

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan. Subjek penelitian adalah mencit jantan galur *Swiss webster* umur 2-3 bulan dengan berat badan 20 gram sejumlah 30 ekor mencit sebagai sampel. Tiga puluh ekor sampel dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok I, kelompok II, kelompok III, kelompok IV, kelompok V, dan kelompok VI. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Perlakuan dilakukan selama 21 hari (Syifaiyah, 2008)

Selama penelitian, seluruh mencit ditimbang berat badannya untuk mengetahui perkembangan berat badan. Secara umum berat badan mencit mengalami peningkatan. Data berat badan mencit dapat dilihat pada Lampiran. Setelah penimbangan berat badan pada hari pertama, dilakukan proses pemeliharaan dimana mencit menjalani adaptasi di tempat pemeliharaan selama 3 hari.

Mencit-mencit tersebut ditempatkan di dalam kandang sesuai dengan kelompoknya secara randomisasi. Selama 8-12 jam mencit dipuaskan dengan tidak diberi makan ataupun minum. Kemudian dilakukan pengambilan sampel SGOT SGPT pertama untuk mengetahui nilai SGOT SGPT mencit tersebut sebelum pemberian alkohol. Alkohol diberikan kepada kelompok II, III, IV, V dan VI dengan dosis yang diperhitungkan dari berat badan mencit untuk mencegah kematian mencit akibat *overdosis* alkohol.

Pembedahan dilakukan pada hari ke 21 setelah pemberian perlakuan ekstrak daun pegagan. Sebelum pembedahan mencit dikorbankan dengan cara dislokasi vertebra

cervicalis. Pembedahan dilakukan untuk pengambilan hepar guna menilai berat dan volume hepar mencit.

Pengukuran berat hepar dilakukan dengan menggunakan neraca analitik. Sedangkan untuk menilai volume hepar dilakukan dengan cara memasukkan hepar ke dalam gelas ukur yang telah diisi dengan air dan menilai selisih volume air setelah dimasukkan hepar dan setelah dimasukkan hepar.

B. Hasil Penelitian

Perhitungan skor kerusakan hepar pada derajat kerusakan hepar mencit (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* yang telah diberi perlakuan berupa induksi alkohol dan terapi prednisolon atau ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*). Hasil uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney* pada tabel berikut.

No	Kelompok	N	Berat Hepar Rata-rata	Nilai P Kruskal Wallis
1.	Kontrol Normal	5	1,44 ± 0,485	Sig. 0,000 (p<0,05)
2.	Kontrol Negatif	5	1,900 ± 0,245	
3.	Kontrol Positif	5	1,560 ± 0,313	
4.	P1 (55mg/KgBB)	5	1,442 ± 0,259	

5.	P2 (110/KgBB)	5	1,404 ± 0,222
6.	P3 (220mg/KgBB)	5	1,590 ± 0,275

Tabel 1. Penghitungan berat hepar mencit (*Mus musculus*) dengan *Kruskal Wallis*

Tabel 2. Ringkasan Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) kelompok-kelompok sampel berdasarkan berat

	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	P1 (55mg/KgBB)	P2 (110mg/KgBB)	P3 (220mg/KgBB)
Kontrol Normal	-	p:0,402	p:0,754	p:0,602	p:0,465	p:0,173
Kontrol Negatif	p:0,402	-	p:0,402	p:0,530	p:0,754	p:0,047
Kontrol Positif	p:0,754	p:0,402	-	p:0,675	p:0,209	p:0,047
Dosis (55mg/KgBB)	p:0,602	p:0,530	p:0,675	-	p:0,465	p:0,047
Dosis (110mg/KgBB)	p:0,465	p:0,754	p:0,209	p:0,465	-	p:0,075
Dosis (220mg/KgBB)	p:0,173	p:0,047	p:0,047	p:0,047	p:0,075	-

Tabel 3. Penghitungan volume hepar mencit (*Mus musculus*) dengan *Kruskal Wallis*

No	Kelompok	N	Volume Hepar Rata-rata	Nilai P Kruskal Wallis
1.	Kontrol Normal	5	1,40 ± 1,08	
2.	Kontrol Negatif	5	2,40 ± 0,894	
3.	Kontrol Positif	5	2,00 ± 0,707	Sig. 0,000
4.	P1 (55mg/KgBB)	5	2,20 ± 0,836	(p<0,05)
5.	P2 (110/KgBB)	5	2,00 ± 1,224	
6.	P3 (220mg/KgBB)	5	1,20 ± 0,447	

Tabel 4. Ringkasan Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) kelompok-kelompok sampel berdasarkan Volume

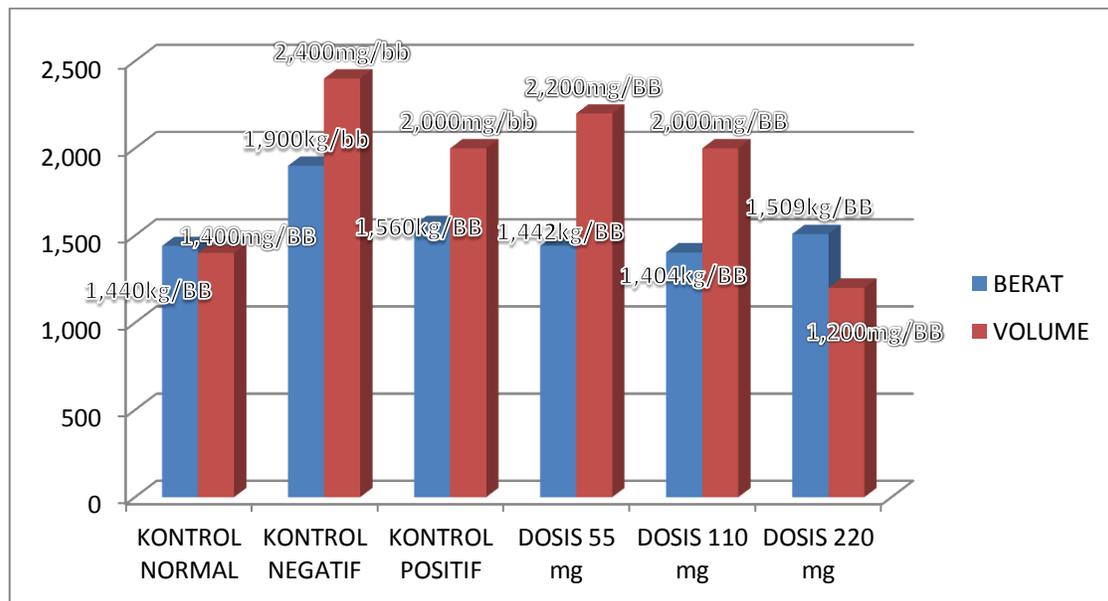
	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	P1 (55mg/KgBB)	P2 (110mg/KgBB)	P3 (220mg/KgBB)
Kontrol Normal	-	p:0,146	p:0,277	p:0,196	p:0,334	p:0,822
Kontrol Negatif	p:0,146	-	p:0,521	p:0,906	p:0,343	p:0,015
Kontrol Positif	p:0,277	p:0,521	-	p:0,650	p:0,735	p:0,065
P1 (55mg/KgBB)	p:0,196	p:0,906	p:0,650	-	p:0,584	p:0,054
P2 (110mg/KgBB)	p:0,334	p:0,343	p:0,735	p:0,584	-	p:0,0189
P3 (220mg/KgBB)	p:0,822	p:0,015	p:0,065	p:0,054	p:0,0189	-

Tabel 1 dan 2 didapatkan rata-rata berat hepar tertinggi terdapat pada kelompok negatif dan rata-rata terendah terdapat pada kelompok pemberian *Centella asiatica* dengan dosis 220mg/KgBB. Rata-rata volume hepar tertinggi terdapat pada kelompok negatif dan rata-rata volume terendah terdapat pada kelompok pemberian *Centella asiatica* dengan dosis 220mg/KgBB. Hasil perhitungan statistik dengan uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai p adalah 0,000. Nilai ini lebih kecil daripada P hitung (0,05) atau $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dari hasil diatas terdapat perbedaan masing-masing kelompok sampel. Induksi alcohol memberikan pengaruh terhadap semua kelompok perlakuan kecuali kelompok kontrol normal. Perbedaan berat, dan volume dari hepar ini menunjukkan adanya pengaruh sebelum pemberian ekstrak daun pegagan, dan sesudah pemberian ekstrak daun pegagan. Tabel 3 menunjukkan berat hepar pada setiap kelompoknya.

Kelompok kontrol normal didapatkan berat hepar rata-rata mencit melalui rumus *Kruskal Wallis*. Kelompok kontrol negatif, hepar mencit di induksi menggunakan alkohol 14,7%. Didapatkan kenaikan berat hepar secara signifikan pada kelompok ini setelah

diinduksi dengan alkohol. Prednisolon di induksi pada hepar menciit di kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol diberikan dosis 55mg/KgBB, 110mg/KgBB, dan 220mg/KgBB. Hasil analisis menunjukkan berat dan volume hepar menciit (*Mus musculus*) pada semua kelompok kecuali kontrol normal didapatkan penurunan signifikan ($p < 0,05$).

Gambar 6. Rata-rata berat (kg/BB) dan volume (mg/BB) hepar menciit (*Mus musculus*)



Gambar di atas, terjadi perubahan berat dan volume hepar pada semua kelompok perlakuan secara signifikan, dibanding dengan kelompok tanpa perlakuan apapun (normal) . Kelompok perlakuan ekstrak daun pegagan yang menunjukkan perubahan rata-rata hepar tertinggi adalah kelompok K4, yaitu kelompok yang diinduksi alkohol dan diberi ekstrak *Centela asiatica* 55 mg/kgBB/hari/menciit. Sedangkan kelompok perlakuan ekstrak daun pegagan yang menunjukkan perubahan rata-rata derajat kerusakan hepar terendah adalah kelompok K6, yaitu kelompok yang diinduksi alkohol dan diberi ekstrak *Centela asiatica* 220 mg/kgBB/hari/menciit.

Uji statistik dilanjutkan untuk melihat perbedaan yang bermakna dan tidak bermakna di antara enam kelompok sampel. Uji statistik menggunakan Mann-Whitney dipilih untuk melihat perbedaan yang bermakna ataupun tidak bermakna pada perbandingan setiap kelompok.

Hasil uji Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna antara Kontrol normal dan Kontrol negatif, kontrol normal dan kontrol positif, kontrol normal dan dosis 55 mg/KgBB, kontrol normal dan dosis 110mg/KgBB, kontrol normal dan dosis 220 mg/KgBB, kontrol negatif dan kontrol positif, kontrol negatif dan dosis 110mg/KgBB, kontrol negatif dan dosis 220/mg/KgBB, kontrol positif dan dosis 55mg/KgBB, dosis 55mg/KgBB dan dosis 220mg/KgBB, serta dosis 110mg/KgBB dan 220 mg/KgBB. Sedangkan perbedaan yang tidak bermakna antara kontrol negatif dan dosis 55mg/KgBB, kontrol positif dan dosis 110mg/KgBB, kontrol positif dan dosis 220mg/KgBB, serta dosis 55mg/KgBB dan dosis 110mg/KgBB. Data ringkasan hasil perhitungan dengan uji Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) dapat dilihat pada table 2. Adapun data mengenai perhitungan uji Mann-Whitney dengan program SPSS dapat dilihat pada lampiran.

C. Pembahasan

Hasil uji Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna antara Kontrol normal dan Kontrol negatif, kontrol normal dan kontrol positif, kontrol normal dan dosis 55 mg/KgBB, kontrol normal dan dosis 110mg/KgBB, kontrol normal dan dosis 220

mg/KgBB, kontrol negatif dan kontrol positif, kontrol negatif dan dosis 110mg/KgBB, kontrol negatif dan dosis 220/mg/KgBB, kontrol positif dan dosis 55mg/KgBB, dosis 55mg/KgBB dan dosis 220mg/KgBB, serta dosis 110mg/KgBB dan 220 mg/KgBB. Sedangkan perbedaan yang tidak bermakna antara kontrol negatif dan dosis 55mg/KgBB, kontrol positif dan dosis 110mg/KgBB, kontrol positif dan dosis 220mg/KgBB, serta dosis 55mg/KgBB dan dosis 110mg/KgBB.

Pemberian alkohol 14,7% secara per oral terhadap 5 kelompok selain kelompok kontrol normal dengan dosis hepatotoksik sebesar 1,12mg/20g BB 1 kali sehari selama 21 hari berturut-turut, hal ini mengakibatkan kerusakan hepar pada semua subyek penelitian tersebut. Mencit yang mengalami kerusakan pada heparnya, kemudian diberi perlakuan berupa pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica*) dengan 3 dosis yang berbeda sebagaimana yang telah dijelaskan pada bab III.

Alkohol sangat berpotensi besar dalam merusak hepar, karena alkohol dimetabolisme dalam organ tersebut. Penyakit yang disebabkan oleh alkohol yaitu gangguan fungsi hepar seperti penyakit hepar alkoholik (*alcoholic liver disease*). Penyakit hepar alkoholik (PHA) adalah gangguan fungsi hepar yang diakibatkan oleh konsumsi alkohol dalam waktu yang lama dengan jumlah tertentu. Penyakit hepar alkoholik terbagi atas perlemakan hepar (*fatty liver*), Hepatitis Alkoholik (*alcoholic hepatitis*) dan sirosis (*cirrhosis*). Perlemakan hepar biasa ditemukan pada >90% peminum alkohol rekuren dan berat. Sebagian peminum alkohol berat tersebut, sekitar 10-30% akan berkembang menjadi penderita Hepatitis Alkoholik, dan akan terus berkembang menjadi sirosis bila tidak ada intervensi (Longo, 2011).

Etanol menyebabkan terjadinya translokasi lipopolisakarida (LPS) dari lumen usus kecil dan besar menuju ke vena portal yang terletak di hepar. Dalam sel Kupffer, lipopolisakarida (LPS) mengikat CD14, yang menggabungkan dengan *toll-like reseptor 4* (TLR4), dimana pada akhirnya mengaktifkan beberapa gen sitokin. NADPH oksidase mengeluarkan *reactive oxygen species* (ROS), yang mengaktifkan gen sitokin dalam sel Kupffer yang mungkin memiliki efek pada hepatosit dan sel stellata hepar (Lucey, 2009). *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan Radikal bebas yang mengandung oksigen. Produksi ROS yang berlebihan atau kerusakan perlindungan terhadap ROS akan menimbulkan stress oksidasi yang memicu proses peroksidasi terhadap lipid sehingga dapat menimbulkan reaksi inflamasi (Jusup, 2010).

Terdapat tiga kategori dari kerusakan yang disebabkan oleh alkohol (French et al. 1993):

1. *Fatty liver*

Sejumlah lemak yang terdeposit di dalam hepar terdapat pada hampir setiap alkoholik berat. Hal ini juga dapat terjadi pada non-alkoholik, setelah meminum alkohol dalam satu waktu. *Fatty Liver* bersifat irreversibel dan belum dapat dipastikan mengarah ke derajat kerusakan yang lebih serius.

2. *Alcoholic Hepatitis*

Gangguan ini berkarakteristik pada penyebaran inflamasi dan kerusakan (e.g., nekrosis) pada jaringan hepar. Jaringan perluaan akan meluas pada jaringan hepar, suatu proses yang disebut fibrosis. Gejala Hepatitis Alkoholik meliputi demam, *jaundice*, dan nyeri abdominal. Kondisi ini bisa berakibat fatal namun bersifat reversibel dengan pantangan. Hepatitis

alkoholik terjadi pada 50% alkoholik berat National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism [NIAAA] 1993).

3. *Alcoholic cirrhosis*

Gangguan ini adalah bentuk lain dari penyakit hepar yang terdiagnosa pada 15 hingga 30 persen alkoholik berat. Diantara 40 dan 90 persen dari 26.000 jumlah kematian yang terkait dengan konsumsi alcohol (Dufour et al. 1993). Hepar yang mengalami sirosis mempunyai karakteristik terdapat fibrosis ekstensif yang membuat kaku pembuluh darah dan mengganggu struktur internal dari hepar. Kerusakan pada stuktural ini menyebabkan gangguan berat fungsional, yang dapat mengakibatkan kondisi gangguan sekunder pada organ lain, seperti otak dan ginjal. Walaupun sirosis alkoholik biasanya berujung fatal disebabkan komplikasi (e.g., gagal ginjal dan hipertensi pada vena yang membawa darah ke hepar [i.e., vena portal]), ini dapat di stabilkan dengan pantangan konsumsi.

Umumnya, ketiga kondisi ini kemungkinan berhubungan satu dengan yang lain, progress dari *fatty liver* menuju *alcoholic hepatitis*, mengarah ke *cirrhosis*. Namun alkoholik berat dapat langsung terjangkit Hepatitis Alkoholik lalu menuju ke sirosis tanpa harus melewati fase *fatty liver*. Lebih lanjut, Hepatitis Alkoholik dapat menyebabkan gejala *rapid course* dan *sudden onset*, yang dapat menyebabkan kematian bahkan sebelum berkembang menjadi sirosis (Jacquelyn J. Maher, 1997)

Hepar merupakan pusat metabolisme tubuh dengan beragam fungsi fisiologis. Fungsi fisiologis hepar diantaranya adalah sebagai penyimpanan makanan dan peyaringan darah, fungsi sekresi maupun ekskresi empedu, pusat aktivitas metabolisme karbohidrat, protein, lipid, detoksifikasi, penimbunan mineral, vitamin, dan metabolisme steroid (Sulaiman A. , 2012; Guyton & Hall, 2012). Selain itu hepar juga berfungsi memproteksi tubuh terhadap

terjadinya penumpukan zat berbahaya yang masuk dari luar, contohnya obat-obatan, alkohol, dan lainnya. Fungsi ini disebut detoksifikasi (Guyton & Hall, 2012).

Pengertian inflamasi atau peradangan adalah suatu respons protektif yang bersifat lokal ditimbulkan oleh trauma atau kerusakan jaringan, yang bersifat menghancurkan, mengurangi, atau mengurung (*sekuestrasi*) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland, 2011). Radang merupakan reaksi alamiah berupa respon vaskuler dan seluler dari jaringan tubuh sebagai reaksi terhadap adanya stimuli peradangan (Laufer, 2001).

Inflamasi adalah suatu respon pertahanan terhadap jejas seluler pada jaringan berpembuluh dan dimaksudkan untuk mengeliminasi penyebab awal dari kerusakan sel maupun nekrosis sel atau jaringan. Ketika terdapat kondisi seperti perlukaan, seperti suhu yang berlebih, reaksi inflamasi akut muncul. Pembuluh darah kecil di sekitar luka akan mengalami pembesaran dan aliran darahnya akan mengalir cepat tetapi secara berkala kembali turun (Laufer, 2001).

Kerusakan hepar dapat menyebabkan suatu respon inflamasi. Kerusakan kronis ini dapat menyebabkan akumulasi protein penyebab jaringan parut (fibrosis) yang dapat berkembang secara progresif (Walace, 2008). Proses terjadinya inflamasi pada hepar didahului dengan reaksi perlemakan hepar atau steatosis hepar. Perlemakan hepar merupakan kondisi dimana didapatkan kandungan lemak di hepar melebihi 5% atau dari hasil biopsi hati ditemukan minimal 5% - 10% sel hepatosit mengandung lemak (Amarapurkar, 2010)

Pegagan mengandung berbagai zat kimia yang dinamakan triterpenoid glikosida diantaranya adalah *asiaticoside*, *madecassoside*, *asiatic acid*, *medacacosside acid* serta

garam mineral (seperti garam kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi) zat pahit vellarine. *Asiaticosida* berfungsi meningkatkan perbaikan dan penguatan sel, dikatakan juga saponin yang terkandung dalam tanaman ini mempunyai manfaat mempengaruhi *collagen* (perbaikan jaringan) (Prabowo, 2002). Komponen triterpenoid yang dikandung oleh pegagan ini dapat digunakan sebagai hepatoprotektor (Jie, 1994). Hal yang serupa juga diungkapkan oleh (Peterson, 2002) dalam penelitiannya bahwa komponen-komponen dari triterpenoid ini dapat melindungi hepar dari kanker

Daun pegagan (*centella asiatica*) dipakai sebagai bahan hepatoprotektor pada Hepatitis Alkoholik karena mengandung berbagai senyawa antioksidan yang merupakan agen antiinflamasi (Bayyinatul, 2011). Antioksidan adalah suatu senyawa pemberi elektron atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal sehingga kerusakan sel akan dihambat. Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang (Rahman, 2013).

Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun pegagan antara lain *flavonoid*, *triterpenoid*, *polifenol*, dan *terpenoid*. Terdapat dua senyawa dalam Flavonoid yaitu flavonol dan flavon. Perbedaan senyawa flavonol dan flavon yaitu pada flavonol memiliki gugus hidroksi pada C3 sedangkan flavon tidak. Kedua senyawa ini banyak ditemukan pada bagian daun dan bagian luar dari tanaman, serta sedikit pada bagian tanaman yang berada di bawah permukaan tanah. Senyawa flavonoid yang merupakan salah satu dari antioksidan non enzimatis terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat, yaitu sebagai antioksidan yang mampu menghambat penggumpalan sel darah, merangsang *nitrit oksida* (NO) yang

berperan melebarkan pembuluh darah. Respon vasokonstriksi pembuluh darah pada inflamasi hepar dapat teratasi dengan efek flavonoid yang dapat merangsang *nitrit oksida* (NO) tersebut. Flavonoid memiliki potensi antioksidannya lebih besar dari vitamin C dan vitamin E (Winarsi, 2007).

Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu penghambatan aktivitas enzim COX dan/atau lipooksigenase secara langsung juga menyebabkan penghambatan biosintesis eicosanoid dan leukotriene sebagai produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase, menghambat pelepasan histamine dari sel mast yang merupakan mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel dengan cara menghambat enzim c-AMP fosfodiesterase sehingga kadar c-AMP dalam sel mast meningkat, dengan demikian kalsium dicegah masuk ke dalam sel yang berarti juga mencegah pelepasan histamin (Mueller, 2005). Penghambatan akumulasi leukosit dengan cara menurunkan jumlah leukosit *immobil* dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh, menghambat degranulasi netrofil, sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil, menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif (Nijveldt *et al.*, 2001). Mekanisme lain dari flavonoid adalah sebagai antioksidan, dibuktikan pada penelitian Wijayanti (2012) tentang pengaruh antioksidan pada flavonoid.

Pegagan juga mengandung vitamin C (asam askorbat) yang merupakan inhibitor pembentukan radikal bebas dan *scavenger* radikal bebas. Vitamin ini mencegah oksidasi pada molekul yang berbasis cairan, misalnya plasma darah, tetapi vitamin C juga dapat

bertindak sebagai prooksidan (Tambunan, 2003). Asam askorbat mudah dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat. Dengan demikian vitamin C berperan dalam menghambat oksidasi yang berlebihan dalam tubuh. Namun penggunaan vitamin C dalam dosis yang tinggi dapat menyebabkan vitamin C berubah menjadi prooksidan (Miller, 2005)

Triterpenoid glikosida merupakan salah satu antioksidan yang dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor karena mampu meningkatkan enzim antioksidan seperti *superoksidan dismutase* (SOD), katalase, *glutation peroxidase* dan *antioksidan glutathione* (GSH). Enzim-enzim tersebut sebagian besar didapatkan pada organ hepar. Hepar mempunyai tugas untuk mendetoksifikasi dan mengikatkan diri dengan zat-zat berbahaya bagi tubuh. Hepar membutuhkan enzim-enzim antioksidan seperti *glutathione* untuk melakukan semua itu (Rohyani, 2015)

Dengan demikian jika sel-sel hepar telah mampu meregenerasi diri kembali, maka penurunan berat dan volume yang diakibatkan karena adanya inflamasi dapat dipertahankan untuk tetap berada pada keadaan normal. Hal ini sesuai dengan yang terlihat pada data hasil penelitian dimana terjadi penurunan yang signifikan pada berat dan volume hepar setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica*).