

SKRIPSI

EFIKASI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) TERHADAP KADAR GABA PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR MODEL INSOMNIA



SANDY HASAN

04011281823167

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER UMUM
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

SKRIPSI

EFIKASI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) TERHADAP KADAR GABA PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR MODEL INSOMNIA

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran (S.Ked)**



OLEH
SANDY HASAN
04011281823167

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER UMUM
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN

Efikasi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii*) Terhadap Kadar GABA
Pada Tikus Putih Galur Wistar Model Insomnia

Oleh:
Sandy Hasan
04011281823167

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran
Palembang, 10 Desember 2021
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Pembimbing I

dr. Rachmat Hidayat, M.Sc

NIP. 198705212012121002

Pembimbing II

Dra. Lusia Hayati, M.Sc

NIP. 195706301985032001

Pengaji I

Drs. Joko Marwoto, MS

NIP. 195703241984031001

Pengaji II

dr. Puji Rizki Suryani, M.Kes

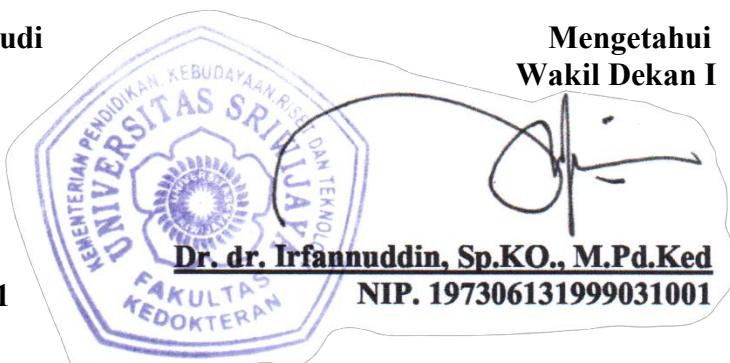
NIP. 198509272010122006

Koordinator Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Susilawati, M.Kes

NIP 197802272010122001

Mengetahui Wakil Dekan I



HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

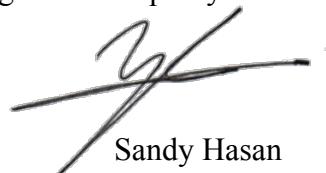
Saya yang bertanda-tangan di bawah ini dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, ~~magister dan/atau doktor~~), baik di Universitas Sriwijaya maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan verbal tim pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik atau sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Palembang, 10 Desember 2021

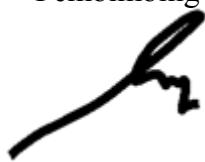
Yang membuat pernyataan



Sandy Hasan

Mengetahui,

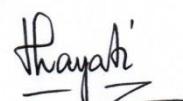
Pembimbing I



dr. Rachmat Hidayat, M.Sc

NIP. 198705212012121002

Pembimbing II



Dra. Lusia Hayati, M.Sc

NIP. 195706301985032001

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMISI

Sebagai civitas akademika Universitas Sriwijaya, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

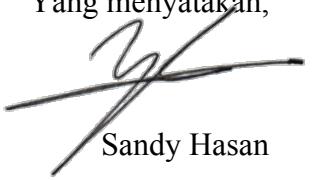
Nama : Sandy Hasan
NIM : 04011281823167
Fakultas : Kedokteran
Program studi : Pendidikan Dokter
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya **Hak Bebas Royalti Non-eksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Efikasi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii*) Terhadap Kadar GABA Pada Tikus Putih Galur Wistar Model Insomnia

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk apapun pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Dibuat : Palembang
Pada tanggal : 10 Desember 2021

Yang menyatakan,

Sandy Hasan
NIM. 04011281823167

ABSTRAK

Efikasi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Kadar GABA Pada Tikus Putih Galur Wistar Model Insomnia

(Sandy Hasan, Desember 2021, 79 halaman)
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Gangguan kualitas dan/atau kuantitas tidur seperti insomnia seringkali menjadi masalah dalam kehidupan sehari-hari di masyarakat. GABA merupakan salah satu molekul yang berperan penting untuk meregulasi kejadian insomnia, dibuktikan dengan adanya penggunaan obat benzodiazepine sebagai obat-obatan utama insomnia di zaman sekarang. Namun, karena efek samping yang signifikan dari golongan obat tersebut, maka diperlukan alternatif tata laksana baru yang aman, efektif, dan mudah didapatkan masyarakat, seperti herbal ekstrak kayu manis. Salah satu penyebab insomnia adalah inflamasi maupun stres oksidasi pada jaringan otak tertentu dan kayu manis *Cinnamomum burmannii* memiliki kandungan zat anti-oksidan serta anti-inflamasi yang mampu meredakannya. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efikasi ekstrak kayu manis (EKM) terhadap kadar GABA pada insomnia. Ekstrak kayu manis didapatkan dengan cara maserasi simplisia yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu, Jawa Tengah, Indonesia. Hewan uji yang digunakan berupa 30 ekor tikus putih galur Wistar yang diperoleh dari Eureka Research Laboratory Palembang, Indonesia. Tikus terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yang dibedakan menjadi: kelompok kontrol normal (tanpa induksi PCPA), kontrol negatif (PCPA + Na-CMC), kontrol positif (PCPA + estazolam 0,1 mg/kgBB), EKM I (PCPA + 25 mg/kgBB), EKM II (PCPA + 50 mg/kgBB), dan EKM III (PCPA + 100 mg/kgBB). PCPA digunakan untuk menginduksi keadaan insomnia pada tikus selama dua hari pertama sebanyak 300 mg/kgBB secara injeksi peritoneal. Estazolam dan EKM diberikan selama 7 hari berikutnya sebagai intervensi, menggunakan sonde lambung. Tikus kemudian dieuthanasia, dilakukan pengangkatan jaringan otak, dan diperiksa kadar GABA-nya menggunakan ELISA. Pada hasil yang didapat, khususnya pada kelompok EKM II dan EKM III, terlihat bahwa peningkatan dosis EKM dapat meningkatkan kadar GABA hipotalamus melampaui kemampuan estazolam pada kelompok kontrol positif. Maka dari itu, EKM efektif dalam meningkatkan kadar GABA hipotalamus pada tikus putih galur Wistar model insomnia.

Kata kunci: *Cinnamomum burmannii*, Insomnia, GABA

Pembimbing I

dr. Rachmat Hidayat, M.Sc

NIP. 198705212012121002

Pembimbing II

Dra. Lusia Hayati, M.Sc

NIP. 195706301985032001

ABSTRACT

Efficacy of Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmannii*) on GABA Levels in Insomnia Model Wistar Strain White Rats

(Sandy Hasan, Desember 2021, 79 pages)
Medical Faculty of Universitas Sriwijaya

Disorders of sleep quality and/or quantity such as insomnia often arise as a problem in everyday life in society. GABA plays an important role as a molecule regulating the incidence of insomnia, as evidenced by the use of benzodiazepine drugs as the first line medicine for insomnia today. However, due to the significant side effects of this class of drugs, new alternative treatments that are safe, effective, and easily available to the public, such as cinnamon extract, are needed. One of the causes of insomnia is inflammation or stress oxidation in certain brain tissues and *Cinnamomum burmannii* contains anti-oxidant and anti-inflammatory substances that can relieve it. Therefore, this study aimed to determine the efficacy of cinnamon extract (CE) on GABA levels in insomnia. The cinnamon extract was obtained by maceration of simplicia from B2P2TOOT Tawangmangu, Central Java, Indonesia. The test animals used were 30 white rats of the Wistar strain obtained from Eureka Research Laboratory in Palembang, Indonesia. The rats were divided into 6 treatment groups which were: normal control (without PCPA induction), negative control (PCPA + Na-CMC), positive control (PCPA + estazolam 0.1 mg/kgBW), CE I (PCPA + 25 mg /kgBW), CE II (PCPA + 50 mg/kgBW), and CE III (PCPA + 100 mg/kgBW). PCPA was used to induce insomnia in rats for the first two days with the dose of 300 mg/kgBW injected intraperitoneally. Estazolam and CE were given for the next 7 days as an intervention, using a gastric sonde. The rats were then euthanized and their brain tissue was removed, and their GABA levels were analyzed using ELISA. In the results obtained, especially in the CE II and CE III groups, it was seen that increasing the dose of CE could increase hypothalamic GABA levels beyond the ability of estazolam, which were used in the positive control group. Therefore, CE was effective in increasing hypothalamic GABA levels in insomniac model Wistar white rats.

Keywords: *Cinnamomum burmannii*, Insomnia, GABA

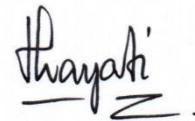
Pembimbing I



dr. Rachmat Hidayat, M.Sc

NIP. 198705212012121002

Pembimbing II



Dra. Lusia Hayati, M.Sc

NIP. 195706301985032001

RINGKASAN

EFIKASI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) TERHADAP KADAR GABA PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR MODEL INSOMNIA
Karya tulis ilmiah berupa Skripsi, 10 Desember 2021

Sandy Hasan; Dibimbing oleh dr. Rachmat Hidayat, M.Sc dan Dra. Lusia Hayati, M.Sc.

Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

xvi + 79 halaman, 6 tabel, 12 bagan, 5 lampiran

Insomnia seringkali mengganggu kehidupan sehari-hari di masyarakat dengan prevalensi yang tidak menentu. Salah satu penyebab insomnia berupa inflamasi pada hipotalamus otak, di mana inflamasi tersebut dapat merusak berbagai jalur mekanisme dan kadar neurotransmitter otak yang berperan dalam proses tidur-bangun. Benzodiazepine, golongan obat terapi lini pertama insomnia, memiliki berbagai efek samping yang signifikan. Maka, herbal seperti ekstrak kayu manis (EKM) dapat dijadikan alternatif karena kandungannya yang mampu bekerja sebagai anti-inflamasi dan anti-oksidan bagi kerusakan hipotalamus yang terjadi.

Penelitian ini berupa eksperimental *in vivo* dengan objek penelitian berupa 30 ekor tikus putih galur Wistar yang diperoleh dari Eureka Research Laboratory Palembang. EKM didapatkan dengan cara maserasi simplisia yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu, Jawa Tengah. Hewan uji yang digunakan berupa 30 ekor tikus putih galur Wistar. Tikus terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yang dibedakan menjadi: kelompok kontrol normal (tanpa induksi PCPA), kontrol negatif (PCPA + Na-CMC), kontrol positif (PCPA + estazolam 0,1 mg/kgBB), EKM I (PCPA + 25 mg/kgBB), EKM II (PCPA + 50 mg/kgBB), dan EKM III (PCPA + 100 mg/kgBB). PCPA digunakan untuk menginduksi insomnia pada tikus selama dua hari pertama sebanyak 300 mg/kgBB secara injeksi peritoneal. Estazolam dan EKM diberikan selama 7 hari berikutnya sebagai intervensi menggunakan sonde lambung. Tikus kemudian dieuthanasia, dilakukan pengangkatan jaringan otak, dan diperiksa kadar GABA-nya menggunakan ELISA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak kayu manis pada kelompok EKM I, EKM II, dan EKM III efektif dalam meningkatkan kadar GABA tikus putih galur Wistar model insomnia. Kemampuan dosis EKM sebesar 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB terbukti mampu melampaui kemampuan estazolam dengan dosis 0,1 mg/kgBB dalam meningkatkan kadar GABA hipotalamus.

Dapat disimpulkan bahwa EKM *Cinnamomum burmannii* efektif dalam meningkatkan kadar GABA hipotalamus tikus putih galur Wistar model insomnia.

Maka dari itu, EKM efektif dalam meningkatkan kadar GABA hipotalamus pada tikus putih galur Wistar model insomnia.

Kata Kunci : *Cinnamomum burmannii*, Insomnia, GABA

Kepustakaan : 77 (2002-2021)

Pembimbing I

dr. Rachmat Hidayat, M.Sc

NIP. 198705212012121002

Pembimbing II

Dra. Lusia Hayati, M.Sc

NIP. 195706301985032001

SUMMARY

EFFICACY OF CINNAMON EXTRACT (*Cinnamomum burmannii*) ON GABA LEVELS IN INSOMNIA MODEL WISTAR STRAIN WHITE RATS Scientific Paper in the form of Skripsi, 10 Desember 2021

Sandy Hasan; Supervised by dr. Rachmat Hidayat, M.Sc and Dra. Lusia Hayati, M.Sc.

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Sriwijaya University

xvi + 79 pages, 6 tables, 12 pictures, 5 attachments

Insomnia often interferes with daily life in society, with an uncertain prevalence. One of the causes of insomnia is inflammation of the hypothalamus of the brain, which can damage various pathways of mechanisms and levels of brain neurotransmitters, which play a role in the sleep-wake process. Benzodiazepines, a class of drugs for the treatment of insomnia, have a lot significant side effects. So, traditional herbs such as cinnamon extract (CE) can be used as an alternative because of their content which has the ability to work as anti-inflammatory and anti-oxidant for hypothalamic damage that occurs.

This research is an in vivo experimental study with 30 white rats of the Wistar strain obtained from Eureka Research Laboratory Palembang as the research objects. The CE was made by simplicia maceration obtained from B2P2TOOT Tawangmangu, Central Java. The test animals used were 30 white rats of the Wistar strain. Rats were divided into 6 treatment groups which were divided into: normal control group (without PCPA induction), negative control (PCPA + Na-CMC), positive control (PCPA + estazolam 0.1 mg /kgBW), CE I (PCPA + 25 mg/kgBW), CE II (PCPA + 50 mg/kgBW), and CE III (PCPA + 100 mg/kgBW). PCPA was used to induce insomnia in rats for the first two days with the dose of 300 mg/kgBW by peritoneum injection. Estazolam and CE were given for the next 7 days as an intervention using a gastric sonde. The rats were then euthanized, brain tissue was removed, and their GABA levels were checked using ELISA.

The results showed that the use of cinnamon extract in the CE I, CE II, and CE III groups was effective in increasing GABA levels in white rats of the Wistar strain of insomnia model. The ability of CE doses of 50 mg/kgBW and 100 mg/kgBW proved to be able to exceed the ability of estazolam at a dose of 0.1 mg/kgBW in increasing hypothalamic GABA levels.

It can be concluded that *Cinnamomum burmannii* extract is effective in increasing hypothalamic GABA levels in Wistar strain white rats with insomnia model.

Therefore, CE was effective in increasing hypothalamic GABA levels in insomniac Wistar rats.

Keywords : *Cinnamomum burmannii*, Insomnia, GABA

Citations : 77 (2002-2021)

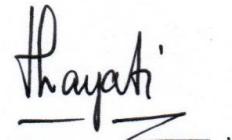
Pembimbing I



dr. Rachmat Hidayat, M.Sc

NIP. 198705212012121002

Pembimbing II



Dra. Lusia Hayati, M.Sc

NIP. 195706301985032001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena dengan kehendak-Nya, karya tulis yang berjudul “Efikasi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Kadar GABA pada Tikus Putih Galur Wistar Model Insomnia” dapat diselesaikan. Karya tulis ini dilaksanakan sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar sarjana kedokteran (S.Ked) pada Program Studi Pendidikan Dokter Umum, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Penulis menyadari penyusunan karya tulis ini melibatkan segala doa, bimbingan, saran serta semangat dari berbagai pihak. Maka dari itu, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. dr. Rachmat Hidayat, M.Sc selaku dosen pembimbing 1 yang telah menyediakan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan, saran serta semangat sehingga tersusunnya karya tulis ini.
2. Dra. Lusia Hayati, M.Sc selaku dosen pembimbing 2 yang telah menyediakan waktunya untuk membimbing, dukungan, masukan serta saran yang membangun sehingga tersusunnya karya tulis ini
3. Staf dosen Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya yang telah memberikan bantuan selama proses pendidikan.
4. Keluarga inti, tim, serta sahabat perjuangan kuliah yakni Lina, Desi, Barok, Beking, Thanos, dan Panjaitan yang sedari awal hingga sekarang selalu saling memberi semangat, bantuan, dan masukan.

Palembang, 10 Desember 2021



Sandy Hasan

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS.....	ii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
RINGKASAN	vi
<i>SUMMARY</i>	vii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Hipotesis.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
1.5.1. Manfaat Teoritis	5
1.5.2. Manfaat Tata Laksana	5
1.5.3. Manfaat Masyarakat.....	5
BAB II.....	6
TINJAUAN PUSTAKA.....	6

2.1.	Tidur	6
2.1.1.	Tahapan dan Manfaat.....	6
2.1.2.	Mekanisme Siklus Bangun-Tidur	7
2.2.	Insomnia	12
2.2.1.	Definisi dan Klasifikasi.....	12
2.2.2.	Diagnosis dan Epidemiologi	13
2.2.3.	Model 3P Insomnia	16
2.2.4.	Patofisiologi	16
2.2.5.	Tata Laksana dan Peran GABA dalam Insomnia	23
2.3.	Kayu Manis	28
2.3.1.	Taksonomi dan Kandungan.....	28
2.3.2.	Pemanfaatan Kayu Manis	30
2.3.3.	<i>Cinnamaldehyde</i>	32
2.4.	Tikus Model Insomnia.....	32
2.4.1.	Jenis Tikus Model dan Prosedur ELISA.....	32
2.4.2.	Induksi Insomnia dengan PCPA	34
2.4.3.	Induksi Insomnia dengan Metode Lain.....	37
2.5.	Kerangka Teori.....	38
2.6.	Kerangka Konsep	39
	BAB III.....	40
	METODE PENELITIAN.....	40
3.1.	Jenis Penelitian	40
3.2.	Waktu dan Tempat Penelitian	40
3.3.	Objek Penelitian	40
3.3.1.	Hewan Coba.....	40
3.3.2.	Ekstrak Kayu Manis.....	41
3.4.	Variabel Penelitian	42
3.4.1.	Variabel Bebas	42
3.4.2.	Variabel Tergantung.....	42
3.4.3.	Variabel Kontrol.....	42
3.5.	Definisi Operasional.....	42

3.6. Cara Pengumpulan Data	43
3.6.1. Alat dan Bahan.....	43
3.6.2. Persiapan dan Aklimatisasi Hewan Uji.....	44
3.6.3. Preparasi Ekstrak <i>Cinnamomum burmannii</i>	44
3.6.4. Induksi Insomnia.....	45
3.6.5. Pemberian Estazolam.....	45
3.6.6. Pengumpulan Data	46
3.7. Cara Pengolahan dan Analisis Data	48
3.8. Alur Kerja Penelitian.....	49
 BAB IV	50
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	50
4.1. Hasil.....	50
4.1.1. Uji Normalitas dan Homogenitas Data	50
4.1.2. Uji Kesesuaian Dosis	52
4.2. Pembahasan	55
 BAB V.....	62
KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
5.1. Kesimpulan.....	62
5.2. Saran	62
 DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	72
RIWAYAT HIDUP.....	79

DAFTAR TABEL

1. Tabel 3.1. Tabel definisi operasional	42
2. Tabel 3.2. Tabel pengelompokan sampel.....	46
3. Tabel 4.1. Tabel hasil pengukuran kadar GABA tiap tikus putih galur Wistar model insomnia dalam masing-masing kelompok.....	51
4. Tabel 4.2. Tabel hasil tes normalitas data dengan Shapiro-Wilk dan homogenitas kumpulan data.....	52
5. Tabel 4.3. Tabel rerata kadar GABA pada hipotalamus tiap kelompok. ..	53
6. Tabel 4.4. Tabel uji kesesuaian dosis ekstrak kayu manis (EKM) terhadap kadar GABA pada hipotalamus.	54

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2.1. Atlas 3 dimensi potongan sagital otak tikus. (Rumple, 2013) ²⁸	8
2. Gambar 2.2. "Tombol saklar/switch" bangun-tidur. (Stahl, 2013) ¹⁰	11
3. Gambar 2.3. Spektrum stimulus keterjagaan (<i>arousal</i>) pada proses bangun-tidur. (Stahl, 2013) ¹⁰	17
4. Gambar 2.4. Patofisiologi insomnia. (Levenson, 2015) ²⁹	22
5. Gambar 2.5. Algoritma klinis penanganan insomnia berdasarkan pedoman klinis insomnia oleh <i>European</i> (Riemann et al, 2017) ⁵⁰	24
6. Gambar 2.6. Konsep efek obat-obatan farmakologis terhadap insomnia (Stahl, 2013) ¹⁰	26
7. Gambar 2.7. Tumbuhan kayu manis. (A) Pohon kayu manis; (B) Daun kayu manis; (C) Bunga kayu manis; (D) Gulungan kayu manis. (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017) ⁵⁴	29
8. Gambar 2.8. Gambaran histopatologi hipotalamus dengan <i>H&E stain</i> . (A) Con: Kelompok kontrol tanpa perlakuan khusus; (B) PCPA: Kelompok tikus yang diberi PCPA. (Si, 2020). ⁴⁶	36
9. Gambar 2.9. Kerangka Teori.....	38
10. Gambar 2.10. Kerangka Konsep.	39
11. Gambar 3.1. Bagan Kerangka Operasional.....	49
12. Gambar 4.1. Bagan rerata kadar GABA hipotalamus tiap kelompok.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Dokumentasi penelitian.....	72
2. Lampiran 2. Hasil Pengolahan Data dengan SPSS	74
3. Lampiran 3. Sertifikat Kelayakan Etik	76
4. Lampiran 4. Lembar Konsultasi Skripsi	77
5. Lampiran 5. Lembar Persetujuan Skripsi.....	78

DAFTAR SINGKATAN

5-HT	: serotonin
SCN	: <i>suprachiasmatic nucleus</i> (SCN)
TMN	: <i>tuberomammillary nucleus</i>
GABA	: <i>γ-aminobutyric acid</i>
VLPO	: <i>ventrolateral preoptic area</i>
PSG	: polisomnografi
PCPA	: <i>p-chlorophenylalanine</i>
ELISA	: <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EEG	: elektroensefalogram
REM	: <i>Rapid Eye Movement</i>
MnPO	: <i>median preoptic area</i>
IGL	: <i>intergeniculate leaflet</i>
GHT	: <i>geniculohypothalamic tract</i>
RHT	: <i>reticulohypothalamic tract</i>
NPY	: <i>neuropeptide Y</i>
ENK	: <i>enkephalin</i>
ipRGCs	: <i>intrinsically photosensitive ganglion cells</i>
SNAT	: <i>serotonin N-acetyltransferase</i>
PACAP	: <i>pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide</i>
GPCRs	: <i>G-protein-coupled receptors</i>
cAMP	: <i>cyclic adenosine monophosphate</i>
ATP	: <i>adenosine triphosphate</i>
PKA	: <i>cAMP-dependent protein kinase</i>
CREB	: <i>cAMP response element-binding protein</i>
LAH	: <i>lateral hypothalamus</i>
PVN	: <i>paraventricular nucleus</i>
CRH	: <i>corticotropin-releasing hormone</i>

ACTH	: <i>adrenocorticotrophic hormones</i>
ICD-10	: <i>International Classification of Diseases</i>
DSM-IV	: <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition</i>
ICSD-3	: <i>International Classification of Sleep Disorders</i>
PPDGJ-III	: Pedoman Penegakkan Diagnosis Gangguan Jiwa, edisi ketiga
DSM-V	: <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth edition</i>
3P	: <i>Predisposing, precipitating, and Perpetuating Factors</i>
SNP	: <i>single-nucleotide polymorphism</i>
HPA	: <i>hypothalamic-pituitary-adrenal axis</i>
SSO	: sistem saraf otonom
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
CBT-I	: <i>cognitive behavioral therapy for insomnia</i>
BZ	: <i>benzodiazepine</i>
BZRA	: <i>benzodiazepine receptor agonist</i>
PAM	: <i>positive allosteric modulators</i>
MDA	: <i>malondialdehyde</i>
VEGF	: <i>vascular endothelial growth factor</i>
BBB	: <i>blood-brain barrier</i>
PGD2	: prostaglandin D2
B2P2TOOT	: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional
Na-CMC	: natrium-karboksimetil selulosa
EKM	: ekstrak kayu manis
CE	: cinnamon extract
OD	: <i>optical density</i>
ANOVA	: <i>analysis of variance</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Insomnia adalah gangguan tidur berulang yang menyebabkan ketidakpuasan penderita terhadap kuantitas dan/atau kualitas tidur akibat kesulitan untuk memulai dan/atau mempertahankan tidur, ditambah gangguan fungsional saat beraktivitas di siang hari.¹ Prevalensi kejadian insomnia di dunia terhitung sebanyak 10%-30% hingga 50%-60% di beberapa negara, namun belum ada data prevalensi insomnia yang memadai di Asia Tenggara termasuk Indonesia.² Hal ini tidak menutupi kemungkinan jumlah kasus insomnia yang tinggi di Indonesia, dari studi *cross-sectional* komunitas yang dilakukan pada 31.432 orang berusia 15 tahun ke atas di Indonesia, ditemukan 33,3% populasi mengalami gejala ambang batas insomnia dan 11% memiliki gejala insomnia yang signifikan. Peninjauan terhadap insomnia sangat diperlukan karena adanya hubungan erat insomnia dengan komorbiditas seperti gangguan perilaku (gangguan diet, inaktivitas fisik, dan depresi) dan penyakit kronik (obesitas, hipertensi, dan gangguan kardiovaskular).³

Kejadian insomnia dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor pendukung: emosi, kognitif, perilaku, dan genetik.⁴ Bila dikaji dari sistem regulasi siklus bangun-tidur yang sangat kompleks, salah satu penyebab dari insomnia dapat berupa inflamasi kronik. Sitokin-sitokin inflamasi kronik seperti IL-1 β , IL-6 dan TNF- α mampu menyebabkan terjadinya stres oksidatif.^{5,6} Stres oksidatif akan menginisiasi kaskade inflamasi sehingga merusak jaringan saraf, termasuk neuron serotonergik.⁷

Kerusakan jaringan neuron serotonergik berujung pada penurunan kadar 5-HT/serotonin.⁷ Penurunan kadar serotonin akan menyebabkan

produksi melatonin berkurang dan reseptor melatonin MT1 dan MT2, yang bertugas untuk menekan kerja SCN, juga tidak teraktivasi.⁸ Akibatnya, *suprachiasmatic nucleus* (SCN) yang merupakan *pacemaker* dari ritme sirkardian tidur akan terus terstimulasi dan merangsang aktivasi hipotalamus khususnya pada area *tuberomammillary nucleus* (TMN) hipotalamus. Aktivasi TMN yang eksesif akan menstimulasi pelepasan neurotransmitter histamin, yang berperan sebagai *wake promoter* dan mampu menstimulasi korteks otak secara berlebihan sehingga fase tidur akan terhambat dan berkelanjutan menjadi insomnia.^{9,10,11}

Stimulasi berlebihan pada TMN juga akan menginhibisi neuron GABA-ergik pada *ventrolateral preoptic area* (VLPO) hipotalamus, yang bekerja sebagai *sleep promoter* dengan cara menginhibisi neuron histaminergik TMN.¹² GABA/ γ -*aminobutyric acid* berperan sebagai neurotransmitter inhibitor primer pada sistem saraf pusat. Hal ini dapat dilihat dari kadar GABA yang berkurang pada saat fase terjaga/bangun setelah tidur yang terhitung menggunakan polisomnografi (PSG).¹³ Peningkatan kadar GABA juga terbukti mampu menginduksi dan mempertahankan tidur pada hewan maupun manusia yang sehat.¹⁴ Patofisiologi insomnia melalui kaskade inflamasi kronik ini dapat diinduksi pada hewan model yakni tikus putih galur Wistar dengan menggunakan *p-chlorophenylalanine* (PCPA), yang berperan sebagai inhibitor pembentukan serotonin yang juga berpotensi memicu pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi.^{5,6}

Hubungan peran GABA dalam insomnia dibuktikan dengan efektifnya penggunaan obat-obatan golongan benzodiazepine sebagai tata laksana insomnia. Secara umum, benzodiazepine bekerja sebagai modulator allosterik positif reseptor GABA-A.¹⁵ Namun, karena target reseptornya yang non-selektif, penggunaan benzodiazepine memiliki beberapa efek samping seperti penurunan koordinasi motorik, hipotensi, efek sedasi, efek relaksan eksesif pada otot, hingga penurunan kognitif.^{4,10} Maka dari itu,

diperlukan modalitas terapeutik insomnia alternatif yang efektif dalam menangani gejala insomnia sekaligus aman untuk digunakan penderita insomnia di Indonesia.

Cinnamomum burmannii atau kayu manis Indonesia adalah salah satu tumbuhan herbal kekayaan alam Indonesia yang mudah didapatkan dan dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat sebagai penambah rasa dan obat-obatan.^{16,17} Selain berperan sebagai bumbu dapur, kayu manis juga bermanfaat secara klinis sebagai anti-oksidan, anti-inflamasi, antimikrobial, dan lain-lain.¹⁸ Pada penelitian HelmyAbdou (2019), pemberian *Cinnamomum burmannii* menunjukkan efek restorasi terhadap stres oksidatif dan peningkatan status antioksidan.¹⁹ Kemampuan tersebut dihasilkan dari efek beragam kandungan molekul yang khas pada kayu manis seperti *coumarin*, *cinnamic acid*, *eugenol*, *camphor*, dan *cinnamaldehyde* yang tersebar pada tiap-tiap bagian tumbuhan kayu manis.^{18,20}

Pada bagian kulit pohon kayu manis, sebanyak 65%-80% kandungan senyawa yang tersedia berupa *cinnamaldehyde*.²¹ *Cinnamaldehyde* merupakan senyawa fenol yang memiliki karakteristik lipofilik sehingga mampu menembus *blood-brain barrier* (BBB). Kemampuan *cinnamaldehyde* dalam menembus BBB sangat penting dalam penelitian ini karena sel neuron yang mengalami kaskade inflamasi pada induksi insomnia berada pada hipotalamus otak.^{7,21} *Cinnamaldehyde* bekerja sebagai anti-inflamasi dengan cara meregulasi sitokin proinflamasi IL-1 β , IL-6 dan TNF- α serta menghambat perkembangan NF κ B.^{7,17,22}

Penurunan kadar sitokin proinflamasi IL-1 β , IL-6 dan TNF- α karena peran *cinnamaldehyde* mampu menurunkan dampak kerusakan neuron serotonergik oleh induksi PCPA, sehingga gejala dan prognosis buruk insomnia dapat mereda.^{18,19} *Cinnamaldehyde* dapat diekstrak dari simplisia kayu manis dengan menggunakan metode maserasi seperti pada penelitian sebelumnya.²³ Berbeda dengan obat golongan benzodiazepine, penggunaan

ekstrak kayu manis tidak menunjukkan adanya efek samping yang signifikan sehingga aman untuk digunakan oleh masyarakat.¹⁷ Oleh karena itu, ekstrak *Cinnamomum burmannii* dapat digunakan sebagai pilihan terapi alternatif yang efektif, aman, dan mudah didapatkan oleh penderita insomnia.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana efikasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap tikus putih galur Wistar model insomnia bila dinilai dari parameter GABA?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui efikasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) tikus putih galur Wistar model insomnia dengan parameter neurotransmitter GABA.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar neurotransmitter GABA menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay*/ELISA pada masing-masing kelompok tikus putih galur Wistar.
2. Menganalisis perbedaan hasil pengukuran GABA pada masing-masing kelompok tikus putih galur Wistar.

1.4. Hipotesis

Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) menunjukkan efikasi terhadap kejadian insomnia kelompok tikus putih galur Wistar yang diinduksi insomnia dalam bentuk peningkatan kadar neurotransmitter GABA pada ELISA.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Memberikan landasan teoritis tentang hubungan antara ekstrak kayu manis dengan pemanfaatannya sebagai tata laksana insomnia untuk penelitian selanjutnya.

1.5.2. Manfaat Tata Laksana

Menambah pertimbangan penggunaan ekstrak kayu manis sebagai alternatif modalitas terapeutik penderita insomnia, terutama penderita insomnia yang memiliki kontraindikasi terhadap medikamentosa biasa.

1.5.3. Manfaat Masyarakat

Meningkatkan pemanfaatan herbal asli Indonesia yakni ekstrak kayu manis yang mudah didapatkan masyarakat sebagai tata laksana insomnia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Maslim R. Buku Saku Diagnosis Gangguan Jiwa PPDGJ III dan DSM 5. 2013. 335 p.
2. Bhaskar S, Hemavathy D, Prasad S. Prevalence of chronic insomnia in adult patients and its correlation with medical comorbidities. *J Fam Med Prim Care* [Internet]. 2016 [cited 2021 Jul 15];5(4):780. Available from: [/pmc/articles/PMC5353813/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5353813/)
3. Peltzer K, Pengpid S. Prevalence, social and health correlates of insomnia among persons 15 years and older in Indonesia. *Psychol Heal Med*. 2019 Jul 3;24(6):757–68.
4. K. Pavlova M, Latreille V. Sleep Disorders. *Am J Med*. 2019;132(3):292–9.
5. Sun Y, Zhang N, Qu Y, Cao Y, Li J, Yang Y, et al. Shuangxia decoction alleviates p-chlorophenylalanine induced insomnia through the modification of serotonergic and immune system. *Metab Brain Dis* [Internet]. 2020;35(2):315–25. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11011-019-00499-w>
6. Ren X, Wang Q, Zhang X, Wang G, Liu T, Deng N, et al. Establishment of a rat model with ageing insomnia induced by D-galactosef and para-chlorophenylalanine. *Exp Ther Med*. 2020;
7. Parisa N, Hidayat R, Maritska Z, Prananjaya BA. Antidepressant effect of cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark extract in chronic stress-induced rats. *Open Access Maced J Med Sci*. 2020;8(A):273–7.
8. Cardinali DP, Srinivasan V, Brzezinski A, Brown GM. Melatonin and its analogs in insomnia and depression. Vol. 52, *Journal of Pineal Research*. 2012. p. 365–75.

9. Saint-Mieux B, Bayer L, Eggemann E, Jones BE, Mühllethaler M, Serafin M. Suprachiasmatic modulation of noradrenaline release in the ventrolateral preoptic nucleus. *J Neurosci [Internet]*. 2007 Jun 13 [cited 2021 Jun 9];27(24):6412–6. Available from: [/pmc/articles/PMC6672428/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6672428/)
10. Stahl SM. Stahl's Essential Psychopharmacology. Fourth Edi. Cambridge: Cambridge University Press; 2013.
11. Wimmer ME, Cui R, Blackwell JM, Abel T. Cyclic AMP response element-binding protein is required in excitatory neurons in the forebrain to sustain wakefulness. *Sleep*. 2021;44(6):1–11.
12. Holst SC, Landolt HP. Sleep-Wake Neurochemistry. *Sleep Med Clin*. 2018;13(2):137–46.
13. Plante DT, Jensen JE, Winkelman JW. The role of GABA in primary insomnia [Internet]. Vol. 35, *Sleep*. 2012. p. 741–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.5665/sleep.1854>
14. Byun JI, Shin YY, Chung SE, Shin WC. Safety and efficacy of gamma-aminobutyric acid from fermented rice germ in patients with insomnia symptoms: A randomized, double-blind trial. *J Clin Neurol [Internet]*. 2018 Jul 1 [cited 2021 Jul 15];14(3):291–5. Available from: [/pmc/articles/PMC6031986/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6031986/)
15. Griffin CE, Kaye AM, Rivera Bueno F, Kaye AD. Benzodiazepine pharmacology and central nervous system-mediated effects. *Ochsner J [Internet]*. 2013;13(2):214–23. Available from: <http://ccforum.com/>
16. Kumar S, Kumari R, Mishra S. Pharmacological properties and their medicinal uses of Cinnamomum: a review [Internet]. Vol. 71, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019. p. 1735–61. Available from: www.theplantlist.org
17. Muhammad DRA, Tuenter E, Patria GD, Fouber K, Pieters L, Dewettinck K. Phytochemical composition and antioxidant activity of Cinnamomum

- burmannii Blume extracts and their potential application in white chocolate. Food Chem [Internet]. 2021;340(August 2020):127983. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127983>
18. Kawatra P, Rajagopalan R. Cinnamon: Mystic powers of a minute ingredient [Internet]. Vol. 7, Pharmacognosy Research. Medknow Publications; 2015 [cited 2021 Jul 5]. p. S1–6. Available from: /pmc/articles/PMC4466762/
 19. HelmyAbdou KA, Ahmed RR, Ibrahim MA, Abdel-Gawad DRI. The anti-inflammatory influence of *Cinnamomum burmannii* against multi-walled carbon nanotube-induced liver injury in rats. Environ Sci Pollut Res [Internet]. 2019;26(35):36063–72. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06707-5>
 20. Al-Dhubiab BE. Pharmaceutical applications and phytochemical profile of *Cinnamomum burmannii* [Internet]. Vol. 6, Pharmacognosy Reviews. Wolters Kluwer -- Medknow Publications; 2012 [cited 2021 Jul 16]. p. 125–31. Available from: /pmc/articles/PMC3459454/
 21. Rao PV, Gan SH. Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. Evid Based Complement Alternat Med [Internet]. 2014 [cited 2021 Jul 27];2014. Available from: /pmc/articles/PMC4003790/
 22. Kwon HK, Hwang JS, So JS, Lee CG, Sahoo A, Ryu JH, et al. Cinnamon extract induces tumor cell death through inhibition of NFκB and AP1. BMC Cancer [Internet]. 2010;10. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/10/392>
 23. Hidayat R, Wulandari P, Marchira CR, Pratiti B. Efficacy of Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmannii*) as Supplementation in Lir-psychotic-induced Rats through Oxidative Stress Regulation in Neuronal Cells. Open Access Maced J Med Sci. 2021;9(A):177–82.
 24. Sherwood L. Fisiologi Manusia dari Sistem ke Sel. Ed 6. 2011;999.
 25. Mathangi DC, Shyamala R, Subhashini AS. Effect of REM sleep deprivation

- on the antioxidant status in the brain of Wistar rats. 2012;19(4):161–4.
26. Stenvers DJ, Dorp R Van, Foppen E, Mendoza J, Opperhuizen A, Fliers E, et al. Dim light at night disturbs the daily sleep-wake cycle in the rat. *Nat Publ Gr*. 2016;(October):4–15.
 27. Koolhaas JM. The Laboratory Rat. UFAW Handb Care Manag Lab Other Res Anim Eighth Ed. 2010;311–26.
 28. Rumple A, McMurray M, Johns J, Lauder J, Makam P. 3-Dimensional Diffusion Tensor Imaging (DTI) Atlas of the Rat Brain. *PLoS One* [Internet]. 2013 [cited 2021 Aug 22];8(7):67334. Available from: www.plosone.org
 29. Levenson JC, Kay DB, Buysse DJ. The pathophysiology of insomnia. *Chest*. 2015;147(4):1179–92.
 30. Ma MA, Morrison EH. Neuroanatomy, Nucleus Suprachiasmatic [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2019 [cited 2021 Jun 9]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31536270>
 31. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, HALL WC, LAMANTIA A-S, MCNAMARA JO, et al. Neuroscience, Fourth Edition. Fourth. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.; 2008. 832 p.
 32. Stauch B, Johansson LC, Cherezov V. Structural insights into melatonin receptors. Vol. 287, *FEBS Journal*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 1496–510.
 33. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovska-Gorevski M, Dubocovich ML. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2016 Jan 6 [cited 2021 Jul 26];56:361. Available from: [/pmc/articles/PMC5091650/](https://pmc/articles/PMC5091650/)
 34. Thakkar MM. Histamine in the regulation of wakefulness [Internet]. Vol. 15, *Sleep Medicine Reviews*. NIH Public Access; 2011 [cited 2021 Jun 9]. p. 65–74. Available from: [/pmc/articles/PMC3016451/](https://pmc/articles/PMC3016451/)

35. Schmid A, Meili D, Salathe M. Soluble adenylyl cyclase in health and disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2014 Dec 1;1842(12):2584–92.
36. SR N, PT R, R I. G protein pathways. *Science [Internet].* 2002 May 31 [cited 2021 Jul 26];296(5573):1636–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12040175/>
37. Li S Bin, de Lecea L. The hypocretin (orexin) system: from a neural circuitry perspective. *Neuropharmacology [Internet].* 2020;167(January):107993. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.107993>
38. Liyanarachchi K, Ross R, Debono M. Human studies on hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab [Internet].* 2017;31(5):459–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2017.10.011>
39. Klumpers UMH, Veltman DJ, Van Tol MJ, Kloet RW, Boellaard R, Lammertsma AA, et al. Neurophysiological effects of sleep deprivation in healthy adults, a pilot study. *PLoS One.* 2015;10(1):116906.
40. Song HT, Sun XY, Yang TS, Zhang LY, Yang JL, Bai J. Effects of sleep deprivation on serum cortisol level and mental health in servicemen. *Int J Psychophysiol [Internet].* 2015;96(3):169–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.04.008>
41. Sateia MJ. International classification of sleep disorders-third edition highlights and modifications. *Chest.* 2014;146(5):1387–94.
42. Thorpy MJ. Classification of Sleep Disorders. Vol. 9, *Neurotherapeutics.* 2012. p. 687–701.
43. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). In: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5).* 5th ed. London: American Psychiatric Publishing; 2015. p. 970.

44. Morin CM, Benca R. Chronic insomnia. *Lancet* [Internet]. 2012;379(9821):1129–41. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60750-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60750-2)
45. Koch CE, Leinweber B, Drengberg BC, Blaum C, Oster H. Interaction between circadian rhythms and stress. *Neurobiol Stress* [Internet]. 2017;6:57–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.001>
46. Si Y, Wang L, Lan J, Li H, Guo T, Chen X, et al. *Lilium davidii* extract alleviates p-chlorophenylalanine-induced insomnia in rats through modification of the hypothalamic-related neurotransmitters, melatonin and homeostasis of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Pharm Biol* [Internet]. 2020;58(1):915–24. Available from: <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1812674>
47. Sugama S, Kakinuma Y. Stress and brain immunity: Microglial homeostasis through hypothalamus-pituitary-adrenal gland axis and sympathetic nervous system. *Brain, Behav Immun - Heal*. 2020 Aug;7:100111.
48. Huang CT, Chiang RPY, Chen CL, Tsai YJ. Sleep deprivation aggravates median nerve injury-induced neuropathic pain and enhances microglial activation by suppressing melatonin secretion. *Sleep*. 2014 Sep 1;37(9):1513–23.
49. Krystal AD, Prather AA, Ashbrook LH. The assessment and management of insomnia: an update. Vol. 18, *World Psychiatry*. 2019. p. 337–52.
50. Riemann D, Baglioni C, Bassetti C, Bjorvatn B, Dolenc Groselj L, Ellis JG, et al. European guideline for the diagnosis and treatment of insomnia. *J Sleep Res* [Internet]. 2017;26(6):675–700. Available from: www.ncbi.nlm
51. Tang NN, Wu CW, Chen MQ, Zeng XA, Wang XF, Zhang Y, et al. Therapeutic effects of jiaotai pill on rat insomnia via regulation of GABA signal pathway. *Trop J Pharm Res*. 2017;16(9):2135–40.

52. Edwards Z, Preuss C V. GABA Receptor Positive Allosteric Modulators [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2020 [cited 2021 Jul 28]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554443/>
53. Van Gastel A. Drug-Induced Insomnia and Excessive Sleepiness. *Sleep Med Clin.* 2018;13(2):147–59.
54. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia. In: KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR HK0107/MENKES/187/2017. 2017. p. 9–15.
55. Lee HS, Kim BS, Kim MK. Suppression effect of Cinnamomum cassia bark-derived component on nitric oxide synthase. *J Agric Food Chem.* 2002;50(26):7700–3.
56. Barré-Sinoussi F, Montagutelli X. Animal models are essential to biological research: Issues and perspectives [Internet]. Vol. 1, Future Science OA. 2015. Available from: <http://ec.europa.eu>
57. Stevani H. Praktikum Farmakologi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia [Internet]. 2016 [cited 2021 Jul 29]. 171 p. Available from: <http://r2kn.litbang.kemkes.go.id/handle/123456789/68066?show=full%0Ahttp://bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wp-content/uploads/2017/11/Etika-Profesi-dan-Hukes-SC.pdf>
58. Sharp P, Villano J. The Laboratory Rat, second edition. Vol. i, The Laboratory Rat, Second Edition. 2012. 1–359 p.
59. Wang H, Qin X, Gui Z, Chu W. The effect of Baileman on neurotransmitters and gut microbiota in p-chlorophenylalanine induced insomnia mice. *Microb Pathog* [Internet]. 2020;148(September):104474. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104474>
60. Li J, Hong J, Zhou F, Tang S, Wu X. Regulatory mechanism of melatonin on the retinal ganglion cell photoreaction in mice. *Exp Ther Med.*

- 2017;14(2):1491–5.
61. Crowther JR. The ELISA Guidebook. 2nd ed. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). New Jersey: Humana Press; 2010. 446 p.
 62. Corp. C-C. CEA900Ge 96 Tests ELISA For GABA (Instruction Manual). 12th ed. Houston: CLOUD-CLONE CORP.; 2021. 1–9 p.
 63. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJM, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *FEBS J.* 2006 Jul;273(13):2813–38.
 64. Zeng X, Huang J, Zhou C, Wang X, Zhang Y, Zhang Y. Effect of Songyu Anshen Fang on expression of hypothalamic GABA and GABA(B) receptor proteins in insomniac rats induced by para-chlorophenylalanine. *Trop J Pharm Res.* 2018 Jan 1;17(1):17–22.
 65. Datta S, MacLean RR. Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: Reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31(5):775–824.
 66. Hirotsu C, Tufik S, Andersen ML. Interactions between sleep, stress, and metabolism: From physiological to pathological conditions [Internet]. Vol. 8, *Sleep Science*. Brazilian Association of Sleep and Latin American Federation of Sleep; 2015 [cited 2021 Jul 26]. p. 143–52. Available from: [/pmc/articles/PMC4688585/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4688585/)
 67. McKenna JT, Gamble MC, Anderson-Chernishof MB, Shah SR, McCoy JG, Strecker RE. A rodent cage change insomnia model disrupts memory consolidation. *J Sleep Res.* 2019 Apr 1;28(2).
 68. Hidayat R, Ayu Adelia Safitri R, Umar TP, Maretzka A. The Efficacy of *Sauvopas androgynus* Leaves Extract To Improve Cognitive Function in Wistar Rats Induced Alzheimer's. 2018;(July):11.

69. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. FARMAKOPE HERBAL INDONESIA. II. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2017. 561 p.
70. Ramakrishnan K, Scheid DC. Treatment Options for Insomnia. Am Acad Fam Physicians. 2007;
71. Davies JA. Estazolam. In: LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2017 [cited 2021 Aug 6]. p. 1–4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548660/>
72. Nair A, Morsy MA, Jacob S. Dose translation between laboratory animals and human in preclinical and clinical phases of drug development. *Drug Dev Res.* 2018;79(8):373–82.
73. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. 4th ed. Sagung Seto. Jakarta: CV Sagung Seto; 2011. 529 p.
74. Dahlan S. Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan. 3rd ed. Palembang: Salemba Medika; 2011. 0–49 p.
75. Lee S, Lee DK. What is the proper way to apply the multiple comparison test? *Korean J Anesthesiol* [Internet]. 2018;71(5):353–60. Available from: <http://ekja.xn--orgpissn2005-6419eissn2005-7563https://iv8v//doi.org/10.4097/kja.d.18.00242>
76. Hazra A, Gogtay N. Biostatistics series module 3: Comparing groups: Numerical variables. *Indian J Dermatol* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2021 Aug 7];61(3):251–60. Available from: [/pmc/articles/PMC4885176/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4885176/)
77. Yunanta L, Praptiningsih Y, Tamtarini. Enkapsulasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata*) Dengan Variasi Campuran Dekstrin dan Kasein. 2005;x:1–4.