

Research Article

Efek Kombinasi Diazepam dan Minyak Esensial Biji Pala (*Myristica fragrans*) dalam Memperbaiki Penurunan Fungsi Kognitif Mencit Jantan
*The Combined Effect of Diazepam and Nutmeg Essential Oil (*Myristica fragrans*) on Cognitive Decline in Male Mice*

Yovita Mercya^{1*}, Tiara Angela¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Vokasi, Universitas Santo Borromeus
Jl. Parahyangan Kavling 8 Blok B No.1 Kota Baru Parahyangan, Cipeundeuy,
Padalarang, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat 40553, Indonesia

*Penulis korespondensi

Email: ymercya@gmail.com

Received: July 27, 2024

Accepted: June 11, 2025

Abstrak

Penurunan kognitif dipengaruhi oleh tingkat asetilkolin di otak. Rendahnya tingkat asetilkolin dalam sistem saraf pusat mengurangi motivasi belajar dan memori. Tujuan penelitian ini untuk menyelidiki efek kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala terhadap peningkatan penurunan kognitif pada mencit jantan menggunakan metode Morris Water Maze. Penelitian ini melibatkan 15 mencit (*Mus musculus*) jantan yang dibagi menjadi tiga kelompok: kelompok kontrol negatif, kelompok uji diazepam tunggal, dan kelompok uji kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala. Data dikumpulkan mengenai waktu yang dibutuhkan mencit untuk menyelesaikan masalah setelah menerima informasi selama 5 hari tanpa intervensi (*pre-test*) dan 10 hari dengan intervensi (*post-test*) serta dianalisis secara statistik. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p=0,018$, yang mengindikasikan adanya perbedaan signifikan dalam waktu antar kelompok. Hasil uji *post hoc* menunjukkan tidak terdapat perbedaan waktu yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala. Artinya fungsi kognitif pada kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala tidak berbeda dengan kelompok yang tidak menerima intervensi apa pun. Kesimpulan, pemberian diazepam tunggal memiliki pengaruh signifikan terhadap penurunan fungsi kognitif mencit dan penambahan minyak esensial biji pala (*Myristica fragrans*) mengurangi dampak negatif terhadap penurunan fungsi kognitif akibat diazepam secara signifikan pada mencit.

Kata kunci: diazepam; kognitif; minyak esensial biji pala; Morris Water Maze

How to Cite:

Mercya Y, Angela T. Efek kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala (*Myristica fragrans*) dalam memperbaiki penurunan fungsi kognitif mencit jantan. Journal of Medicine and Health. 2025; 7(2): 129-38. DOI: <https://doi.org/10.28932/jmh.v7i2.9588>

© 2025 The Authors. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License. 

Research Article

Abstract

Cognitive decline is influenced by acetylcholine levels in the brain. Low acetylcholine levels reduce learning motivation and memory. The aim of this research was to investigate the effect of combining diazepam and nutmeg seed essential oil on cognitive decline in male mice using the Morris Water Maze method. The study involved 15 male mice (*Mus musculus*) divided into three groups: a negative control group, a single diazepam test group, and a combination diazepam-nutmeg seed essential oil test group. Data were collected on the time it took the mice to solve problems after 5 days without intervention (pre-test) and 10 days with intervention (post-test) and analyzed statistically. The Kruskal-Wallis test showed a *p*-value of 0.018 ($p \leq 0.05$), indicating a significant difference among the groups. The Post Hoc test revealed no significant time difference between the negative control group and the combination diazepam-nutmeg seed essential oil group. This indicates that cognitive function in the combination group was not significantly different from that of the mice that did not receive any intervention. The results suggest that single diazepam administration significantly affects cognitive decline in mice and that the addition of nutmeg seed essential oil (*Myristica fragrans*) significantly impacts cognitive decline due to diazepam.

Keywords: cognitive function; diazepam; nutmeg seed; essential oil; Morris Water Maze

Pendahuluan

Penurunan fungsi kognitif merupakan kondisi yang sering terjadi akibat rendahnya kadar asetilkolin di otak.¹ Kondisi ini memengaruhi kemampuan berpikir, mengingat, serta belajar, dan dapat dikategorikan sebagai demensia, gangguan perkembangan, delirium, dan amnesia.² Salah satu faktor yang menyebabkan penurunan fungsi kognitif adalah penggunaan obat-obat tertentu, seperti diazepam.^{3,4} Diazepam adalah obat yang termasuk dalam kelompok benzodiazepine yang bekerja dengan mengikat reseptor GABAA di sistem saraf pusat sehingga meningkatkan efek inhibisi GABA, menimbulkan efek sedasi dan ansiolitik.⁵ Diazepam juga memiliki efek menghambat pelepasan asetilkolin di otak. Mekanisme ini berkontribusi terhadap efek samping penurunan fungsi kognitif.⁴

Penelitian terhadap bahan alam untuk mendapatkan alternatif terapi diazepam telah banyak dilakukan, salah satunya menggunakan tanaman pala (*Myristica fragrans*).⁶ Tumbuhan pala (*Myristica fragrans*) berasal dari Kepulauan Banda, Maluku yang telah terbukti dapat menurunkan kejang, insomnia, dan kecemasan seperti halnya diazepam.⁷ Mekanisme minyak esensial pala secara umum bekerja dengan meningkatkan kemampuan inhibisi neurotransmitter GABA pada reseptor GABAA, serta dengan menghambat kanal sodium. Beberapa senyawa yang berperan, yaitu *analog pinene*, *terpineol*, *linalool*, *eugenol*, *myristicin*, *elemicin*, dan *terpinene-4-ol*.⁸ Berbeda dengan diazepam, pala memiliki aktivitas *acetylcholinesterase inhibitor*, sehingga dapat menyebabkan konsentrasi asetilkolin meningkat dan meningkatkan fungsi kognitif.⁹ Aktivitas ini disebabkan oleh adanya senyawa malabaricone C yang terdapat dalam minyak esensial pala.¹⁰

Research Article

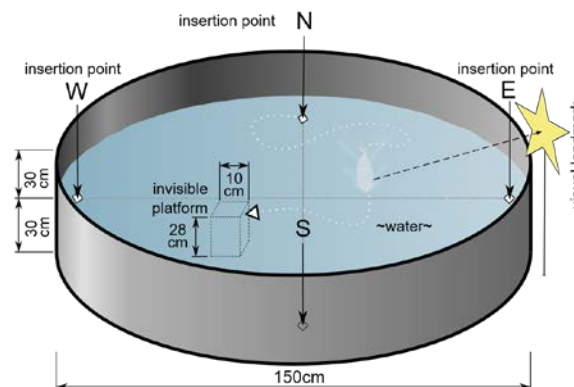
Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala memiliki efek antikonvulsan lebih unggul daripada terapi tunggalnya.¹¹ Penelitian terkait efek kombinasi ini terhadap fungsi kognitif masih terbatas; oleh karena itu, tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi efek kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala terhadap fungsi kognitif mencit (*Mus musculus*) jantan menggunakan metode Morris Water Maze.

Metode

Desain penelitian ini adalah *pre-test -post-test control group design* dengan 15 mencit (*Mus musculus*) Jantan yang dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa intervensi), kelompok diazepam tunggal (2 mg/kgBB) dan kelompok uji dengan kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala. Dosis diazepam (2 mg/kgBB) dan minyak esensial biji pala (200 μ L/kgBB) dipilih berdasarkan literatur penelitian sebelumnya yang menunjukkan efektivitas kombinasi ini dalam penelitian antikonvulsan.¹¹

Objek penelitian yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan yang diperoleh dari peternak mencit khusus untuk penelitian. Pemilihan mencit menggunakan teknik *purposive sampling*, dengan kriteria inklusi berusia 2-3 bulan, memiliki berat 20-30 gram, sehat, beraktivitas normal, dan belum pernah digunakan sebagai objek penelitian. Kriteria eksklusi adalah mencit jantan mati selama penelitian. Berdasarkan rujukan *World Health Organization* (WHO) mengenai jumlah hewan uji, yaitu bahwa penelitian eksperimental harus menggunakan minimal 5 ekor hewan uji per kelompok,¹² sehingga penelitian ini menggunakan 15 ekor mencit.

Metode Morris Water Maze digunakan untuk mengevaluasi fungsi kognitif mencit, terutama memori spasial.¹³ Eksperimen dilakukan dalam kolam berbentuk bulat yang diisi air buram bersuhu 25–27°C dengan *platform* kecil tersembunyi di dalamnya dan berfungsi sebagai tempat aman bagi mencit untuk berpijak, seperti dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Morris Water Maze

Research Article

Selama pelatihan, mencit ditempatkan secara acak di tepi kolam dan harus mencari platform tersembunyi menggunakan memori spasial serta mengandalkan petunjuk visual dari lingkungan sekitar. Kinerja mencit diukur berdasarkan waktu yang diperlukan untuk mencapai platform.

Penelitian terdiri dari dua tahapan, yaitu *acquisition trial* (hari 1–5, *pre-test*) dan uji kemampuan sensori-motoris (hari 6–15, *post-test*). Pada tahap *pre-test*, mencit dilatih menemukan platform tersembunyi dua kali per hari. Apabila dalam waktu 60 detik mencit belum menemukan platform, maka diberikan bantuan dan mencit diletakan di atas platform selama 15 detik. Waktu tempuh mencit mencapai platform dicatat sebagai data *pre-test*. Setelah itu, mencit dibagi menjadi tiga kelompok: kelompok kontrol negatif tanpa intervensi, kelompok uji dengan diazepam tunggal (2 mg/kgBB, diberikan secara intraperitoneal 30 menit sebelum tes), dan kelompok uji kombinasi (diazepam 2 mg/kgBB diberikan pada menit ke-0 dan minyak esensial biji pala 200 µL/kgBB diberikan intraperitoneal pada menit ke-25 sebelum tes). Pada hari ke-15, waktu yang diperlukan mencit untuk menemukan platform kembali dicatat sebagai *post-test*.¹⁴

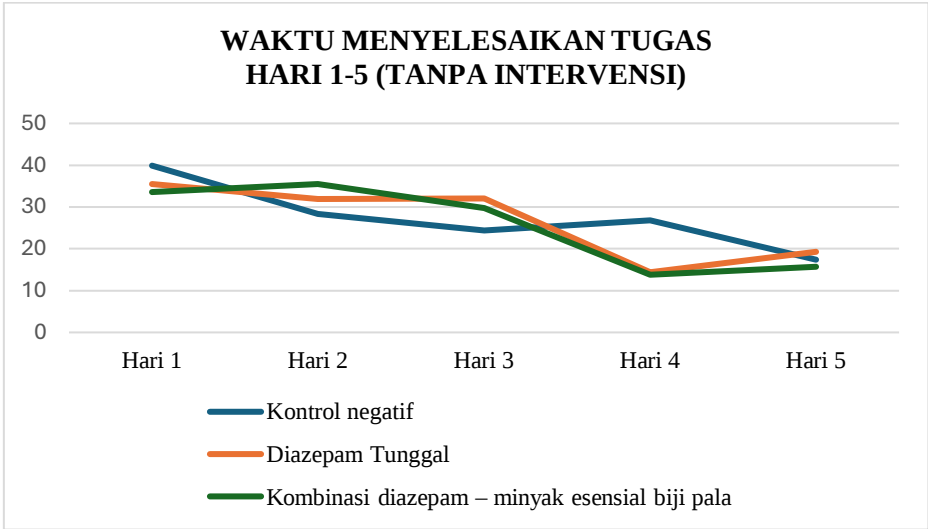
Penelitian dilakukan pada Juni 2024. Lokasi penelitian berada di Laboratorium Farmakologi Universitas Santo Borromeus. Suhu air dijaga stabil pada rentang 25–27°C. Pencahayaan ruangan dibuat konsisten sepanjang periode penelitian. Data dianalisis menggunakan uji Wilcoxon untuk membandingkan waktu tempuh sebelum dan sesudah intervensi dalam tiap kelompok. Perbedaan data antar kelompok dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis. Tingkat kepercayaan statistik ditetapkan sebesar 95%. Penelitian telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha (SK No.032/KEP/III/2024).

Hasil

Tahap *Acquisition Trial* (hari ke 1-5 pada semua mencit tanpa intervensi)

Pada tahap ini, semua mencit menjalani pelatihan untuk menemukan platform tersembunyi tanpa intervensi obat. Data yang diperoleh menunjukkan adanya peningkatan kemampuan mencit dalam menyelesaikan tugas, yang ditunjukkan dengan penurunan waktu yang dibutuhkan untuk menemukan platform dari hari ke-1 hingga hari ke-5. Tabel rerata perhitungan waktu mencit menemukan platform tersembunyi selama 5 hari tanpa diberikan intervensi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1. Hasil penelitian pada tahapan ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok mengalami penurunan waktu dalam menemukan platform, yang menandakan adanya pembelajaran spasial.

Research Article



Gambar 2 Grafik Rerata Waktu Mencit Menemukan Platform Tersembunyi Selama 5 Hari Tanpa Diberikan Intervensi

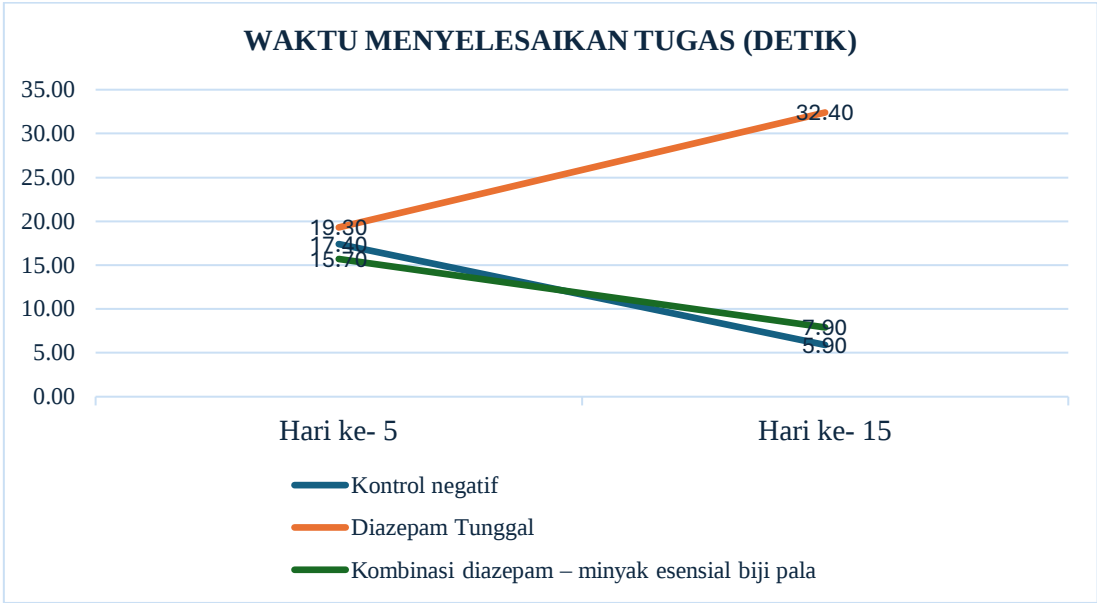
Uji Kemampuan Sensori-Motoris (hari ke-6-15 dengan intervensi)

Pada tahap ini, mencit menerima intervensi sesuai kelompoknya. Kelompok kontrol negatif tidak diberikan intervensi, kelompok uji 1 diberi diazepam tunggal dengan dosis 0,2 mL/20g mencit pada menit pertama, dan kelompok uji 2 diberi kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala dengan dosis larutan diazepam 0,2mL/20g pada menit pertama dan larutan minyak esensial biji pala dengan dosis 0,2 mL/20g pada menit ke-25. Kelompok kontrol negatif tetap mengalami penurunan waktu pencarian platform, sedangkan kelompok yang diberi diazepam tunggal mengalami peningkatan waktu yang signifikan, menunjukkan adanya gangguan kognitif. Kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala tidak menunjukkan penurunan kinerja kognitif yang signifikan dibandingkan kontrol negatif. Rerata waktu tempuh dalam menemukan platform tersembunyi pada hari ke-5 (tanpa intervensi) dan hari ke-15 (setelah mendapat intervensi selama 10 hari) dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 2.

Tabel 1 Rerata Waktu Mencit Menemukan Platform Tersembunyi Selama Lima Hari Tanpa Intervensi

Kelompok	Waktu Menyelesaikan Tugas (detik)				
	Hari ke-1 (Mean±SD)	Hari ke-2 (Mean±SD)	Hari ke-3 (Mean±SD)	Hari ke-4 (Mean±SD)	Hari ke-5 (Mean±S)
Kontrol negatif	39,9 ± 11,70	28,3 ± 8,19	24,4 ± 13,04	26,8 ± 19,47	17,4 ± 3,07
Diazepam Tunggal	35,5 ± 16,12	31,9 ± 11,8	32,1 ± 12,84	14,4 ± 11,82	19,3 ± 15,47
Kombinasi diazepam – minyak esensial biji pala	33,6 ± 14,27	35,5 ± 15,27	29,8 ± 11,64	13,8 ± 8,24	15,7 ± 8,02

Research Article



Gambar 3 Grafik Rerata Waktu Mencit Menemukan Platform Tersembunyi Selama 10 Hari Dengan Intervensi

Hasil penelitian pada tahapan ini menjelaskan bahwa kelompok kontrol negatif tetap menunjukkan peningkatan memori spasial tanpa gangguan. Kelompok diazepam tunggal mengalami peningkatan waktu pencarian platform, menandakan adanya gangguan kognitif akibat efek depresan benzodiazepin.¹⁵ Kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala menunjukkan waktu yang lebih mendekati kontrol negatif, yang berarti minyak esensial biji pala dapat mengurangi efek negatif diazepam terhadap fungsi kognitif.

Tabel 2 Rerata Perhitungan Waktu Mencit Menemukan Platform Tersembunyi Selama 10 Hari dengan Intervensi

Kelompok	Waktu Menyelesaikan Tugas (detik)	
	Hari ke-5 (<i>Mean±SD</i>)	Hari ke-15 (<i>Mean±SD</i>)
Kontrol negatif	17,4 ± 3,07	5,9 ± 0,89
Diazepam Tunggal	19,3 ± 15,47	32,4 ± 19,14
Kombinasi diazepam – minyak esensial biji pala	15,7 ± 8,02	7,9 ± 5,98

Research Article

Analisis Statistik dan Uji Hipotesis

Signifikansi Perbedaan dalam Tiap Kelompok (Uji Wilcoxon)

Signifikansi perbedaan waktu dalam menemukan platform tersembunyi di hari ke-5 dan hari ke-15 pada setiap kelompok digunakan untuk mengevaluasi 3 hipotesis, seperti terlihat pada Tabel 3.

Analisis Perbandingan Antar Kelompok (Uji Kruskal-Wallis & *Post Hoc* Test)

Signifikansi perbedaan waktu dalam menemukan platform tersembunyi pada hari ke-15 untuk kelompok kontrol negatif tanpa intervensi, kelompok uji 1 setelah pemberian diazepam tunggal, dan kelompok uji 2 setelah pemberian kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala pada mencit jantan (Hipotesis 4) menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p = 0,018$ ($p \leq 0,05$), yang bermakna terdapat perbedaan waktu yang signifikan dalam menemukan platform tersembunyi pada hari ke-15 untuk kelompok kontrol negatif tanpa intervensi, kelompok uji 1 setelah pemberian diazepam tunggal, dan kelompok uji 2 setelah pemberian kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala, kemudian untuk menentukan waktu terlama dalam memecahkan masalah dilakukan uji *post hoc* dan diperoleh hasil mean rank tertinggi adalah pada kelompok diazepam tunggal dan tidak terdapat perbedaan waktu yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala. Hal ini menjelaskan bahwa fungsi kognitif pada kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala tidak berbeda dengan mencit yang tidak diberikan intervensi.

Tabel 3 Hipotesis Mengenai Perbedaan Waktu dalam Menemukan Platform Tersembunyi di Hari Ke-5 dan Hari Ke-15 pada Setiap Kelompok

Hipotesis	Hasil p-value	Kesimpulan
H1: Terdapat perbedaan waktu dalam menemukan platform tersembunyi (berdasarkan metode <i>Morris Water Maze</i>) di hari ke-5 dan hari ke-15 tanpa pemberian intervensi pada mencit jantan.	$p = 0,043$	Signifikan, terjadi peningkatan kognitif secara alami
H2: Terdapat perbedaan waktu dalam menemukan platform tersembunyi (berdasarkan metode <i>Morris Water Maze</i>) sebelum (hari ke-5) dan sesudah pemberian diazepam tunggal (hari ke-15) pada mencit jantan.	$p = 0,223$	Tidak signifikan, terjadi gangguan kognitif
H3: Terdapat perbedaan waktu dalam menemukan platform tersembunyi (berdasarkan metode <i>Morris Water Maze</i>) sebelum (hari ke-5) dan sesudah pemberian kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala (hari ke-15) pada mencit jantan.	$p = 0,042$	Signifikan, minyak pala memperbaiki kinerja kognitif

Research Article

Diskusi

Penelitian ini merupakan studi pertama yang mengevaluasi kombinasi diazepam dan minyak esensial biji pala terhadap fungsi kognitif mencit menggunakan metode Morris Water Maze. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak esensial biji pala mampu mengurangi dampak negatif diazepam pada fungsi kognitif, mendukung teori tentang aktivitas *acetylcholinesterase inhibitor* dari malabaricone C.¹⁶ Temuan ini memberikan kontribusi baru dalam bidang farmakologi, khususnya dalam pengembangan terapi berbasis bahan alami untuk mengatasi efek samping diazepam.

Tabel 1 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa dari seluruh hewan uji mengalami pembelajaran setiap harinya dari hari ke-1 sampai hari ke-5. Berdasarkan data yang diperoleh, pada hari ke-1 sampai ke-3, tiap mencit menghabiskan waktu yang cukup lama untuk berkeliling pada media ukur. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa semakin lama durasi waktu yang dihabiskan oleh mencit untuk mengeksplorasi objek baru, maka semakin baik kemampuan kognitif mencit tersebut.¹⁷ Hal ini membuktikan bahwa hewan uji dalam setiap kelompok memiliki fungsi kognitif yang baik. Kemampuan kognitif suatu makhluk hidup dipengaruhi oleh daya ingat yang dimiliki.¹⁷ Salah satu cara untuk meningkatkan daya ingat yaitu dengan melakukan latihan¹⁸ dan terbukti pada penelitian ini tiap mencit mengalami peningkatan waktu eksplorasi yang signifikan atau lebih cepat dalam media ukur pada hari ke-4.

Tabel 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa mencit pada kelompok kontrol negatif dari hari ke-5 sampai hari ke-15 mengalami peningkatan waktu yang lebih cepat untuk mencapai platform yang tersembunyi. Hal ini menunjukkan bahwa mencit memiliki fungsi kognitif yang baik setelah mengikuti latihan selama 10 hari berikutnya. Pada tabel dan gambar yang sama ditunjukkan pula bahwa mencit pada kelompok diazepam tunggal memerlukan waktu cukup lama untuk mencapai platform tersembunyi setelah mendapatkan intervensi pada hari ke-15. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa efek samping diazepam dapat menurunkan fungsi kognitif.¹⁹ Diazepam merupakan obat golongan *benzodiazepine* yang secara luas digunakan sebagai sedatif, dan antikonvulsan melalui ikatan dengan reseptor GABA_A. Diazepam memiliki sensitivitas pada isoform $\alpha 1\beta\gamma 2$, $\alpha 2\beta\gamma 2$, $\alpha 3\beta\gamma 2$, dan $\alpha 5\beta\gamma 2$. Ikatan diazepam isoform $\alpha 5\beta\gamma 2$ berkaitan dengan efek kognitif.²⁰

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa mencit pada kelompok kombinasi diazepam-minyak esensial biji pala memiliki aktivitas yang hampir sama dengan kelompok kontrol negatif pada hari ke 15. Kondisi ini sudah tampak sejak hari ke-10 (5 hari setelah pemberian intervensi). Keadaan ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa minyak esensial biji pala mempunyai kandungan senyawa *malabaricone C* dengan aktivitas *acetylcholinesterase*

Research Article

inhibitor, sehingga akan meningkatkan konsentrasi asetilkolin yang mampu memperbaiki fungsi kognitif.^{9,10} Data tersebut membuktikan bahwa minyak esensial biji pala mampu memperbaiki penurunan fungsi kognitif yang disebabkan karena diazepam.

Evaluasi pengaruh minyak esensial biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap penurunan fungsi kognitif akibat penggunaan diazepam pada mencit jantan dengan metode Morris Water Maze merupakan kebaruan yang dimiliki oleh penelitian ini. Hasil yang menunjukkan bahwa kombinasi dengan minyak esensial biji pala (*Myristica fragrans*) memiliki potensi untuk memperbaiki penurunan fungsi kognitif yang disebabkan oleh diazepam, mendukung hipotesis bahwa minyak esensial biji pala (*Myristica fragrans*) dapat mengatasi dampak negative diazepam.

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan, antara lain penggunaan dosis tetap untuk diazepam dan minyak esensial biji pala, tanpa eksplorasi lebih lanjut mengenai dosis optimal. Selain itu, faktor lain seperti stres lingkungan atau aktivitas fisik mencit selama penelitian tidak dievaluasi secara mendalam, yang mungkin memengaruhi hasil. Studi lebih lanjut diperlukan untuk menguji efektivitas minyak esensial biji pala pada dosis yang berbeda serta untuk mengeksplorasi mekanisme farmakologisnya lebih lanjut.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung hipotesis bahwa minyak esensial biji pala dapat mengurangi efek negatif diazepam terhadap fungsi kognitif. Temuan ini memberikan dasar bagi penelitian lanjutan dalam pengembangan terapi adjuvan berbasis bahan alami untuk pasien yang menggunakan benzodiazepin. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengonfirmasi efek ini pada model hewan lain serta dalam konteks klinis yang lebih luas.

Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diazepam tunggal secara signifikan menurunkan fungsi kognitif mencit. Penambahan minyak esensial biji pala (*Myristica fragrans*) terbukti mengurangi dampak negatif tersebut, mendukung teori aktivitas *acetylcholinesterase inhibitor* dari senyawa malabaricone C. Temuan ini mengindikasikan bahwa minyak esensial pala berpotensi sebagai adjuvan dalam terapi berbasis benzodiazepin untuk mengurangi gangguan kognitif tanpa menghilangkan efek sedatif diazepam.

Daftar Pustaka

1. Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacol.* 2021; 190:108352.
2. Cooper R. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM). Knowl Org. 2017;44(8):668–676.
3. Sukohar A, Sukawati E, Ailam A. Neufarmakologi – Asetilkolin dan norepinefrin. Dalam: Sukohar A, editor. *Buku Ajar Farmakologi*. Edisi 1. Jakarta: Fakultas Kedokteran Lampung; 2014. h. 11, 26–28.
4. Griffin CE, Kaye AM, Rivera Bueno F, Kaye AD. Benzodiazepine pharmacology and central nervous system-mediated effects. *Ochsner J.* 2013;13(2):214–223.

Research Article

5. Dhaliwal JS, Rosani A, Saadabadi A. Diazepam. In: StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024
6. Ahidin D, Kartika Parwati D. Uji efek sedatif ekstrak etanol biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap mencit putih (*Mus musculus*) jantan. J Ilm Farm. 2022; 2(2):137–144.
7. Direktorat Jenderal Perkebunan. Budidaya Pala. 2020; 2.
8. Warsito MF. A review on chemical composition, bioactivity, and toxicity of *Myristica fragrans* Houtt. essential oil. Indones J Pharm. 2021; 32(3):304–13.
9. Cuong D, Hung TM, Han HY, Roh HS, Seok JH, Lee JK, et al. Potent acetylcholinesterase inhibitory compounds from *Myristica fragrans*. Nat Prod Commun. 2014;9(4):499–502.
10. Sathya S, Amarasinghe NR, Jayasinghe L, Araya H, Fujimoto Y. Enzyme inhibitors from the aril of *Myristica fragrans*. S Afr J Bot. 2020;130:172–6.
11. Mercya, Y., & Asyiah, R. Anticonvulsant activity of diazepam and nutmeg essential oil combination in male mice induced with strychnine: uji aktivitas antikonvulsan kombinasi diazepam dan minyak pala pada mencit jantan terinduksi striknin. 2025; 8(2): 228–234.
12. Murfat Z. Efek neuroprotektif senyawa herbal terhadap gangguan kognitif. Fakumi Med J. 2022;2(5):359–367.
13. Susilowati A. Panduan morris water maze untuk penelitian memori spasial. Yogyakarta: CV. Madani Berkah Abadi; 2024.
14. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nat Protoc. 2006;1(2):848–58.
15. Furukawa T, Nikaido Y, Shimoyama S, Masuyama N, Notoya A, Ueno S. Impaired cognitive function and hippocampal changes following chronic diazepam treatment in middle-aged mice. Front Aging Neurosci. 2021; 13:777404.
16. Rastegari A, Manayi A, Rezakazemi M, Eftekhari M, Khanavi M, Akbarzadeh T, et al. Phytochemical analysis and anticholinesterase activity of aril of *Myristica fragrans* Houtt. BMC Chem. 2022;16(1):106.
17. Leger M, Quiedeville A, Bouet V, Haelewyn B, Boulouard M, Schumann-Bard P, et al. Object recognition test in mice. Nat Protoc. 2013;8(12):2531–7.
18. Andrade-Guerrero J, Rodríguez-Arellano P, Barron-Leon N, Orta-Salazar E, Ledesma-Alonso C, Díaz-Cintra S, et al. Advancing Alzheimer's therapeutics: exploring the impact of physical exercise in animal models and patients. Cells. 2023; 12(21):2531.
19. Barker M, Greenwood KM, Jackson M, Crowe SF. Persistence of cognitive effects after withdrawal from long-term benzodiazepine use: a meta-analysis. Arch Clin Neuropsychol. 2004;19(3):437–54.
20. Sieghart W, Savic MM. International union of basic and clinical pharmacology. CVI: GABAA receptor subtype- and function-selective ligands: key issues in translation to humans. Pharmacol Rev. 2018;70(4):836–878.