Sampling To Histopathological Evaluation. *Methods In Molecular Biology*, 691(January 2011), 69–82.
- Sofiani, V., & Pratiwi, R. (2019). Pemanfaatan Minyak Atsiri Pada Tanaman Sebagai Aromaterapi Dalam Sediaan-Sediaan Farmasi. *Farmaka*, 15(2), 119–131.
- Styaningrum, S. D., Sari, P. M., Puspaningtyas, D. E., Nidyarini, A., & Anita, T. F. (2023). Analisis Warna, Tekstur, Organoleptik Serta Kesukaan Pada Kukis Growol Dengan Variasi Penambahan Inulin. *Ilmu Gizi Indonesia*, 6(2), 115.
- Sulhatun, S., Sarah, S., Masrullita, M., Sylvia, N., & Ginting, Z. (2023). Pengaruh Perbandingan Minyak Kemiri Dan Minyak Bunga Lavender Terhadap Sifat Lilin Aromaterapi Formulasi Lilin Aromaterapi Berbasis Minyak Kemiri Dengan Penambahan Minyak Bunga Lavender. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 12(1), 12.
- Sundara, A. K., Larasati, B., Meli, D. S., Wibowo, D. M., Utami, F. N., Maulina, S., Latifah, Y., & Gunarti, N. S. (2022). Review Article : Aromaterapi Sebagai Terapi Stres Dan Gangguan Kecemasan. *Jurnal Buana Farma*, 2(2), 78–84.
- Suriyati. (2019). Metode Non Farmakologi Dalam Mengatasi Kecemasan Pada Persalinan Non Pharmacology Methods In Overcome Anxiety In Labor. *Journal Of Healthcare Technology And Medicine*, 5(1), 2615–109.
- Syafitri, E. N., Rochdiat M, W., & Sukmawati, N. L. Y. (2019). Combination Of Affirmation Therapy And Melati Aromatherapy In Psychosocial Problems Of Students Health Science Faculty In University Of Respati Yogyakarta. *Seminar Nasional Unriyo*, 11–17.
- 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. H
- Tuasikal, A. N. A., & Retnowati, S. (2019). Kematangan Emosi, Problem-Focused Coping, Emotion-Focused Coping Dan Kecenderungan Depresi Pada Mahasiswa Tahun Pertama. *Gadjah Mada Journal Of Psychology (Gamajop)*

- Vanessa, A., & Brian, S. M. (2020). Perubahan Perilaku Grooming Dan Imobilitas Mencit Balb/C terinduksi Depresi Yang Disuplementasi Tempesebagai Sumber Paraprobiotik. *Jurnal Agroteknologi*, 14(01), 1–12.
- 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).
- Who Team. (2021). Mental Health Atlas 2020. In *Who Publication*.
- Wibowo, B. P., Rohadi, R., Prihatina, L. M., & Haikal, Z. (2023). Hubungan Perbedaan Beban Trauma Dengan Gambaran Histopatologi Edema Sel Otak Tikus Pasca Cedera Otak Traumatik. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 9(1), 175–183.
- Widayani, N., Sutrisno, S., & Riniasih, W. (2013). *Pengaruh Aromaterapi Dupa Lavender Terhadap Penurunan Tingkat Stress Saat Penyusunan Skripsi Pada Mahasiswa S1 Keperawatan Stikes An Nur Purwodadi*. 20(3), 36–44.
- Widyaningsih, H., Yusianto, W., & Pujianingrum, R. (2023). Pengendalian Kecemasan Menggunakan Inhalasi Aromaterapi Jasmine Pada Wanita Infertil Dengan Hysterosalpingography. *Jurnal Ilmu Keperawatan Dan Kebidanan*, 14(1), 20–32.
- Wulan, T. D., Salim, H. M., Kurniastuti, I., & Bintarti, T. W. (2022). Klasifikasi Citra Histologi Ginjal Berdasarkan Ekstraksi Fitur Statistik Menggunakan Perceptron. *Remik*, 6(3), 418–425.
- Wulandari, D. J., Sudirman, S., & Santoso, B. (2023). Potential Sauna Bath And Eucalyptus Aromatherapy On Reducing Fatigue And Lactic Acid In Corona Virus Disease (Covid-19) Nurses. *International Journal Of Nursing And Health Services (Ijnhs)*, 6(2), 121–129.
- Wulandari, M. A. (2022). Pembuatan Lilin Aromaterapi Dengan Penambahan Minyak Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.) Dan Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*). *Skripsi*, 1–53.
- Yates, J. R. (2023). Quantifying Conditioned Place Preference: A Review Of Current Analyses And A Proposal For A Novel Approach. *Frontiers In Behavioral Neuroscience*
- Ye, Q., Jin, X., Zhu, X., Lin, T., Hao, Z., & Yang, Q. (2015). An Efficient Extraction Method For Fragrant Volatiles From *Jasminum sambac* (L.) Ait. *Journal Of Oleo Science*, 64(6), 645–652.
- Yeo, S. K., Ali, A. Y., Hayward, O. A., Turnham, D., Jackson, T., Bowen, I. D., & Clarkson, R. (2016). B-Bisabolene, A Sesquiterpene From The Essential Oil Extract Of *Opoponax* (*Commiphora Guidottii*), Exhibits Cytotoxicity In

Breast Cancer Cell Lines. *Phytotherapy Research*, 30(3), 418–425.

Yuliana, B., Makkulawu, A., & Ramadhani Amal, A. (2023). Formulasi Dan Uji Kestabilan Fisik Lilin Aromaterapi Minyak Atsiri Bunga Melati (*Jasminum sambac* L). *Journal Syifa Sciences And Clinical Research*, 5(1), 81–90.

Yuniastuti. (2013). *Evaluation Of Antidepressant Drug For Therapy Patient In Depression Mental Hospital Surakarta 2011-2012*.

Yusuf, M. M. R. A.-G., Rorrong, Y. Y. A., Badaring, D. R., Aswanti, H., Mz, S. M. A., Nurazizah, Dzalsabila, A., Ahyar, M., Wulan, W., Putri, M. J., & Arisma, W. F. (2022). Teknik Manajemen Dan Pengelolaan Hewan Percobaan. *Jurusan Biologi Fmipa Prgram Studi Biologi*, 1–109.

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.

Zulkarnain, V. H., Istiarini, C. H., Setyowati, A., Bethesda, S., Yogyakarta, Y., Sakit, R., & Yogyakarta, B. (2023). *Studi Kasus: Efektivitas Terapi Musik Terhadap Tingkat Kecemasan Pasien Infark Miokard Akut Di Rumah Sakit Bethesda Yogyakarta*. 167–177.

LAMPIRAN 1
SURAT IZIN PENELITIAN



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA

Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748135, Fax(0541) 748135

E-mail: stikedirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikedirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

**FORMULIR IJIN
PENGUNAAN LABORATORIUM**

FORM 1

Kepada

Yth. Kepala Laboratorium

Stikes Dirgahayu Samarinda

Dengan hormat,

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Florensia Cahyani
Nomor Mahasiswa : 0812-4891-5902
Judul Skripsi : UJI ANTI-DEPRESAN LILIN AROMATERAPI KOMBINASI
OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) dan
MINYAK MELATI (*Jasminum officinale* L.) PADA MENCIT
(*Mus musculus*) GALUR BALBC SERTA GAMBARAN
RESEPTOR DOPAMIN

mohon ijin untuk menggunakan fasilitas laboratorium Farmakologi dan laboratorium Teknologi Farmasi 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, November 2024


Mengetahui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Hormat saya,
Peneliti


Apt. Adhe S. P. A., M. Farm., AAK


Maria E. T. B. B., M. Farm.


Florensia Cahyani

Menyetujui,
Kepala Laboratorium


Yovita Erin, S., M. Kes

LAMPIRAN 2

SURAT IZIN MELAKUKAN PENELITIAN DI LABORATORIUM



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

Samarinda, 18 November 2024

Nomor : 18S/STIKDS-Far/XI/2024
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 : Florensia Cahyani
NIM : 211148201175
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : UJI ANTIDEPRESAN LILIN AROMATERAPI KOMBINASI OLEORESIN KERUING (*Dipterocarpus grandiflorus*) dan MINYAK MELATI (*Jasminum officinale* L.) PADA MENCIT (*Mus musculus*) GALUR BALB/C SERTA GAMBARAN RESEPTOR DOPAMIN
Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi dan Teknologi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda
Waktu Penelitian : November 2024 – Maret 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melaksanakan penelitian skripsi.

Wakil Ketua I


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

Ketua Program Studi



apt. L. Iniaty Geografi, M.Sc.
NIK. 0419.A4.25

LAMPIRAN 3

SURAT DETERMINASI HEWAN



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULA WARMAN
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/Sample : 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, Nyingnying (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.

Mengetahui :
Ketide Jurusan Biologi Fak. MIPA UNMUL.

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 4

SURAT LAYAK ETIK



Komite Etik Penelitian Research Ethics Committee

Surat Layak Etik Research Ethics Approval



No:002621/KEP STIKes Dirgahayu Samarinda/2024

Peneliti Utama
Principal Investigator : Florence Cahyani

Peneliti Anggota
Member Investigator : -

Nama Lembaga
Name of The Institution : STIKes Dirgahayu Samarinda

Judul
Title : Uji Antidepresan Lilin Aromaterapi Kombinasi Oleoresin Keruing (Dipterocarpus grandiflorus) dan Minyak Melati (Jasminum) Pada Mencit (Mus musculus) Gallur BALBC Serta Gambaran Reseptor Dopamin
ANTIDEPRESSANT TEST OF AROMATHERAPY CANDLES COMBINATION OF KERUING (OLEORESIN (Dipterocarpus grandiflorus) AND JASMINE OIL (Jasminum) IN MICE (Mus musculus) BALBC STRAINS AND DOPAMINE RECEPTOR DESCRIPTION

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 peraturan Pokokman 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 Guideline 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 persetujuan, dan usulan diperpanjang apabila kembali jika penelitian tidak dapat diselesaikan sesuai masa berlaku surat kelayakan etik. Perkembangan kemajuan dan selesainya penelitian, juga 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, ketidakhadiran atau 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.

28 November 2024
Chair Person

apt. Aulis Septa Ryanti A., M.Farm., A.AAK.

Masa berlaku:
28 November 2024 - 28 November 2025.

LAMPIRAN 5

CERTIFICATE OF ANALYSIS BEESWAX



Arjun Refinery
Total Refinement

Arjun WAX REFINERY

An ISO 9001 : 2015 Certified Company

Mfg. Of : Wax Products for Pharmaceuticals, Cosmetics & other Industrial Applications

Corp. Office : Arjun Corporate Park, Plot No. 929 to 930, G.I.D.C., Waghodia, Dist. Vadodra - 391760, Gujarat, India.

Factory : Plot No. C1/243/27, G.I.D.C., Waghodia, Dist. Vadodra - 391760, Gujarat, India.

Ph. : + 91 2668 262950, 262952, 262081, M. : + 91 91277 80947

Email : arjunbeeswax@yahoo.com, Website : www.arjunbeeswax.com, www.beeswaxindia.com

FINISHED PRODUCT
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Name of the Product: WHITE BEES WAX SYNTHETICS	Analytical Report No.: FP-A006/2425
Date of Receipt: 07/06/2024	Date of Analysis: 08/06/2024
Batch No.: WB-5-006/06/2425	Batch Size: 4000 kgs.
Mfg. Date: JUNE-2024	Exp. Date: 5 year from the date of manufacturing
Sample Qty: 150 gm	Testing as per: I.H.5[SYNTHETICS]


Sr. No	Tests	Specification	Results
1	Description	Yellowish-white color pastilles or slab and faint and characteristic odor	Yellowish-white colour pastilles and faint and characteristic odour
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	17-24	20.10
5	Ester value	70- 85	78.40
6	Saponification value	85- 110	98.50

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





LAMPIRAN 6

CERTIFICATE OF ANALYSIS ASAM STEARAT



wilmar
PT. WILMAR NABATI INDONESIA
Quality Control Department

Date : 01/November/2024


CERTIFICATE OF ANALYSIS

Ref No. : FA/QC/GSK/24/X1-0001
 Customer :
 Product : WILFARIN STEARIC ACID 1838
 Manufactured Date : OCTOBER 15, 2024
 Best Before : OCTOBER 15, 2025
 Date of Sample Received : OCTOBER 15, 2024
 Date of Analysis : OCTOBER 15, 2024
 Lot No. : B241015-211W


Parameter	Unit	Result	Specification	Test Method
Appearance *)	-	Beads	Beads	LTWINA-FIN-QC-20-017
Acid Value	mg KOH/g	211	206 - 214	AOCS Te 1a - 64 : 2017
Saponification Value	mg KOH/g	212	207 - 215	AOCS T1 1a - 64 : 2022
Iodine Value	% I2 absorbed	0.1	1 max	AOCS Tg 1a - 64 : 2022
Color 510° Lov	R	0.1	0.5 max	AOCS Cc 13e-92 : 2017
Color 510° Lov	Y	0.5	2 max	AOCS Cc 13e-92 : 2017
Tire	°C	55.6	54 - 57	AOCS Tr 1a - 64 : 2017
Carbon chain distribution *)	%			
- C12		ND	1 max	
- C14		0.2	2 max	
- C16		60.7	56 - 63	AOCS Ce 1a - 13 : 2022 AOCS Ce 2 - 66 : 2017
- C18		38.6	37 - 42	
- Others		0.5	1 max	

Remark :
*) not accredited parameter

Certified Correct



Riko Zuliani
QC Head Central Lab



The result of these test relate only to the sample(s) submitted. The publication and duplicating of our test reports and expert opinions for advertising purpose as well as their use for any other purposes in indirect requires our written approval.

Factory :
Jl. Kapten Dharma Sugondo No. 55
Gresik - 61124, East Java - Indonesia
Tel : +6231-29932550 / +6231-29932222

Page 1 Of 1

LAMPIRAN 7

CERTIFICATE OF ANALYSIS MINYAK MELATI



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Issued Date: 08 January 2022

Product Name : JASMINE OIL
Botanical Name : *Jasminum officinale*
Product Code : 150060
Batch Number : 211223/177057
Appearance : Clear Liquid
Color : Pale Yellow - Orange
Odor : Characteristic Jasmin, Floral, Sweet
Production Date : December 23, 2021
Shelf Life : 24 Months in Fully Sealed Containers
Quantity of Purchased : 1 Kg
Packaging : 1 Bottle @ 1 Kg

Technical Analysis

Test Item	Specification	Result
Density (@20°C)	0.9860 - 1.0061	0.9981
Specific Gravity (@20°C)	0.9860 - 1.0061	0.9999
Refractive Index (@20°C)	1.4816 - 1.5015	1.4984
Solubility	Insoluble in Water	Conform

Storage Condition : Store unopened containers with temperature between 10°C to 25°C

This document has been electronically produced and does not require any signature

All things natural

LAMPIRAN 8

SURAT HASIL UJI GC-MS MINYAK MELATI



LAB. KONVERSI KIMIA BIOMATERIAL
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA

TELEPON & FAX (0274): Biro Dekan: Telp 512102, 550541, 901420 Fax: 550541, Email: fti-ugm@indo.net.id; Tatis Usaha Umum/ Akademik: 901415; Divisi Kerjasama: Telp/Fax: 550543, Program DS: Telp/Fax: 523553, Bag. Teknologi Hasil Hutan & Bag. Konservasi SH: Telp 550542, Bag. Budaya 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 9

SURAT PEMERIKSAAN HISTOLOGI OTAK



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

Kepada
Florensia Cahyani
08124801592
Jl. Latsitarda Gang 1, Kota
Samarinda
florensia1623@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 SIGMA MTN020** yang terhubung pada komputer.

Jenis Dokumen
Hasil Pemeriksaan

Jenis Pemeriksaan
X **Histopatologi**
Biomolekuler
Patologi Klinik

Malang, 08 Mei 2025
Dokter Hewan Pemeriksa


SATWA SEHAT INDONESIA
(drh. Dewi Mariyam)

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

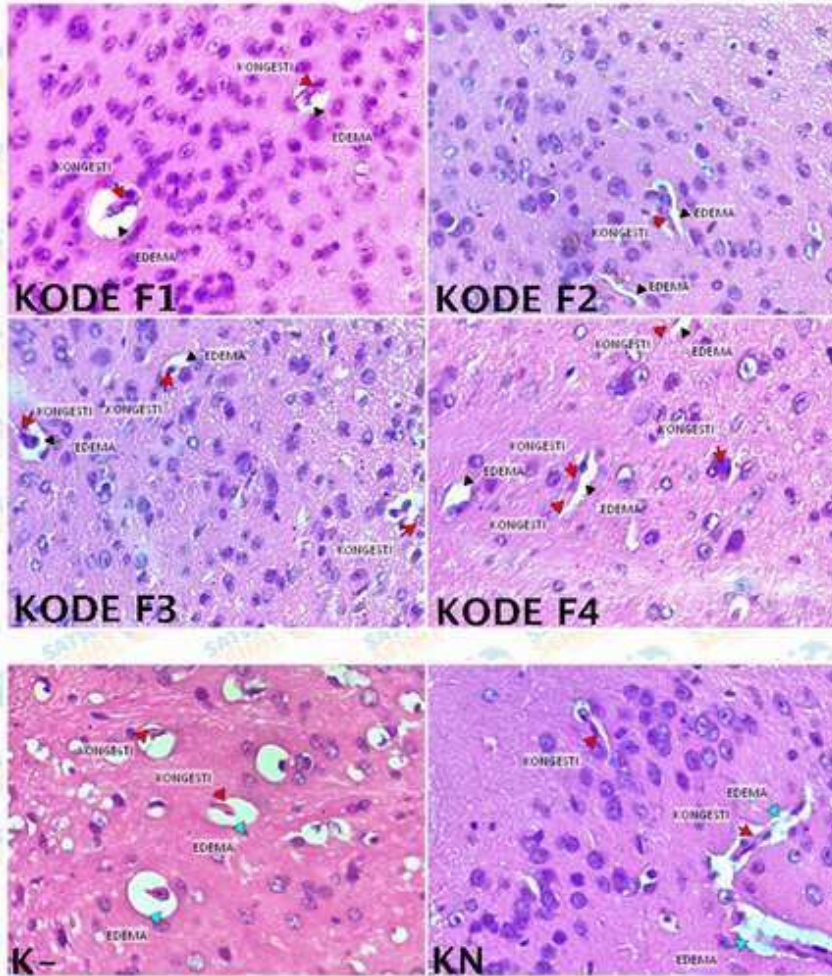
Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com



LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

LAMPIRAN GAMBAR



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

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com

LAMPIRAN 10

DATA PENGAMATAN PERILAKU

Data untuk Uji T Validasi Metode

Kelompok	n	Nilai rerata waktu mencit (detik)	Nilai SD
K Normal	4	52,25	16,09
K Negatif	4	48,75	10,59

Data waktu perilaku mencit untuk uji *Welch Anova*

Kelompok	Formula	n	Nilai rerata waktu mencit (detik)		Nilai SD	
			Hari 1	Hari 14	Hari 1	Hari 14
K Normal	-	4	52,25	32	69,02 ± 33,32	45,97 ± 16,70
K I	F I	4	44,75	87,5	59,39 ± 23,28	97,14 ± 77,52
K II	F II	4	51,5	91,5	59,26 ± 18,40	97,92 ± 83,41
K III	F III	4	48,5	77	60,98 ± 32,69	85,69 ± 68,65
K IV	F IV	4	43	83,25	60,98 ± 26,35	99,48 ± 71,52
K 0	F 0	4	48,75	86	60,94 ± 34,73	92,57 ± 79,43

Data SPSS Uji *Welch Anova*

Kelompok	Rata-rata waktu
F1	44,75
F1	87,50
F2	51,50
F2	91,50
F3	48,50
F3	77,00
F4	43,00
F4	83,25
F0	48,75
F0	86,00
Normal	52,25
Normal	32,00

LAMPIRAN 11

DATA HASIL UJI STATISTIK

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 klmpr waktu	1,5000	2	,70711	,50000
	50,5000	2	2,47487	1,75000

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 klmpr & waktu	2	-1,000	,000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 klmpr - waktu	-49,00000	3,18198	2,25000	-77,58896	-20,41104	-21,778	1	,029

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KELOMPOK Rata-rata waktu	12	100,0%	0	0,0%	12	100,0%
	12	100,0%	0	0,0%	12	100,0%

Descriptives

	Statistic	Std. Error
KELOMPOK Mean	3,5000	,51493
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	2,3666 4,6334
5% Trimmed Mean	3,5000	
Median	3,5000	
Variance	3,182	
Std. Deviation	1,78377	
Minimum	1,00	
Maximum	6,00	
Range	5,00	
Interquartile Range	3,00	
Skewness	,000	,637
Kurtosis	-1,282	1,232

X_BAR	Mean		62,2083	6,10420
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	48,7731	
		Upper Bound	75,6436	
	5% Trimmed Mean		62,2593	
	Median		51,8750	
	Variance		447,134	
	Std. Deviation		21,14555	
	Minimum		32,00	
	Maximum		91,50	
	Range		59,50	
	Interquartile Range		40,00	
	Skewness		,242	,637
Kurtosis		-1,755	1,232	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KELOMPOK	,133	12	,200*	,929	12	,372
Rata-rata waktu	,264	12	,020	,867	12	,063

Test of Homogeneity of Variances

Rata-rata waktu

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,557E+15	5	6	,000

Robust Tests of Equality of Means

Rata-rata waktu

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	,348	5	2,753	,856

a. Asymptotically F distributed.

LAMPIRAN 12

DOKUMENTASI EVALUASI MUTU FISIK LILIN AROMATERAPI



Uji Titik Leleh Lilin



Uji Organoleptis



Uji Waktu Bakar

LAMPIRAN 13
DOKUMENTASI PERLAKUAN TERHADAP HEWAN UJI



Pemaparan lilin



Induksi dengan kejut listrik



Evaluasi perilaku dengan EPM



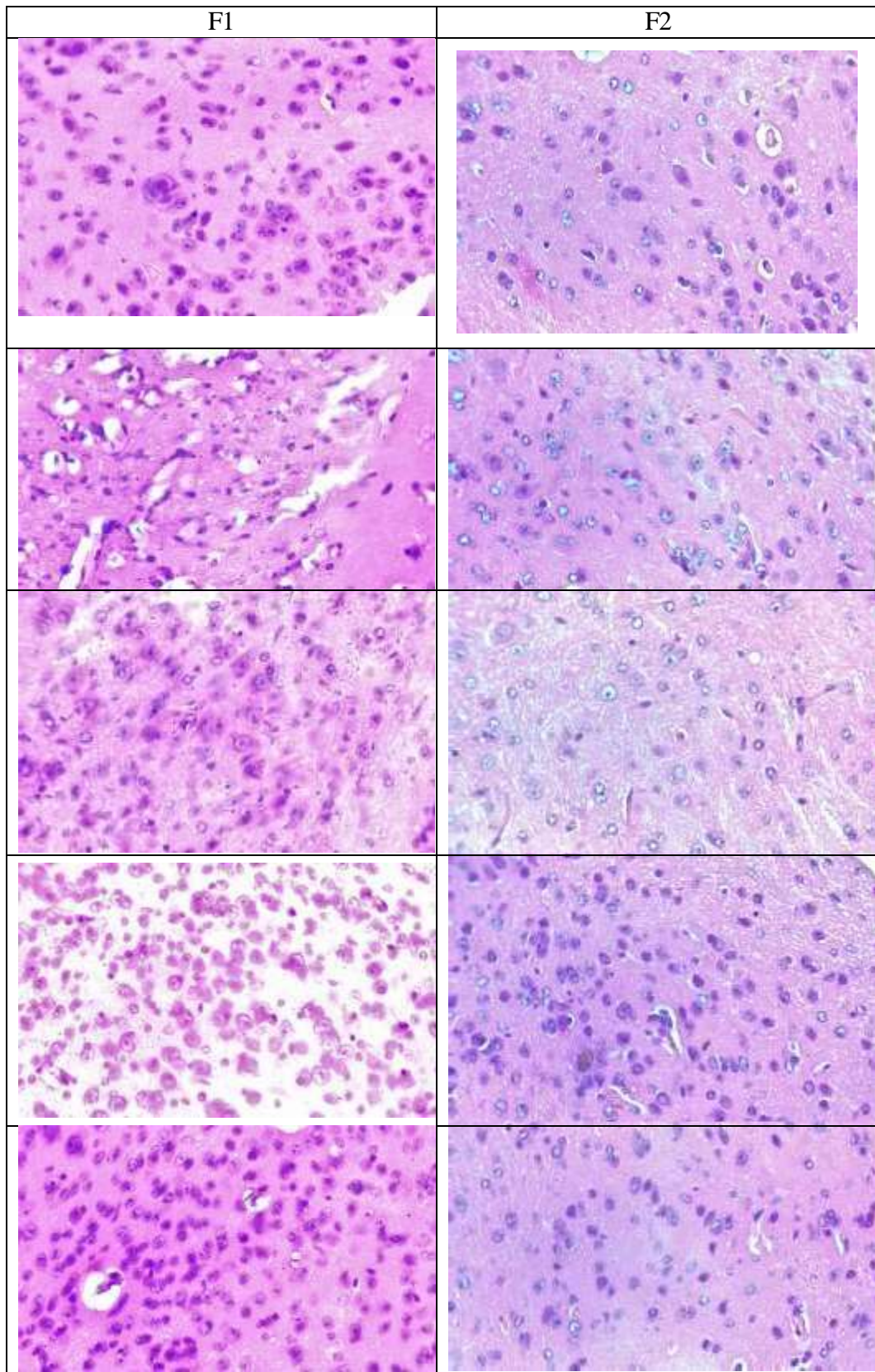
Pembedahan kepala mencit

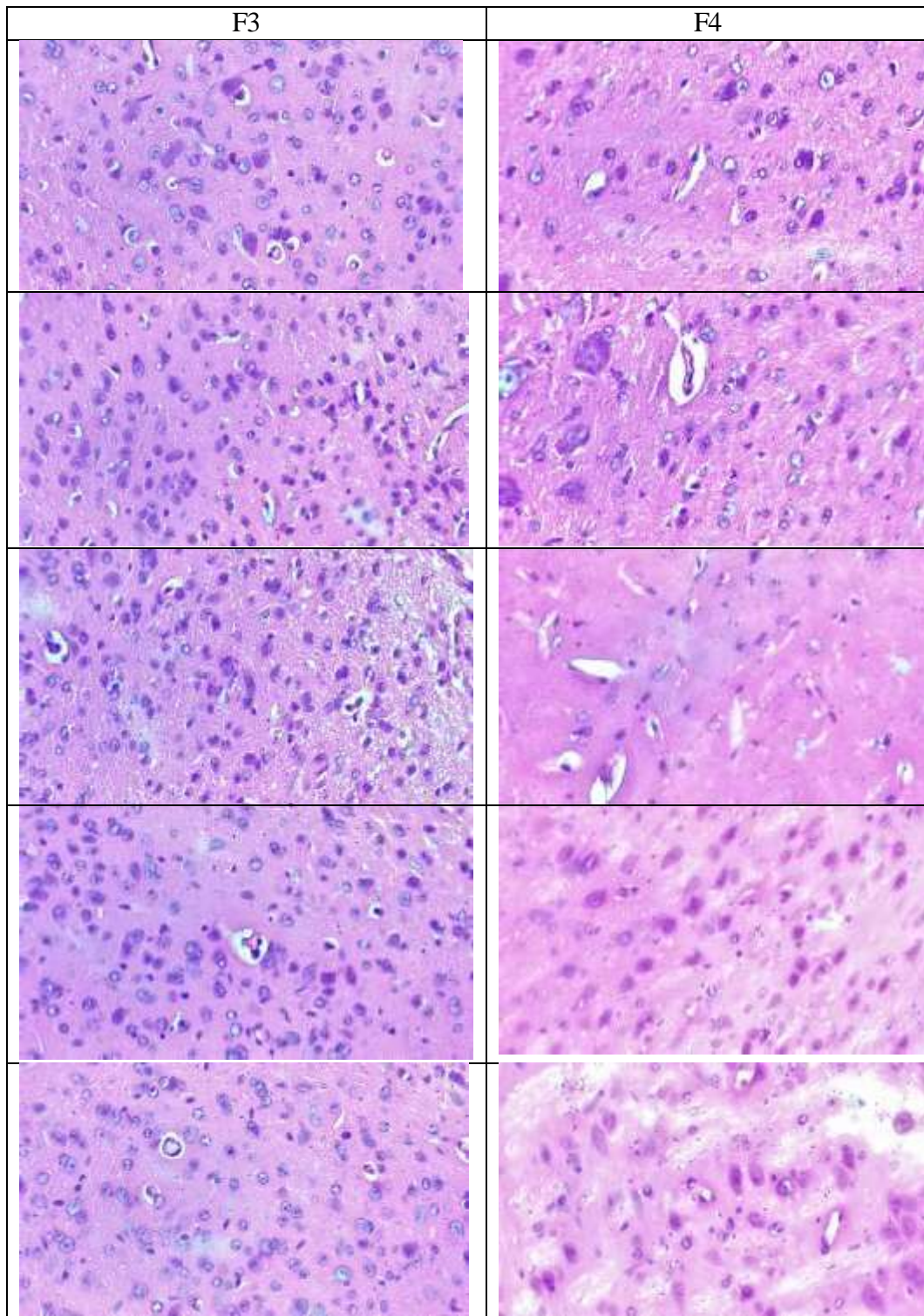


Aklimatisasi mencit

LAMPIRAN 14

LAPANG PANDANG HASIL HISTOLOGI OTAK





F0 (NEGATIF)	KONTROL NORMAL
