

## Hasil Penelitian

### **PENGARUH INHALASI MINYAK KAYU PUTIH (*Melaleuca leucadendron*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI LAMBUNG MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI STRES AKUT**

**Brigita Elsa Kabrahanubun, Halidah Rahawarin, Yuniasih M.J Taihuttu, Juliet Sinanu, Indrawanti Kushadiani, Is Ikhsan Hataul**

Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Pattimura Ambon

Corresponding author email: [brigitakabrahanubun09@gmail.com](mailto:brigitakabrahanubun09@gmail.com)

#### **Abstrak**

Kerusakan mukosa lambung disebabkan oleh ketidakseimbangan faktor defensif dan faktor agresif. Hal ini terjadi bisa oleh berbagai faktor, salah satunya stres. Minyak kayu putih sebagai aromaterapi terbukti mampu mencegah stres karena kandungan 1,8 cineole,  $\alpha$ -terpineol, dan 4-terpineol yang memiliki efek hipnotik sedatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian inhalasi minyak kayu putih terhadap gambaran histologi lambung mencit. Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan desain post test only control group. Subjek penelitian berjumlah 16 ekor mencit jantan dewasa yang diambil dengan cara simple random sampling dan dibagi dalam kelompok kontrol normal (KN), kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), dan kelompok inhalasi minyak kayu putih (P). Kelompok K+, K-, dan P diberi perlakuan stres dengan metode Tail Suspension Test (TST) selama enam menit selama 14 hari. Pembedahan dilakukan pada hari ke-15 dan dibuatkan preparat histologi. Skor rata-rata kerusakan mukosa lambung kelompok minyak kayu putih ditemukan tidak lebih baik dari kelompok kontrol positif (alprazolam) ( $P < 0.05$ ). Dapat diambil kesimpulan bahwa minyak kayu putih dengan dosis inhalasi 0,5 tidak memiliki efek anti stres yang mencegah kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi stres akut.

**Kata Kunci:** Histologi mukosa lambung, stres, minyak kayu putih, mencit.

#### **Abstract**

*Damage on gastric mucosa is caused by an imbalance of defensive factors and aggressive factors. This can be due to various factors, one of which is stress. Cajuput oil as aromatherapy is proven to prevent stress because it contains 1,8 cineole,  $\alpha$ -terpineol, and 4-terpineol which have a sedative-hypnotic effect. This study aims to determine the effect of inhalation of cajuput oil on the gastric histology of mice. This research is a true experimental with a post test only control group design. The research subjects were 16 adult male mice taken by simple random sampling and divided into normal group (KN), negative control group (K-), positive control group (K+), and cajuput oil inhalation group (P). Groups K+, K-, and P were given stress treatment with the Tail Suspension Test (TST) method for six minutes for 14 day. Surgery was performed on the 15th day and histology preparations were made. The average score of gastric mucosal damage in cajuput oil group was lower when compared to the stress group although the results of the Tukey test showed no significant results between these two group. It can be concluded that cajuput oil with an inhalation dose 0.5 mL has anti-stress effect that prevent gastric mucosal damage in mice which acute stress induced.*

**Keywords:** inhalation, cajuput oil, gastric histology, stress, mice.

## PENDAHULUAN

Stres secara sederhana dapat dijelaskan sebagai reaksi atau respon dari manusia saat diberikan sebuah tekanan.<sup>1</sup> Tekanan tersebut nantinya disebut sebagai stressor atau pemicu timbulnya stres. Apabila seseorang mampu menangani pemicu dengan baik maka orang tersebut dapat menangani situasi dengan baik, sebaliknya jika pemicu tidak dapat ditangani dengan baik maka beban yang didapatkan semakin besar hingga terjadilah stres.<sup>2</sup> Stres nampaknya telah mengambil bagian dalam kehidupan manusia sehari-hari.<sup>3</sup> Hal ini bukan tanpa alasan karena respon terhadap stresor akan selalu ada dan terus aktif untuk berjaga terhadap masalah baru yang akan datang dan akan berhenti saat tubuh kita merasa aman dan terbebas dari stres.<sup>4</sup>

Stres yang tidak ditangani dengan baik memiliki dampak terhadap emosi seseorang berupa gangguan emosi yang akan menyebabkan seseorang menjadi lebih sensitif dan mudah tersinggung sehingga orang tersebut akan mengalami pergantian emosi secara tiba-tiba. Penampakan visual yang ditunjukkan saat stres juga dapat berlawanan baik dari mimik maupun dari suara.<sup>5,6</sup> Pandangan lain menjelaskan, dampak stres terbesar bagi tubuh kita adalah mudah lemah, merasa kelelahan, sakit kepala, pusing, gangguan makan, badan terasa nyeri dan pegal, otot terasa tegang, mudah sakit, gangguan tidur, serta gangguan pencernaan.<sup>6,7</sup>

Organ pencernaan yang dapat terpengaruh oleh stres adalah lambung.<sup>8</sup> Dampak stres dapat mengganggu baik proses mekaniknya yaitu motilitas lambung maupun gangguan kimiawi yaitu produksi asam lambung dan zat khusus yang diproduksi.<sup>9</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Elsaed, *et al* ditemukan stres dapat meningkatkan produksi asam lambung dan menurunkan produksi mukus.<sup>10</sup> Ketidakseimbangan antara faktor pertahanan dan faktor agresif mukosa lambung ini akan berlanjut pada kerusakan struktur mikroskopis lambung yang merupakan bagian terkecil penyusun lambung.<sup>8</sup>

Hasil penelitian yang diperoleh oleh Bunaya, *et al*<sup>10</sup> didapatkan bahwa pada stres dapat mengganggu struktur mikroskopis lambung yang terlihat pada gambaran histologi mukosa lambung. Pada gambaran ditemukan adanya deskuamasi sel epitel pada tingkatan awal stres, kemudian di tingkat selanjutnya terjadi erosi sel epitel dan pada tingkatan yang paling parah terjadi ulserasi epitel dan terbentuknya elemen epitel superfisial.<sup>11</sup> Ulserasi epitel merupakan gambaran histologi yang muncul saat terjadi perdarahan mukosa gaster. Hal ini juga dikemukakan oleh Ennab, *et al*<sup>8</sup> yang dalam penelitiannya ditemukan bahwa ukuran sel parietal menjadi mengecil dan pengurangan jumlah sel parietal dengan kerusakan yang signifikan.

Kerusakan pada lambung perlu dilakukan pencegahan dan pengobatan.

Pengobatan yang kita butuhkan tersedia dalam pengobatan farmakologi dan pengobatan tradisional.<sup>12,13</sup> Pengobatan tradisional terus berkembang dan lebih dipilih masyarakat menengah ke bawah karena dinilai lebih ekonomis dan terpercaya melalui penggunaannya secara turun-temurun tanpa harus melalui rasa sakit karena operasi atau merasa terganggu dengan efek samping yang ditimbulkan oleh obat.<sup>12,13</sup>

Tanaman tradisional tersedia dalam berbagai pilihan dan tumbuhan herbal menjadi salah satunya. Tumbuhan herbal dalam genus *Malaecula* telah dikenal memiliki kandungan antioksidan tinggi sehingga memiliki sifat antibakteri dan antimikroba.<sup>14,15</sup> Salah satu jenis dari genus ini adalah *Melaleuca leucadendron*<sup>16</sup> atau lebih dikenal dengan kayu putih yang ekstrak minyaknya telah banyak digunakan oleh masyarakat luas.

Kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)<sup>16</sup> merupakan salah satu tanaman endemik di Indonesia dan juga obat herbal tradisional yang telah digunakan sejak dahulu. Selain digunakan sebagai obat aromaterapi untuk mengurangi hidung tersumbat, kayu putih juga dapat juga dioleskan ke daerah perut untuk mengobati sakit perut. Namun banyak penelitian terbaru melakukan uji pengobatan penyakit lain karena kayu putih ternyata memiliki beberapa kandungan bahan aktif yang mampu

mengobati beberapa penyakit lain selain yang sudah diketahui masyarakat selama ini.<sup>16,17</sup>

Kandungan aktif yang melimpah membuat kayu putih juga memiliki sifat antiinflamasi dan antivirus. Salah satu kandungan bahan aktif yang paling banyak dan penting dari kayu putih adalah *1,8-cineole*.<sup>17-19</sup> Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kim Ka *et al*<sup>20</sup> *1,8-cineole* terbukti memiliki kemampuan pencegahan stres berdasarkan tiga indikator penilaian yaitu skor nyeri, tekanan darah, dan denyut nadi. Pasien dapat penelitian ini menunjukkan penurunan stres yang signifikan setelah diinhalasi minyak kayu putih.<sup>19</sup>

Penelitian yang memanfaatkan minyak kayu putih sebagai bahan dasarnya telah banyak dilakukan, namun fungsi minyak kayu putih untuk pencegahan pada orang yang mengalami stres yang memberikan gambaran buruk pada histologi lambung belum dilakukan sehingga penulis tertarik mengambil penelitian dengan judul Pengaruh Inhalasi Minyak Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron*) terhadap Gambaran Histologi Lambung Mencit Jantan (*Mus musculus L*) yang diinduksi Stres Akut sebagai salah satu solusi untuk mencegah stres.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan organ sekunder dari penelitian sebelumnya tentang pengaruh inhalasi minyak kayu putih terhadap organ tubuh mencit yang diinduksi stres akut.

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura Ambon, Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Pattimura, dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura Ambon dan berlangsung pada bulan November-Desember 2021.

### B. Persiapan Mencit

Mencit diaklimatisasi selama 14 hari, diberi makan dan minum yang teratur agar badan tetap terjaga di kisaran 20-30 gram, serta tetap bergerak aktif sebelum penelitian. Kandang yang digunakan untuk mencit juga nyaman karena dilapisi sekam yang rutin diganti setiap tiga hari sekali.<sup>21-23</sup> Perhitungan sampel menggunakan rumus Federer sehingga didapatkan minimal sampel adalah 24 ekor mencit kemudian dibagi dalam empat kelompok, yaitu Kontrol Normal (KN) yang tidak diberi induksi stres, Kontrol negatif ( $K^-$ ) yang diberi induksi stres, Kontrol positif ( $K^+$ ) yang diberi induksi stres dan obat alprazolam, serta kelompok Perlakuan (P) yang diberi induksi stres dan inhalasi minyak kayu putih.

### C. Perlakuan pada Mencit

Kelompok  $K^-$ ,  $K^+$ , dan P diinduksi stres menggunakan metode *tail suspension test* atau TST dimana ekor mencit direkatkan pada selotip dan digantung pada tiang setinggi 50 cm dengan durasi enam menit setiap hari

sesuai jadwal dan berlangsung selama 14 hari. Kelompok  $K^+$  diberi alprazolam sedangkan kelompok P diberi inhalasi minyak kayu putih. Hal ini dilakukan selama 14 hari untuk tiap kelompok.<sup>24</sup> Memasuki hari ke-15 dilakukan tindakan pembedahan dan pengangkatan organ. Pembuatan prepat menggunakan metode pembuatan preparat awetan jaringan hewan dan digunakan metode *hematoxylin eosin* (HE) lalu dilihat hasil preparatnya dan dibuatkan skor sesuai dengan kriteria *Barthe Manja*: 0 (tidak ditemukan perubahan histologis), 1 (deskuamasi epitel mukosa lambung), 2 (erosi epitel mukosa lambung), dan 3 (ulserasi epitel mukosa lambung).<sup>25,26</sup>

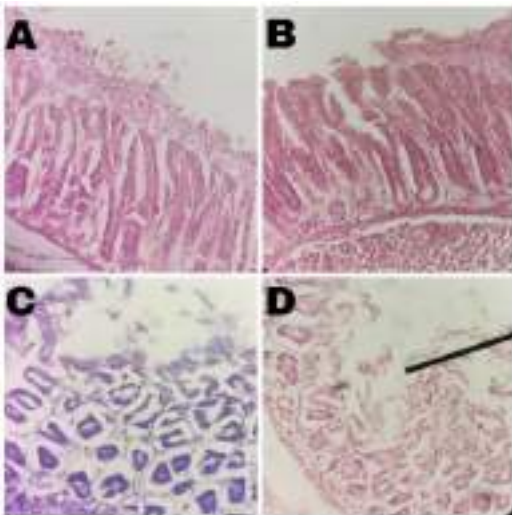
## HASIL

Total sampel yang layak diamati dan dijelaskan dalam hasil penelitian ini adalah sebanyak 16 sampel. Sampel mukosa lambung diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali dalam tiga lapang pandang menggunakan pewarnaan *hematoxylin eosin* pada setiap kelompok.

Tabel 1. Rata-rata skor perubahan histologi lambung setelah induksi stres dengan metode *Tail Suspension Test* selama 14 hari.

Kelompok	Nilai skor perubahan histologi lambung (Mean±SD)
Normal	0,425±0,340
Kontrol Negatif	2,575±0,340
Kontrol Positif	1,325±0,287
Minyak Kayu Putih	2,25±0,331

Hasil pada tabel 1 menunjukkan bahwa mencit yang diberi perlakuan stres dengan metode TST selama enam menit tanpa adanya intervensi tambahan memiliki rata-rata gambaran kerusakan mukosa yang paling tinggi (2,575) bila dibandingkan dengan kelompok lain.



Gambar 1. A: Gambaran histologi mukosa lambung mencit normal, B: Gambaran histologi mukosa lambung mencit yang mengalami deskuamasi epitel, C: Gambaran histologi mukosa lambung mencit yang mengalami erosi epitel, D: Gambaran histologi mukosa lambung mencit yang mengalami ulserasi epitel.

Perbandingan antara kelompok minyak kayu putih dan kelompok kontrol negatif menunjukkan hasil uji statistik yang tidak bermakna  $p=0,516$  ( $p>0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua kelompok tersebut tidak memiliki perbedaan gambaran histologi mukosa lambung *Mus musculus* yang signifikan. Sementara perbandingan antara kelompok minyak kayu putih dengan kelompok kontrol positif menunjukkan hasil uji statistik yang bermakna  $p=0,008$  ( $p<0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa Alprazolam memiliki efek kerusakan pada lambung yang lebih rendah akibat stress yang dibandingkan dengan minyak kayu putih.

## PEMBAHASAN

a. Gambaran histologi lambung mencit dengan perlakuan stres tanpa intervensi tambahan

Induksi stres dengan metode *tail suspension test* menimbulkan keadaan tidak nyaman terhadap mencit yang membuat mencit ingin membebaskan diri yang berakhir pada keadaan putus asa dan menyebabkan mencit tidak lagi melakukan pergerakan. Imobilitas menjelaskan bahwa mencit tersebut mengalami stres yang dapat berdampak pada mukosa lambung akibat peningkatan asam lambung melalui dua jalur. Jalur pertama adalah jalur neurogen dimana sistem parasimpatis nervus vagus memegang peran penting didalamnya. Saat terjadi aktivasi sistem saraf ini, maka terjadi aktivasi sel G

yang akan mensekresi gastrin sehingga memproduksi asam lambung secara signifikan. Asetilkolin juga melakukan perangsangan pada sel parietal saat terjadinya stres yang akan menimbulkan peningkatan produksi asam lambung.<sup>27,28</sup> Sistem *hipothalamus pituitary adrenal* (HPA) adalah sistem yang diaktivasi pada jalur neurohormonal. Saat seseorang mengalami stres, *corticotropin releasing hormon* (CRH) akan disekresi secara berlebihan sehingga menimbulkan kegagalan umpan balik negatif di hipokampus yang menimbulkan ketidakseimbangan sekresi hormon kortisol. Kadar kortisol yang terlalu tinggi akan meningkatkan sekresi asam lambung. Tingginya kadar kortisol juga dapat menghambat produksi prostaglandin.

Prostaglandin juga dihambat pada sistem sikooksigenasi satu (COX-1). Akibat dari terhambatnya sekresi prostglandin adalah penurunan sekresi lendir dan bikarbonat, serta penurunan suplai darah ke area lambung. Hal inilah yang akan memperburuk kerusakan lambung.<sup>29-33</sup>

Ketidakmampuan lambung untuk mempertahankan integritas mukosanya dapat terlihat pada gambaran histologi mukosa lambung berupa deskuamasi, erosi, hingga ulserasi mukosa. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bunaya *et al*<sup>11</sup> yang menemukan bahwa stres imobilisasi yang dilakukan pada mencit selama 14 hari, 21 hari,

dan 28 hari menimbulkan kerusakan mukosa lambung.

b. Gambaran histologi lambung mencit dengan perlakuan stres dan pemberian alprazolam

Penelitian yang dilakukan oleh Hemanth *et al*<sup>34</sup> mengemukakan bahwa alprazolam yang merupakan obat golongan benzodiazepin yang dapat menekan aktivitas jalur neurohormonal yaitu hipotalamus pituitari adrenal sehingga terjadi penghambatan produksi hormon kortisol yang dapat meningkatkan kerusakan mukosa lambung. Hal ini tidak terlepas dari kerja alprazolam sebagai reseptor agonis yang memfasilitasi peningkatan aktivitas GABA dan meningkatkan pemasukan ion klorida ke dalam sel. Ion klorida yang memasuki kawasan intraseluler akan meningkatkan potensial elektrik di sepanjang membran sel dan mengakibatkan hiperpolarisasi membran sel yang menimbulkan efek depresan sistem saraf pusat. Proses kerja ini yang menyebabkan alprazolam bekerja untuk supresi pada sistem *hipothalamus pituitary adrenal* (HPA).<sup>34-36</sup>

c. Gambaran histologi lambung mencit dengan perlakuan stres dan pemberian inhalasi minyak kayu putih.

Minyak aromaterapi melepaskan molekul di udara berupa uap air yang jika dihirup akan masuk melalui bulbus olfaktorius di hidung kemudian masuk ke dalam organ



paru yang akan diteruskan ke aliran darah.<sup>37</sup> Molekul ini juga dapat menembus sawar darah otak yang akan berinteraksi dengan sistem saraf pusat. Saat memasuki daerah sistem limbik yang mengatur emosi seseorang, akan disekresi serotonin yang akan menghilangkan ketegangan dan kecemasan untuk mencegah terjadinya stres.<sup>26,38</sup> Efektivitas pencegahan stres oleh *1,8 cineole* sejalan dengan penelitian *Dougnon*<sup>37</sup> dimana inhalasi *1,8 cineole* menurunkan waktu imobilitas mencit pada kotak *Tail Suspension Test* (TST) secara signifikan. Sehingga *1,8 cineole* terbukti memiliki efek sedatif dan antidepresan. Selain *1,8 cineole*, terdapat kandungan *4-terpineol*, dan *α-terpineol* yang ketiganya bekerja pada sistem GABAergic sehingga saat terjadi ikatan dengan GABA akan meningkatkan aktivitas neurotransmitter ini. Efek lain dari *1,8 cineole* adalah menurunkan volume sekresi asam basal dan meningkatkan produksi mukus lambung. Semua proses ini menjelaskan bahwa minyak kayu putih dapat mencegah stres sehingga mencegah kerusakan mukosa lambung.<sup>20,37,39</sup>

## KESIMPULAN

Pemberian inhalasi minyak kayu putih dengan dosis 0,5 mL mampu mencegah kerusakan mukosa lambung pada mencit pasca induksi stres akut. Hasil ini diperoleh dari skor rata-rata kerusakan mukosa lambung kelompok minyak kayu putih yang lebih

rendah jika dibandingkan dengan kelompok stres walaupun hasil uji Tukey menunjukkan hasil tidak bermakna antara kelompok minyak kayu putih dengan kelompok stres.

## Daftar Pustaka

1. Liu JJW, Vickers K, Reed M, Hadad M. Re-conceptualizing stress: Shifting views on the consequences of stress and its effects on stress reactivity. *PLoS One*. 2017;12:1–14.
2. Musradinur. Stres dan cara mengatasinya dalam perspektif psikologi. *J Edukasi*. 2016;2:183–200.
3. Fransisca M, Chris A. Hubungan tingkat stres pada kelompok individu yang bernyanyi rutin dan tidak bernyanyi. *Tarumanagara Med J*. 2020;3:150–5.
4. Brosschot JF, Verkuil B, Thayer J. Generalized unsafety theory of Stress: Unsafe environments and conditions, and the default stress response. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15:1–27.
5. Paulmann S, Furnes D, Bøkenes AM, Cozzolino PJ. How psychological stress affects emotional prosody. *PLoS One*. 2016;11:1–21.
6. Nurmina, Netrawati, Rinaldi. Pelatihan manajemen stres dan relaksasi bagi ibu rumah tangga terdampak covid 19 di Kelurahan pasie Nan Tigo Kota Padang. *J Plakat*. 2020;2:150–9.
7. Musabiq SA, Karimah I. Gambaran stres dan dampaknya pada mahasiswa. *InSight*. 2018;20:75–83.
8. Ennab W, Mustafa S, Wei Q, Lv Z, Kavita NMX, Ullah S. Resveratrol protects against restraint stress effects on stomach and spleen in adult male mice. *Animals*. 2019;9:1–18.
9. Huerta-franco MR, Vargas-luna M, Montes-frausto JB, Morales-mata I, Ramirez-padilla L, Huerta-franco MR, et al. Effect of psychological stress on gastric motility assessed by electrical bio-impedance. 2012;18:5027–33.

10. Elsaed WM, Alahmadi AM, Al-Ahmadi BT, Taha JA, Tarabishi RM. Gastroprotective and antioxidant effects of fluvoxamine on stress-induced peptic ulcer in rats. *J Taibah Univ Med Sci* [Internet]. 2018;13:1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2018.04.010>
11. Bunaya R, Romus I, Siregar FM, Juananda D. The effect of immobilization stress on gastric mucosal histopathology in white mice (*Mus musculus*) male swiss webster strain. *Mol Cell Biomed Sci* [Internet]. 2020;4:34. Available from: <https://cellbiopharm.com/ojs/index.php/MCBS/article/view/77>
12. Kartika D, Lindawaty P, Sewu S. Pelayanan kesehatan tradisional dan perlindungan hukum bagi pasien. *J Huk Kesehat*. 2016;2:1–16.
13. Indonesia KT. Pengembangan kesehatan tradisional Indonesia : Konsep , strategi dan tantangan. *J Penelit dan Pengemb Pelayan Kesehatan*. 2017;1:17–31.
14. Siddique S, Parveen Z, Mazhar S. Chemical composition , antibacterial and antioxidant activities of essential oils from leaves of three melaleuca species of Pakistani flora. *Arab J Chem* [Internet]. 2020;13:67–74. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.01.018>
15. Zhang X, Guo Y, Guo L, Jiang H, Ji Q. In vitro evaluation of antioxidant and Antimicrobial activities of melaleuca alternifolia essential Oil. 2018;2018.
16. Thi T, My A, Phuong T, Thanh T, Hieu T. Evaluation of the Inhibitory Activities of COVID-19 of Melaleuca cajuputi Oil Using Docking Simulation. 2020;5:6312–20.
17. Korona-Glowniak I, Glowniak-Lipa A, Ludwiczuk A, Baj T, Malm A. The in vitro activity of essential oils against helicobacter pylori growth and urease activity. *Molecules*. 2020;25.
18. Activitie A, Pujiarti R, Ohtani Y, Ichiura H. Chemical compositions , antioxidant and antifungal activities of melaleuca leucadendron linn . Leaf oils from Indonesia. 2012;3:23–7.
19. Patramurti C, Amin R, Nastiti CMRR, Hariono M. A review on the potency of melaleuca leucadendron leaves solid waste in wood preservation and its in silico prediction upon biological activities. 2020;
20. Kim KY, Seo HJ, Min SS, Park M, Seol GH. The effect of 1,8-cineole inhalation on preoperative anxiety : A randomized clinical trial. 2014;
21. Theodorus E, Muhartono M, Putri GT. Pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap gambaran histopatologi otak mencit (*Mus musculus* L) yang diinduksi monosodium glutamate. *JIMKI J Ilm Mhs Kedokt Indones*. 2020;7:14–20.
22. Wiradi A, Fidiawati WA, Munir SM. Gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*) setelah pemaparan paraquat. *J Ilmu Kedokt*. 2018;11:7.
23. Pratiwi R, Posangi J, Fatimawali. Uji efek analgesik ekstrak etanol daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) pada mencit (*Mus musculus*). *J e-Biomedik*. 2013;1:571–80.
24. Aslam M. Tail suspension test to evaluate the antidepressant activity of experimental drugs. 2016;292–4.
25. Jahra W, Muhartono, Windi R. Pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley. *Medula*. 2019;8:193–9.
26. Damayanti N, Hadiati T. Pengaruh pemberian aromaterapi terhadap tingkat insomnia lansia. *Diponegoro Med J*. 2019;8:1210–6.
27. Sembor P, Lintong P, Kairupan C. Gambaran histopatologik mukosa lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi kebisingan dan diberikan ranitidin. *e-Biomedik (eBm)*. 2013;1:966–71.
28. Tussakinah W, Masrul M, Burhan IR. Hubungan pola Makan dan tingkat stres terhadap kekambuhan gastritis di wilayah kerja Puskesmas Tarok Kota Payakumbuh



- tahun 2017. *J Kesehat Andalas*. 2018;7:217.
29. Widya Murni A. Kadar kortisol plasma pada dispepsia fungsional dengan gangguan psikosomatik. *J Penyakit Dalam Indones*. 2020;7:15.
  30. Sibernagl S, Lang F. *Teks & atlas berwarna patofisiologi*. 3rd ed. Iskandar M, Agustina L, Agustin S, editors. Jakarta: EGC; 2017. 156–7 p.
  31. Takeuchi K, Amagase K. Roles of cyclooxygenase, prostaglandin E2 and EP receptors in mucosal protection and ulcer healing in the gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des*. 2018;24:2002–11.
  32. Nur Azlina MF, Kamisah Y, Chua KH, Qodriyah HMS. Tocotrienol attenuates stress-induced gastric lesions via activation of prostaglandin and upregulation of COX-1 mRNA. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2013;
  33. Magierowski M, Jasnos K, Kwiecien S, Drozdowicz D, Surmiak M, Strzalka M, et al. Endogenous prostaglandins and afferent sensory nerves in gastroprotective effect of hydrogen sulfide against stress-induced gastric lesions. *PLoS One*. 2015;10:1–21.
  34. Hemanth G V., Kudagi BL, Buchineni M, Pathapati RM, Rayam S. Anti-stress activity of ocimum sanctum and alprazolam in animal models. *Int J Basic Clin Pharmacol*. 2019;8:2224–7.
  35. Katzung B, Masters S, Trevor A. *Basic & clinical pharmacology*. 12th ed. Vol. 12, *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. San Francisco; 1977. 378 p.
  36. Manouchehri N, Abbasi-Maleki S, Mousavi Z. A comparison of the anxiolytic and hypnotic effects of origanum majorana essential oil and alprazolam in male mice. *Herb Med J*. 2019;4:18–26.
  37. Dougnon G, Ito M. Inhalation administration of the bicyclic ethers 1,8- And 1,4-cineole prevent anxiety and depressive-like behaviours in mice. *Molecules*. 2020;25:1–13.
  38. Nila G, Kristiningrum W, Afriyani LD. Efektivitas aromaterapi lavender untuk mengurangi kecemasan menghadapi persalinan pada ibu hamil trimester III di wilayah kerja Puskesmas Bergas. *J Holistics Heal Sci*. 2019;1:104–5.
  39. Rocha Caldas GF, Oliveira ARDS, Araújo AV, Lafayette SSL, Albuquerque GS, Silva-Neto JDC, et al. Gastroprotective mechanisms of the monoterpene 1,8-cineole (eucalyptol). *PLoS One*. 2015;10:1–17.