

Aktivitas Antiansietas Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish): Studi In Vivo dengan Metode *Elevated Plus Maze* (EPM), *Light Dark Test* (LDT), and *Open Field Test* (OFT)

Widyastiwi^{1,2}, Yoga Adi Restu Muzaki¹ dan Mohammad Roseno¹

¹ Department of Pharmacy, Poltekkes Kemenkes Bandung, Bandung, 40161, Indonesia

² Center of Excellence on Utilization of Local Material for Health Improvement, Poltekkes Kemenkes Bandung, Bandung, 40171, Indonesia

Korespondensi: Widyastiwi

Email: widyastiwi_farmasi@staff.poltekkesbandung.ac.id

Submitted: 07-03-2023, Revised: 30-04-2023, Accepted: 04-05-2023

ABSTRAK: Gangguan kecemasan (ansietas) adalah kondisi medis yang dikarakterisasi oleh adanya perasaan cemas akan sesuatu yang bersifat irasional. Beberapa gangguan kecemasan yang umum terjadi adalah gangguan kecemasan tergeneralisasi, gangguan panik, fobia, gangguan kecemasan social, dan *post-traumatic stress disorder* (PTSD). Kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid gallocatekin yang diduga memiliki sifat antiansietas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiansietas ekstrak etanol kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) dengan berbagai dosis. Penelitian eksperimen dilakukan dengan *post-test only control group design*. Tiga puluh mencit putih Swiss Webster (*Mus musculus*) jantan dibagi menjadi 5 kelompok secara acak: kelompok kontrol (CMC Na 1%), kelompok obat standar (diazepam 0,13 mg/kgBB), dan tiga kelompok ekstrak kulit pisang Cavendish (EEKPC) dengan dosis 200 mg/kg, 400 mg/kg dan 800 mg/kg. Aktivitas antiansietas dievaluasi dengan *Elevated plus maze* (EPM), *light dark test* (LDT), dan *open field test* (OFT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa EEKPC 200 mg/kg secara signifikan meningkatkan durasi hewan uji di tangan terbuka pada uji EPM ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dosis EEKPC 200 mg/kg juga mampu meningkatkan durasi di area terang secara signifikan pada uji LDT dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Pada OFT, dosis EEKPC 200 mg/kg secara signifikan meningkatkan durasi di area tengah ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini mendukung pengembangan kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) sebagai terapi komplementer untuk gangguan kecemasan.

Kata kunci: *elevated plus maze* (EPM); kecemasan (ansietas); kulit buah pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish); *light dark test* (LDT); *open field test* (OFT)

ABSTRACT: Anxiety disorder is a mental health condition characterized by feelings of anxiety and irrational fear of something. These disorders include generalized anxiety disorder, panic disorder, phobias, social anxiety disorder, and post-traumatic stress disorder. Cavendish banana peel (*Musa acuminata* Cavendish) contains various bioactive compounds, including flavonoid gallocatechin which is proposed to have antianxiety properties. This study was aimed to determine the antianxiety effect of various doses of 80% ethanolic extract of Cavendish banana peel (*Musa acuminata* Cavendish). The experimental study was conducted with a post-test only control group design. Thirty male Swiss Webster white mice (*Mus musculus*) were divided randomly into 5 groups: control group (CMC Na 1%), the standard drug group (diazepam 0.13 mg/kgBW), and three groups of Cavendish banana peel extract (EEKPC) at doses of 200 mg/kg, 400 mg/kg and 800 mg/kg. Antianxiety activity was evaluated by *elevated plus maze* (EPM), *light dark test* (LDT), and *open field test* (OFT). The results showed that EEKPC 200 mg/kg significantly increased the duration of the test animals in the open arms in the EPM test ($p < 0.05$) compared to the control group. EEKPC dose of 200 mg/kg was also able to significantly increase the duration in the light area in the LDT test compared to the control group ($p < 0.05$). In OFT, EEKPC dose of 200 mg/kg significantly increased duration in the center area ($p < 0.05$) compared to control group. Results of this study supports the development of Cavendish banana peel (*Musa acuminata* Cavendish) as a complementary therapy for anxiety disorder.

Keywords: *elevated plus maze* (EPM); anxiety; Cavendish banana peel (*Musa acuminata* Cavendish); *light dark test* (LDT); *open field test* (OFT)

1. Pendahuluan

Gangguan ansietas, atau kecemasan, merupakan gangguan kejiwaan yang paling umum terjadi di dunia. Gangguan ansietas didefinisikan sebagai gejala kekhawatiran yang berlebihan, tidak rasional, trauma akut, serta ketakutan yang kontraproduktif [1]. Obat utama yang digunakan untuk ansietas diantaranya adalah antidepresan, ansiolitik, dan beta-bloker untuk mengendalikan beberapa gejala fisik. Kelompok obat yang direkomendasikan untuk pengobatan ansietas diantaranya *selective serotonin reuptake inhibitors* (SSRIs), *serotonin norepinephrine reuptake inhibitors* (SNRIs), benzodiazepin, dan *tricyclic antidepressant* (TCA) [2].

Upaya lain dalam mengatasi ansietas yakni melalui penggunaan obat tradisional. Pertimbangan penggunaan obat tradisional adalah harga relatif murah, mudah untuk didapatkan, efek samping lebih kecil, dan dapat diramu sendiri. Oleh karena itu, penelitian tentang potensi anti-ansietas senyawa yang berasal dari tumbuhan telah menjadi perhatian khusus, karena terapi herbal yang efektif untuk kecemasan dapat menjadi alternatif yang lebih aman dan lebih murah untuk pasien dengan gangguan kecemasan, terutama bagi individu yang memiliki latar belakang sosial ekonomi di bawah rata-rata [3].

Pisang merupakan salah satu tanaman yang banyak ditanam baik dalam skala kecil maupun besar dan diproduksi oleh lebih dari 130 negara. Di Indonesia, pisang termasuk buah yang paling banyak dikonsumsi dibanding buah-buahan lain. Saat ini, lebih dari 230 jenis pisang tersebar di seluruh wilayah Indonesia [4]. Sekitar 40% buah pisang terdiri dari kulit yang tidak dapat dikonsumsi. Dalam skala global, setiap tahunnya industri buah-buahan maupun rumah tangga banyak menghasilkan limbah kulit pisang. Sedangkan komposisi kimia dari kulit pisang sebagian besar akan manfaat untuk kesehatan [5]. Maka perlunya pemanfaatan dari limbah kulit pisang, salah satunya sebagai obat tradisional. Penelitian terkait penggunaan etnofarmakologi kulit pisang telah didokumentasikan dalam beberapa

literatur. Kulit buah pisang secara tradisional digunakan untuk mengatasi gangguan kesehatan seperti depresi, anemia, dan pengendalian tekanan darah [6].

Beberapa studi klinis dan praklinis telah menunjukkan bahwa patofisiologi ansietas sering dikaitkan dengan adanya kerusakan DNA oksidatif dalam otak. Dengan demikian, antioksidan memiliki peran yang signifikan untuk menurunkan risiko ansietas [7]. Ekstrak kulit pisang diketahui memiliki potensi antioksidan secara *in vivo* dengan meningkatkan aktivitas enzim CAT, GSH, dan SOD di otak [8]. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa kulit buah pisang memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibanding daging buahnya [9]. Dibandingkan dengan varietas lainnya, kulit pisang varietas Cavendish diketahui memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi [10]. Ekstrak etanol 80% kulit pisang Cavendish menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat [11] dan senyawa yang paling tinggi adalah galokatekin [12]. Penelitian dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol 80% kulit pisang Cavendish secara *in vivo* pada mencit putih jantan yang diinduksi ansietas dengan metode *open field test*, *elevated plus maze*, dan *light dark test*. Penelitian ini berkontribusi sebagai dasar uji preklinik pemanfaatan limbah kulit pisang Cavendish.

2. Metode dan bahan

2.1. Alat dan bahan

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur Swiss Webster sebanyak 30 ekor yang didapatkan dari peternakan lokal di Bandung. Sementara bahan yang digunakan diantaranya adalah kulit buah pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish), etanol 80% teknis, tablet diazepam (PT. Kalbe Farma), CMC Na, dan aquadest. Alat yang digunakan diantaranya adalah *elevated plus maze* (EPM) apparatus, *open field test* (OFT) apparatus, dan *light-dark test* (LDT) apparatus, stopwatch, rotary evaporator (Buchi®), oven (Mettmert®), dan timbangan analitik (Mettler Toledo®).

2.2. Jenis penelitian dan pertimbangan etik

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experiment* dengan desain *post-test only with control group*. Protokol penelitian telah dikaji dan dinyatakan layak etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung dengan *ethical clearance* nomor 14/KEPK/EC/V/2021.

2.3. Pembuatan ekstrak etanol kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata Cavendish*)

Kulit buah pisang Cavendish (*Musa acuminata Cavendish*) ditimbang sebanyak 1500 gram, dilakukan sortasi basah, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya kulit pisang dirajang tipis dan dikeringkan dengan oven suhu 50°C. Simplisia hasil pengeringan disortasi kembali (sortasi kering), kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan mesh 40. Uji susut pengeringan dilakukan dengan metode standar Farmakope Herbal Indonesia.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 150 gram serbuk simplisia dimaserasi menggunakan pelarut etanol 80% dengan perbandingan 1:10 sambil sesekali diaduk. Remaserasi dilakukan sebanyak 3 kali sampai warna maserat bening. Semua maserat yang diperoleh dikumpulkan, disaring dengan kerta saring, dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu maksimal 50°C sampai sebagian besar pelarut menguap. Ekstrak kemudian dipekatkan lebih lanjut pada cawan uap di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak padat/kering. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang bobotnya, kemudian dihitung nilai rendemen ekstrak yang diperoleh. Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak kental yang diperoleh dengan metode standar Farmakope Herbal Indonesia.

2.4. Pengujian efek ekstrak etanol kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata Cavendish*) terhadap ansietas mencit

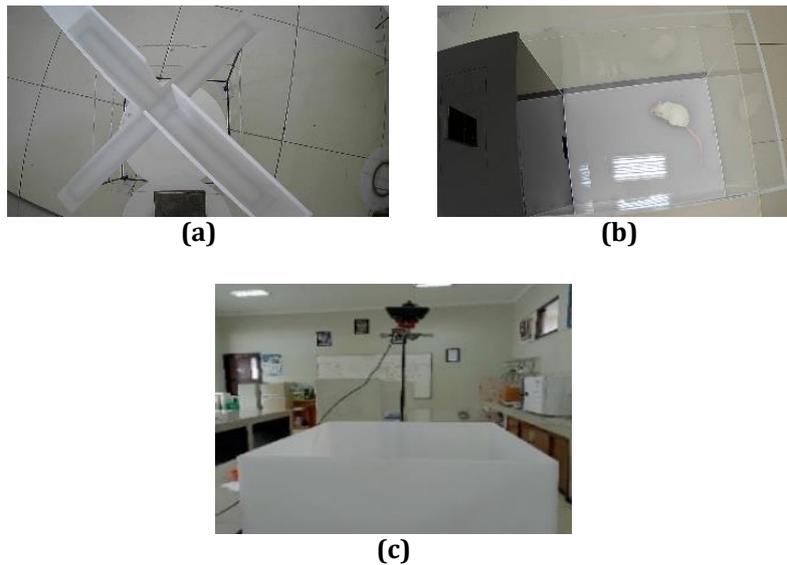
Hewan coba yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) jantan galur Swiss Webster yang berumur 2-3 bulan dengan berat seki-

tar 20-35 gram. Mencit diaklimatisasi selama 7 hari dalam kandang hewan di kampus Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Bandung. Pada saat proses aklimatisasi, mencit diberi pakan standar, minum, serta dijaga kebersihan kandangnya dengan mengganti sekam setiap tiga hari sekali.

Pada saat pengujian, sebanyak 30 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal (CMC Na 1%, 0,5 mL/20gBB), kelompok pembanding (diazepam 0,13 mg/kgBB), dan tiga kelompok ekstrak etanol kulit pisang cavendish (EEKPC) dengan dosis masing-masing kelompok 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB. Ansietas pada hewan coba diinduksi dengan tiga metode, yaitu *elevated plus maze* (EPM), *light dark test* (LDT), dan *open field test* (OFT), seperti yang terlihat pada Gambar 1.

Elevated plus maze merupakan model rancangan uji seperti labirin dalam bentuk 'tanda tambah' dengan dua lengan terbuka (25 x 5 x 0.5 cm) saling berhadapan dan pada sisi satunya terdapat dua lengan tertutup (25 x 5 x 16 cm). Labirin ditempatkan 50 cm dari permukaan tanah [13]. *Open field test* merupakan salah satu model rancangan uji lokomotor dan *anxiety-like behavior* pada mencit. Aparatus untuk uji ini berupa kotak berukuran 50 x 50 x 38 cm yang terbuat dari bahan plastik *opaque* berwarna putih [14]. *Light dark test* merupakan salah satu metode uji untuk mengeksplorasi perilaku hewan coba pada stressor berupa lingkungan dan cahaya. Aparatus untuk pengujian ini berupa kotak dengan ukuran 46 x 27 x 30 cm yang terdiri dari kompartemen gelap kecil (1 per 3 bagian) dan bagian terang (2 per 3 bagian). Hewan uji yang mengalami ansietas cenderung menghindari area terang dari aparatus [15].

Seluruh hewan diberikan senyawa uji sesuai kelompok melalui rute per oral. Setelah 1 jam terhitung sejak pemberian obat uji, mencit dimasukkan ke dalam *apparatus* setiap metode pengujian. Periode *wash out* antar pengujian ditetapkan selama 4 hari. Selama periode tes 5 menit, perilaku hewan coba dalam aparatus direkam melalui *webcam* yang terhubung dengan komputer. Ha-



Gambar 1. (a) *Elevated plus maze* (EPM), (b) *Light dark test* (LDT), dan (c) *Open field test* (OFT)

sil *recording* diamati dan dilakukan perhitungan durasi dan frekuensi hewan coba sesuai parameter setiap pengujian. Pengamatan dilakukan oleh peneliti sendiri.

Pada metode EPM, mencit ditempatkan di tengah labirin menghadap salah satu kompartemen tertutup dan dibiarkan bergerak bebas ke salah satu sisi. Durasi dan frekuensi yang dihabiskan hewan coba pada sisi terbuka (*open arms*) dan tertutup (*close arms*) dicatat. Hewan ansietas akan cenderung berada pada lengan tertutup (*close arms*), sementara hewan yang terpengaruh senyawa antiansietas akan lebih banyak menghabiskan waktu pada lengan terbuka (*open arms*).

Pada metode OFT, mencit ditempatkan di box persegi dengan dinding tinggi dan alas datar. Mencit dibiarkan bebas berkeliaran selama 5 menit. Durasi dan frekuensi mencit berada pada area tengah (*center area*) dihitung. Hewan ansietas akan cenderung berada di bagian pinggir *apparatus*. Dengan demikian, efek antiansietas senyawa ditunjukkan dengan meningkatnya durasi dan frekuensi hewan coba berada di *center area* OFT.

Pada metode LDT, mencit diletakkan di bagian tengah *apparatus* (di antara sisi gelap dan sisi terang). Jumlah waktu yang dihabiskan mencit selama 5 menit di setiap kompartemen kemudian diukur dan dibandingkan. Peningkatan waktu yang dihabiskan di kompartemen terang menan-

dakan penurunan ansietas. Semakin lama mencit di area terang maka menunjukkan efek antiansietas senyawa uji.

3. Hasil dan pembahasan

Sampel kulit buah pisang Cavendish diperoleh dari salah satu perusahaan pemasok di Tangerang, Banten. Hasil determinasi dari Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Padjadjaran dengan No. 77/HB/02/2021 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar buah pisang Cavendish dengan spesies *Musa acuminata* Cavendish. Gambar 2 menunjukkan buah pisang Cavendish segar dan simplisia kulit pisang Cavendish.

Pisang Cavendish merupakan tanaman yang tersebar luas dengan jumlah yang tinggi di Indonesia [16]. Pisang Cavendish juga merupakan buah yang selalu tumbuh sepanjang tahun dan budidaya pisang utama yang dipasarkan secara global dan yang paling banyak dikonsumsi dan diolah. Produksi tahunan pisang Cavendish cukup tinggi, sekitar 115 juta ton pada tahun 2018 [5]. Dibandingkan dengan pisang Berangan, pisang Cavendish merupakan varietas yang memiliki kandungan antioksidan kuat [10]. Kulit



Gambar 2. (a) Pisang Cavendish segar dan (b) Simplisia kulit pisang Cavendish

pisang Cavendish yang merupakan limbah dari buah pisang Cavendish banyak diolah dan dimanfaatkan dalam berbagai bidang terutama bidang kesehatan.

Kulit pisang Cavendish dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan buahnya. Kemampuan antioksidan pisang tergantung pada kultivar, kematangan dan tahap pematangan. Proses pemasakan buah pisang mempengaruhi perubahan kapasitas antioksidan [17]. Kulit pisang Cavendish yang digunakan berwarna kuning (pematangan tahap 4) karena menunjukkan kandungan antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan warna hijau [18]. Kulit pisang Cavendish yang dipilih tidak bercorak atau berbintik (*maturity bronzing*) dikarenakan corak atau bintik pada pisang menandakan pisang tersebut telah melewati batas kematangannya. Dengan demikian, kandungan antioksidan yang ada pada kulit pisang pun akan semakin sedikit jika dibandingkan dengan kulit pisang yang tanpa bintik. Kulit pisang Cavendish juga mengandung senyawa fenolat, karotenoid, flavonoid dan katekolamin, termasuk dopamin dan serotonin, yang berlimpah. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa kandungan fenol total lebih berlimpah pada ekstrak kulit pisang dibanding dengan ekstrak daging buahnya, dan galokatekin merupakan senyawa bioaktif paling berlimpah pada kulit pisang Cavendish [12].

Hasil pemeriksaan parameter organoleptik menunjukkan bahwa simplisia kering kulit pisang Cavendish memiliki bentuk lempengan yang

menggulung sepanjang 5-8 cm dan lebar 3-5 cm, sedikit keras, berwarna coklat kehitaman, bau aroma pisang tidak spesifik dan memiliki rasa pahit sedikit manis. Hasil susut pengeringan simplisia sebesar 5,93% menunjukkan simplisia telah memenuhi persyaratan umum Farmakope Herbal Indonesia. Kandungan air pada simplisia harus memenuhi persyaratan mutu karena dalam kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang jasad renik lainnya. Selain itu, kadar air simplisia >10% dapat menyebabkan enzim dalam sel masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati [19].

Ekstraksi simplisia kulit pisang Cavendish dilakukan dengan pelarut etanol 80% selama 3x24 jam. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstraksi kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) menggunakan etanol 80% menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan lebih besar dan kandungan fenolik lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 96% [11,20, 21]. Ekstrak yang diperoleh berwarna coklat kekuningan, kental dan berbau khas pisang dengan persen rendemen sebesar 27,71%. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% kulit pisang Cavendish (EEKPC) mengandung saponin, tanin, flavonoid dan polifenol. Hasil uji penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) mengandung polifenol dan tannin [22,23], sejumlah se-

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol 80% kulit pisang Cavendish (EEKPC)

Golongan senyawa kimia	Metode	Hasil
Alkaloid	Uji Mayer, Wagner dan Dragendorff	+
Saponin	Uji Buih	+
Tanin	Uji Feriklorida	+
Steroid	Uji Liebermann-Burchard	-
Terpenoid	Uji Liebermann-Burchard	+
Flavonoid	Uji Batesmith dan Metcalf	+
Polifenol	Uji Feriklorida	+

nyawa golongan saponin dan alkaloid [24]. Penelitian lain menyatakan bahwa dalam kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) juga mengandung banyak flavonoid [10,25].

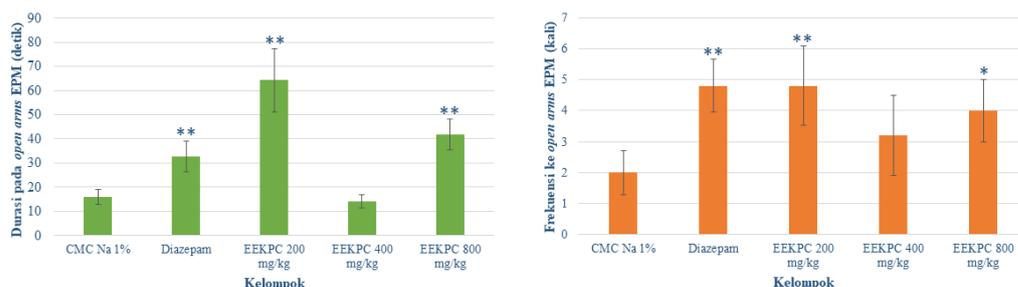
Uji aktivitas antiansietas ekstrak kulit pisang Cavendish dilakukan dengan tiga variasi dosis, yaitu 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB mencit. Pengujian aktivitas antiansietas dilakukan dengan menggunakan metode *elevated plus maze* (EPM), *light dark test* (LDT), dan *open field test* (OFT). Hal ini dilakukan karena umumnya pengujian untuk mengevaluasi aktivitas senyawa terhadap sistem saraf pusat tidak dapat dilakukan hanya dengan satu metode saja. Ansietas pada rodensia merupakan proses yang kompleks, sehingga pemodelan sulit dilakukan hanya dengan satu metode saja. Penggunaan lebih dari satu metode dapat memperkuat hasil pengujian [14].

Ketiga metode tersebut merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur perilaku kecemasan pada mencit dan sensitif terhadap uji klinis obat ansietas [26]. Prinsip ketiga metode uji didasarkan pada paradigma etiologi dan reaksi spontan (alami) hewan terhadap rangsangan stres yang tidak secara eksplisit menyebabkan rasa sakit atau ketidaknyamanan. Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah lama waktu mencit (durasi) berada pada *open arms* EPM, *light area* LDT dan *center area* OFT serta jumlah perpindahan (frekuensi) mencit ke *open arms* EPM, *light area* LDT, dan *center area* OFT. Parameter durasi dan frekuensi memiliki fungsi

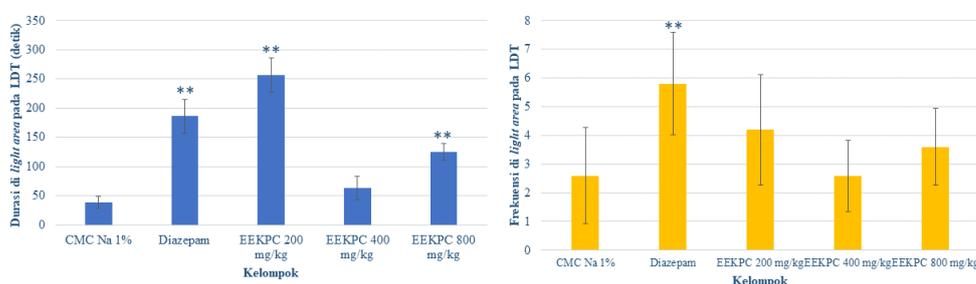
penilaian yang berbeda. Durasi menggambarkan keadaan psikis atau tingkat kecemasan sementara frekuensi menggambarkan aktivitas lokomotorik [27].

Gambar 3 menunjukkan bahwa obat pembanding diazepam dan EEKPC dosis 200 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB secara signifikan mampu meningkatkan durasi dan frekuensi hewan coba di *open arms* pada metode EPM ($p < 0,01$). Sementara, EEKPC dosis 400 mg/kgBB tidak menunjukkan aktivitas antiansietas pada metode EPM. *Elevated plus maze* diketahui mempunyai validitas yang tinggi berdasarkan penelitian secara empiris terutama pada antiansietas golongan benzodiazepin, metode ini menunjukkan sensitivitas terhadap neurotransmitter GABA dan pada amigdala [27,28]. Adapun kelebihan dari metode ini yaitu lebih mudah digunakan, peralatan sederhana, hewan uji tidak memerlukan treatment khusus, memanfaatkan stimulus alami hewan, prediktor potensi ansiolitik yang baik dan tingkat stressor yang lebih kompleks [29]. Sedangkan untuk kekurangan dari metode ini yaitu mencit tidak dapat digunakan kembali karena kemungkinan pembiasaan hasil, mencit cenderung mudah jatuh, efek ansiolitik dan ansiogenik dipengaruhi oleh aktivitas motorik [30].

Selain menggunakan metode EPM, aktivitas ansiolitik juga dievaluasi menggunakan metode LDT. Hasil pengujian diamati dengan parameter durasi mencit berada pada area terang (*light area*) dan frekuensi mencit dari *dark area* ke *light area*. Gambar 4 menunjukkan durasi dan frekuensi



Gambar 3. Rata-rata durasi (kiri) dan frekuensi (kanan) kelompok hewan coba di *open arms* pada pengujian *elevated plus maze* (EPM). Data ditunjukkan sebagai nilai rata-rata dan standar deviasi (SD). Perbedaan signifikan ditunjukkan dengan $*=p<0,05$ dan $**=p<0,01$ terhadap kelompok kontrol normal (uji *one way ANOVA* dengan *Post Hoc LSD*)

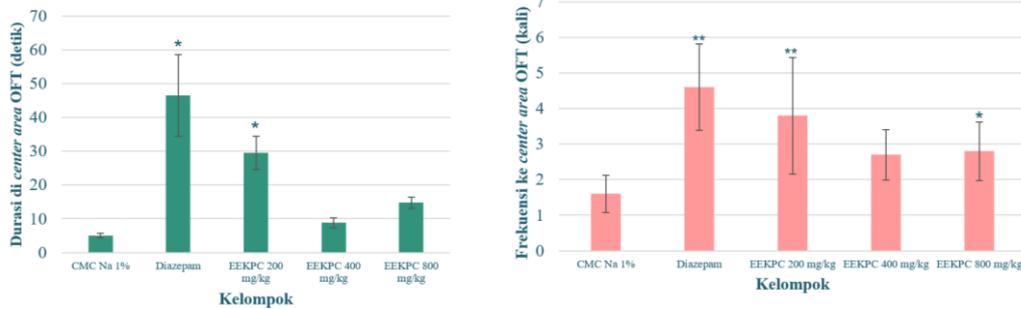


Gambar 4. Rata-rata durasi (kiri) dan frekuensi (kanan) kelompok hewan coba di *light area* pada pengujian *light dark test* (LDT). Data ditunjukkan sebagai nilai rata-rata dan standar deviasi (SD). Perbedaan signifikan ditunjukkan dengan $*=p<0,05$ dan $**=p<0,01$ terhadap kelompok kontrol normal (uji *one way ANOVA* dengan *Post Hoc LSD*)

hewan coba di *light area* pada metode LDT. Pada metode ini, EEKPC dosis 200 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB secara signifikan mampu meningkatkan durasi hewan coba di *light area* ($p<0,01$). EEKPC dosis 200 mg/kgBB memberikan efek antiansietas paling tinggi dibandingkan kedua variasi dosis ekstrak lainnya yaitu sebesar $256,80 \pm 29,18$ detik. Metode LDT merupakan salah satu metode pengujian antiansietas yang cukup sensitif terhadap treatment obat ansietas [15]. Adapun kelebihan dari metode ini yaitu alat yang digunakan mudah dan sederhana, memanfaatkan rangsangan alami mencit, serta mencit tidak memerlukan *treatment* khusus. Sedangkan, untuk kekurangan dari metode ini yaitu standarisasi metode *light dark test* pada penelitian sebelumnya masih berbeda-beda, dan faktor risiko perancu lebih besar [29,30].

Pada pengujian *open field test* (OFT), aktivitas ansiolitik senyawa ditunjukkan dengan mening-

katnya durasi dan frekuensi hewan coba berada di *center area* OFT. Gambar 5 menunjukkan rata-rata durasi dan frekuensi hewan coba masing-masing kelompok uji. Frekuensi dan durasi hewan coba berada di *center area* tertinggi dicapai oleh kelompok pembanding (diazepam), yakni sebanyak $4,60 \pm 3,21$ kali dengan durasi $46,60 \pm 12,12$ detik. Kelompok EEKPC meningkatkan durasi ($p<0,05$) dan frekuensi hewan coba untuk berada pada *center area*. Aktivitas antiansietas tertinggi dicapai oleh kelompok EEKPC dosis 200 mg/kgBB. Dibandingkan dengan 2 metode pengujian lainnya, hasil pada metode OFT menunjukkan efektivitas pembanding dia-zepam yang lebih tinggi dibanding ketiga variasi dosis ekstrak kulit pisang Cavendish. Metode ini sensitif terhadap efek antiansietas dari agonis reseptor benzodiazepin dan reseptor serotonin 1A ($5-HT_1A$) tetapi umumnya dianggap tidak sensitif terhadap *treatment* jangka pendek atau jangka panjang dengan



Gambar 5. Rata-rata durasi (kiri) dan frekuensi (kanan) kelompok hewan coba di *center area* pada pengujian *open field test* (OFT). Data ditunjukkan sebagai nilai rata-rata dan standar deviasi (SD). Perbedaan signifikan ditunjukkan dengan $*=p<0,05$ dan $**=p<0,01$ terhadap kelompok kontrol normal (uji *one way ANOVA* dengan *Post Hoc LSD*)

SSRI. Namun, hal tersebut bergantung pada dosis yang diberikan [27,31]. Adapun kelebihan dari metode ini dapat dilakukan dengan mudah, merupakan prosedur non-invasif yang dapat dilakukan lebih dari satu kali selama masa pengujian, tidak diperlukan pelatihan khusus untuk melakukan pengujian, dan menghasilkan hasil yang relevan secara klinis. Sedangkan, untuk kekurangannya yaitu kurang spesifik untuk kecemasan tergantung dari aktivitas lokomotorik dan eksplorasi mencit [30,32].

Pada saat individu mengalami kecemasan, secara fisiologis *Limbic Hypothalamus Pituitary Adrenal Axis* (LHPA) akan teraktivasi, kemudian akan merangsang hipotalamus untuk mensekresikan *Corticotropin Releasing Hormone* (CRH). Hal tersebut akan menyebabkan teraktivasinya *Adenocorticotropin Hormone* (ACTH) yang akan memproduksi kortisol di korteks adrenal dan akan menyebabkan teraktivasinya *locus coreuleus* untuk memproduksi norepinefrin yang kemudian mensekresi epinefrin [33]. Kulit pisang dilaporkan mampu mengurangi kecemasan dan kondisi ketakutan dengan meregulasi sumbu HPA (*Hypothalamus Pituitary Adrenal - Axis*) yang berperan besar dalam situasi ketakutan [8]. Kulit pisang mengandung sejumlah galokatekin [34], dimana senyawa ini mampu berperan untuk mengurangi hormon kortikotropin yang memproduksi kortisol dalam mengatur ansietas dan merangsang sistem saraf simpatik dan parasimpatik [35]. Penelitian lain menunjukkan aktivitas antiansietas galokatekin dengan interaksinya pada reseptor

GABA. GABA merupakan neurotransmitter inhibisi yang penting untuk keseimbangan neuron inhibisi dan eksitasi di otak [36].

Penelitian yang dilakukan oleh Meilala *et al* (2021) juga menunjukkan bahwa kulit pisang mampu menurunkan stress kronis. Hal ini dimungkinkan oleh adanya kandungan fitosertonin yang dapat berperan sebagai antidepresan. Kulit buah pisang juga kaya akan triptofan, suatu asam amino yang penting dalam produksi dan regulasi serotonin di dalam otak. Triptofan merupakan prekursor serotonin yang memegang peranan penting dalam meregulasi pola tidur dan makan, lokomotorik, status emosional, dan kejadian depresi. Ekstrak etanol kulit pisang mampu menurunkan stress kronis, meningkatkan serotonin, dan menurunkan kortisol yang berperan pada respon ansietas [37].

Hasil penelitian ini juga mendukung penelitian yang dilakukan oleh Samad *et al* (2017) yang menyimpulkan bahwa ekstrak kulit pisang mampu menurunkan ansietas dan meningkatkan performa memori pada hewan coba. Kelompok uji yang diberikan ekstrak kulit pisang menunjukkan kadar antioksidan otak, seperti Catalase (CAT), Glutathione Peroxide (GSH-PX), dan Superoxide Dismutase (SOD) yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Penelitian ini menyimpulkan adanya hubungan antara kadar antioksidan di otak dengan aktivitas antiansietas [8].

Ketiga metode uji antiansietas menunjukkan hasil yang konsisten, dimana aktivitas antiansietas meningkat pada EEKPC dosis 200 mg/kg,

menurun pada dosis 400 mg/kg dan meningkat kembali pada EKPC dosis 800 mg/kg. Dalam kurva hubungan dosis respon, fenomena ini dikenal dengan istilah hubungan dosis respon hormesis U, karena bentuk kurvanya yang menyerupai huruf U, dimana efek meningkat pada dosis rendah, menurun pada dosis tengah, dan meningkat kembali pada dosis tinggi [38,39]. Mekanisme aksi yang menyebabkan efek hormesis suatu senyawa belum banyak diteliti, namun fenomena ini umum dilaporkan terjadi pada kelompok obat ansiolitik dan obat antiepilepsi pada saat pengujian preklinik. Salah satu teori yang menjelaskan mekanisme hormesis diantaranya adanya dugaan campuran efek agonis-antagonis senyawa yang bekerja pada dua situs reseptor, dengan afinitas tinggi terhadap situs agonis, dan afinitas rendah pada situs antagonis. Hal ini merupakan respon adaptif untuk mempertahankan homeostasis yang memungkinkan senyawa endogen mampu menyesuaikan respon endogen terhadap regulasi GABA yang berubah akibat obat tertentu [40].

Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah pisang Cavendish memiliki aktivitas antiansietas. Pada penelitian ini, dosis efektif didefinisikan sebagai dosis terendah yang memberikan efek antiansietas secara bermakna dibandingkan dengan kontrol, dengan demikian EEKPC dosis 200 mg/kg ditetapkan sebagai dosis yang paling efektif. Hasil penelitian ini mendukung potensi pemanfaatan kulit buah pisang Cavendish sebagai terapi komplementer ansietas.

4. Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% kulit pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) mampu menurunkan ansietas pada hewan coba yang diinduksi oleh *elevated plus maze* (EPM), *light dark test* (LDT), dan *open field test* (OFT) dengan dosis efektif 200 mg/kg. Penelitian ini mendukung pengembangan kulit buah pisang Cavendish (*Musa acuminata* Cavendish) sebagai terapi komplementer ansietas.

Ucapan terima kasih

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada Poltekkes Kemenkes Bandung dan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia yang telah mendukung keberjalanan penelitian.

Daftar pustaka

1. Azzahra F, Oktarlina RZ, Hutasoit HBK. Farmakoterapi gangguan ansietas dan pengaruh jenis kelamin terhadap efikasi antiansietas. *JIMKI : Jurnal Ilmiah Mahasiswa & Kedokteran Indonesia*. 2020;8(1):96-103.
2. Parashar B, Bhatoa PK, Bhatoa A, Yadav V. Anxiety: A common problem with human beings. *Pharma Innov*. 2012;1(5):10-21.
3. Reddy AJ, Dubey AK, Handu S, Sachin M, Mediratta PK, Mushtaq QA. Effects of *Musa sapientum* stem extract on experimental models of anxiety. *Avicenna J phytomedicine*. 2016;7(6):495-501.
4. Prabawati S, Suyanti S, Setyabudi DA. Teknologi pascapanen dan teknik pengolahan buah pisang. Jakarta: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian; 2008. 61-64.
5. Šeremet D, Durgo K, Jokić S, Hudek A, Cebin AV, Mandura A, et al. Valorization of banana and red beetroot peels: Determination of basic macrocomponent composition, application of novel extraction methodology and assessment of biological activity in vitro. *Sustain*. 2020;12(11).
6. Kumar KPS, Bhowmik D, Duraivel S, Umadevi M. Traditional and medicinal uses of banana. *Journal of Pharmacognosy and Phitochemistry*. 2012;1(3):51-63.
7. Black CN, Bot M, Scheffer PG, Cuijpers P, Peninx BWJH. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;51:164-75.
8. Samad N, Muneer A, Ullah N, Zaman A, Ayaz MM, Ahmad I. Banana fruit pulp and peel involved in antianxiety and antidepressant effects while invigorate memory performance in male mice: Pos-

- sible role of potential antioxidants. *Pak J Pharm Sci.* 2017;30(3):989–95.
9. Singh S, Prakash P. Evaluation of antioxidant activity of banana peels (*Musa acuminata*) extracts using different extraction methods. *Chem Sci Trans.* 2015;4(1):158–60.
 10. Rodzali NNB, Hashim SNB, Mohd Suib MS. Phytochemical screening and antioxidant activity of unripe cavendish and dream banana (*Musa* sp.) fruit peels. *J Acad UiTM Negeri Sembilan.* 2018;6(1):39–44.
 11. Siddique S, Nawaz S, Muhammad F, Akhtar B, Aslam B. Phytochemical screening and in-vitro evaluation of pharmacological activities of peels of *Musa sapientum* and *Carica papaya* fruit. *Nat Prod Res.* 2018;32(11):1333–6.
 12. Someya S, Yoshiki Y, Okubo K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). *Food Chem.* 2002;79(3):351–4.
 13. Komada M, Takao K, Miyakawa T. Elevated plus maze for mice. *J Vis Exp.* 2008;(22):1–4.
 14. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J. Vis Exp.* 2015;Feb:1–6.
 15. Takao K, Miyakawa T. Light/dark transition for mice. *J Vis Exp.* 2006;1(e104):1–3.
 16. Ambarita MDY, Bayu ES, Setiando H. Identifikasi karakter morfologis pisang (*Musa* Spp.) di Kabupaten Deli Serdang. *J Agroekoteknologi Univ Sumatera Utara.* 2016;4(1):1911–24.
 17. Sad AA, Hoque MM, Zzaman W. Physicochemical and antioxidant properties of banana varieties and sensorial evaluation of jelly prepared from those varieties available in Sylhet region. *Int J Food Stud.* 2018;7(2):89–97.
 18. Vu HT, Scarlett CJ, Vuong Q V. Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review. *J Funct Foods.* 2018;40:238–48.
 19. Prasetyo, Inorah E. Pengelolaan budidaya tanaman obat-obatan (bahan simplisia). *Perpustakaan Nasional RI: Katalog Dalam Terbitan.* Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian; 2013.1–85.
 20. Arista M. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80% dan 90% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L) Mer). *Calyptra J Ilm Mhs Surabaya.* 2013;2(2):1–16.
 21. Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.* 2009;14(6):2167–80.
 22. Ishak NA, Nor NA, Pak Dek MS, Baharuddin AS. Production of high tannin content and antioxidant activity extract from an unripe peel of *Musa acuminata* (Cavendish) using ultrasound-assisted extraction (UAE). *BioResources.* 2020;15(1):1877–93.
 23. Prakash P. Evaluation of antioxidant activity of banana peels (*Musa acuminata*) extracts using different extraction methods. *Chem Sci Trans.* 2015;(August):10–3.
 24. Ehiowemwenguan G, Emoghene AO, Inetianbor JE. Antibacterial and phytochemical analysis of banana fruit peel. *IOSR J Pharm.* 2014;4(8):18–25.
 25. Fatemeh SR, Saifullah R, Abbas FMA, Azhar ME. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of banana pulp and peel flours: Influence of variety and stage of ripeness. *Int Food Res J.* 2012;19(3):1041–6.
 26. Serchov T, van Calker D, Biber K. Light/dark transition test to assess anxiety-like behavior in mice. *Bio-Protocol.* 2016;6(19):4–7.
 27. Bourin M, Petit-Demoulière B, Nic Dhonnchadha B, Hascöet M. Animal models of anxiety in mice. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007;21(6):567–74.
 28. Pawlak CR, Karrenbauer BD, Schneider P, Ho YJ. The elevated plus-maze test: Differential psychopharmacology of anxiety-related behavior. *Emot Rev.* 2012;4(1):98–115.
 29. Calabrese EJ. An assessment of anxiolytic drug screening tests: Hormetic dose responses predominate. *Critical Reviews in Toxicology.* 2008;38:489–542.
 30. Moulin TC, Covill LE, Itskov PM, Williams MJ, Schiöth HB. Rodent and fly models in behavioral neuroscience: An evaluation of methodological advances, comparative research, and future perspectives. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;120(November):1–12.
 31. Gould TD. Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests. *Neuromethods.* 2009;63:336.

32. Tatem KS, Quinn JL, Phadke A, Yu Q, Gordish-Dressman H, Nagaraju K. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *J Vis Exp.* 2014;(91):1-7.
33. Adwas AA, Jbireal JM, Azab AE. Anxiety: Insights into signs, symptoms, etiology, pathophysiology, and treatment. *East African Sch J Med Sci.* 2019;2(10):580-91.
34. Waghmare JS, Kurhade AH. GC-MS analysis of bioactive components from banana peel (*Musa sapientum* peel). *Pelagia Res Libr Eur J Exp Biol.* 2014;4(5):10-5.
35. Dehghan Manshadi SA, Seyed Alireza M, Mohammad Reza S, Jayran Z, SeyedAhmad SA, Shams Ali R, et al. Effect of green tea consumption in treatment of mild to moderate depression in Iranian patients living with HIV: A double-blind randomized clinical trial. *Chinese Herb Med.* 2021;13(1):136-41.
36. Adachi N, Tomonaga S, Tachibana T, Denbow DM, Furuse M. (-)-Epigallocatechin gallate attenuates acute stress responses through GABAergic system in the brain. *Eur J Pharmacol.* 2006;531(1-3):171-5.
37. Meliala A, Narwidina P, Supriyanto I, Sumarno YT, Pratama YY, Damayanti R. The role of banana (*Musa balbisiana* Colla) peel floss as functional food matrix to alleviate chronic stress. *Open Access Maced J Med Sci.* 2022;10(A):1608-16.
38. Calabrese EJ, Baldwin LA. The frequency of u-shaped dose response in the toxicological literature. *Toxicol Sci.* 2001;62(1):330-8.
39. Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: The dose-response revolution. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003;43:175-97.
40. Calabrese EJ, Mattson MP. How does hormesis impact biology, toxicology, and medicine? *Aging Mech Dis.* 2017;3(1):1-8.