

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Depresi merupakan gangguan kesehatan mental yang banyak Terjadi di masyarakat, yang ditandai dengan perasaan sedih berkepanjangan atau berkurangnya ketertarikan terhadap aktivitas yang sebelumnya dirasakan menyenangkan. Kondisi ini sering disertai gejala lain seperti gangguan pola tidur, perubahan nafsu makan dan berat badan, kelelahan, perasaan tidak berharga, kesulitan dalam berkonsentrasi, hingga munculnya pikiran tentang kematian atau tindakan bunuh diri (WHO, 2023). Secara biologis, depresi berkaitan dengan ketidakseimbangan sistem neurotransmitter di otak, terutama serotonin, dopamin, dan norepinefrin, yang berperan penting dalam pengaturan emosi, fungsi kognitif, serta aktivitas motorik (Planchez et al., 2019). Menurut data World Health Organization (WHO, 2023) menunjukkan bahwa lebih dari 280 juta individu di dunia, atau sekitar 3,8% dari populasi global, mengalami depresi. Di Indonesia, hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 melaporkan prevalensi gangguan depresi sebesar 6,1% pada penduduk berusia di atas 15 tahun (Kemenkes RI., 2023), yang setara dengan lebih dari 12 juta orang (Kemenkes RI., 2021). Gangguan ini tidak hanya berdampak pada penderitaan individu, tetapi juga berkontribusi terhadap penurunan kualitas hidup, berkurangnya produktivitas, meningkatnya risiko bunuh diri khususnya pada usia produktif serta bertambahnya beban sosial dan ekonomi bagi masyarakat (WHO, 2023).

Salah satu obat yang dapat digunakan sebagai terapi dalam menangani depresi adalah golongan antidepresan trisiklik (TCA), salah satunya adalah nortriptilin. Nortriptilin merupakan metabolit aktif dari amitriptyline (Merwar et al., 2023). Nortriptilin bekerja dengan menghambat reuptake (penyerapan kembali) neurotransmitter serotonin dan norepinefrin oleh membran neuronal presinaptik, sehingga meningkatkan konsentrasi neurotransmitter tersebut di celah sinaptik (Merwar et al., 2023). Nortriptilin memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan obat segolongannya seperti amitriptyline dalam hal keamanan dan tolerabilitas yaitu Nortriptilin memiliki insidensi efek samping yang lebih rendah, termasuk sedasi yang lebih minim, sehingga lebih dipilih dalam pengobatan depresi pada pasien lansia atau mereka yang rentan terhadap toksisitas overdosis (O'Sullivan, 1995). Namun, Nortriptilin memiliki salah satu kekurangan yaitu merupakan substrat dari transporter *P-glycoprotein* (P-gp), yang mempunyai peran penting terhadap distribusi obat ke otak. (Jensen et al., 2012).

P-gp merupakan protein transpor membran yang berperan penting dalam pengaturan distribusi obat melalui *blood brain barrier* (BBB). P-gp bekerja sebagai pompa efluks yang mengeluarkan senyawa lipofilik dari sel endotel kapiler otak kembali ke sirkulasi darah, sehingga membatasi jumlah obat yang dapat menembus ke sistem saraf pusat. (O'Brien et al., 2012; Ejlsing & Linnet, 2005). P-gp dapat membatasi distribusi beberapa obat antidepresan termasuk Nortriptilin ke otak, sehingga dapat memberikan hasil yang cenderung kurang maksimal. Menurut studi asosiasi gen yang membahas terkait polimorfisme nukleotida tunggal fungsional pada gen ABCB1 yang mengkode P-gp telah menemukan hubungan potensial antara fungsi P-gp dan depresi yang dapat menyebabkan resisten terhadap pengobatan (O'Brien et al., 2012; O'Brien et al., 2013). Oleh karena itu, pemberian kombinasi antara inhibitor P-gp dan obat-obatan antidepresan yang bersifat substrat dengan P-gp dapat diharapkan menjadi salah satu pendekatan yang dapat meningkatkan efek terapi dalam pengelolaan TRD (O'Brien et al., 2012; O'Brien et al., 2013). Salah satu senyawa yang dapat berperan sebagai inhibitor P-gp yaitu kuersetin.

Kuersetin sebagai inhibitor P-gp (*P-glycoprotein*) mempunyai mekanisme penghambatan transduksi sinyal antara *nucleotide-binding domain* (NBD) dan *transmembrane domain* (TMD). Kuersetin membentuk ikatan hidrogen stabil dengan residu Glu1084, Ile1115, Glu1119, dan Arg1188 pada NBD2, sehingga menghambat pergerakan struktural yang diperlukan untuk memompa obat keluar sel. Dengan demikian, pengikatan kuersetin pada lokasi tersebut menghambat aktivitas P-gp secara alosterik (Singh et al., 2022). Di sisi lain, kuersetin juga telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antidepresan dimana mempunyai efek dalam meregulasi kadar neurotransmitter seperti meningkatkan kadar serotonin (5-HT), norepinefrin (NE), dan dopamin (DA) di otak melalui penghambatan enzim monoamine oksidase (MAO) yang bertanggung jawab terhadap degradasi neurotransmitter monoamin (Chen et al., 2022). Selain itu, kuersetin menunjukkan afinitas pengikatan yang baik terhadap reseptor GABA- α dan menghambat aktivitas asetilkolinesterase (AChE), sehingga memengaruhi sistem neurotransmitter kolinergik dan GABAergik (Chen et al., 2022; Yang et al., 2025). Kuersetin juga meningkatkan kadar enzim antioksidan seperti glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), dan catalase (CAT), serta menurunkan kadar penanda stres oksidatif seperti malondialdehyde (MDA) di otak (Yang et al., 2025). Selain itu, kuersetin menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α yang terkait dengan neuroinflamasi pada depresi (Yang et al., 2025; Teng et al., 2025).

Dalam menguji efek antidepresan suatu senyawa secara *in vivo*, diperlukan model hewan coba yang sesuai. Salah satu model yang umum digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan reserpine (Planchez et al., 2019). Reserpine bekerja dengan menghambat *vesicular monoamine transporter 2* (VMAT2), yang dapat menyebabkan penurunan kadar neurotransmitter monoamin seperti serotonin, dopamin, dan norepinefrin. Penurunan kadar neurotransmitter ini pada hewan coba memunculkan gejala mirip depresi, seperti anhedonia, keputusasaan, serta penurunan aktivitas motorik (Li et al., 2023; Park et al., 2018). Model ini telah tervalidasi melalui beberapa rangkaian pengujian perilaku seperti *Forced Swim Test* (FST) dan *Tail Suspension Test* (TST) yang digunakan untuk menilai perilaku menyerah (*immobility*), serta *Open Field Test* (OFT) yang digunakan untuk mengamati aktivitas motorik dan kecenderungan eksploratif yang menggambarkan gejala psikomotorik maupun kecemasan (Maharani et al., 2023; Planchez et al., 2019).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mengevaluasi efek antidepresan kuersetin dan nortriptilin pada hewan mencit (*Mus Musculus*) model mirip depresi yang diinduksi dengan reserpine. Efek antidepresan diamati melalui beberapa pengukuran dan uji perilaku diantaranya yaitu, pengukuran bobot badan, *Forced Swim Test* (FST), *Tail Suspension Test* (TST), dan *Open Field Test* (OFT). Selain itu dilakukan juga analisis kadar MDA (malondialdehyde) dan GSH (glutathione) pada jaringan otak (*Mus Musculus*).

I.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antidepresan kombinasi kuersetin dan nortriptilin pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi reserpin, yang diukur melalui uji OFT, TST, dan FST?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis aktivitas antidepresan kuersetin dan nortriptilin pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan reserpin yang dievaluasi melalui uji OFT, TST, dan FST.

I.4 Manfaat Penelitian

1. Menjadi dasar pengembangan kombinasi terapi baru antara kuersetin dan nortriptilin untuk meningkatkan efektivitas pengobatan depresi, terutama pada kasus depresi yang resisten terhadap terapi tunggal.
2. Menyediakan model penelitian *in vivo* hewan coba mirip depresi menggunakan mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi reserpin.

BAB II

METODE PENELITIAN

II.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Biofarmasi Universitas Hasanuddin pada bulan Desember 2025-Januari 2026.

II.2 Izin Etik

Penelitian ini akan diajukan dan memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Hewan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin sebelum pelaksanaan penelitian dimulai. Seluruh prosedur penggunaan dan perlakuan terhadap hewan coba akan dilakukan sesuai dengan prinsip kesejahteraan hewan dan kaidah etik penelitian yang berlaku.

II.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *centrifuge*, gelas beaker, gelas ukur, gunting bedah, labu Erlenmeyer, kandang, labu tentukur, mikropipet, mortar, *object glass*, *pestle*, pinset bedah, pipet ukur, pipet tetes, pisau bedah spuit, spuit oral, *stopwatch*, *syringe filter*, tabung silinder, timbangan digital, tip, dan *vortex mixer*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu dietil eter, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), kuersetin, mencit (*Mus musculus*), NaCl 0.9%, natrium karboksimetil selulosa (Na-CMC), nitrogen cair, nortriptilin, pakan standar mencit, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), reserpine, *sterile water for injection* dan tween-80.

II.4 Metode Kerja

II.4.1 Penyiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan mencit jantan galur Balb/c (*Mus musculus*) yang berumur sekitar 8–12 minggu dengan berat badan 25–42 gram. Sebanyak 25 ekor mencit digunakan dan dipilih berdasarkan kondisi kesehatan serta keseragaman fisiologisnya. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok, terdiri dari satu kelompok kontrol sehat dan empat kelompok perlakuan, masing-masing berjumlah lima ekor mencit. Selama penelitian, mencit dipelihara pada suhu ruang 20–26°C dengan siklus terang-gelap 12 jam:12 jam, mendapatkan pakan dan air secara *ad libitum*, serta diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum perlakuan dimulai (Ayad et.al., 2023; Standley et al., 2024).

II.4.2 Perlakuan Hewan Uji

Seluruh hewan percobaan mendapatkan perlakuan selama 10 hari sesuai dengan pembagian kelompok masing-masing. Induksi kondisi mirip depresi dilakukan melalui pemberian injeksi reserpin dosis 0,5 mg/kgBB secara intraperitoneal (i.p.) satu kali setiap hari selama 10 hari, reserpin terlebih dahulu dilarutkan dalam PBS yang mengandung 0,1% DMSO dan 0,3% Tween-80 (Qian et al., 2023). Mulai hari ke-8 hingga hari ke-17, hewan uji diberikan kuersetin dan Nortriptilin per oral (p.o.) yang telah dilarutkan dalam larutan dalam Na-CMC Rincian perlakuan untuk masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

1. Kelompok I: Tidak diberikan perlakuan apapun, hanya diberi pakan dan minum standar.
2. Kelompok II: Diberikan penginduksi reserpine 0,5 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 10 hari. Pada hari ke-8 hingga hari ke-17, diberikan Na-CMC 0,5% secara oral, kemudian 40 menit selanjutnya diberikan kembali Na-CMC 0,5% secara oral.

3. Kelompok III: (Diberikan reserpine 0,5 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 10 hari. Pada hari ke-8 hingga hari ke-17, diberikan NaCMC 0,5% secara oral, kemudian 40 menit selanjutnya diberikan Nortriptilin 15 mg/kgBB secara oral.
4. Kelompok IV: Diberikan reserpine 0,5 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 10 hari. Pada hari ke-8 hingga hari ke-17, diberikan kuesetin 20 mg/kgBB secara oral, kemudian 40 menit selanjutnya diberikan Na-CMC 0,5% secara oral.
5. Kelompok V: Diberikan reserpine 0,5 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 10 hari. Pada hari ke-8 hingga hari ke-17, diberikan kuesetin 20 mg/kgBB secara oral, kemudian 40 menit selanjutnya diberikan Nortriptilin 15 mg/kgBB secara oral.

II.4.3 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini meliputi penimbangan berat badan mencit (*Mus musculus*), evaluasi perilaku mencit (*Mus musculus*), melalui *Open Field Test* (OFT), *Forced Swim Test* (FST), dan *Tail Suspension Test* (TST).

II.4.3.1 Penimbangan Bobot Badan

Penimbangan berat badan mencit dilakukan mulai dari hari ke-0, yaitu sebelum perlakuan diberikan, hingga hari ke-17 setelah perlakuan. Kegiatan ini bertujuan untuk memantau kondisi fisiologis mencit selama penelitian serta memastikan tidak terjadi penurunan berat badan yang signifikan akibat efek toksik perlakuan maupun gangguan metabolik. Selain itu, perubahan berat badan juga digunakan sebagai dasar untuk menyesuaikan ketepatan dosis berdasarkan bobot tubuh aktual hewan uji (Kim et al., 2021).

II.4.3.2 Open Field Test (OFT)

Uji *Open Field Test* (OFT) digunakan untuk menilai aktivitas motorik umum serta tingkat kecemasan pada mencit. Pengujian dilakukan pada hari ke-0 sebagai pengamatan awal sebelum perlakuan, kemudian diulang pada hari ke-8 dan ke-18 selama masa perlakuan. Pada setiap sesi, mencit ditempatkan secara individual dalam sebuah arena terbuka dan diamati selama 10 menit. Parameter yang diamati mencakup jarak tempuh total yang menandakan aktivitas motorik, waktu yang dihabiskan di zona tengah arena sebagai indikator tingkat kecemasan, serta frekuensi perilaku eksplorasi melalui *grooming* (perilaku membersihkan diri) dan *rearing* (berdiri dengan dua kaki belakang). Pengamatan atas parameter tersebut bertujuan untuk memastikan bahwa hasil uji perilaku lain seperti *Forced Swimming Test* (FST) dan *Tail Suspension Test* (TST) tidak dipengaruhi oleh gangguan aktivitas motorik semata, melainkan memang terkait dengan perubahan perilaku kecemasan dan depresi pada mencit (Park et al., 2018; Planchez et al., 2019). Adapun

Pada pengujian *Open Field Test* terdapat beberapa parameter yang diamati yaitu *Center Time*, *Crossing Center*, *Immobilize Time*, dan *Locomotory Activity*. *Center time* merupakan durasi waktu yang dihabiskan hewan coba pada area tengah (*central square*) dalam kotak *Open Field Test* (OFT) yang bersifat terbuka. Penurunan nilai *center time* menunjukkan adanya peningkatan kecemasan atau perilaku depresi, karena area tengah dianggap memiliki risiko tinggi sehingga mencit cenderung menghindarinya (fenomena *thigmotaxis*). Sebaliknya, pemberian antidepresan yang efektif akan meningkatkan durasi *center time*, yang mengindikasikan adanya penurunan tingkat kecemasan (Wangu et al., 2025). *Crossing center* merupakan frekuensi hewan melintasi garis tengah pada arena *Open*

Field Test (OFT). Parameter ini menggambarkan tingkat aktivitas lokomotor serta keberanian dalam melakukan eksplorasi. Induksi depresi umumnya menyebabkan penurunan nilai *crossing center*, sedangkan pemberian antidepresan dapat meningkatkan frekuensinya. Peningkatan tersebut menunjukkan adanya pemulihan aktivitas gerak (motilitas) serta berkurangnya hambatan perilaku (Wangu et al., 2025). *Immobilize time* merupakan durasi waktu hewan menunjukkan perilaku diam atau *freezing* di dalam arena Open Field Test (OFT). Peningkatan nilai *immobilize time* mengindikasikan munculnya gejala depresi, seperti keputusasaan perilaku (*behavioral despair*). Pemberian antidepresan dapat menurunkan durasi tersebut melalui peningkatan aktivitas sistem serotoninergik atau noradrenergik, sehingga mencerminkan perbaikan kondisi perilaku hewan coba (Wangu et al., 2025). *Locomotory activity* merupakan parameter yang mengukur total jarak tempuh atau frekuensi pergerakan hewan coba di seluruh area Open Field Test (OFT) selama periode pengamatan, yang umumnya berlangsung selama 5 menit. Parameter ini digunakan untuk menilai tingkat aktivitas umum hewan uji. Kondisi depresi dapat menurunkan *locomotory activity* akibat munculnya letargi atau penurunan energi. Sebaliknya, pemberian antidepresan yang efektif akan meningkatkan aktivitas lokomotor, sehingga menunjukkan adanya perbaikan kondisi perilaku (Seibenhener & Wooten, 2015).

II.4.3.3 Forced Swim Test (FST)

Uji *Forced Swim Test* (FST) dilakukan untuk mengevaluasi perilaku keputusasaan (*behavioral despair*) pada hewan uji. Pengujian ini dilakukan pada hari ke-17, setelah seluruh perlakuan selesai diberikan. Dalam pengujian ini, mencit (*Mus musculus*) ditempatkan di dalam silinder transparan berisi air pada suhu ruang dan diamati selama enam menit. Dua menit pertama berfungsi sebagai fase adaptasi (habitulasi), sedangkan empat menit berikutnya digunakan untuk mencatat durasi imobilitas, yaitu waktu ketika mencit tidak melakukan gerakan aktif. Penurunan durasi imobilitas setelah pemberian senyawa uji diartikan sebagai adanya aktivitas atau efek antidepresan (Park et al., 2018; Planchez et al., 2019).

Pada uji *Forced Swim Test* (FST) Parameter utama yang diamati adalah waktu mobilitas dan waktu imobilitas. Mobilitas didefinisikan sebagai gerakan aktif seperti berenang atau usaha untuk melarikan diri, sedangkan imobilitas merupakan kondisi ketika mencit hanya melakukan gerakan minimal untuk mempertahankan posisi kepala di atas air tanpa adanya upaya aktif untuk keluar dari situasi tersebut. Waktu imobilitas dihitung dengan mengurangi total waktu mobilitas dari durasi pengamatan. Nilai waktu imobilitas yang lebih tinggi menunjukkan kecenderungan perilaku menyerupai depresi, sedangkan penurunan waktu imobilitas setelah perlakuan dapat mengindikasikan adanya efek antidepresan dari senyawa yang diuji (Can et al., 2012).

II.4.3.4 Tail Suspension Test (TST)

Uji *Tail Suspension Test* (TST) merupakan metode pengamatan untuk menilai perilaku keputusasaan yang umum digunakan dalam penelitian preklinis. Pengujian ini dilakukan pada hari ke-16, yaitu satu hari sebelum pemberian perlakuan terakhir. Dalam prosedur ini, mencit digantung secara vertikal dengan menggunakan pita isolasi pada bagian ekornya dan diamati selama enam menit. Durasi imobilitas menjadi parameter utama yang

dinilai, di mana penurunan waktu imobilitas setelah pemberian senyawa uji diartikan sebagai adanya aktivitas atau efek antidepresan (Park et al., 2018; Planchez et al., 2019).

II.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa hasil evaluasi aktivitas dan perilaku mencit (*Mus musculus*) yaitu data penimbangan berat badan mencit (*Mus musculus*), evaluasi perilaku mencit (*Mus musculus*), melalui *Open Field Test* (OFT), *Forced Swim Test* (FST), dan *Tail Suspension Test* (TST). Seluruh data kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *OneWay Analysis of Variance* dan *twoWay Analysis of Variance*. Seluruh proses analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism.