

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*
[L.] Urban) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HEPAR
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG
DIINDUKSI ETANOL**

(Skripsi)

**Oleh
SINTA MEIDINA
1658011010**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

THE EFFECT OF GIVING GOTU KOLA (*Centella asiatica* [L.] Urban) LEAVE EXTRACT ON LIVER HISTOPATHOLOGICAL DESCRIPTION OF ETHANOL-INDUCED WHITE RAT (*Rattus norvegicus*) SPARAGUE DAWLEY STRAIN INDUCED BY ETHANOL

BY

SINTA MEIDINA

Background: Central Bureau of Statistics (BPS) alcohol consumption in Indonesia is recorded at 0.36 liters per capita. While alcohol consumption in urban areas was recorded at 0.18 liters per capita, it became a big problem. Excessive alcohol consumption will be associated with liver damage, either in the short term or long term, but it can also cause cancer. In order for the community to do business back to nature, one of the plants chosen is gotu kola leaf. This study aims to examine whether there is an effect of giving gotu kola (*Centella asiatica* [L.] Urban) leaf extract on the histopathological picture of the liver of white rats (*Rattus norvegicus*) *sparague dawley* strain induced by ethanol.

Method: This study used 30 rats divided into 5 groups, that control group 1 (K1) given aquades, control group 2 (K2) only given ethanol without giving gotu kola leaf extract, treatment groups 1, 2, and 3 given ethanol 2mL/day orally followed by gotu kola leaf extract with successive doses of 10 mg/KgBW, 20mg/KgBW, and 40mg/KgBW for 14 days.

Result: The average liver damage score obtained were K1 = 181.4; K2= 271.8; P1= 243.6; P2= 228.4; P3= 208.8. The data were tested with Shapiro-wilk followed by Tamhane's post hoc test and it was found that there was a significant mean difference between the control group and the treatment group.

Conclusion: There is an effect of gotu kola (*Centella asiatica*) leaf extract on liver histopathology on white rats male *Sparague dawley* rats (*Rattus norvegicus*) strain induced by ethanol.

Keyword: alcohol, gotu kola leaf, hepatoprotector, liver histopathology.

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* [L.] Urban) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI ETANOL

OLEH

SINTA MEIDINA

Latar Belakang: Badan Pusat Statistik (BPS) konsumsi alkohol di Indonesia tercatat sebesar 0,36 liter per kapita. Sedangkan konsumsi alkohol di perkotaan tercatat sebesar 0,18 liter per kapita, itu menjadi masalah besar. Konsumsi alkohol yang berlebihan akan dikaitkan dengan kerusakan hepar, baik dalam jangka waktu cepat ataupun jangka panjang, selain itu juga bisa menyebabkan kanker. Dalam rangka masyarakat melakukan usaha *back to nature*, salah satu tanaman terpilihnya adalah daun pegagan. Penelitian ini bertujuan untuk meneliti apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague dawley yang diinduksi etanol.

Metode: Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol 1 (K1), kelompok kontrol 2 (K2) yang hanya diberi etanol tanpa ekstrak daun pegagan, kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yang diberikan etanol 2mL/hari dan dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan dengan dosis berturut-turut 10mg/KgBB, 20mg/KgBB, dan 40mg/KgBB selama 14 hari.

Hasil: Hasil rerata skor kerusakan hepar yang didapatkan adalah K1= 181,4; K2= 271,8; P1= 243,6; P2= 228,4; P3= 208,8. Data diuji dengan *Shapiro-wilk* dilanjutkan dengan uji *post hoc Tamhane's* dan didapatkan adanya perbedaan rerata yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Dari hasil rerata tersebut dapat dilihat peningkatan dosis daun pegagan berfungsi sebagai hepatoprotektor

Kesimpulan: Terdapat pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sparague dawley yang diinduksi etanol.

Kata kunci: alkohol, daun pegagan, hepatoprotektor, histopatologi hepar.

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*
[L.] Urban) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HEPAR
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG
DIINDUKSI ETANOL**

Oleh
SINTA MEIDINA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi

:Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sapargue dawley* yang Diinduksi Etanol

Nama Mahasiswa

: Sinta Meidina

No. Pokok Mahasiswa

: 1658011010

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran



1. Komisi Pembimbing

Dr. dr Khairun Nisa Berawi, S.Ked., M.Kes AIFO
NIP 19740226 200112 2 002

dr. Risti Graharti, S.Ked., M.Ling
NIP 231612900323201

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M. Kes
NIP. 197206281997022001

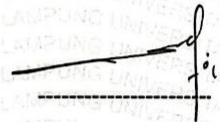
MENGESAHKAN

1. Tim penguji

Ketua : Dr. dr Khairun Nisa Berawi, S.Ked., M.Kes AIFO



Sekretaris : dr. Risti Graharti, S.Ked., M. Ling



**Penguji
Bukan pembimbing: dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm**



2. Dekan Fakultas Kedokteran

**Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S. K. M., M.Kes
NIP. 197206281997022001**



Tanggal lulus ujian skripsi : 21 Juli 2022

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sinta Meidina
Nomor Pokok Mahasiswa : 1658011010
Tempat Tanggal Lahir : Bandar Lampung, 19 Mei 1998
Alamat : Jl. Sisingamangaraja Gg. Pemancar III no. 27 Gedong Air,
Bandar Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sapargue dawley* yang Diinduksi Etanol" adalah benar hasil karya penulis, bukan menjiplak hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ternyata ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas, maka saya akan bersedia bertanggung jawab dan diberi sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Atas perhatiannya saya mengucapkan terima kasih.

Bandar Lampung, 18 Juli 2022


Sinta Meidina

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kota Bandar Lampung pada 19 Mei 1998, sebagai anak kedua dari dua bersaudara pasangan Bapak Drs H. Amir Husin, M.Pd dan Ibu AKBP Purn Hj. Ratna Djuwita, Bsc. Penulis memiliki satu kakak Perempuan yang bernama dr. Mirna Candra Dewi, S.Ked.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Kartika II-6 Bandar Lampung pada tahun 2004, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Kartika II-5 Bandar Lampung pada tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 1 Bandar Lampung pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA YP UNILA Bandar Lampung pada tahun 2016.

Tahun 2016, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Perguruan Tinggi Negeri Tahun 2016 Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah terdaftar pada organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) 2017-2018 dan 2018-2019. Penulis pernah melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Gunung Katon, Kecamatan Tanjung Raja, Kabupaten Lampung Utara.

“Allah is the best scriptwriter, and everything happens for a reason”

Sinta

And whoever puts their trust in Allah, then He “alone” is sufficient for them.

[65:3]

Allah promised you, not once but twice.

For indeed, with hardship (will be) ease

Indeed, with hardship (will be) ease.

[94:5,6]

“Cukuplah Allah (menjadi penolong) bagi Kami dan Dia sebaik-baik Pelindung.”

[3:173]

SANWACANA

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih, Maha Penyayang, Maha Kuasa, pemilik seluruh alam beserta isinya, yang memberikan segala nikmat dan karunia-Nya selama penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sapargue dawley* yang Diinduksi Etanol”

Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang mendalam kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat diberikan nikmat sehat dan dapat menjalani segala aktivitas dan selalu memberikan kekuatan untuk penulis menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. Karomani, M. Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. dr. Khairun Nisa Berawi, S.Ked., M.Kes AIFO, selaku Pembimbing I yang senantiasa memberikan masukan serta bimbingan, dan motivasi yang sangat berharga bagi penulis, terima kasih atas waktu dan pelajaran yang sudah diberikan.
5. Alm. Prof. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA, selaku Pembimbing I penulis yang sudah mendahului kita semua. Semoga seluruh amal kebaikan Beliau diterima Allah SWT serta Alm. Prof. Muhar ditempatkan ditempat terbaik di Sisi Allah SWT. Aamiin.

6. Ibu dr. Risti Graharti, S.Ked., M.Ling, selaku Pembimbing II yang selalu memberikan saran dan bimbingan kepada penulis, serta senantiasa memberikan motivasi serta perhatian kepada penulis.
7. Ibu dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm, selaku Penguji Utama yang telah memberikan saran, ilmu, dan bimbingan yang amat berharga kepada penulis.
8. Ibu Dr. dr. Susianti, M.Sc., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, dan masukan selama proses perkuliahan.
9. Seluruh dosen, staf, dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, bantuan yang telah diberikan selama proses perkuliahan dan penyusunan skripsi.
10. Kedua orangtuaku tercinta, Ayahku Amir Husin dan Mamahku Ratna Djuwita yang sangat penulis cintai dan sayangi, yang tiada henti selalu mendoakan, mendukung, mendidik, memberikan kasih sayang, perhatian, serta semangat sepanjang waktu, yang selalu menyertai setiap langkah penulis. Kalian adalah alasan utama penulis untuk tidak mudah menyerah dan selalu semangat dalam menjalankan studi ini, semoga selalu diberikan kesehatan, umur yang panjang agar bisa selalu mendampingi penulis dalam setiap langkah kehidupan.
11. Ayuk Mirna Candra Dewi, Keponakan terlucu Fikar, dan Kakak Ipar Ka Amik yang senantiasa mendoakan, menemani, membantu, memberi motivasi serta memberikan kasih sayang kepada penulis dalam kehidupan ini. Terimakasih karena sudah membuat penulis selalu merasa nyaman, senang dan selalu meluangkan waktu untuk *quality time* setiap *weekend*.
12. Kakak-kakak Sepupuku tersayang Ka Haliza Nurayu dan Ka Riska Jasmine yang senantiasa mendoakan, menemani secara *virtual* dikarenakan posisi kita yang berbeda pulau, yang selalu mendengarkan keluh kesah dan tangisan penulis dan tidak lupa selalu

memberi motivasi kepada penulis untuk terus berusaha menyelesaikan skripsi ini, serta memberikan kasih sayang kepada penulis dalam kehidupan ini.

13. Keluarga besar Ayah Amir Husin dan Mamah Ratna Djuwita yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan dan motivasi kepada penulis.
14. Seluruh staf Laboratorium Histopatologi Anatomi dan Animal house yang telah memberikan izin dan dengan baik hati bersedia meluangkan waktunya untuk membantu penulis dalam pengambilan data selama penelitian skripsi ini.
15. Kepada *partner* Fajar Dwicahya. Terimakasih karena telah menjadi penyemangat, pemberi solusi terbaik, dan tulus membantu dalam banyak hal, serta sabar dalam mendengarkan keluh kesah penulis. Terimakasih karena sudah membantu dan menemani penulis dalam melakukan penelitian.
16. Sahabat Setia Penulis sedari TK Risty Ardianti, Nanda Alifia dan Tiara Maharani, yang selalu mendengarkan keluh kesah dan memberikan motivasi kepada penulis.
17. Sahabat Seperjuangan tersayang Syalsa Zaiva, Riska Oktavioni, Naisya Midary dan Frecilia Afrida, yang selalu menemani dalam suka duka di sela waktu-waktu kritis semester akhir, saling mendoakan dan saling memberikan motivasi serta bantuan yang amat berharga kepada penulis.
18. Sahabat Seperjuangan selama perkuliahan Zeni Oktawiyanti, Nabila Nuranjumi, Melia Munansiah, L. Ristia, Kurnia Hadi, Ilma Putri, Reyhan Anjani, Dhea Mutiara, Redina Andini, Martha Sela, yang selalu memberikan motivasi, bantuan serta menemani hari-hari selama perkuliahan kepada penulis.
19. Sahabat Sepermainan dari SMA Syafira Ismalia, Dika Palwa, Mayang Indi, Andi Azir, Aditya Gusti, M. Rafif, Udin, Sonny, Alif yang selalu memberikan motivasi, bantuan kepada penulis, serta menghibur penulis.

20. Sahabat Sedulur Basket Alvika, Gendis, Marle, Reni, Richi dan Oliv yang selalu memberikan motivasi serta selalu ada saat sedih maupun senang.
21. Sahabat SMP Risty, Falaah, Anes, Syani, Risa dan Sindep yang selalu meyemangati dalam menyelesaikan skripsi dan memberikan motivasi kepada penulis.
22. Sahabat Sepermainan Erja, Azizah, Ires, Sasa yang selalu menghibur, menemani dan memberi semangat kepada penulis.
23. Sahabat Kopi Bunga dan Dwi yang selalu menghibur, serta menemani dan memberi semangat kepada penulis.
24. Teman-teman angkatan 2016 (TR16EMINUS) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungan selama proses perkuliahan.
25. Teman-teman dan keluarga besar KKN desa Gunung Katon, Kecamatan Tanjung Raja, Kabupaten Lampung Utara.
26. Semua orang pernah datang baik yang telah pergi maupun yang masih ada. Terimakasih untuk segala pembelajaran dan kenangannya, semoga selalu bahagia.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna Aamiin Yaa Robbal 'Aalamiin.

Bandar Lampung, 20 Juli 2022

Penulis

Sinta Meidina

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	14
DAFTAR GAMBAR.....	17
DAFTAR TABEL	18
DAFTAR LAMPIRAN.....	19
BAB I PENDAHULUAN.....	20
1.1 Latar Belakang.....	20
1.2 Rumusan Masalah	23
1.3 Tujuan Penelitian.....	24
1.4 Manfaat Penelitian.....	24
1.4.1 Manfaat bagi Peneliti	24
1.4.2 Manfaat bagi Masyarakat.....	24
1.4.3 Manfaat bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung	24
1.4.4 Manfaat bagi Peneliti Lain	24
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	25
2.1 Herba Pegagan (<i>Centella asiatica</i> [L.] Urban).....	25
2.1.1 Definisi Pegagan (<i>Centella asiatica</i> [L.] Urban)	25
2.1.2 Klasifikasi Pegagan (<i>Centella asiatica</i> [L.] Urban).....	28
2.2 Hepar	31
2.2.1 Anatomi Hepar.....	31
2.2.2 Fisiologi Hepar.....	33
2.2.3 Histologi Hepar	36
2.3 Alkohol.....	39
2.3.1 Definisi Alkohol.....	39
2.3.2 Gangguan yang Terjadi Akibat Penggunaan Alkohol.....	42
2.3.3 Metabolime Alkohol	44
2.3.4 Prevalensi Pecandu Alkohol	45
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur Sprague Dawley	47
2.5 Kerangka Teori.....	48

2.6 Kerangka Konsep	51
2.7 Hipotesis	51
BAB III METODE PENELITIAN	52
3.1 Jenis Penelitian	52
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	52
3.3 Subjek Penelitian	53
3.3.1 Populasi Penelitian	53
3.3.2 Sampel	54
3.3.3 Kelompok Perlakuan	55
3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	55
3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	56
3.5.1 Variabel Penelitian	56
3.5.2 Definisi Operasional	57
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	58
3.6.1 Alat Penelitian	58
3.6.2 Bahan Penelitian	58
3.6.3 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Histologi	59
3.6.4 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi	59
3.7 Prosedur penelitian	60
3.7.1 Pemilihan Sampel dan Pemeliharaan	60
3.8 Penentuan Dosis dan Cara Pemberian	62
3.8.1 Penentuan Dosis	62
3.8.2 Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Etanol 20%	63
3.8.3 Prosedur Perlakuan pada Sampel	64
3.8.4 Prosedur Operasional Pembentukan Preparat	66
3.9 Pengolahan Data dan Analisis Data	68
3.9.1 Pengolahan Data	68
3.9.2 Analisis data	69
3.10 Alur Penelitian	70
3.11 Etika Penelitian	71
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	73
4.1 Hasil Penelitian	73
4.1.1 Gambaran Histopatologi Hepar Tikus	73
4.1.2 Analisis Histopatologi Hepar Tikus	77
4.2 Pembahasan	83
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	90
5.1 Kesimpulan	90
5.2 Saran	90

DAFTAR PUSTAKA.....	91
LAMPIRAN	95

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> [L.] Urban)	13
2. Anatomi Hepar Anterior	19
3. Anatomi Hepar Posterior	20
4. Struktur Hati Tikus Putih.....	26
5. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	35
6. Kerangka Teori.....	39
7. Kerangka Konsep.....	40
8. Cara Sampling.....	43
9. Alur Penelitian.....	59
10. Gambaran Histopatologi Hepar tikus K1.....	63
11. Gambaran Histopatologi Hepar tikus K2.....	64
12. Gambaran Histopatologi Hepar tikus P1.....	65
13. Gambaran Histopatologi Hepar tikus P2.....	65
14. Gambaran Histopatologi Hepar tikus P3.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional.....	45
2. Skor gambaran histologis hati modifikasi manja roenigk.....	66
3. Rerata Kerusakan Hepar Tikus	67
4. Uji Normalitas	69
5. Uji Homogenitas.....	70
6. Uji <i>One-Way ANNOVA</i>	70
7. Uji Hasil Analisis <i>Post Hoc LSD</i>	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Surat Kaji Etik

Lampiran 2 : Surat Izin Peminjaman *Pet House*

Lampiran 3 : Dokumentasi Penelitian

Lampiran 4 : Uji Statistik Data Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyebab kematian terbanyak ketiga di Amerika Serikat adalah konsumsi alkohol yang berlebihan. Konsumsi alkohol yang berlebihan akan dikaitkan dengan kerusakan hepar, baik dalam jangka waktu cepat ataupun jangka panjang, selain itu juga bisa menyebabkan kanker (Kosten TR, 2003). Di Indonesia yang menjadi masalah besar adalah minuman beralkohol ilegal. Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat, konsumsi alkohol oleh penduduk Indonesia berusia 15 tahun keatas menurun sejak 2017-2021. Pada tahun 2021, konsumsi alkohol di Indonesia tercatat sebesar 0,36 liter per kapita. Sedangkan konsumsi alkohol di perkotaan tercatat sebesar 0,18 liter per kapita (Riskesmas, 2021). Hampir setiap bulan di berbagai daerah ditemukan korban akibat meminum minuman keras ilegal. Pengguna minuman beralkohol di Indonesia tersebar dalam berbagai tingkatan sosial ekonomi, dari yang kaya maupun yang miskin. Kandungan alkohol bukan berapa banyak yang diminum, tetapi berapa banyak kandungan/kadar alkohol dalam minuman tersebut. Alkohol paling cepat diserap pada kadar dalam minuman antara 10%-30% (Nurwijaya H, 2009).

Alkohol mengalami metabolisme di ginjal, paru-paru, dan otot, tetapi umumnya di hepar kira-kira 7 gram etanol per jam, di mana 1 gram etanol

sama dengan 1 ml alkohol 100%. Alkohol paling bahaya dampaknya pada hepar. Sel hepar akan mati dan menjadi parut. Parut ini akan mengurangi kemampuan hepar untuk berfungsi dengan sempurna. Parut yang serius akan menyebabkan keadaan yang disebut sirosis hati dan dapat berkembang menjadi kanker hati lebih dari 90% alkohol yang dikonsumsi dioksidasi dalam hepar, sisanya diekresikan dalam paru-paru dan urin (Osna NA, 2007).

Hepar merupakan pusat metabolisme tubuh yang mempunyai banyak fungsi dan penting untuk mempertahankan hidup. Kapasitas cadangannya sangat besar, hanya dengan 10- 20% jaringan hepar yang masih berfungsi ternyata sudah cukup untuk mempertahankan hidup pemiliknya. Kemampuan mengganti jaringan mati dengan yang baru (regenerasi) pada hepar pun cukup besar. Itulah sebabnya pengangkatan sebagian jaringan hati yang rusak akibat penyakit akan cepat digantikan dengan jaringan baru (Dalimartha, 2006).

WHO juga merekomendasikan penggunaan obat tradisional dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan, dan pengobatan penyakit, terutama penyakit kronis, penyakit degeneratif, dan kanker. WHO juga mendukung upaya-upaya meningkatkan keamanan dan khasiat obat tradisional (WHO, 2008).

Seiring berkembangnya teknologi dan munculnya kembali tanaman-tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu pengobatan tradisional di masyarakat dalam rangka *back to nature*. Masyarakat lebih memilih

alternatif ini karena dianggap relatif lebih murah, diharapkan dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat, serta dapat lebih efisien dan tidak menimbulkan efek samping dibandingkan dengan pemakaian obat medis. Obat-obat tradisional yang dapat dimanfaatkan berasal dari tumbuhan-tumbuhan ataupun dari hewan. Penggunaan bahan-bahan alami di masyarakat kita sudah ada sejak zaman dahulu kala. Pada masa sekarang banyak menggunakan obat-obat tradisional yang terbuat dari suatu tanaman dan dijadikan sebagai obat-obatan baru. Ada berbagai macam jenis tumbuhan liar di Indonesia yang dapat dijadikan sebagai bahan utama salah satunya daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] urban) untuk suatu obat-obatan tradisional yang baru.

Daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] urban) merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di kebun, ladang, tepi jalan serta pematang sawah. Tanaman ini berasal dari daerah Asia tropik, tersebar di Asia Tenggara, termasuk juga Indonesia, India, Republik Rakyat Cina (RRC), Jepang dan Australia. Pegagan merupakan tanaman tahunan yang tumbuh menjalar dan tidak berbatang. Perkembangbiakkannya melalui stolon. Panjang tanaman bisa mencapai 10-80 cm, bahkan lebih. Jumlah daun bisa 10 helai atau lebih. Tanaman ini sangat mudah dikembangbiakkan baik di ladang, persawahan maupun pekarangan (Wijayakusuma, 2002).

Pegagan berkhasiat tonik, antiinfeksi, antipiretik, antitoksik, pembersih darah, hemostasis, memperbanyak pengeluaran empedu, dan sedatif. Bagi penderita hepatitis ikterik akut dengan pembengkakan hati, minum rebusan ini akan mempercepat penyembuhan dan menghilangkan keluhan seperti

ikterik di kulit dan bagian putih bola mata, perut kembung (Dalimartha, 2006). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pegagan mengandung efek sinergis dan antagonis jika dikembangkan sebagai obat antidiabetes atau makanan fungsional. Mekanisme kerja ekstrak tumbuhan herbal pegagan dengan menghambat peningkatan gula darah. Salah satu mekanisme yang sering digunakan untuk menilai antidiabetes secara *in vitro* adalah kemampuannya dalam menghambat enzim amilase dan glukosidase. Tumbuhan yang dapat menghambat aktivitas enzim tersebut dianggap mampu menghambat pencernaan di usus halus, sehingga mengurangi jumlah glukosa yang diserap (Berawi *et al*, 2017). Oleh sebab itu, atas dasar kandungan kimia dan penelitian tentang khasiat pegagan yang pernah dilakukan sebelumnya, penulis tertarik ingin mengetahui apakah ada pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague Dawley yang diinduksi etanol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut adalah apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague dawley yang diinduksi etanol?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague dawley yang diinduksi etanol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi Peneliti

Penelitian dapat mengaplikasikan ilmu pengetahuan yang sudah dipelajari, khususnya di bidang Patologi Anatomi dan peneliti dan mengembangkan minat serta kemampuan peneliti dalam bidang Patologi Anatomi.

1.4.2 Manfaat bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam menambah pengetahuan masyarakat mengenai manfaat dari daun pegagan.

1.4.3 Manfaat bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Manfaat penelitian ini bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung adalah dapat meningkatkan minat penelitian pada disiplin ilmu patologi anatomi yang dapat menunjang kemajuan, khususnya bagi dosen dan mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.4 Manfaat bagi Peneliti Lain

Manfaat penelitian ini bagi peneliti lainnya adalah dapat menjadi dasar atau rujukan bagi penelitian selanjutnya terkait pengaruh pemberian alkohol atau ekstrak teh hijau pada organ lainnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Herba Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban)

2.1.1 Definisi Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban)



Gambar 1. Daun Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban)
(Bervmawie *et al.*, 2008).

Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) merupakan tanaman herba tahunan yang tumbuh di daerah tropis dan berbunga sepanjang tahun. Bentuk daunnya bulat seperti ginjal manusia, batangnya lunak dan beruas, serta menjalar hingga mencapai satu meter. Pada tiap ruas tumbuh akar dan daun dengan tangkai daun panjang sekitar 5– 15 cm

dan akar berwarna putih, dengan rimpang pendek dan stolon yang merayap dengan panjang 10–80 cm (Steenis, 2006). Tinggi tanaman berkisar antara 5,39–13,3 cm, dengan jumlah daun berkisar antara 5–8,7 untuk tanaman induk dan 2–5 daun pada anakannya (Bermawie *et al.*, 2008).

Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) merupakan tanaman obat yang dapat dikonsumsi sebagai sayuran. Tanaman obat ini mudah untuk dibudidayakan dan diperbanyak secara vegetatif. Tanaman pegagan di habitat aslinya banyak tumbuh di ladang, perkebunan, tepi jalan maupun di pekarangan. Tanaman yang berasal dari Asia tropik ini menyukai tanah yang agak lembab, cukup sinar atau agak terlindung. Pegagan mempunyai kisaran agroekologi yang luas dari dataran rendah hingga dataran tinggi sampai dengan ketinggian 2500 m dpl (Rohmawati, 2015).

Seperti ginkgo biloba, manfaat daun pegagan berguna untuk meningkatkan memori, kesehatan dan kecerdasan otak. Pegagan berasal dari daerah tropis yang saat ini menjadi gulma di lingkungan. Pegagan dapat tumbuh di daerah kering dan cerah ke tempat-tempat lembab dan teduh. Daun hijau muda dengan tepi bergigi. Mungkin tidak pernah melihat bunga pegagan, karena bunga mereka kecil dan tidak mencolok. Manfaat daun pegagan dapat digunakan sebagai teh, sirup atau kapsul, yang tersedia di toko makanan kesehatan. Meskipun ramuan ini digunakan untuk berbagai tujuan bervariasi di seluruh dunia, yang utama dan yang paling

umum adalah untuk membantu daya ingat (Suparyo, 2014). Kandungan kimia pegangan antara lain *asiaticoside*, *asiatic acids*, *thankuniside*, *isothankuniside*, *madecassoside*, *brahmoside*, *brahminoside*, *brahmic acid*, *madasiatic acid*, *meso-inositol*, *centelloside*, *carotenoids*, *hydrocotylin*, *vellarine*, *tanin* serta garam mineral seperti K, Na, Mg, Fe, minyak atsiri (1%), pektin (17.25%) dan vitamin B (Wijayakusuma *et al.*, 1994; Lasmadiwati *et al.*, 2004).

Brahminoside adalah senyawa yang memiliki protein penting bagi sel otak. Protein merupakan nutrisi yang diperlukan tubuh untuk membentuk jaringan otot. Jika jaringan terbentuk secara baik maka sel satu dengan sel lainnya akan bekerja dengan baik pula. Hal ini akan menyebabkan otak berfungsi lebih baik dari biasanya. Senyawa *Brahminoside* juga dapat memberikan efek relaksasi dan mengatasi kelelahan. Jika tubuh mengalami kelelahan maka otak tidak dapat bekerja secara efektif. Oleh karena itu, kandungan *Brahminoside* sangat berperan dalam proses peningkatan kerja otak (Iraa, 2015).

Dalam penelitian oleh Mirza *et al* (2005) dalam jurnal Sains, Teknologi, dan Kesehatan oleh Marliani (2011) yang membuktikan bahwa penambahan ekstrak pegangan memberikan pengaruh positif pada otak tikus. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa agresivitas dan kemampuan motorik tikus tersebut meningkat secara signifikan di dalam labirin. Efek positif pada fungsi kognitif otak dimungkinkan terjadi karena pengaruhnya terhadap sistem kolinergik dan juga mempengaruhi morfologi saraf. Mekanisme yang sesungguhnya

masih belum diketahui secara pasti, namun diperkirakan hal ini disebabkan karena adanya stimulasi aktivitas neurosekretori dari saraf kolinergik.

2.1.2 Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban)

a. Taksonomi:

Menurut Newal *et al*, 1996 klasifikasi tanaman Pegagan sebagai berikut:

Filum : Angiospermae

Sub filum : Dycotiledones

Divisi : Sphermatophita

Famili : Umbilliferae

Genus : Centella

Species : *C. asiatica* & *Hydrocotyle asiatica*

Nama ilmiah : *C. asiatica* & *Hydrocotyle asiatica*

b. Nama daerah:

Sumatera : Pegaga (Aceh), Pegago (Minangkabau), Kaki Kuda (Melayu)

Jawa : Antanan Bener (Sunda), Kerok Batok (Jawa Tengah), Gan Gagan (Madura)

Bali : Bali

Nusa Tenggara : Belele (Sasak), Kelai Lere (Sawo)

Sulawesi : Wisu-wisu (Makasar), Cipubalawo (Bugis), Hisu-hisu (Salayar)

Maluku : Sarowati (Halmahera), Kolotidi Manora
(Ternate)

Irian : Dogauke (Newal *et al*, 1996).

c. Deskripsi:

Habitus : Herba, tahunan, menjalar, panjang \pm 10 m.

Batang : Tidak berbatang.

Daun : Tunggal, tersusun dalam roset akar, dua sampai sepuluh, bentuk ginjal, pangkal membulat, tepi beringgit, diameter 1-7 cm, pertulangan meyirip, tangkai 1-5 cm, hijau.

Bunga : Majemuk, bentuk payung, di ketiak daun, tangkai \pm 3 cm, daun pelindung dua, bulat telur, panjang \pm 4 mm, hijau kekuningan, mahkota bentuk terompet, panjang \pm 1½ cm, lebar \pm 8 mm, biru muda.

Buah : Pipih, berlekuk dua, berusuk, ungu kecoklatan.

Akar : Tunggang, bulat, putih (Newal *et al*, 1996).

d. Daerah distribusi, habitat, dan budidaya

Pegagan bersifat kosmopolitan tumbuh liar di tempat-tempat yang lembab pada intensitas sinar yang rendah (ternaungi) hingga pada tempat-tempat terbuka, seperti di padang rumput, pinggir selokan, pematang sawah. Ketinggian tempat optimum untuk tanaman ini adalah 200 – 800 m dpl. Di atas 1.000 m dpl. produksi dan mutunya akan menjadi lebih rendah. Tanaman ini dapat tumbuh

dan berproduksi dengan baik hampir pada semua jenis tanah lahan kering (Newal *et al*, 1996).

e. Kandungan Kimia

Amino acids: Alanine dan *serine* (komponen utama), *aminobutyrate, aspartate, glutamate, histidine, lysine, threonine*.

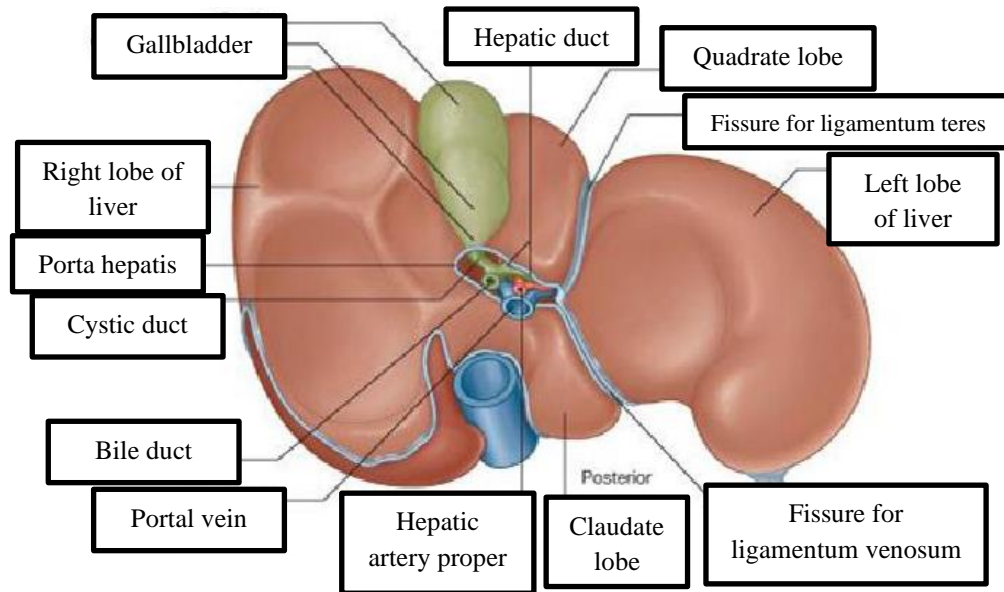
Lebih banyak terdapat pada akar.

Flavonoids: Quercetine, kaempferol, dan beberapa macam glikosida.

Terpenoids: triterpenes, asiaticosid, centelloside, madecassoside, brahmoside dan *brahminoside* (saponin glikosida), *Aglycones* berkaitan dengan *hydrocotylegenin A-E*, senyawa A-D dilaporkan merupakan *ester triterpen alcohol R-barrigenol*. *Asiaticentoic acid, centellic acid, centoic acid* dan *madecassic acid*. *Valatile oils*, berbagai macam *terpenoids* termasuk *β -caryophyllene, trans- β -farnesene* dan *germacrene D (sesquiterpenes)* sebagai komponen utama, *α -pinene* dan *β -pinene*. Unsur-unsur lain *Hydrocotylin* (alkaloid), *vallerine* (zat pahit), asam lemak (*linoleic acid, linolenic acid, lignocene, oleic acid, palmitid acid, stearid acid*), *phytosterols (campesterol, sitosterol, stigmasterol)*, *resin, tannin* (Newall *et al*, 1996).

f. Khasiat dan Penggunaan

- Daun : Re-Vitalisasi sel dan pembuluh darah, antiseptik, antibiotik, antipiretik, diuretik, hepatomegali,



Gambar 3. Anatomi Hepar Posterior (Snell, 2006).

Hepar atau hati adalah organ terbesar yang terletak di sebelah kanan atas rongga abdomen. Pada kondisi hidup hati berwarna merah tua karena kaya akan persediaan darah (Sloane, 2004). Hati merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh manusia dengan berat kurang lebih 1,5 kg (Junqueira & Carneiro., 2007). Sebagian besar hepar terletak di profunda arcus costalis dextra dan hemidiaphragma dextra memisahkan hepar dari pleura, pulmo, pericardium, dan cor. Hepar terbentang ke sebelah kiri untuk mencapai hemidiaphragma sinistra (Snell, 2006).

Hepar terbagi menjadi empat lobus, yakni lobus dextra, lobus caudatus, lobus sinistra, dan lobus caudatus. Terdapat lapisan jaringan ikat yang tipis, disebut dengan kapsula Glisson, dan pada bagian luar ditutupi oleh peritoneum. Darah arteria dan vena berjalan di antara sel-sel hepar melalui sinusoid dan dialirkan ke vena centralis. Vena

centralis pada masing-masing lobulus bermuara ke vena hepatica. Dalam ruangan antara lobulus-lobulus terdapat canalis hepatis yang berisi cabang-cabang arteria hepatica, vena portae hepatis, dan sebuah cabang ductus choledochus (trias 12 hepatis) (Sloane, 2004).

2.2.2 Fisiologi Hepar

Vena porta hepatica mengalirkan darah keluar dari sistem venous usus dengan membawa nutrien yang diserap di dalam saluran cerna ke hati. Hati melaksanakan berbagai fungsi metabolik. Sebagai contoh, pada saat puasa hati akan menghasilkan sebagian besar glukosa melalui glukoneogenesis serta glikogenolisis, melakukan detoksifikasi, menyimpan glikogen dan memproduksi getah empedu disamping berbagai protein serta lipid (Berkowitz, 2013).

Menurut Guyton & Hall (2008), hati mempunyai beberapa fungsi yaitu: a. Metabolisme karbohidrat

Fungsi hati dalam metabolisme karbohidrat adalah menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat.

b. Metabolisme lemak

Fungsi hati yang berkaitan dengan metabolisme lemak, antara lain: mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat.

c. Metabolisme protein

Fungsi hati dalam metabolisme protein adalah deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, dan interkonversi beragam asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino.

d. Lain-lain

Fungsi hati yang lain diantaranya hati merupakan tempat penyimpanan vitamin, hati sebagai tempat menyimpan besi dalam bentuk feritin, hati membentuk zat-zat yang digunakan untuk koagulasi darah dalam jumlah banyak dan hati mengeluarkan atau mengekskresikan obat-obatan, hormon dan zat lain.

Hepar mempunyai suatu kemampuan untuk regenerasi ketika sesudah kehilangan jaringan akibat jejas hepar akut atau hepatektomi parsial, namun selama jejas itu tidak diperparah oleh infeksi virus atau inflamasi. Lobulus akan membesar saat dilakukan hepatektomi parsial yang mengambil 70% jaringan hepar dan mengembalikan hepar ke ukuran semula. Regenerasi ini akan berlangsung sekitar 5 sampai 7 hari pada tikus. Ketika proses regenerasi, hepatosit diperkirakan akan mengalami replikasi sebanyak satu sampai dua kali, dan setelah tercapai ukuran semula, hepatosit akan kembali kepada keadaannya yang semula (Hall & Guyton, 2011).

Hepar memiliki sel hati atau hepatosit yang berbentuk polihedral membentuk lempeng-lempeng yang saling berhubungan yang berasal

dari sel epitel yang berkelompok. Ribuan lobulus hati kecil (0,7 x 2 mm) menyusun hepatosit yang merupakan unit struktural dan fungsional. Setiap lobulus memiliki suatu vena yang disebut vena sentral di bagian pusat dan memiliki tiga sampai enam area portal di bagian perifer pada setiap lobulus. Di sudut lobulus terdapat zona portal yang terdiri dari arteriol (cabang a. hepatica), duktus epitel kuboid (cabang sistem duktus biliaris), dan jaringan ikat dengan suatu vena (cabang vena porta). Ketiga struktur tersebut yang biasa disebut dengan trias porta (Mescher, 2012).

Hati menerima darah dari vena porta yang membawa darah kaya nutrien namun miskin oksigen dari organ visera abdominal. Arteri hepatica akan memberi darah yang teroksigenasi dalam jumlah yang lebih sedikit. Sistem porta membawa darah dari limpa, usus, dan pankreas. Zat toksik dinetralkan dan dihilangkan serta nutrien terakumulasi dan diubah dalam hati. Vena porta pada hati akan bercabang-cabang dan menjadi vena porta kecil menuju celah porta. Kemudian vena porta akan bercabang menjadi vena pendistribusi keci yang akan berjalan ke tepi lobulus lalu berujung dalam sinusoid. Sinusoid akan berjalan radial yang akan membentuk vena sentralis atau vena sentrolobular. Vena sentralis dari masing-masing lobulus akan menyatu menjadi vena, lalu akan membentuk dua atau lebih vena hepatica besar yang akhirnya ke vena cava inferior. Darah akan mengalir dari tepi lalu ke pusat lobulus hati. Hal tersebut menjadikan substansi toksik maupun nontoksik yang diserap usus, oksigen,

maupun metabolit akan sampai dibagian tepi terlebih dahulu lalu kemudian akan masuk ke bagian pusat lobulus. Hal tersebut yang memberikan alasan sifat dan fungsi hepatosit periportal berbeda dari sel sentrolobular. Sintesis protein akan lebih aktif ketika berada di hepatosit bagian portal serta mengandalkan metabolisme aerob, sedangkan yang berperan dalam detoksifikasi dan metabolisme glikogen ke bagian hepatosit yang berada lebih pusat (Mescher, 2012).

2.2.3 Histologi Hepar

Sel-sel yang terdapat di hati antara lain: hepatosit, sel endotel, dan sel makrofag yang disebut sebagai sel kuppfer, dan sel ito (sel penimbun lemak). Sel hepatosit berderet secara radier dalam lobulus hati dan membentuk lapisan sebesar 1-2 sel serupa dengan susunan bata. Lempeng sel ini mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya dan beranastomosis secara bebas membentuk struktur seperti labirin dan busa. Celah diantara lempeng-lempeng ini mengandung kapiler yang disebut sinusoid hati (Junqueira & Carneiro., 2007).

Sinusoid hati merupakan saluran darah yang berliku-liku dan melebar, memiliki diameter yang tidak teratur, dilapisi sel endotel bertingkat yang tidak utuh (sel endotel bernefestra). Struktur yang berliku-liku memungkinkan pertukaran zat yang efisien antara hepatosit dan darah. Sinusoid dibatasi oleh 3 macam sel, yaitu sel endotel (mayoritas) dengan inti pipih gelap, sel kuppfer yang fagositik dengan inti ovoid, dan sel stelat atau sel Ito atau liposit hepatic yang berfungsi untuk

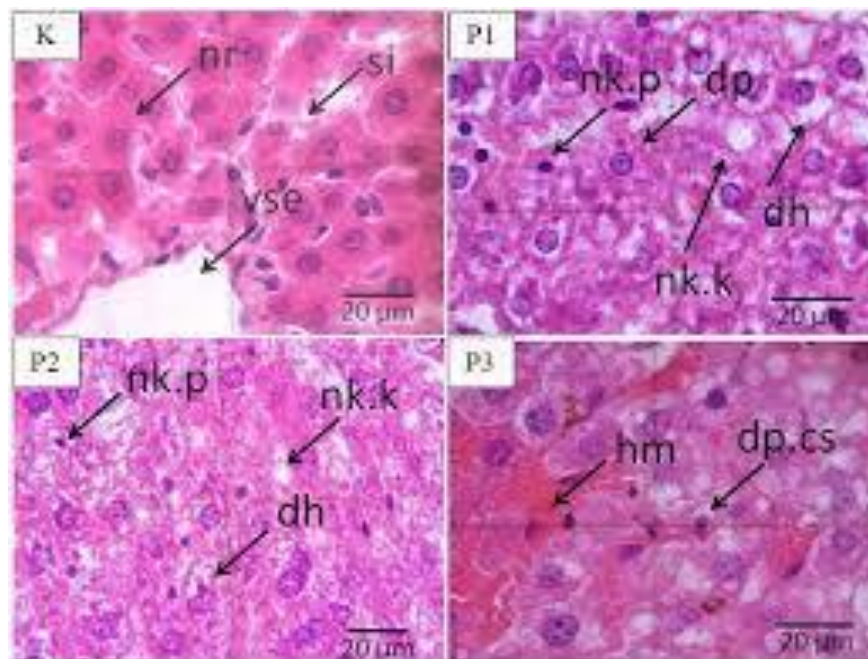
menyimpan vitamin A dan memproduksi matriks ekstraseluler serta kolagen. Aliran darah di sinusoid berasal dari cabang terminal vena portal dan arteri hepatic, membawa darah kaya nutrisi dari saluran pencernaan dan juga kaya oksigen dari jantung (Eroschenko, 2010; Junqueira & Carneiro., 2007).

Hati memiliki aliran darah yang dibagi dalam unit struktural yang disebut asinus hepatic. Asinus hepatic memiliki bentuk seperti buah berry, berada di traktus portal. Asinus ini terletak di antara dua atau lebih vena hepatic terminal, dimana darah mengalir dari traktus portalis ke sinusoid, lalu ke vena tersebut. Asinus hepatic terbagi menjadi 3 zona: zona 1 terletak paling dekat dengan traktus portal sehingga paling banyak menerima darah kaya oksigen, sedangkan zona 3 terletak paling jauh dan hanya menerima sedikit oksigen. Zona 2 atau zona intermediet berada diantara zona 1 dan 3. Zona 3 ini paling mudah terkena jejas iskemik (Junqueira & Carneiro., 2007).

Hati memiliki kemampuan untuk regenerasi sel yang bagus bahkan saat kerusakan hati akut maupun berat sehingga hati juga memiliki cadangan fungsional yang sangat besar. Reseksi atau pengangkatan jaringan hati yang mencapai 60% pada individu dengan keadaan normal akan mengalami gangguan fungsi sesaat dan minimal, namun dalam 4-6 minggu kedepan akan mengalami perbaikan. Kerusakan jaringan hati yang luas, gangguan sirkulasi darah, dan gangguan aliran empedu dapat

mengancam jiwa karena merupakan salah satu penyakit hati yang progresif (Kumar *et al.*, 2013).

Penyakit hati yang disebabkan oleh obat atau toksin dapat dibedakan menjadi dua yakni yang dapat diduga sebelumnya (intrinsik) ataupun yang tidak terduga (idiosinkrasi). Dosis dan cara pemberian sangat memengaruhi kerusakan hati yang berupa zat hepatotoksik. Pola kerusakan jaringan hati akibat kerusakan hati sangat beraneka ragam sehingga penyebab kerusakan oleh toksin atau obat selalu dipikirkan sebagai diagnosis banding (Kumar *et al.*, 2013).



Gambar 4. Struktur Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Ket. (nr). Sel hepatosit normal, (si). Sinusoid, (vse). Vena sentralis, (dp). Degenerasi parenkim, (dh). Degenerasi hidropik, (hm). Hemoragi (pendarahan), (nk.p). Nekrosis (piknotik – inti sel mengecil), (nk.k). Nekrosis (kariolisis – inti sel menghilang) (Kumar *et al.*, 2013).

Gagal fungsi hepar yang disebabkan oleh pola kerusakan hepar dapat dibedakan menjadi tiga kategori :

1. Gagal hati yang akut dengan nekrosis hati masif

Obat atau infeksi virus hepatitis merupakan penyebab tersering. Gambaran klinis gagal hati dapat ditandai dengan insufisiensi hati dan dalam 2-3 minggu diikuti dengan ensefalopati hati. Gagal hati akut yang masif sangat jarang terjadi namun sangat membahayakan sehingga membutuhkan transplantasi hati.

2. Penyakit hati yang kronik

Penyakit hati kronik merupakan penyebab tersering gagal hati yang merupakan perjalanan yang terakhir dari penyakit hati. Kerusakan pada sel hati atau hepatosit, kerusakan pada sistem bilier dan kerusakan pada sistem vaskular menjadi pemicu terjadinya kerusakan hati.

3. Disfungsi hati tanpa disertai dengan nekrosis hati

Keadaan dimana fungsi metabolisme tidak dapat berjalan secara normal namun sel hati dalam keadaan hidup (Kumar *et al.*, 2013).

2.3 Alkohol

2.3.1 Definisi Alkohol

Minuman keras (alkohol) dalam kehidupan manusia mempunyai fungsi ganda yang saling bertentangan. Disatu sisi alkohol merupakan

suatu zat yang dapat membantu umat manusia terutama dalam bidang kedokteran yakni dapat digunakan sebagai pembersih kulit. Perangsang nafsu makan dalam tonikum dan juga dapat digunakan untuk kompres. Akan tetapi disisi lain alkohol atau minuman keras merupakan boomerang yang sangat membahayakan dan menakutkan karena dewasa ini minuman keras dikalangan masyarakat atau khalayak ramai telah menjadi sumber kerawanan dan kesenjangan dalam masyarakat itu sendiri (Dirdjosisworo, 1994).

Saat ini, alkohol menjadi salah satu minuman yang banyak dikonsumsi. Mempunyai efek sebagai obat penenang-hipnotik, alkohol dalam jumlah yang rendah sampai dengan sedang dapat meredakan kecemasan dan menimbulkan perasaan sejahtera atau bahkan euforia. Sekitar 10% dari populasi Amerika Serikat tidak membatasi konsumsi alkohol yang menyebabkan terjadinya alcohol abuse atau penyalahgunaan alkohol (Katzung *et al*, 2012).

Keputusan Presiden Republik Indonesia tentang pengawasan dan pengendalian minuman beralkohol Presiden Republik Indonesia nomor 3 tahun 1997, Bab III Pasal 3 mengatakan bahwa produksi minuman beralkohol hasil industri di dalam negeri dan berasal dari impor, dikelompokkan dalam golongan-golongan sebagian berikut: a. minuman beralkohol golongan A adalah minuman beralkohol dengan kadar ethanol (C_2H_5OH) 1% sampai dengan 5% ; b. Minuman beralkohol golongan B adalah minuman beralkohol dengan kadar ethanol (C_2H_5OH) lebih dari 5% sampai dengan 20% ;C. Minuman

beralkohol golongan C adalah minuman beralkohol dengan kadar ethanol (C_2H_5OH) 20% sampai dengan 55% (Tritama, 2015).

Satuan standar minuman yang beralkohol dihitung berdasarkan jenis dari minuman dan kemasan yang dipakai (botol, kaleng, gelas, sloki, dll). Istilah minuman standar menggambarkan intensitas konsumsi alkohol, hal tersebut dapat dihitung dari jenis dan volume minuman beralkohol yang dikonsumsi. Satu minuman standar biasanya mengandung sekitar 10 gram (antara 8-13 gram) etanol murni, hal tersebut terdapat dalam: 1 gelas bir/botol kecil/kaleng sekitar 285-330 mL yang merupakan minuman dengan kadar alkohol rendah, 1 gelas wine sekitar 120 mL yang merupakan minuman dengan kadar alkohol sedang, 1 sloki minuman dengan kadar alkohol tinggi sekitar 30mL, minuman tradisional beralkohol bening sekitar 100 mL, minuman tradisional beralkohol keruh sekitar 200 mL, dan minuman oplosan mengandung kadar alkohol sekitar 20% atau lebih (Risksdas, 2018).

Etanol atau etil alkohol adalah suatu cairan tidak berwarna dan memiliki bau yang khas. Rumus molekul etanol adalah HOH . Etanol dapat larut dalam air, eter, aseton, dan klorofom. Etanol biasa digunakan sebagai salah satu komponen bahan pembersih, bahan sterilisasi peralatan medis, pengawet atau pelarut obat, atau pelarut industri dan penelitian (BPOM, 2014). Sama halnya dengan metanol, etanol juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui beberapa cara, seperti inhalasi, kontak dengan mata, kontak dengan kulit, dan

secara oral. Etanol dengan paparan jangka pendek dapat menyebabkan iritasi, gangguan emosional, gangguan koordinasi motorik, takikardi, berkeringat, mual, muntah, penurunan kesadaran, kejang, hingga koma. Keracunan etanol dikatakan ringan hingga sedang apabila memiliki gejala seperti rasa gembira yang berlebihan, gangguan keseimbangan, nystagmus (bola mata bergerak tidak beraturan), berkurangnya ketajaman penglihatan, hilangnya rasa malu/batasan moral, perilaku agresif, mual, muntah, kulit kemerahan, dan takiaritmia supraventrikular. Sementara pada keracunan yang berat, korban/pasien dapat mengalami koma, depresi sistem pernapasan, aspirasi paru, hipoglikemia, dan hipotermia. Konsumsi etanol dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan terjadinya sirosis pada hati. Toksisitas pada hati termasuk infiltrasi lemak ke dalam hati, hepatitis alkoholik, dan sirosis juga merupakan salah satu efek konsumsi etanol jangka panjang. Perdarahan saluran cerna dapat terjadi karena induksi alkohol sehingga dapat menyebabkan gastritis, esofagitis, dan duodenitis (BPOM, 2014).

2.3.2 Gangguan yang Terjadi Akibat Penggunaan Alkohol

Alkohol yang dikonsumsi jangka panjang dapat bersifat toksik dan korosif bagi tubuh. Meskipun demikian, pada umumnya, konsumsi alkohol dapat merusak semua organ tubuh secara bertahap. Penyakit yang paling sering muncul akibat konsumsi alkohol adalah kerusakan hati (*liver chirrosis*), tukak lambung, penyakit jantung

(cardiomyopathy), perubahan hormonal, dan penurunan sistem kekebalan tubuh. Pengaruh alkohol pada otak yang bersifat akut dapat menyebabkan intoksikasi dan delirium. Sedangkan paparan alkohol secara kronis menyebabkan ataksia, mudah lupa, dan perubahan koordinasi motorik. Konsumsi alkohol tidak selalu merugikan bagi tubuh apabila dikonsumsi dalam dosis rendah dan tidak memabukan. Sebuah studi melaporkan bahwa konsumsi alkohol mampu menurunkan serangan jantung, stroke, dan mencegah kemungkinan munculnya penyakit Alzheimer (Sofro & Anurogo, 2013).

Gangguan yang terjadi akibat penggunaan alkohol waktu lama : gangguan amnesia, lesi N. abducen (N. VI) dan terjadi sindrom korsakoff dengan gejala amnesia anterograde dan amnesia retrograde dan amnesia retro grade, gangguan dalam pengertian abstrak, gangguan pemahaman visospasial dan gangguan belajar. Alkohol merusak enzim transketolase, selanjutnya dapat terjadi demensia, konsumsi alkohol dalam tekanan besar dan jangka panjang dapat menyebabkan gangguan mood, depresi dan kecemasan serupa serangan panik. Ketergantungan akan alkohol harus dipertimbangkan dengan gangguan mental lainnya seperti, gangguan kepribadian, anti sosial, gangguan skizofrenia, gangguan bipolar dan depresi (Soetjningsih, 2004).

Adapun akibat penyalahgunaan minuman keras yang mengandung alkohol yaitu :

- a. Gangguan kesehatan fisik

Minuman keras dalam jumlah banyak menimbulkan kerusakan hati, jantung, pankreas, lambung dan otot.

b. Gangguan kesehatan jiwa

Menimbulkan kerusakan permanen dalam jaringan otak sehingga menimbulkan gangguan daya ingat, kemampuan belajar dan gangguan jiwa tertentu.

c. Gangguan fungsi sosial dan pekerjaan

Mudah tersinggung perhatian terhadap lingkungan, terganggu hilangnya daya ingatan dan terganggunya kemampuan menilai mengakibatkan yang bersangkutan dikeluarkan dari pekerjaan (Wresniwiro, 1999).

2.3.3 Metabolime Alkohol

Alkohol yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami serangkaian proses biokimia. Metabolisme alkohol melibatkan 3 jalur, yaitu:

a. Jalur Dehidrogenase (ADH)

Jalur alkohol dehidrogenase (ADH) yang terletak pada sitosol atau bagian cair dari sel. Keadaan fisiologik, ADH memetabolisir alkohol yang berasal dari fermentasi dalam saluran cerna untuk proses dehidrogenase steroid dan omega oksidasi asam lemak. ADH memecah alkohol menjadi hydrogen dan asetaldehida, yang selanjutnya akan diuraikan menjadi asetat.

b. Jalur Microsomal Ethanol Oxidizing System (MEOS)

Jalur Microsomal Ethanol Oxidizing System (MEOS) yang terletak dalam retikulum endoplasma. Dengan pertolongan tiga komponen mikrosom yaitu sitokrom P-450, reduktase dan lesitin alkohol diuraikan menjadi asetaldehida.

c. Jalur enzim katalase yang terdapat dalam peroksisom

Hidrogen yang dihasilkan dari metabolisme alkohol dapat mengubah keadaan redoks pada pemakaian alkohol yang lama dapat mengecil. Perubahan ini dapat menimbulkan perubahan metabolisme lemak dan karbohidrat dan dapat menyebabkan bertambahnya jaringan kolagen serta dalam keadaan tertentu dapat menghambat sintesa protein. Perubahan redoks menimbulkan perubahan dari piruvat ke laktat yang menyebabkan terjadinya hiperlaktasidemia. Bila sebelumnya sudah terdapat kadar laktat yang tinggi karena sebab lain bisa terjadi hiperurisemia (Zakhari,2006).

2.3.4 Prevalensi Pecandu Alkohol

Indonesia memiliki prevalensi peminum alkohol dengan umur 15 tahun dalam satu bulan adalah 4,9% pada laki-laki dan 0,3 % pada perempuan, sedangkan rata-rata keduanya adalah 2,5%. Prevalensi peminum alkohol di Indonesia masih memiliki sejumlah kota atau kabupaten yang mempunyai prevalensi tinggi dan menjadi bermakna pada angka nasional (Suhardi, 2011). Pada Provinsi Lampung didapatkan konsumsi alkohol dalam 1 bulan terakhir pada penduduk

berusia 10 tahun keatas sekitar 1,8% (Riskesdas, 2018), hal tersebut merupakan peningkatan dari 1,4% untuk prevalensi peningkatan konsumsi alkohol pada 1 bulan terakhir pada tahun 2007 (Riskesdas, 2007).

Konsumsi tertinggi alkohol yang pada Provinsi Lampung merupakan anggur/wine yang tergolong minuman alkohol berkategori sedang (20%-55%) dengan prevalensi 63,5%. Karakteristik umur peminum alkohol pada Provinsi Lampung terbanyak pada kategori 25-34 tahun dengan prevalensi 4,3% pada 12 bulan terakhir dan 2,9% pada 1 bulan terakhir. Jenis kelamin dengan peminum alkohol terbanyak adalah laki-laki dengan prevalensi 4,3% pada 12 bulan terakhir dan 2,7% pada 1 bulan terakhir. Karakteristik Pendidikan peminum alkohol terbanyak adalah tamat SMP pada konsumsi alkohol 12 bulan terakhir dengan prevalensi 3,3% dan tamat SMA pada konsumsi alkohol 1 bulan terakhir dengan prevalensi 2,1%. Penduduk yang tinggal di desa lebih banyak mengkonsumsi alkohol dalam 12 bulan terakhir, dibandingkan penduduk di kota dengan prevalensi konsumsi alkohol desa dalam 12 bulan terakhir adalah 2,3%. Namun, konsumsi alkohol pada penduduk di kota lebih banyak dibanding penduduk desa pada prevalensi konsumsi alkohol dalam 1 bulan terakhir dengan prevalensi 1,6%. Berdasarkan tingkat pengeluaran perkapita, penduduk dengan pengeluaran perkapita perbulan tinggi akan cenderung lebih banyak mengkonsumsi alkohol dengan

prevalensi 12 bulan terakhir 2,9% dan 1 bulan terakhir 1,9% (Risksedas, 2007).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley (Myres & Armitage, 2004):

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Sciurognathi
Famili : Muridae
Sub-Famili : Murinae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*
Galur : Sprague dawley



Gambar 5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Myres & Armitage, 2004).

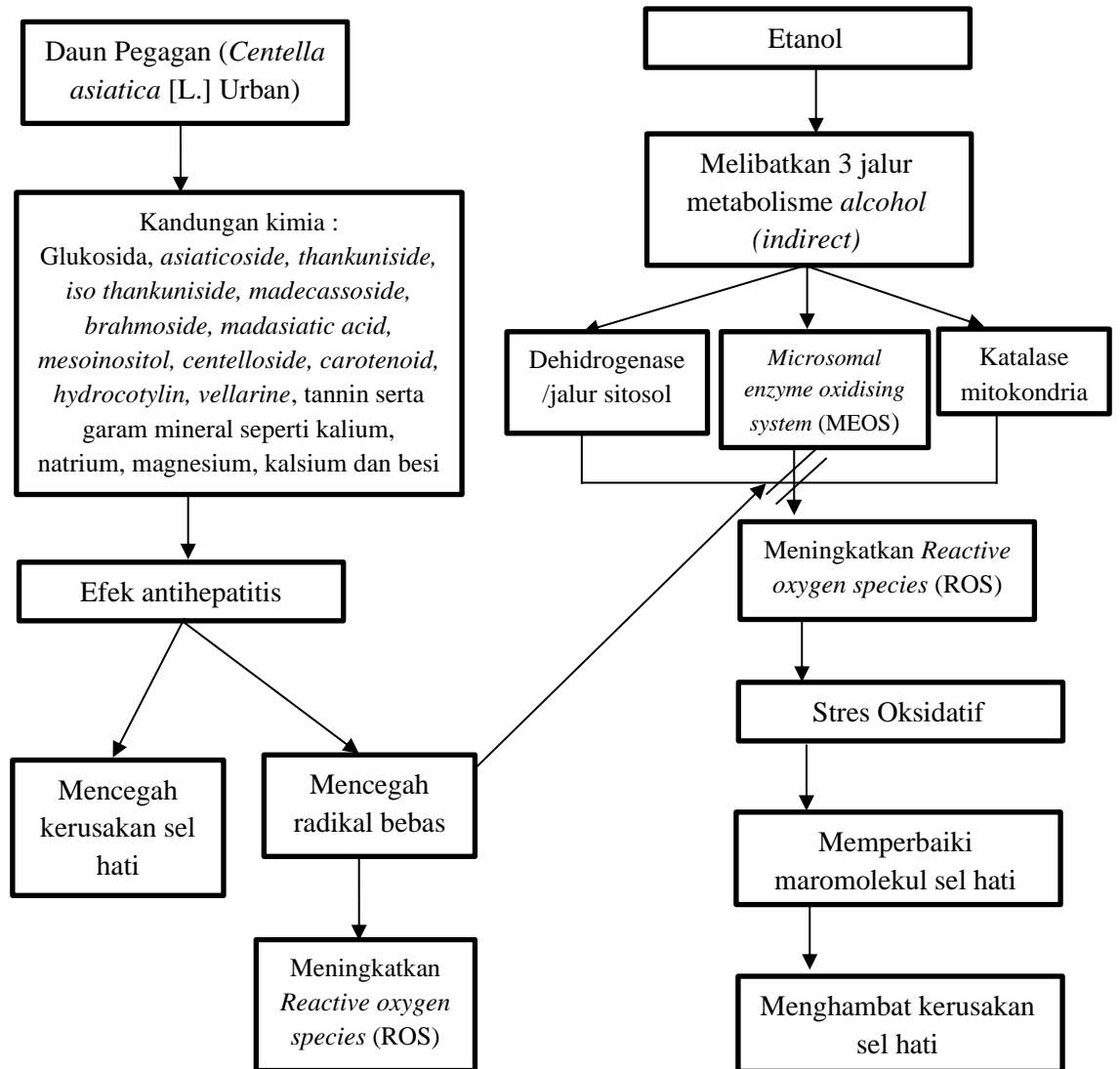
Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang awalnya berasal dari Cina lalu menyebar ke daerah Eropa bagian barat (Sirois, 2005). Sedangkan, tikus ini berkembang biak di Asia Tenggara juga seperti Indonesia, Laos, Singapura, Filipina, dan Malaysia (Adiyati, 2011). Tikus putih merupakan strain dari albino pada *Rattus norvegicus*. Pada tikus, ada beberapa galur yang merupakan pembiakan sesama jenis atau 15 persilangan. Galur tikus yang sering dipakai dalam penelitian yaitu Sprague Dawley dan Wistar. Tikus galur Sprague Dawley dikembangkan dari tikus dengan galur Wistar. Pada tikus bergalur Sprague Dawley biasanya memiliki tubuh yang panjang dengan kepala yang lebih sempit, berambut halus, telinga pendek dan tebal, ekor lebih panjang dari tubuhnya serta mata berwarna merah. Rata-rata bobot badan tikus betina yang berumur dua belas minggu 200 gram sedangkan yang jantan 240 gram. Biasanya tikus ini akan bertahan 4 sampai 5 tahun dengan berat badan yang umum 225-325 gram untuk betina dan 267-500 gram pada jantan. Galur Sprague Dawley ini berasal dari peternakan Institut Sprague Dawley yang terbentuk tahun 1906 (Sirois, 2005).

2.5 Kerangka Teori

Efek alkohol pada hepar dan pankreas secara signifikan dapat menyebabkan mortalitas, sedangkan terhadap saluran cerna merupakan penyebab penting terjadinya morbiditas. Alkohol secara akut maupun kronis dapat mengubah morfologi dan struktur intraseluler saluran cerna. Alkohol memiliki efek langsung pada mukosa saluran cerna bagian atas, seperti mempengaruhi

motilitas di esofagus, kerusakan mukosa lambung dan usus halus. Kerusakan hepar disebabkan oleh proses metabolisme alkohol di hepar. Metabolisme alkohol melibatkan tiga jalur yaitu jalur alkohol dehidrogenase, jalur *microsomal enzyme oxidating system* (MEOS), dan jalur katalase mitokondria. Jalur-jalur ini menghasilkan zat toksik yang menyebabkan stres oksidatif. Baik itu secara langsung ataupun tidak langsung alkohol menyebabkan kerusakan pada hepar (Bruha *et al.*, 2010).

Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) memiliki kandungan kimia glukosida, *asiaticoside*, *thankuniside*, *iso thankuniside*, *madecassoside*, *brahmoside*, *brahmic acid*, *brahminoside*, *madasiatic acid*, *meso-inositol*, *centelloside*, *carotenoid*, *hydrocotylin*, *vellarine*, tanin serta garam mineral seperti kalium, natrium, magnesium, kalsium dan besi. Asiaticoside dan glukosida merupakan kandungan kimia yang banyak digunakan sebagai antihepatitis nonvirus. Senyawa asiaticoside, produk isolasi triterpenoid dari pegagan mempunyai potensi melindungi nekrosis hati pada tikus yang diinduksi D-galactosamine (D-GaIN). Senyawa ini diberikan secara oral sekali sehari pada tikus selama 3 hari sebelum disuntikkan D-GaIN. Hasilnya, asiaticoside menunjukkan perlindungan fungsi hati yang sangat signifikan dibuktikan dengan penurunan aminotransferase, apoptosis hepatosit dan caspase-3 (Wijayakusuma, 2009).



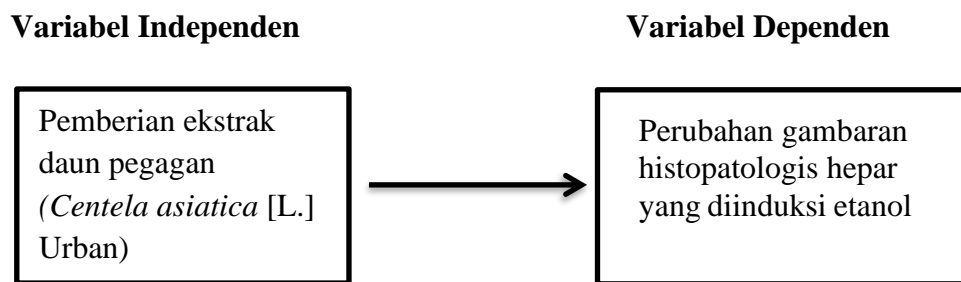
Keterangan:

- ↓ : Memicu
 - -> : Menghambat
 □ : Yang Diuji

Gambar 6. Kerangka teori penelitian pengaruh terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague dawley yang diinduksi etanol (Wijayakusuma, 2009; Wiyanti, 2020).

2.6 Kerangka Konsep

Berikut adalah kerangka konsep dari judul penelitian pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague Dawley yang diinduksi etanol.



Gambar 7. Kerangka Konsep Penelitian.

2.7 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini sebagai berikut:

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley yang diinduksi etanol.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, untuk mempelajari suatu fenomena dalam korelasi sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan pada subjek penelitian kemudian mempelajari efek perlakuan tersebut. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test-only control group design*. Desain ini menggunakan 2 kelompok subjek, kelompok satu diberi perlakuan eksperimental dan yang lain tidak diberi perlakuan (kelompok kontrol).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Perlakuan hewan coba pada penelitian ini telah dilaksanakan selama bulan Juli s.d Agustus 2021 di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan pembuatan serta pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur *Sprague dawley* berusia 8-12 minggu. Untuk menghitung besar sampel digunakan rumus Frederer sebagai berikut:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga t = 5, maka didapatkan :

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) 4 \geq 15$$

$$(n-1) \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi dapat disimpulkan bahwa penelitian ini menggunakan sampel 5 ekor tikus galur *Sprague dawley* per kelompok. Untuk menghindari *drop out* ditambahkan tikus dengan rumus sebagai berikut :

$$\left(N = \frac{n}{1-F} \right)$$

Keterangan :

N = besar sampel koreksi .

n = besar sampel awal.

f = perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

$$N = \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{5}{1 - 0,1}$$

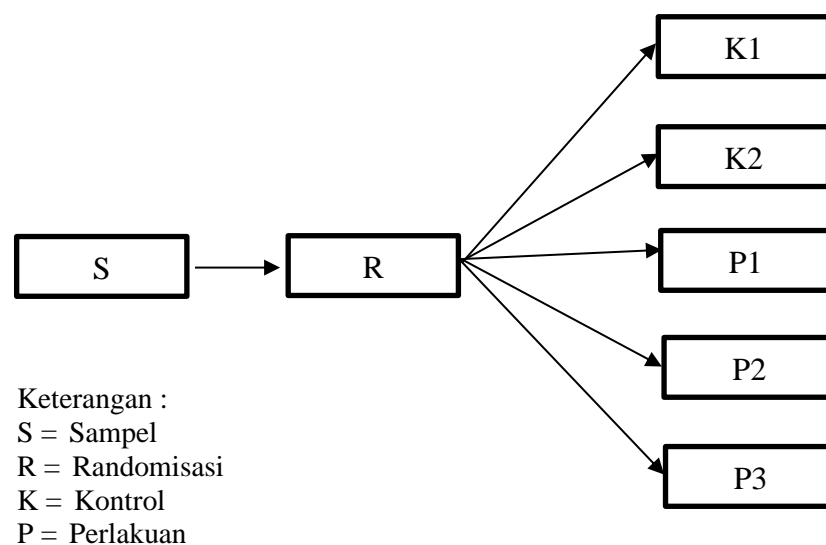
$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

Berdasarkan perhitungan sampel di atas, akan diberikan penambahan 1 ekor tikus per kelompok untuk menghindari *drop out*. Sehingga total sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebanyak 30 ekor tikus galur *Sprague dawley*. Sampel akan dipilih menggunakan simple random sampling.

3.3.2 Sampel

Penempatan tikus ke dalam 5 kelompok percobaan akan dilakukan secara acak atau randomisasi dengan perlakuan dapat dilihat pada gambar



Gambar 8. Cara sampling (Wiyanti, 2020; Iskandar, 2013).

3.3.3 Kelompok Perlakuan

1. K1 = Kelompok kontrol tidak diberikan etanol maupun ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban).
2. K2 = Kelompok kontrol 2 diberikan etanol tanpa diberikan ekstrakdaun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban).
3. P1 = Kelompok perlakuan 1 diberikan etanol sebanyak 2 mL/ hari setelah itu diberikan ekstrak daun pegagan dosis 10 mg/kgBB.
4. P2 = Kelompok perlakuan 2 diberikan etanol sebanyak 2 mL/ hari setelah itu diberikan ekstrak daun pegagan dosis 20 mg/kgBB.
5. P3 = Kelompok perlakuan 3 diberikan etanol sebanyak 2 mL/ hari setelah itu diberikan ekstrak daun pegagan dosis 40 mg/kgBB.

3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria inklusi:
 - a. Tikus putih galur sparague Dawley berjenis kelamin jantan
 - b. Usia 8-10 minggu
 - c. Berat badan 100-150 gram
 - d. Tingkah laku dan aktifitas normal serta tidak ditemukan adanya kelainan anatomi

2. Kriteria eksklusi:

- a. Terdapat penurunan berat badan $> 10\%$ setelah masa adaptasi
- b. Tikus mati sebelum mendapat perlakuan
- c. Kelainan anatomis

3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.5.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas:

Ekstrak Daun Pegagan

2. Variabel Terikat:

Gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

3. Variabel Terkendali:

a. Galur Tikus : *Sprague dawley*.

b. Umur Tikus : 8 - 12 minggu.

c. Berat badan tikus : 100-150 gram.

3.5.2 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak daun pegagan	Pemberian ekstrak daun pegagan diinduksi peroral yang berfungsi sebagai hepatoprotektor dengan variasi dosis yang bersamaan dengan etanol (Mirza <i>et al.</i> , 2013)	Neraca analitik	Dosis efektif ekstrak daun pegagan adalah 40mg/KgBB. Dosis ekstrak pada masing-masing kelompok perlakuan: P1= 10mg/KgBB P2= 20mg/KgBB P3= 40 mg/KgBB per hari	Ordinal
Gambaran histopatologi hepar	Kerusakan hepar tikus akan dilihat di daerah lobulus klasik area sentrilobular dengan melakukan pengamatanediaan histopatologi menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 51 lapangan pandang dan dinilai tiap lapangan pandang. Dengan cara mengalikan jumlah sel yang rusak dengan skor Manja Roenigk. Kerusakan tiap lapangan pandang dijumlahkan dan dirata-ratakan.	Mikroskop cahaya	Kriteria penilaian derajat histopatologi hepar menggunakan model <i>scoring histopathology</i> sebagai berikut. 1: Normal 2: Degenerasi parenkimatososa 3: Degenerasi hidropik 4: Nekrosis (Arifuddin <i>et al.</i> , 2016).	Numerik

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Neraca analitik Metler Toledo dengan tingkat ketelitian 0,01gram untuk menimbang tikus
2. Kandang tikus
3. Botol minum tikus
4. Tempat makan tikus
5. Sonde lambung
6. Minor set
7. Sduit
8. Kapas alkohol
9. Mikroskop cahaya
10. Sarung tangan

3.6.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Spraguedawley*
2. Air/Aquadest
3. Etanol 20%
4. Ekstrak daun pegagan
5. Pelet sebagai makanan tikus
6. Ketamin-xylazine

3.6.3 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Histologi

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi adalah:

1. *Object glass*
2. *Deck glass*
3. *Tissue cassette*
4. *Rotary microtome*
5. *Oven*
6. *Waterbath*
7. *Platening table*
8. *Autotechnicome processor*
9. *Staining jar*
10. *Staining rack*
11. Kertas saring
12. *Histoplast*
13. *Paraffin dispenser*

3.6.4 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi yaitu :

1. Larutan formalin 10% untuk fiksasi
2. Alkohol 70%
3. Alkohol 96%
4. Alkohol absolut
5. Etanol
6. Xylol
7. Pewarna Hematoisilin

8. Eosin (H&E)
9. Entelan

3.7 Prosedur penelitian

3.7.1 Pemilihan Sampel dan Pemeliharaan

3.7.1.1 Pemilihan Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Yang berjumlah 30 ekor tikus. Tikus ini digunakan sebagai hewan coba karena merupakan mamalia yang memiliki metabolisme mirip manusia dan lebih tenang sehingga mudah untuk ditangani. Namun, hasil penelitian yang didapatkan kemungkinan bisa berbeda dengan kenyataan pada manusia karena manusia memiliki keberagaman jenis makanan yang dimakan. Namun tikus ini memiliki kesamaan yang paling tepat dengan manusia. Tikus yang dipilih pada penelitian ini memiliki usia 8-10 minggu dengan berat 100-150 gram, dan berjenis kelamin jantan. Alasan dilakukannya penelitian tikus dengan usia 8-10 minggu karena usia tersebut merupakan golongan dewasa pada tikus sehingga organ yang ada di dalam tubuh tikus sudah berfungsi dengan baik. Pemilihan dengan berat 100-150 gram karena itu merupakan berat rata-rata tikus yang digunakan untuk penelitian serta karakteristiknya sama dengan perilaku manusia yang juga banyak gejala kondisi manusia dapat direplikasi ke tikus.

Kemudian pertumbuhannya akan terus dipantau pertumbuhannya. Pemilihan tikus jantan karena tikus tersebut tidak dipengaruhi oleh hormonal dan kehamilan sehingga tidak berpengaruh pada hasil penelitian (Wiyanti, 2020).

3.7.1.2 Pemeliharaan dan Adaptasi

Hewan uji tikus putih jantan galur *Sparague dawley* akan menjalani masa adaptasi selama 1 minggu di kandang pemeliharaan untuk menyeragamkan cara hidup dan makanannya sebelum diberi perlakuan. Tikus ditempatkan di kandang pemeliharaan dengan tutup terbuat dari kawat dan dialasi oleh sekam padi setebal 0,5-1 cm dan diganti setiap hari untuk mencegah terjadinya infeksi. Dalam 1 kelompok, 5 ekor tikus ditempatkan dalam 1 kandang. Suhu dijaga pada suhu 25°C lingkungan kandang dijaga agar tidak lembab dan diberikan pencahayaan yang cukup. Pemberian makanan dan minuman melalui *ad libitum*. Makanan tikus diberikan berupa pellet. Pemberian makanan dan minuman diberikan secukupnya dengan wadah terpisah dan diganti setiap hari untuk menjaga kesehatan tikus agar tidak sakit atau mati.

3.7.1.3 Persiapan dan Perlakuan Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sparague dawley* yang berjumlah 30 ekor tikus, yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing diisi oleh 6 ekor tikus. Kelompok yang terdiri dari K1, K2, P1, P2, dan P3. K1

adalah kelompok kontrol 1 yang hanya diberikan akuades dan pakan setiap hari. K2 adalah kelompok kontrol 2 yang diberikan akuades dan pakan, serta etanol tanpa diberikannya ekstrak daun pegagan. P1, P2 dan P3 adalah kelompok perlakuan yang diberikan akuades, pakan, serta etanol. Setelah itu baru diberikan ekstrak daun pegagan.

3.8 Penentuan Dosis dan Cara Pemberian

3.8.1 Penentuan Dosis

1. Dosis etanol 20%

Dosis etanol 20% yang diberikan adalah sebanyak 2 mL/hari pada kelompok K2,P1, P2 dan P3 (Rosalia *et al.*, 2016)

2. Dosis Esktrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban)

Dosis ekstrak daun pegagan yang diberikan pada penelitian kali ini berdasarkan penelitian eksperimental pada tikus oleh Iskandar, *et al* (2013) yaitu sesuai level esktraknya, level 10 mg/Kg BB, 20 mg/Kg BB dan 40 mg/Kg BB setelah 1 jam pemberian etanol 20%. Pada penelitian ini menggunakan dosis ekstrak daun pegagan dengan perhitungan sebagai berikut:

Dosis esktrak daun pegagan pada berat rata-rata tikus 150gram yaitu:

a. Dosis untuk tiap kelompok perlakuan 1

Dosis tikus (100g)	= 100 mg/kgBB/100
	= 0,1 mg x 100
	= 10 mg/100gBB

b. Dosis untuk tiap kelompok perlakuan 2

Dosis tikus (100g)	= 200 mg/kgBB/100
	= 0,2 mg x 100
	= 20 mg/100gBB

c. Dosis untuk tiap kelompok perlakuan 3

Dosis tikus (100g)	= 400 mg/kgBB/100
	= 0,4 x 100
	= 40 mg/100gBB

3.8.2 Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Etanol 20%

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan, Adapun kelima kelompok tikus ini terdiri dari:

1. Kelompok K1 digunakan sebagai kelompok kontrol negatif. Kelompok tikus putih ini hanya diberi pakan standar dengan pemberian akuades secara *ad libitum* selama 14 hari
2. Kelompok K2 adalah kelompok kontrol positif merupakan kelompok tikus yang diberi etanol dengan dosis 2 mL/hari melalui sonde oral selama 14 hari berturut-turut. Sebelum pemberian dipastikan tikus sudah makan terlebih dahulu.
3. Kelompok P1 adalah kelompok perlakuan 1 merupakan kelompok tikus yang diberi etanol dengan dosis 2 mL/hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.]

Urban) setelahnya sebanyak 10 mg/hari melalui sonde oral 14 hari berturut-turut. Sebelum pemberian dipastikan tikus sudah makan terlebih dahulu.

4. Kelompok P2 adalah kelompok perlakuan 2 merupakan kelompok tikus yang diberi etanol 20% dengan dosis 2 mL/hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban) setelahnya sebanyak 20 mg/hari melalui sonde oral 14 hari berturut turut. Sebelum pemberian dipastikan tikus sudah makan terlebih dahulu.
5. Kelompok P3 adalah kelompok perlakuan 3 merupakan kelompok tikus yang diberi etanol 20% dengan dosis 2 mL/hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban) setelahnya sebanyak 40 mg/hari melalui sonde oral 14 hari berturut-turut. Sebelum pemberian dipastikan tikus sudah makan terlebih dahulu.

3.8.3 Prosedur Perlakuan pada Sampel

1. Tikus sebanyak 30 ekor, akan dikelompokkan dalam 5 kelompok.
2. Selama satu minggu akan dilakukan adaptasi pada setiap kelompok tikus sebelum diberi perlakuan.
3. Mengukur berat badan tikus sebelum dilakukan perlakuan.
4. Melakukan perlakuan pada masing-masing kelompok sebagai berikut:
 - a. Kelompok 1 sebagai kontrol 1 yang diberikan aquades dan pakan standar selama 14 hari.

- b. Kelompok 2 sebagai kontrol 2 diberikan aquades dan pakan standar ditambah dengan etanol 2ml/hari melalui sonde oral selama 14 hari berturut-turut.
- c. Kelompok 3 sebagai perlakuan 1 diberikan aquades dan pakan standar ditambah dengan etanol dengan dosis 2 ml /hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban) setelahnya sebanyak 10 mg/hari melalui sonde oral 14 hari berturut-turut.
- d. Kelompok 4 sebagai perlakuan 2 diberikan aquades dan pakan standar ditambah dengan etanol dengan dosis 2 ml/hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban) setelahnya sebanyak 20 mg/hari melalui sonde oral 14 hari berturut-turut
- e. Kelompok 5 sebagai perlakuan 3 diberikan aquades dan pakan standar ditambah dengan etanol dengan dosis 2 ml/hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban) setelahnya sebanyak 40 mg/hari melalui sonde oral 14 hari berturut-turut.

3.8.4 Prosedur Operasional Pembentukan Preparat

Metode teknik pembuatan preparat histopatologi antara lain sebagai berikut:

1. *Fixation*

Spesimen berupa potongan hepar yang telah dipotong secara representatif segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam lalu dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

2. *Trimming*

Organ hepar dikecilkan hingga berukuran kurang lebih 3 mm, potongan tersebut kemudian dimasukkan ke *tissue cassette*.

3. Dehidrasi

Meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu untuk dikeringkan. Lalu lakukan dehidrasi dengan alkohol.

4. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan clearing dengan xylol I dan II, masing-masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Lakukan impregnasi dengan menggunakan parafin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C

6. *Embedding*

- a. Membersihkan sisa parafin yang ada pada pan dengan memanaskan beberapa saat di atas api lalu diusap dengan kapas.
- b. Memasukkan parafin cair disiapkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58°C.

- c. Parafin cair dituangkan ke dalam pan.
- d. Dipindahkan satu persatu dari tissue cassette ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Lalu pan dimasukkan ke air.
- e. Parafin yang berisi potongan mata dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–60°C beberapa saat.
- f. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan pisau hangat.
- g. Potong dengan mikrotom

7. *Cutting*

Pemotongan dilakukan di ruangan dingin. Pertama lakukan pemotongan kasar lalu lanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron dengan menggunakan rotary microtome. Pilih lembaran yang paling baik, apungkan di atas air lalu hilangkan kerutannya. Lembaran jaringan kemudian dipindahkan ke water bath dengan suhu 60°C selama beberapa saat sampai mengembang sempurna. Lalu lembaran diambil dengan slide bersih dengan gerakan menyendok. Slide ini kemudian diletakkan di inkubator suhu 37°C sampai jaringan melekat semua kira-kira selama 24 jam.

8. *Staining* (pewarnaan) dengan *Harris Hematoksilin-Eosin*

Pertama dilakukan deparafinisasi dengan menggunakan larutan xilol I dan I masing-masing selama 5 menit serta hidrasi ke dalam alkohol absolut selama 1 menit serta alkohol 96%, dan alkohol 70%

masing-masing selama 2 menit lalu dengan air/akuades selama 10 menit. Kedua, lakukan pulasan inti dengan zat warna Harris Hematoxylin selama 15 menit, lalu air mengalir, dan eosin selama maksimal 1 menit. Ketiga, lakukan dehidrasi dengan menggunakan alkohol 70%, 96%, dan absolut masing-masing selama 2 menit. Keempat, lakukan penjernihan dengan menggunakan larutan xilol I dan II masing-masing selama 2 menit.

9. Mounting

Menempatkan slide di atas kertas tisu pada tempat datar, meneteskan dengan bahan mounting yaitu kanada balsam dan tutup dengan cover glass cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara. Kemudian membaca slide dengan mikroskop.

10. Pembacaan slide

Proses pembacaan dilakukan di laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dengan bimbingan dosen pembimbing dan ahli patologi anatomi.

3.9 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.9.1 Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh dari proses pengumpulan data akan diubah dalam bentuk tabel, kemudian proses pengolahan data menggunakan software komputer yang terdiri dari beberapa langkah:

1. Koding, untuk mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian ke dalam simbol yang

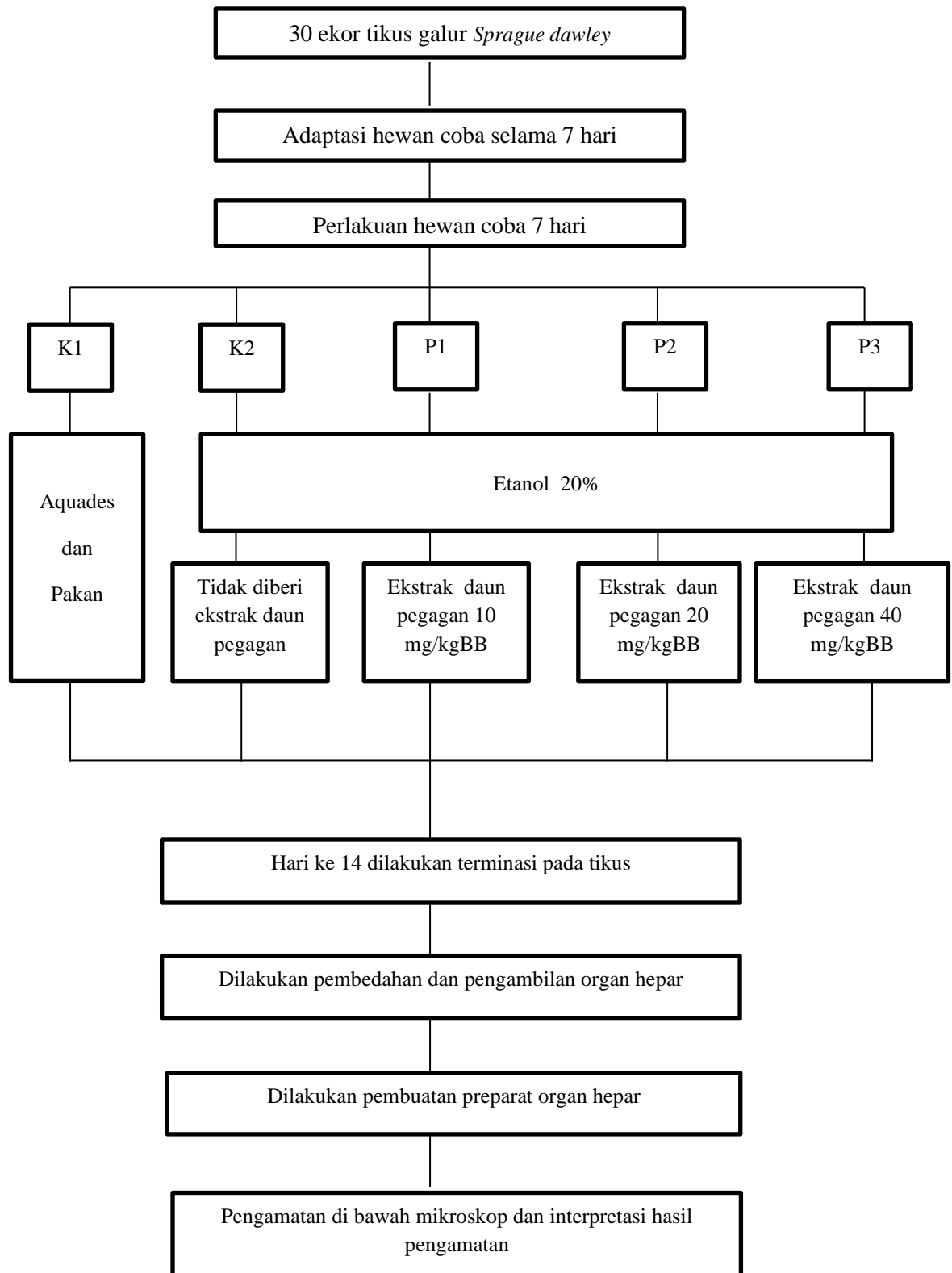
cocok untuk keperluan analisis.

2. *Data entry*, memasukan data ke dalam program *software*.
3. Verifikasi, memasukan data pemeriksaan secara visual terhadap data yang telah dimasukan ke dalam program *software*.
4. Output, hasil yang telah dianalisis oleh *software* komputer kemudian dicetak.

3.9.2 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik menggunakan program SPSS. Hasil penelitian pertama dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk menganalisis apakah data terdistribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak ($p < 0,05$). Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel penelitian kurang dari 50. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan menilai homogenitas variansi data dengan menggunakan uji homogenitas *Levenne*. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisis parametrik, sedangkan jika data terdistribusi tidak normal atau tidak homogen maka dilakukan analisis non- parametrik. Uji parametrik yang dilakukan untuk menilai perbedaan pengaruh antara kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3 adalah *one way ANOVA*. Sedangkan pada uji non-parametrik alternatif yang digunakan adalah *Kruskal Wallis*. Apabila hasil yang telah dilakukan menunjukkan hasil $p < 0,05$ pada *one way ANOVA*, analisis *post hoc LSD* perlu dilakukan. Sedangkan pada uji *Kruskal Wallis*, uji yang dilakukan adalah *Mann-Whitney*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian.

3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini telah melalui kaji etik dan mendapat surat kelayakan etik untuk melakukan penelitian dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan surat *ethical clearance* bernomor 346/UN26.18/PP.05.02.00/2022 pada tanggal 3 Februari 2022.

Tiga prinsip dasar etik pelaksanaan penelitian menggunakan hewan coba:

1. Tiga pilar prinsip etik penelitian

- a. *Respect for Animals*

Setiap peneliti yang menggunakan hewan coba harus menghormati hewan coba tersebut.

- b. *Beneficience*

Bermanfaat bagi manusia dan makhluk hidup lain.

- c. *Justice*

Bersikap adil dalam memanfaatkan hewan coba.

2. Prinsip etik penggunaan hewan coba

- a. *Reduction*

Penggunaan hewan dalam jumlah sekecil mungkin tetapi memberikan hasil yang sah.

- b. *Replacement*

- Relatif: mengganti hewan percobaan dengan memakai organ dan jaringan hewan dari rumah potong atau ordo yang lebih rendah.
- Absolut: mengganti hewan percobaan dengan memakai kultur sel jaringan atau program computer

c. *Refinement*

Mengurangi rasa *distress* dengan menggunakan analgetik sedativa, anestesi atau dengan melakukan prosedur dengan cara benar oleh tenaga terlatih.

3. Prinsip etik pemeliharaan/perlakuan terhadap hewan coba

a. *Freedom from hunger and thirsty.*

b. *Freedom from pain, injury and disease.*

c. *Freedom from discomfort.*

d. *Freedom from fear and distress.*

e. *Express natural behavior.*

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan yaitu terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* [L.] Urban) terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sparague dawley yang diinduksi etanol.

5.2 Saran

1. Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan mengenai ekstrak daun pegagan terhadap organ lainya pada tikus putih.
2. Peneliti lainya disarankan melakukan tinjauan ulang atau penelitian lebih lanjut menggunakan penggunaan dosis yang lebih dibandingkan penelitian ini ataupun pemberian dosis dengan waktu jangka panjang atau lama untuk mengetahui ekstak daun pegagan terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih yang diinduksi etanol.
3. Diharapkan untuk peneliti selanjutnya dapat diamati kelompok yang tidak meminum alkohol, tetapi meminum ekstrak daun pegagan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas Ak, Aster JC, Kumar V. 2015. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi ke-9. Singapura: Elsevier Saunders.
- Amirudin, R. 2007. *Fisiologi dan Biokimiawi Hati*. Dalam: Aru W. Sudoyo dkk. (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 4. Jakarta: Penerbit Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran UI.
- Arief, M. 2004. *Pengantar Metodologi Penelitian untuk Ilmu Kesehatan*. Klaten: CSGF. Hal: 97,114
- Bruha R, Dvorak K, Petryl J. 2010. *Alcoholic liver disease*. *WJH*. 4(3): 81–90.
- Chandrasoma P, Taylor C. 2005. *Ringkasan Patologi Anatomi*. Jakarta: EGC.
- Berawi, Jamsari, Lipoeto, Nurdin, Nurcahyani, Shidarti, Wahid. 2017. Comparisson Effectiveness of Antidiabetic Activity Extract Herbal Mixture of Soursop Leaves (*Anona muricata*), Bay Leaves (*Syzygium polyanthum*) and Pegagan Leaves (*Centella asiatica*). *Biomed and Pharmacol Journal.*, vol 10(3), 1481-1488.
- Chiang J. 2014. *Liver Physiology: Metabolism and Detoxification, Pathobiology of Human Disease*. Birmingham: Elsevier Inc.
- Conreng D, Waleleng BJ, Palar S. 2014. Hubungan Konsumsi Alkohol dengan Gangguan Fungsi Hati pada Subjek Pria Dewasa Muda di Kelurahan Tateli dan Teling Atas Manado. *Jurnal e-Clinic*.
- Dalimartha dan Setiawan. 2006. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- DEPKES RI. 2008. *Pedoman Pengendalian Tikus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- DEPKES RI. 2018. *Riset Kesehatan Dasar Provinsi Lampung*. Jakarta: DEPKES

RI.

- Dollery. 1991. *Therapeutic Drugs*. New York: Churchill Livingstone. Pp:13-5.
- Eroschenko VP. 2013. *Sistem Pencernaan: Hati, Kandung Empedu, dan Pankreas*. Dalam: Atlas histologi di Fiore dengan korelasi fungsional. Jakarta: EGC.
- European Medicines Agency. 2010. *Guideline on the Development of Medicinal Products for the Treatment of Alcohol Dependence*. European Medicines Agency.
- Gibson dan Skett. 1991. *Pengantar Metabolisme Obat*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Hall JE, Arthur CG. 2010. *Hati sebagai Organ*. Dalam: Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi ke-12. Jakarta: EGC. hlm. 907–10.
- Hardman JG, Limbird LE. 2012. *Farmakologi dan Toksikologi Etanol*. Dalam: Dasar farmakologi terapi. Edisi ke-12. Jakarta: EGC. hlm. 346–59.
- Kemp WL, Burns DK, Brown TG. 2008. *Pathology of the liver, gall bladder and pancreas*. Dalam: Pathology. USA: The McGraw Hill Companies.
- King PD and Perry MC. 2001. *Hepatotoxicity of Chemotherapy*. The oncologist.
- Lieber CS. 2004. *Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis*. Alcohol.
- Maher JJ. 1997. *Exploring alcohol's effects on liver function*. Alcohol Health & Res World. 21: 5–12.
- Mangkoewidjojo, S. 1998. *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. UI press. Jakarta.
- Masters SB. 2014. *Golongan alkohol*. Dalam: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, penyunting. Farmakologi dasar & klinik. Edisi ke-12. Jakarta: EGC.
- Moore KL, Agur AMR. 2016. *Abdomen*. Dalam: Anatomi klinis dasar. Jakarta: Hipokrates. hlm. 117–22.
- Murti, B. 2006. *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan*

Kualitatif di Bidang Kesehatan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Murti, B. 2008. *Prinsip dan Metode Riset Epidemiologi*. Edisi 8. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Nazarudin Z, Muhimmah I, Fidianingsih I. 2017. *Segmentasi citra untuk menentukan skor kerusakan hati secara histologi*. SNIMed.
- Newall C.A., Anderson L.A., Philipson J.D. 1996. *Herbal Medicines*. London : The Pharmaceutical Pers.
- Nugroho CA. 2009. *Pengaruh Minuman Beralkohol Terhadap Jumlah Lapisan Sel Spermatogenik dan Berat Vesikula Seminalis Mencit*. JIW.
- Paul F, Waschke J. 2015. *Sobotta: atlas anatomi manusia*. Jakarta: EGC.
- Purbayanti D, Saputra NAR. 2017. *Efek mengkonsumsi minuman beralkohol terhadap kadar trigliserida*. JSM. 1(1): 24–41
- Rao, M.K.G., S.M. Rao, and S.G. Rao. 2005. *Centella asiatica (Linn) induced behavioural changes during growth spurt period in neonatal rats*. Neuroanatomy 4:18-23.
- Rao, M.K.G., S. Muddanna Rao, and S. Gurumadhva Rao. 2006. *Centella asiatica (L.) leaf extract treatment during the growth spurt period enhances hippocampal CA3 neuronal dendritic arborization in rats*. eCAM. 3(3):349–357.
- Rao, M.K.G., S.M. Rao, and S.G. Rao. 2008. *Enhancement of hippocampal CA3 neuronal dendritic arborization by Centella asiatica (Linn) fresh leaf extract treatment in adult rats*. J. Chin. Med. Assoc. 71(1):6-13.
- Republik Indonesia. 2013. *Peraturan Presiden Republik Indonesia nomor 74 tahun 2013 tentang pengendalian dan pengawasan minuman beralkohol*. Jakarta: Sekretariat Negara.
- Riana, S. 2006. *Pegagan*. <http://webspawner.com>. (2 juli 2008).
- Richard SS. 2012. *Viscera berkaitan dengan tractus digestivus: hepar, pancreas, dan lien*. Dalam: Anatomi klinis berdasarkan sistem. Jakarta: EGC.

- Sharma, R. and Jaimala. 2003. *Alteration of acid phosphatase activity in the liver of gamma irradiated mouse by Centella asiatica*. Asian J. Exp. Sci. 17 (1 and 2):1-9.
- Wattanathorn, J., M. Lugkana, M. Supaporn, T. Terdthai, P. Orapin, P. Nawanant, Y. Kwanchanok, S. Bungorn, and S. Jintana. 2008. *Positive modulation of cognition and mood in the healthy elderly volunteer following the administration of Centella asiatica*. J. Ethnopharmacol. 116:325-332.
- WHO. 2014. *Global status report on alcohol and health–2014*. World Health Organisation.
- Veerendra, K.M.H and Y.K. Gupta. 2002. *Effect of different extracts of Centella asiatica on cognition and markers of oxidative stress in rats*. J. Ethnopharmacol. 79:253-260.
- Zainol, M.K., A. Abd-Hamid, S. Yusof, and R. Muse. 2003. *Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root, and petiole of four accessions of Centella asiatica (L.) Urban*. Food Chemistry 81:575-581.