

**EFEK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* [L.] Urban) SEBAGAI NUTRISI DAN
OKSIGENASI OTAK TERHADAP AKTIVITAS MAKROFAG PADA
CEREBRUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) GALUR
WISTAR SEBAGAI RESPON IMUN**

Dwi Aprilia Anggraini^{*)}, Nurbani Fatmalia^{*)}, Saudi Fitri Susanti^{*)}

^{*)}Akademi Analisis Kesehatan Delima Husada Gresik
Email korespondensi : anggri_becks@yahoo.com

ABSTRACT

*The use of gotu kola leaves (*Centella asiatica* [L.] Urban) seems to be an alternative for researchers to know their activity as brain nutrition, because extracts of these ingredients contain compounds that can inhibit brain apoptosis. *Centella asiatica* leaves have been known to affect the central nervous system, increase the brain's nerve stimulating power, and improve learning and remembering abilities. Further tests on the ability of gotu kola leaves were carried out by examining the effect of giving gotu kola leaf water extract to cognitive abilities (especially the ability to learn and remember) and the levels of monoamine neurotransmitters (dopamine, norepinephrine, epinephrine and serotonin) in the Wistar hippocampus (*Rattus norvegicus*) adult male. The design of this research using a split plot design in a completely random design. The observation of the number of activated macrophages was done by immunohistochemical methods. Rats aged 16 weeks with an average body weight of 150-200 grams were divided into 2 groups (the treatment group was given gotu kola extract 200mg / kg BB dissolved in CMC Na 0.5% and the control group was given CMC Na 0.5%). The results showed that giving of gotu kola leaf ethanolic extract with a dose of 200 mg / kg body weight could increase the number of microglia cells (macrophages) with interpretation of results on the observation of images histopathologically with Hematoxylin-Eosin staining. The increase in astrocyte cell number after administration of gotu kola leaf ethanolic extract with a dose of 200 mg / kg BW was not affected by the interaction of time of observation and treatment.*

Keywords: *Gotu Kola leaves, Macrophage, White Rat Cerebrum*

PENDAHULUAN

Suplemen untuk memperbaiki daya ingat akhir-akhir ini mudah dijumpai di perdagangan (pasar) dan salah satu produk yang telah dikembangkan adalah ginkobiloba. Namun demikian ada beberapa kendala dari produk berbasis ginkobiloba yaitu bahan tanaman ini berasal dari daerah subtropis yang tidak ditemukan di Indonesia sehingga harganya cukup mahal secara ekonomi. Indonesia memiliki mega biodiversity pada aspek tanaman obat, daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) adalah salah satu alternatif yang mempunyai khasiat sebagai nutrisi otak yang dapat berkompetitif dengan ginko biloba. Hal

ini disebabkan produk berbasis ginko biloba mahal, oleh karena itu daun pegagan merupakan salah satu tanaman alternatif yang dapat dikembangkan (Prakoso, 2007). Dari uji klinis di India, pegagan dapat meningkatkan intelegent question (IQ), kemampuan mental, serta menanggulangi lemah mental pada anak-anak. Penelitian lain membuktikan, tanaman *Centella asiatica* (L.) Urban dapat meningkatkan kemampuan belajar dan memori seseorang (Dalimartha, 2004). Berdasarkan hal tersebut penggunaan daun pegagan tampaknya menjadi alternatif peneliti untuk diketahui aktivitasnya sebagai nutrisi otak, karena ekstrak tersebut

mengandung senyawa yang dapat menghambat apoptosis sel otak, serta meningkatkan kemampuan belajar dan mengingat (Yulistiyo, 2005).

Cerebrum merupakan bagian yang mengatur aktivitas mental meliputi memori intelegensi, perasaan tanggung jawab, berfikir dan moral, menerima rangsangan dan kontrol otot voluntary. Cerebrum memiliki berbagai jenis sel terutama daerah korteks cerebrum (Ulum, 2005). Pada otak, sel-sel utama dalam respon imun bawaan adalah mikroglia yang seperti makrofag jaringan lainnya, berpartisipasi dalam proses perbaikan dan resolusi setelah infeksi atau cedera untuk memulihkan homeostasis jaringan normal. Sel-sel ini sering ditemukan di dekat neuron yang rusak. Makrofag dapat berkontribusi terhadap kematian sel neuron terdekat dengan melepaskan sitokin neurotoksik dan protease.

Dalam Prosiding National Academy of Sciences mengungkapkan bahwa sistem kekebalan otak, khususnya sel yang disebut mikroglia, memainkan peran utama dalam proses perbaikan kerusakan pada Blood Brain Barrier (BBB). Mikroglia berfungsi sebagai “responen pertama” otak dan terdapat di seluruh bagian otak dan sumsum tulang belakang. Sel-sel ini terus menerus memonitor lingkungannya, dan dapat diaktifkan untuk melakukan fungsi yang berbeda-beda seperti mengendalikan peradangan, menghancurkan patogen, membersihkan puing-puing dari sel-sel mati atau rusak, dan menutup area yang mengalami kerusakan. Dengan melakukan eksperimen pada tikus, Nedergaard dan rekan-rekannya mengamati bahwa ketika lubang-lubang kecil dibuat di BBB, mikroglia terdekat dengan cepat bergerak dan memperbaiki kerusakan. Dalam kebanyakan kasus, integritas BBB dipulihkan dalam waktu 10 sampai 30 menit.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban

terhadap jumlah makrofag yang teraktivasi pada cerebrum tikus putih.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain post test only control group. Penelitian dilakukan pada bulan Juli-September di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga untuk pemeliharaan hewan coba yaitu tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*).

Daun pegagan dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan dan dijemur dalam suhu ruangan yang tidak terkena sinar matahari secara langsung. Setelah daun pegagan kering, lalu digiling dengan mesin giling dan diayak (proses penyerbukan). Sebanyak 400 gram serbuk diekstrak dengan cara maserasi (proses perendaman) dengan memakai pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 L. pengadukan dilakukan dua kali yaitu pada pagi dan sore hari, setelah 3x24 jam dilakukan penyaringan. Ampas dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 L. maserasi tersebut dilakukan 3 kali. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diendapkan, lalu disaring untuk selanjutnya diuapkan dengan pengurangan tekanan menggunakan Rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental 100%.

Ekstrak etanolik *Centella asiatica* yang akan diberikan pada hewan coba disuspensikan dalam air hangat suhu 80 derajat Celcius, dengan suspending agen CMC Na 0.5% dalam mortir. Pembuatan larutan CMC Na 0,5%. Pembuatan larutan CMC Na 0,5% dengan cara mencampurkan CMC Na 0,5 g dalam aquadestilata hangat sebanyak 100 ml lalu diaduk dengan mortar-stirer sampai larut. Tiap 1 kali pembuatan suspensi ekstrak daun pegagan *Centella asiatica* diperlukan ekstrak daun pegagan *Centella asiatica* seberat 1 g disuspensikan dalam CMC Na 0,5% 0,125 g dalam 25 ml aquades.

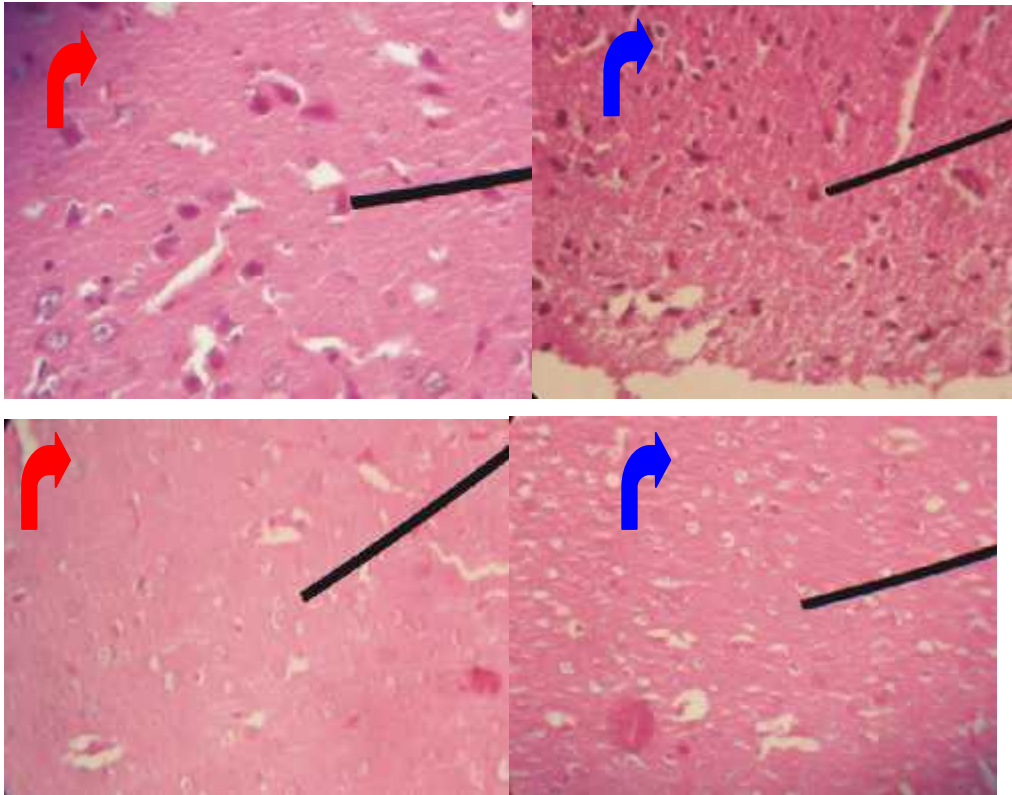
Perlakuan dilakukan pada 30 tikus (*Rattus norvegicus* strain Wistar) dewasa

berusia 16 minggu dengan berat badan rata-rata 150 – 200 gram. Setelah masa adaptasi hewan coba dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 15 ekor kelompok pemberian ekstrak pegagan 200mg/kg BB dilarutkan dalam CMC Na 0,5 % dan 15 ekor kelompok pemberian kontrol CMC Na 0,5 %. Pengelompokan hewan coba dalam kotak kandang sesuai dengan kelompok perlakuan dan kontrol. Pemberian ekstrak pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) pada kelompok perlakuan dan CMC Na 0,5 % pada kelompok kontrol setiap hari selama enam minggu. Pemberian ekstrak dilakukan secara intragastrik dengan dosis yaitu 200 mg/kg BB dan pemberian CMC Na 0,5 %. Pembedahan untuk koleksi organ otak dilakukan pada minggu kedua, keempat, dan keenam pada setiap kelompok perlakuan dan kontrol masing – masing sebanyak 5 ekor sekaligus untuk pengambilan darah. Sesudah pembedahan organ otak disimpan dalam buffer formalin 10% untuk kemudian dilakukan pengamatan imunohistokimia.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Hasil pembuatan preparat histopatologi sel makrofag (mikroglia) cerebrum pada kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan jumlah sel makrofag (mikroglia),

sedangkan hasil negatif tidak menunjukkan peningkatan jumlah sel makrofag (mikroglia). Hasil pengamatan mikroskopik jumlah sel makrofag (mikroglia) pada Tabel 1 diperoleh hasil total jumlah sel makrofag yang mengalami perbedaan pada kolom dosis obat untuk pengamatan dua minggu pertama yaitu b1 (CMCNa) sebesar 336,8 dan b2 (Daun Pegagan) sebesar 411,4. Untuk waktu pengamatan empat minggu yaitu b1(CMCNa) dengan total 239 dan b2 (Daun Pegagan) dengantotal 419,4. Waktu pengamatan minggu keenam yaitu b1(CMCNa) sebesar 177 dan b2 (Daun Pegagan) dengan total 345. Jumlah total yang signifikan pada pengamatan sel astrosit merupakan pengaruh yang positif pada pemberian ekstrak daun pegagan dengan dosis 200mg/kg BB terhadap perlakuan dibandingkan dengan kontrol Berikut ini salah satu contoh rata-rata diagram batang perbandingan antara perlakuan yang diberi pegagan dan kontrol pada pengamatan terakhir minggu keenam.



Gambar 1 Gambar hasil pengamatan mikroskopik sel piramid dan sel astrosit cerebrum tikus putih, dengan perbesaran 40x10

Keterangan:

-  Contoh sel makrofag (mikroglia) tanpa pemberian pegagan atau kontrol, dengan jumlah sel makrofag (mikroglia) lebih sedikit jumlahnya.
-  Contoh sel makrofag (mikroglia) dengan pemberian pegagan atau kontrol, dengan jumlah sel makrofag (mikroglia) lebih banyak jumlahnya.

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Secara mikroskopik Jumlah Sel makrofag (mikroglia)

Perlakuan		Ulangan					Total
Umur (waktu pengamatan)	Dosis Obat	1	2	3	4	5	
2 (a0)	b1 (CMCNa)	51	70,8	73	74	68	336,8
	b2 (Daun pegagan)	76,4	91,6	69	78,2	96,2	411,4
Total							748,2
4 (a1)	b1 (CMCNa)	59,2	44	49,4	49,8	36,6	239
	b2 (Daun pegagan)	79,8	82,2	89,2	85,6	82,6	419,4
Total							658,4
6 (a2)	b1 (CMCNa)	47	51,2	30,2	48,6	37,7	177
	b2 (Daun pegagan)	42,2	59,6	73,2	81	89	345
Total							522
Total keseluruhan							1928,6

Tabel 2 Mean sel makrofag (mikroglia) masing-masing kelompok perlakuan

Jenis Perlakuan	Waktu Pengamatan	Mean \pm SD
Tanpa Pegagan	Minggu ke 2	67.36 \pm 9.43
	Minggu ke 4	47.80 \pm 8.31
	Minggu ke 6	42.94 \pm 8.75
	Total	52.70 \pm 13.65
Pegagan	Minggu ke 2	82.28 \pm 11.27
	Minggu ke 4	83.88 \pm 3.61
	Minggu ke 6	69.00 \pm 18.49
	Total	78.38 \pm 13.61
Total	Minggu ke 2	74.82 \pm 12.56
	Minggu ke 4	65.84 \pm 19.95
	Minggu ke 6	55.97 \pm 19,36
	Total	65.54 \pm 18.71

Berdasarkan tabel dapat diketahui bahwa rata-rata hasil pengamatan sel makrofag (mikroglia) tertinggi didapatkan pada kelompok perlakuan ekstrak daun pegagan pada minggu kedua yaitu sebesar 74,82 \pm 12,56%; sedangkan kelompok perlakuan ekstrak daun pegagan pada minggu keempat sebesar 65,97 \pm 19,95%; serta kelompok perlakuan ekstrak daun pegagan pada minggu keenam sebesar 55,54 \pm 19,36%.

Hasil pengamatan sel makrofag (mikroglia) dianalisis menggunakan statistik parametrik diawali dengan uji normalitas distribusi data *Kolmogorov-smirnov*. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pegagan dianalisis dengan Analisis Varians (ANAVA) interaksi dua faktor. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-smirnov* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan ($p < 0,05$). Hasil interpretasi yang diperoleh dengan uji Analisis Varians (ANAVA) interaksi dua faktor yaitu terdapat interpretasi tabel *Tests of Between-Subjects Effects* diperoleh suatu hasil dimana uji perbedaan nyata produktivitas berdasarkan hasil kerja pada kelompok perlakuan, waktu dan interaksi dua faktor.

Hasil uji perbedaan nyata nilai

pengamatan sel astrosit berdasarkan waktu. Hipotesis yang dirumuskan untuk pengujian ini adalah H_0 merupakan lamanya pengamatan pada kedua perlakuan sama dan H_a yaitu lamanya pengamatan pada kedua perlakuan tidak sama. Untuk dasar pengambilan keputusan berdasarkan probabilitas yaitu apabila $p > 0,05$, maka H_0 diterima atau lamanya pengamatan pada kedua perlakuan sama dan apabila $p < 0,05$, maka H_0 ditolak atau lamanya pengamatan pada kedua perlakuan tidak sama. Untuk pengambilan keputusan terlihat bahwa nilai F hitung = 7,44, P (signifikan) = 0,03. Oleh karena $P < 0,05$, maka H_0 ditolak, H_1 diterima maka terdapat perbedaan antara perlakuan yang diberi pegagan dengan yang tidak diberi pegagan atau lamanya pengamatan pada kedua perlakuan tidak sama (ada perbedaan diantara waktu) sehingga terbukti bahwa waktu 2,4,6 minggu berbeda secara signifikan nilai pengamatan sel astrosit dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil uji perbedaan nyata nilai pengamatan sel astrosit berdasarkan perlakuan. Hipotesis yang dirumuskan untuk pengujian ini adalah H_0 merupakan perbandingan kedua rata-rata pemberian pegagan dan tanpa pegagan tidak sama dan H_a yaitu perbandingan kedua rata-rata pemberian pegagan dan

tanpa pegagan tidak sama. Dasar pengambilan keputusan yaitu apabila $p > 0,05$, maka H_0 diterima atau perbandingan kedua rata-rata pemberian sama dan apabila $p < 0,05$ maka H_0 ditolak atau perbandingan kedua rata-rata pemberian tidak sama. Untuk pengambilan keputusan terlihat bahwa nilai F hitung = 41,417, P (signifikan) = 0,00. Oleh karena $P < 0,05$, maka H_0 ditolak, H_1 diterima maka terdapat perbedaan antara perlakuan yang diberi pegagan dengan yang tidak diberi pegagan sehingga terbukti bahwa nilai sel makrofag (mikroglia) pada pemberian pegagan dan tanpa pegagan pada taraf kepercayaan 95% tidak sama secara signifikan, hal ini dapat dilihat pada tabel 4.2, dimana jumlah total perlakuan dengan pegagan sebesar $78.38 \pm 13.61\%$ dan jumlah total perlakuan tanpa pegagan sebesar $52.70 \pm 13.65\%$ yang dibuktikan juga dengan bentuk diagram batang yang dapat dilihat pada gambar.

Pada hasil interaksi dua faktor perlakuan dan waktu, hipotesis yang dirumuskan untuk pengujian ini adalah H_0 yaitu tidak ada interaksi antara perlakuan dengan waktu pada nilai sel makrofag (mikroglia) sedangkan H_a yaitu ada interaksi antara perlakuan dengan waktu pada nilai sel makrofag (mikroglia). Dasar pengambilan keputusan yaitu apabila $p > 0,05$, maka H_0 diterima atau perbandingan kedua rata-rata pemberian sama dan apabila $p < 0,05$ maka H_0 ditolak atau perbandingan kedua rata-rata pemberian tidak sama. Pengambilan keputusan terlihat bahwa nilai F hitung = 2,344, P (signifikan) = 0,117. Oleh karena $P < 0,05$, maka H_0 diterima, H_1 ditolak, maka tidak terdapat interaksi antara perlakuan dan waktu, artinya perlakuan diberi atau tidak diberi pegagan tidak dipengaruhi oleh waktu pengamatan. Hal ini dapat dilihat pada tabel dan gambar dengan pemberian pegagan, masing-masing perbandingan jumlah total sel makrofag (mikroglia) perminggu seperti minggu ke-2 sebesar $82.28 \pm 11.27\%$, minggu ke-4 sebesar

$83.88 \pm 3.61\%$, dan minggu ke-6 sebesar $69.00 \pm 18.49\%$. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.2 dan gambar 4.4 dengan tanpa pegagan, masing-masing perbandingan jumlah total sel makrofag (mikroglia) perminggu seperti minggu ke-2 sebesar $67.36 \pm 9.43\%$, minggu ke-4 sebesar $47.80 \pm 8.31\%$, dan minggu ke-6 sebesar $42.94 \pm 8.75\%$.

Pembahasan

Gambaran jumlah sel astrosit tertinggi di dapat pada perlakuan dengan pemberian pegagan yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok yang lain tanpa pegagan atau kontrol dengan dosis 200mg/kg BB. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2. Jumlah sel astrosit pada pemberian dengan pegagan sebesar $78.38 \pm 13.61\%$ menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun pegagan dengan dosis 200mg/kg BB mampu menunjukkan peningkatan jumlah makrofag dibandingkan tanpa pegagan atau kontrol sebesar $52.70 \pm 13.65\%$. Jumlah makrofag tertinggi pada pemberian ekstrak pegagan dengan dosis 200mg/kg BB pada minggu ke-4 sebesar $83.88 \pm 3.61\%$ menunjukkan bahwa interpretasi hasil peningkatan jumlah makrofag pada interaksi waktu dan perlakuan tidak terdapat adanya suatu interaksi yang artinya perlakuan diberi atau tidak diberi pegagan tidak dipengaruhi oleh waktu pengamatan.

Hal ini sesuai dengan hipotesis penelitian yang menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) dapat meningkatkan jumlah makrofag cerebrum pada tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) dengan melihat data-data hasil penelitian yang telah diperoleh. Kemungkinan penyebab hal tersebut terjadi yaitu daun pegagan yang mengandung brahmic acid yaitu bacoside A membantu di dalam pelepasan oksida berisi nitrat yang merelaksasi pembuluh darah dan nadi, untuk mengalirkan dengan bebas keseluruhan tubuh dan bacoside B adalah protein mengandung zat makanan yang dihubungkan dengan sel-sel otak dengan

dosis 200mg/kg BB yang dapat merangsang pelepasan sel target yaitu neurotrofin merupakan sejumlah protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan neuron, dimana dalam hal ini astrosit yang merupakan sel glia dan sel piramid yang memiliki dendrit untuk bersinaps dengan akson-akson neuron lain sangat berperan mentranspor senyawa kaya energi dari darah ke neuron, dengan adanya perangsangan sel target neurotrofin akan menjadikan faktor pertumbuhan syaraf NGF (Nerve Growth Factor) pada tikus jantan terdapat dalam kadar tinggi terutama dikelenjar ludah submaksilaris akan menerima rangsangan tersebut untuk diteruskan pada neuron-neuron intracerebral (William F & Ganong W, 2005).

Komunikasi sinaps yang terjadi akan bertanggung jawab untuk transmisi satu arah dari impuls syaraf, sinaps merupakan tempat terjadinya kontak fungsional antara neuron badan sel efektor lain (misalnya sel otot dan sel kelenjar). Kebanyakan sinaps meneruskan informasi dengan membebaskan neurotransmitter selama proses penghantaran sinyal. Neurotransmitter adalah zat kimia yang membuka dan menutup kanal ion atau mengawali rentetan second-messenger bila bergabung dengan protein reseptor. Neuromodulator adalah messenger kimiawi yang tidak bekerja langsung pada sinaps namun memodifikasi sensitivitas neuron terhadap rangsangan atau hambatan sinaps. Sinaps dibentuk oleh akson terminal (ujung prasinaps) yang menyampaikan sinyal, suatu daerah pada permukaan sel lain, yang menghasilkan sinyal baru (ujung pasca sinaps) dan suatu celah antar sel sempit yang disebut celah sinaps. Jika sebuah akson membentuk sinaps dengan badan sel maka sinaps ini disebut sinaps aksomatik, dengan suatu dendritik disebut akso dendritik atau dengan akson yaitu aksoaksonik (William F & Ganong W, 2005).

Kebanyakan sinaps merupakan sinaps kimia dan menggunakan

messenger kimiawi, beberapa sinaps menghantarkan sinyal ion melalui gap junction yang melintasi membran prasinaps dan pascasinaps sehingga sinyal saraf dapat diteruskan secara langsung, astrosit yang dalam hal ini dapat berkomunikasi melalui taut rekah (gap junction) yang membentuk suatu jaringan memungkinkan suatu arus informasi dari suatu tempat ke tempat lain, sampai ketempat jauh, memiliki peranan yang penting untuk mengendalikan lingkungan ion dan kimiawi neuron sehingga impuls saraf dapat merangsang NGF melalui sel glia yang memiliki dendrit untuk bersinaps dengan akson-akson neuron lain. Dosis 200 mg/kg BB daun pegagan yang mengandung brahmic acid memiliki peranan dan efek positif pada perkembangan tonik otak yaitu cerebrum sebagai pusat daya ingat, dimana didalamnya terdapat sel piramidal yang merupakan ciri khasnya dan sel neuroglia (Junqueira CL & Jose J, 2007).

Daftar Pustaka

- Dalimartha S. Pegagan (Centela asiatica [L.] Urban). Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. 2004
- Junqueira CL, Jose C. Histologi dasar teks dan Atlas. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran EGC; 2007.
- Prakoso B. Pegagan Gantinya Gingko Biloba. [diakses 21 April 2008]. Tersedia dari seatherbal@yahoo.co.id.
- Ulum R. Pengaruh pemberian Merkuri khlorida terhadap gambaran Histopatologi otak Mencit (Mus musculus) [skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga; 2005.
- William F, Ganong W. Review of Medical Physiologi. University of California San Francisco. 2005.
- Yulistiyo. Merunut Sederet Khasiat Tanaman Pegagan Herba Ampuh Sembuhkan "Grand Mal". 2005.