

Uji Aktivitas Antidepresan dari Madu Hitam Pahit terhadap Mencit Swiss Webster yang Diinduksi dengan *Chronic Mild Stress* (CMS)

Nurul Qalbiy, Sri Peni Fitriyaningsih, Siti Hazar

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: nqolby23@gmail.com, sri_peni@yahoo.com, sitihazar1009@gmail.com

ABSTRACT: Depression is an emotional condition that occurs due to abnormality neurotransmitters of norepinephrine (NE), serotonin (5-HT) and dopamine (DA) in the brain. Natural substances that assumed have antidepressant activity and can increase mobility is bitter black honey with secondary metabolites of alkaloids. The purpose of this research is to investigate the effect of bitter black honey to the decrease in immobility time in Swiss Webster mice. This research used experimental method induced Chronic Mild Stress (CMS) with a total sample of 24 animals which that divided into 6 treatment groups. Antidepressant activity is measured based on the amount of immobility time decreased by the Forced Swimming Test (FST) method for last 4 minutes in 6 minutes. The results showed that the bitter black honey solution with a dose of 25 mg / 20 gBB, 50 mg / 20gBB and 100mg / 20gBB had significant different antidepressant activity ($P < 0,05$) compared to the positive control group. Based on the research results an effective dosage of bitter black honey obtained at a dose of 25 mg/20 gBB because it can reduced the immobility duration measure of antidepressants.

Keywords: Bitter Black Honey, Immobility Time, Forced Swimming Test (FST), Chronic Mild Stress (CMS)

ABSTRAK: Depresi adalah kondisi emosional yang yang terjadi akibat ketidaknormalan pada kadar neurotransmitter norepinefrin (NE), serotonin (5-HT) dan dopamin (DA) didalam otak. Bahan alam yang diduga memiliki aktivitas antidepresan dan mampu meningkatkan mobilitas yaitu madu hitam pahit yang mengandung metabolit sekunder alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek pemberian larutan madu hitam pahit terhadap penurunan *immobility time* pada mencit Swiss Webster. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental yang diinduksi *Chronic Mild Stress* (CMS) dengan jumlah sampel sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 6 kelompok perlakuan. Aktivitas antidepresan diukur berdasarkan jumlah penurunan *immobility time* dengan metode *Forced Swimming Test* (FST) pada 4 menit terakhir dari 6 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan madu hitam pahit dengan dosis 25 mg/20 gBB, 50 mg/20gBB dan 100mg/20gBB memiliki aktivitas antidepresan yang berbeda bermakna secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Berdasarkan hasil penelitian dosis efektif sediaan larutan madu hitam pahit diperoleh pada dosis 25 mg/20 gBB karena mampu menurunkan durasi *immobility time* sebagai ukuran antidepresan.

Kata Kunci: Madu Hitam Pahit, Waktu Imobilitas, Forced Swimming Test (FST), Chronic Mild Stress (CMS).

1 PENDAHULUAN

Depresi adalah kondisi emosional yang ditandai dengan kesedihan yang berlebihan, perasaan tidak berarti dan bersalah, menarik diri dari orang lain, dan tidak dapat tidur, kehilangan selera makan, hasrat seksual, minat serta kesenangan dalam aktivitas yang biasa dilakukan (Davidson and Neale, 2006:372). Depresi secara fisiologis

terjadi karena kurangnya jumlah neurotransmitter norepinefrin (NE), serotonin (5-HT) dan dopamin (DA) dalam otak (Sukandar dkk, 2009). Salah satu terapi yang digunakan untuk mengatasi depresi adalah dengan menggunakan obat-obatan golongan antidepresan. Antidepresan adalah obat yang digunakan untuk meringankan atau menghilangkan gejala keadaan murung dengan cara memperbaiki perasaan (*mood*) yang

disebabkan oleh keadaan sosial-ekonomi, penyakit atau obat-obatan (Tjay dan Raharja, 2007). Mekanisme kerja antidepresan adalah dengan menyeimbangkan kadar neurotransmitter di dalam otak. Namun, penggunaan obat-obat kimia memiliki harga yang cukup tinggi dan juga banyak terdapat efek samping yang kurang baik seperti mual, gangguan saluran pencernaan, nyeri kepala, insomnia, mulut kering dan lain-lain (Katzung, 2012).

Indonesia merupakan negara yang kaya dengan sumber bahan obat dari bahan alam yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan secara maksimal sebagai obat herbal. Salah satu kekayaan alam Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal adalah madu. Berdasarkan penelitian Mistry (1987) produksi madu berwarna gelap mengandung triptofan dan tirosin. Asam amino esensial triptofan merupakan prekursor bagi ribuan alkaloid. Triptofan juga merupakan prekursor serotonin, sehingga pemberian asam amino triptofan dapat meningkatkan sintesis serotonin pada otak (Pierpaoli, *et.al.*, 1995). Oleh karena itu, madu berwarna gelap yang mengandung alkaloid diduga mengandung triptofan yang berkhasiat sebagai antidepresan.

Chronic Mild Stress (CMS) merupakan metode induksi yang mirip dengan keadaan depresi yang lebih alami dan dianggap memiliki homologi yang lebih baik dengan depresi manusia (Duman, 2010). *Forced Swimming Test* (FST) adalah metode yang baik untuk skrining obat antidepresan (Petit-Demoluliere, *et.al.*, 2005; Duman, 2010). Penurunan durasi *immobility time* selama FST dapat diambil sebagai ukuran antidepresan (Zomkowski, *et.al.*, 2004).

Berdasarkan pemaparan diatas, dapat dirumuskan apakah pemberian madu hitam pahit dapat memberikan aktivitas antidepresan terhadap mencit serta berapakah dosis efektif pada aktivitas antidepresan terhadap mencit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidepresan madu hitam pahit terhadap mencit jantan dan mengetahui dosis efektif yang berefek antidepresan. Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai khasiat madu hitam pahit sebagai obat alternatif penyakit depresi sehingga dapat dibuat sediaan farmasi.

2 LANDASAN TEORI

Madu adalah cairan kental yang dihasilkan dari nektar bunga oleh lebah. Madu hasil dari lebah yang ditampung dengan metode pengambilan modern berupa cairan jernih dan bebas dari benda asing (Molan, 1999). Pada produksi madu berwarna gelap mengandung triptofan dan tirosin, sedangkan pada madu berwarna terang tidak mengandung asam amino triptofan dan tirosin (Mistry, 1987). Dari turunan L-triptofan menghasilkan neurotransmitter serotonin (5-HT) yang berperan pada pergerakan, pernapasan, reproduksi seksual dan pengaturan suhu. Selain itu, dapat memodulasi perilaku seperti tidur, makan, ingatan dan suasana hati (Kennedy, 2014).

Depresi merupakan kondisi emosional yang biasanya ditandai dengan kesedihan yang berlebihan, perasaan tidak berarti dan bersalah, menarik diri dari orang lain, tidak dapat tidur, kehilangan selera makan, hasrat seksual, minat serta kesenangan dalam beraktivitas yang biasa dilakukan (Davison, 2006:372). Etiologi gangguan depresi sangat kompleks dan melibatkan banyak faktor, seperti sosial, perkembangan jiwa dan biologis. Faktor-faktor yang terlibat bisa muncul bersama-sama tetapi juga sendiri-sendiri (Teter, *et.al.*, 2007). Patofisiologi depresi disebabkan oleh menurunnya jumlah neurotransmitter norepinefrin (NE), serotonin (5-HT) dan dopamin (DA) dalam otak (Sukandar dkk., 2009). Tidak beraturannya neurotransmitter menyebabkan terjadinya gangguan depresi dan psikiatrik.

Antidepresan merupakan obat-obat yang efektif untuk pengobatan depresi, meringankan gejala gangguan depresi, termasuk penyakit psikis yang dibawa sejak lahir. Menurut (Depkes, 2007) penggolongan obat antidepresan mencakup tiga golongan obat, yaitu:

1. Antidepresan klasik
2. Antidepresan generasi ke-2
3. Antidepresan MAO-I

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan uji eksperimental dengan subjek uji yaitu mencit jantan galur Swiss Webster dengan parameter yang diamati adalah durasi *immobility time*. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu penapisan fitokimia pada madu hitam pahit,

aklimatisasi hewan uji, pemberian induksi *Chronic Mild Stress* (CMS), pengujian antidepresan dengan metode *Forced Swimming Test* (FST) dan analisis data.

Chronic Mild Stress (CMS) merupakan metode induksi yang mirip dengan keadaan depresi yang lebih alami dan dianggap memiliki homologi yang lebih baik dengan depresi manusia (Duman, 2010). CMS diberikan selama 28 hari dan sediaan diberikan pada hari ke-14 sampai dengan hari ke-28. *Forced Swimming Test* (FST) adalah metode yang baik untuk skrining obat antidepresan (Petit-Demoluliere, *et.al.*, 2005; Duman, 2010). Uji aktivitas antidepresan dilakukan 24 jam setelah administrasi terakhir dari persiapan tes. Mencit dimasukkan ke dalam silinder gelas yang berisi air, pengujian dilakukan selama 6 menit dan diamati durasi *immobility timen* pada 4 menit terakhir sebagai aktivitas antidepresan.

3 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penapisan fitokimia dilakukan pada madu hitam pahit dalam kondisi bebas dari cahaya matahari dan disimpan pada suhu ruang. Hasil penapisan fitokimia pada sediaan uji menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid dan kuinon.

Tabel 3.1. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia Madu Hitam Pahit Baduy

Golongan Senyawa	Simplisia
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	-
Polifenolat	-
Kuinon	+

Keterangan : (+) = terdeteksi (-) = tidak terdeteksi

Menurut penelitian (Nora, *et.al.*, 2013) madu hitam pahit baduy memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Adapun penelitian lain menunjukkan bahwa madu hitam pahit mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid dan antrakuinon (Samarghandian, *et al.*, 2013).

Selanjutnya, pengujian dilakukan dengan menggunakan 4 ekor mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok kontrol negatif

menggunakan akuades tanpa induksi stress. Kelompok yang diberi induksi stress yaitu, kontrol positif dengan sediaan akuades, kelompok pembanding menggunakan amitriptilin dengan dosis 0,065mg/20g BB, kelompok uji 1, 2 dan 3 diberi larutan madu dengan berbagai dosis yaitu 25 mg/20g BB, 50 mg/20g BB dan 100 mg/20g BB. Kemudian, mencit diadaptasikan selama 1 (satu) minggu. Selanjutnya, mencit diinduksi dengan berbagai macam paparan CMS (*Chronic Mild Stress*) selama 28 hari dan diberikan sediaan pada hari ke-14 sampai dengan hari ke-28. Adapun jadwal pemberian induksi CMS sebagai berikut:

Tabel 3.2. Jadwal Pemberian Induksi Chronic Mild Stress (CMS)

Hari	Induksi
Senin	Cahaya terus menerus selama 36 jam
Selasa	Kandang miring 45° selama 3 jam
Rabu	Paparan botol kosong selama 1 jam
Kamis	Sekam basah selama 21 jam
Jum'at	Akses makanan dibatasi selama 1 jam
Sabtu	Pasangkan kandang selama 2 jam
Minggu	Kekurangan air dan makan selama 18 jam

Selanjutnya, dilakukan pengujian aktivitas antidepresan dengan metode uji berenang paksa atau *Forced Swimming Test* (FST) sehari setelah selesai pemberian induksi CMS dan sediaan uji terhadap mencit. Setiap mencit diberenangkan selama 6 menit, dimana waktu imobilitas dihitung sejak menit ke-2 sampai dengan menit ke-6. Waktu imobilitas adalah waktu dimana aktivitas mencit tercatat hanya gerakan yang diperlukan untuk mempertahankan posisi kepala agar tetap berada di permukaan air (Abdoly *et al.*, 2012). Dimana penurunan durasi *immobility time* selama *forced swimming test* (FST) diambil sebagai ukuran antidepresan.

Tabel 3.3 Rataan Waktu Imobilitas Mencit

Perlakuan	Rata-rata Waktu Imobilitas ± SD
Kontrol Positif (+)	173,50 ± 26,54
Kontrol Normal	40,25 ± 23,49
Sediaan Uji 1	51 ± 25,07
Sediaan Uji 2	33,25 ± 25,34
Sediaan Uji 3	25,75 ± 16,09
Kontrol Pembanding	60,25 ± 22,90

Berdasarkan hasil penelitian pada sediaan uji 1, 2 dan 3 diberikan dengan dosis yang semakin meningkat adapun hasil data waktu imobilitas yang didapat menunjukkan bahwa aktivitas antidepresan dengan hasil yang diperoleh berbanding lurus dengan jumlah dosis yang diberikan, yaitu semakin tinggi dosis sediaan yang diberikan menunjukkan adanya penurunan *immobility time*. Berdasarkan analisis dari rata-rata waktu imobilitas tersebut madu hitam pahit dengan dosis 1 (25 mg/ 20 gram BB mencit), dosis 2 (50 mg/20 gram BB mencit) dan dosis 3 (100 mg/20 gram BB mencit) memiliki aktivitas antidepresan karena adanya penurunan *immobility time*. Namun, perlu ada uji analisis data statistik untuk melihat adanya perbedaan bermakna pada setiap kelompoknya.

Pada analisis data statistik diperoleh data yang terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA. Pada uji ANOVA diperoleh data bahwa nilai F sebesar 11,134 dan nilai Asymp. Sig sebesar 0,000. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan antara ketiga kelompok kontrol dan ketiga kelompok uji tersebut karena memiliki nilai P (0,000) < 0,05. Selanjutnya untuk melihat perbedaan bermakna diantara kelompok kontrol dan uji dilanjutkan dengan uji lanjutan LSD.

Tabel 3.4 Ringkasan Hasil Uji Lanjutan LSD

Kelompok	KN	KPA	U1	U2	U3
KP	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
KN		0,244	0,526	0,678	0,394
KPA			0,584	0,121	0,052
U1				0,299	0,146
U2					0,657

Keterangan:

KP : Kelompok Kontrol Positif

KN : Kelompok Kontrol Normal

KPA :Kelompok Kontrol Pembanding Amitriptilin

U1 : Kelompok Uji Sediaan 1 larutan madu hitam pahit

U2 : Kelompok Uji Sediaan 2 larutan madu hitam pahit

U3 : Kelompok Uji Sediaan 3 larutan madu hitam pahit

(*) : Ada perbedaan secara signifikan (p<0,05) pada uji

ini ditunjukkan dengan nilai P < 0,05 yaitu P = 0,000. Antara kontrol positif dan kontrol normal menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan hal ini menunjukkan bahwa kelompok positif yang diberi sediaan akuades dan diberi induksi CMS mengalami stress. Selanjutnya pada kontrol positif dan kontrol pembanding menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan hal ini menunjukkan bahwa kelompok pembanding memiliki aktivitas antidepresan. Selanjutnya, dibandingkan antara kontrol positif dengan kelompok uji 1, kelompok uji 2 dan kelompok uji 3 menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan artinya terdapat aktivitas antidepresan dari ketiga kelompok hewan uji tersebut.

normal, sehingga sediaan pembanding maupun sediaan uji memiliki potensi sebagai antidepresan.

4 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sediaan larutan madu hitam pahit dengan dosis 25 mg/20 gBB, 50 mg/20gBB dan 100mg/20gBB dapat menurunkan *immobility time*. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan madu hitam pahit dengan dosis 25 mg/20 gBB, 50 mg/20gBB dan 100mg/20gBB memiliki aktivitas antidepresan yang berbeda bermakna secara signifikan (P < 0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Berdasarkan hasil penelitian dosis efektif sediaan larutan madu hitam pahit diperoleh pada dosis 25 mg/20 gBB karena mampu menurunkan durasi *immobility time* sebagai ukuran antidepresan

SARAN

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk mengkondisikan kontrol normal untuk tidak terpapar stress seminimal dengan dosis (25mg/20gBB)

harus selalu dibuat baru setiap harinya untuk memastikan stabilitas zat aktif yang akan dikonsumsi memiliki aktivitas antidepresan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdoly, M, A. Farnam, F. F, Fathiazad, A. Khaki, A. Khaki, A. Ibrahim, F. Afshari, and H. Rastgar. (2012). " Antidepressant- like activity of *Ocinum basillicum* (Sweet basil) in the forced swimming test of rats exposed to electromagnetic field (EMF)". *African journal of pharmacy and pharmacologi* Vol 6(3), pp 211-215.
- Davison, G.C., and Neale J.M. (2006). *Psikologi Abnormal*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Depkes. (2007). *Pharmaceutical Care Untuk Penderita Gangguan Depresif*.
- Duman, C.H. (2010). *Models of Depression. Vitamin and Hormon*. Elsevier Inc.
- Katzung, Betram G. (2012). *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 12*. Jakarta: EGC
- Kennedy, David O. (2014). *Plants and The Human Brain*. Oxford University Press: Inggris.
- Mistry, Ramchandra Parshotam. (1987). *Analytical studies of Honey*. Thesis Universitas Salford: Inggris
- Molan, P.C. (1999). *The Role of Honey in The Management of Wounds*. *Journal of Wound Care*.
- Nora, A., Wilapangga, A., Novianti T. (2018). *Antioxidant Activity, Antibacterial Activity, Water Content, And Ash Content In Baduy Honey*. *Bioscience*, Vol 2 No 1, 2018, pp 38-44
- Pierpaoli, W., W. Regelson, and C. Colman. (1995). *The Melatonin Miracle*. Dabara Publishers, New York.
- Samarghandian S, Farkhondekh T, Samini F. (2017). *Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research*.
- Sukandar, E. Y., Andrajati, R., Sigit, I. J., Adnyana, K. I., Setiadi, P. A. A., Kusnandar. (2009). *ISO Farmakoterapi*, Cetakan kedua. Penerbit PT. ISFI: Jakarta.
- Teter, C. S., Kando, J. C., Wells, B. G., & Hayes, P. E. (2007). *Depressive Disorder*. Dalam Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey Micheal, L., (eds). *Pharmacotherapy*
- A *Pathophysiological Approach*, 7th Edition. Appleton and Lange, New York.
- Tjay, T.H, dan Rahardja, K. (2007). *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo
- Zomkowski, A. D. E., Rosa A. O., Lin, J., Santos A.R.S., Calixto, J.B., Rodrigues, A. L. S. (2004). *Evidence for Serotonine Subtypes Involvement in Agmatine Antidepressant like Effect in the Mouse Forced Swimming Test*. *Brain Res*, 1023:253-263