

**TESIS**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L).Urban)  
TERHADAP KADAR IL-6 PADA MAMMAE TIKUS BETINA  
SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

**EFFECTIVENESS OF CENTELLA ASIATICA LEAF EXTRACT ON IL-6  
LEVEL TO SPAGUE DAWLEY RAT INDUCED BY  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

**A N I**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN SEKOLAH  
PASCASARJANA UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**

**TESIS**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) .Urban  
TERHADAP KADAR IL-6 PADA MAMMAE TIKUS BETINA  
SPRAGUE DAWLEY YANG DI INDUKSI  
*Staphylococcus aureus***

**EFFECTIVENESS OF CENTELLA ASIATICA LEAF EXTRACT ON IL-6  
LEVEL TO SPAGUE DAWLEY RAT INDUCED BY  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

**Tesis**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister**

**Program Studi  
Ilmu Kebidanan**

**Disusun dan diajukan oleh**

**ANI**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN SEKOLAH  
PASCASARJANA UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2019**

TESIS

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.)Urban)  
TERHADAP KADAR IL-6 PADA MAMMAE TIKUS BETINA  
*SPRAGUE DAWLEY* YANG DI INDUKSI  
*Staphylococcus aureus*

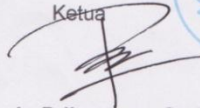
Disusun dan diajukan oleh

ANI  
P102171012

Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian Tesis  
Pada tanggal, 25 Juli 2019

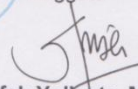
Menyetujui,  
Komisi Penasehat

Ketua



Dr. dr. Prihantono, Sp.B.ONK(K), M.Kes

Anggota



Dr. Risfah Yulfanty, M. Si, Apt

Ketua Program Studi Magister



Dr. dr. Sharvianty Arifuddin, Sp. OG(K)  
NIP.197308312006042001



Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc  
NIP.196703081980031001

## PRAKATA

Segala puji dan syukur kepada Tuhan yang Maha Esa atas nikmat dan berkat-Nya yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tesis dengan judul "*Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L) Urban) terhadap Kadar IL-6 pada Mammae Tikus Betina Sprague dawley yang diinduksi Staphylococcus aureus*". Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Selama persiapan, pelaksanaan, penyusunan sampai penyelesaian tesis, penulis banyak mendapatkan bimbingan, arahan dan motivasi dari berbagai pihak secara moril dan materil. Oleh karena itu, dengan niat tulus disertai kerendahan hati, saya ucapkan banyak terimah kasih kepada :

- a. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA., selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar.
- b. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
- c. Dr. dr. Sharvianty Arifuddin, Sp. OG (K)., selaku Ketua Program Studi Magister Kebidanan Universitas Hasanuddin Makassar.
- d. Dr. dr. Prihantono, Sp. B. (K) Onk., M.Kes., selaku Pembimbing Utama dengan penuh kesabarannya membimbing, memberikan masukan, arahan hingga terselesainya penelitian ini.

- e. Dr. Risfah Yulianty, M. Si, Apt., selaku Pembimbing kedua dalam penyusunan tesis ini yang telah banyak memberikan masukan dan arahan dalam proses pembimbingan hingga penelitian ini terwujud.
- f. Dr. Sartini, M.Si, Apt., dan Dr. dr. Irfan Idris, M. Kes., dan Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS., atas kesediaan telah meluangkan waktu untuk menguji sekaligus memberikan bimbingan, arahan dan bantuannya dalam penyelesaian penelitian.
- g. Teristimewa, terimah kasih yang tulus dan penghargaan tak terhingga penulis ucapkan kepada kedua orang tua tercinta. Bapak H. Syamsu Alam dan Ibu Hj. Nurmiati serta seluruh keluarga yang telah memberikan motivasi, dukungan dan bantuan moril dalam penyelesaian penelitian.
- h. Teman-teman Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Makassar angkatan tahun 2017 tanpa terkecuali yang tidak bisa penulis sebutkan satu-satu.

Penulis berharap semoga Allah SWT, memberikan balasan yang lebih baik atas segala keikhlasan hati dan bantuan dari semua pihak.

Wassalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Makassar, Juli 2019

Penulis

## ABSTRAK

**ANN.** Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L). Urban) Terhadap Kadar IL-6 pada Mammae Tikus Betina *Sprague dawley* yang Diinduksi Bakteri *Staphylococcus aureus* (dibimbing oleh Prihantono dan Risfah Yulianty).

Peradangan payudara ditandai dengan daerah payudara bengkak, merah, dan panas terjadi karena adanya infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L). Urban) terhadap kadar IL-6 pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Jenis penelitian True Experiment dengan rancangan *post-test Only Control Group Design*. Sampel dalam penelitian ini adalah tikus *Sprague dawley* sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*  $2 \times 10^7$  CFU/ml, 1x24 jam. Kelompok I merupakan kelompok kontrol negatif hanya diberi Na. CMC 0,5%. Kelompok II diberi antibiotik Cefadroxil 45 mg/kgBB. Kelompok III diberi ekstrak daun pegagan 100 mg/kgBB dan Kelompok IV diberi ekstrak daun pegagan dikombinasi antibiotik Cefadroxil. Pemeriksaan kadar IL6 menggunakan R & D system ELISA Rat. Data dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA dengan nilai signifikan  $p \leq 0.05$  dan 95% CI.

Hasil penelitian, untuk kelompok yang diberi antibiotik Cefadroxil diperoleh nilai sebesar  $3,41 \pm 1,79$  pg/ml, kelompok yang diberi ekstrak daun pegagan diperoleh nilai sebesar  $3,49 \pm 1,26$  pg/ml, kelompok ekstrak daun pegagan dikombinasi antibiotik Cefadroxil diperoleh nilai sebesar  $2,62 \pm 0,56$  pg/ml, pada perbandingan kelompok kontrol negatif dengan nilai sebesar  $7,21 \pm 3,29$  pg/ml. Hal tersebut menunjukkan ada perbedaan kadar IL-6 dengan nilai signifikan ( $p=0,010 < \alpha=0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat menekan sitokin pro-inflamasi setelah pemberian treatment pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi *Staphylococcus aureus*.

**Kata kunci:** Ekstrak daun pegagan, Interleukin-6, *Staphylococcus aureus*, *Sprague dawley*.



## ABSTRACT

AN. Effectiveness Of Centella Asiatica Leaf Extract On IL-6 Level To Sprague Dawley Rat Induced By Staphylococcus aureus (supervised by Prihantono and Risfah Yulianty).

Breast inflammation is characterized by swollen, red, and hot breast areas that occur due to the infection of the Staphylococcus aureus bacteria. The aim of the study was to analyze the effectiveness of Centella asiatica (L) Urban leaf extract on IL-6 levels in the mammals of Sprague Dawley mice induced by Staphylococcus aureus bacteria.

This type of research is True Experiment with the design of the **post-test** Only Control Group Design. The sample in this study were 20 Sprague dawley rats divided into 4 groups randomly, the group consisted of 5 rats induced by Staphylococcus aureus  $2 \times 10^7$  CFU/ml, 1x24 hours. **Group I** was the negative control group only given Na. CMC 0.5%. **Group II** was given antibiotics Cefadroxil 45 mg/kgBB. **Group III** was given centella asiatica leaf extract 100 mg/kgBB and **Group IV** was given centella asiatica leaf extract combined with antibiotic Cefadroxil. Examination of IL-6 levels using the ELISA Rat R & D system. Data were analyzed using One Way ANOVA test with significant values  $p \leq 0.05$  and 95% CI.

The results, for the group given Cefadroxil antibiotics obtained values  $3.41 \pm 1.79$  pg/ml, the group given the extract of centella asiatica leaf obtained a value  $3.49 \pm 1.26$  pg/ml, a group of centella asiatica leaf extract combined Cefadroxil antibiotics obtained a value  $2.62 \pm 0.56$  pg/ml in the comparison of the negative control group with a value  $7.21 \pm 3.29$  pg/ml. This shows that there are differences in IL-6 levels with significant values ( $p=0,010 < \alpha=0,05$ ). It can be concluded that centella asiatica leaf extract can suppress pro-inflammatory cytokines after administration of mammary Sprague Dawley mice induced by Staphylococcus aureus.

**Keywords:** centella asiatica leaf extract, Interleukin-6, Staphylococcus aureus, Sprague Dawley.



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PRAKATA</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTARC</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
A. Latar belakang .....	1
B. Rumusan masalah .....	4
C. Tujuan penelitian .....	4
D. Kegunaan penelitian .....	5
E. Definisi dan Istilah .....	5
F. Ruang lingkup Penelitian .....	6
G. Sistematika .....	6
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Tinjauan Tentang Mastitis .....	8
B. Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
C. Tinjauan Tentang IL-6 .....	15



D. Tinjauan Tentang Daun Pegagan ( <i>Centella asiatica</i> ).....	19
E. Tinjauan Tentang Hewan Coba .....	22
F. Kerangka Teori .....	24
G. Kerangka Konsep.....	25
H. Hipotesis .....	25
I. Definisi Operasional .....	25
<b>BAB III : METODE PENELITIAN</b>	
A. Rancangan penelitian .....	27
B. Lokasi dan waktu penelitian .....	27
C. Populasi dan teknik sampel .....	28
D. Instrumen pengumpulan data .....	29
E. Etika penelitian.....	36
F. Analisis Data .....	37
G. Alur Penelitian.....	38
<b>BAB IV : HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil dan Pembahasan .....	39
<b>BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan .....	46
B. Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Taksonomi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
Tabel 2. Klasifikasi daun pegagan .....	19
Tabel 3. Taksonomi tikus putih .....	22
Tabel 4. Hasil uji fitokimia kandungan senyawa daun pegagan ( <i>Centella asiatica</i> (L)Urban) .....	39
Tabel 5. Rerata berat badan tikus masing-masing kelompok .....	40
Tabel 6. Rerata perbedaan kadar IL-6 pada masing-masing kelompok perlakuan tikus betina <i>Sprague dawley</i> diinjeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> hari ke-4 dan hari ke-7.....	41

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Taksonomi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
Gambar 2. Daun Pegagan ( <i>Centella Asiatica</i> (L). Urban).....	20
Gambar 3. Model kerangka teori .....	24
Gambar 4. Model kerangka konseptual .....	25
Gambar 5. Alur Penelitian.....	38
Gambar 6. <i>Trend kadar sitokin IL-6 masing-masing kelompok tikus betina Sprague dawley perlakuan hari-4 dan ke-7.....</i>	<i>41</i>

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Analisis perbedaan kadar sitokin IL-6 hari-4 dan hari ke-7
- Lampiran 2. Analisis perbedaan kadar sitokin IL-6 pada antar kelompok tikus betina *Sprague dawley* perlakuan hari ke-4 dan hari ke-7
- Lampiran 3. Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis (spesies) hewan uji.
- Lampiran 4. Perhitungan Dosis
- Lampiran 5. Master tabel

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Mastitis adalah penyakit peradangan yang disebabkan oleh infeksi mikroba dengan gejala mastitis akut (terdapat rasa sakit pada wanita menyusui “shooting” atau terdapat kemerahan pada payudara disertai demam dan flu). Pembengkakan dan peradangan payudara yang merupakan fisiologis normal dialami ibu biasanya dalam waktu 48-72 jam setelah melahirkan, terjadi antara 5 dan 12 minggu post partum, bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab utama mastitis (Mengyao *et al.* 2013; Jimenez *et al.* 2017; Vlieghe *et al.* 2012; Zarshenas M *et al.* 2017; Leitner *et al.* 2018).

World Health Organization (2008), memperkirakan lebih dari 1,4 juta orang terdiagnosis menderita mastitis. *The American Society* memperkirakan 241.240 wanita Amerika Serikat, sedangkan di Kanada jumlah wanita sebanyak 24.600 orang, di Australia sebanyak 14.791 orang dan di Indonesia diperkirakan wanita berjumlah 876.665 orang. Studi terbaru menunjukkan kasus mastitis meningkat hingga 12-35% (Anasari dan Sumarni, 2014).

Infeksi mastitis dimulai *Staphylococcus aureus* yang memasuki saluran susu dan pindah ke parenkim kelenjar susu dimana kemampuan

*Staphylococcus aureus* untuk mematuhi sel-sel epitel dan matriks ekstra seluler di jaringan memungkinkan bakteri untuk menjajah kelenjar yang memberikan kontribusi untuk proses patologi (Myles *et al.* 2012; Wang *et al.* 2015). Beberapa penelitian menguji coba *Staphylococcus aureus* yang diinduksikan pada mammae tikus menunjukkan gejala mastitis terdapat kerusakan jaringan kelenjar susu. Penelitian Nickerson *et al.* (2009) tingkat kematian disebabkan *Staphylococcus aureus* bakterimia dinegara maju sampai 30% (Chinchali *et al.* 2014; Nickerson *et al.* 2009).

Interleukin 6 adalah sitokin pro-inflamasi berperan penting dalam mekanisme pertahanan diri yang merupakan mediator lebih unggul dalam merespon suatu inflamasi lokal seperti infeksi, luka bakar, trauma, neoplasia, dan protein fase akut yang menginduksi diferensiasi sel B dan sel T (Sugimoto *et al.* 2015; Álvarez, 2009). Reseptor IL-6 merupakan terapi klinis sangat baik, karena antibody IL-6 berhasil digunakan melawan kelainan autoimun seperti rheumatoid arthritis, arthritis idiopatik remaja. Respon inflamasi memainkan peran utama dalam membentuk lingkungan mikro jenis tumor seperti kanker payudara dan glioma bermutu tinggi ditandai dengan populasi padat makrofag yang memainkan peran penting dalam penyembuhan luka normal dan memperbaiki jaringan (Anton *et al.* 2012; Hirano, 2010).

Berbagai jenis obat-obatan digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya amoxillin, gestamin, cephalotin, entrofloxacin, oxytetracycline, amikacin, tetracylin, oxacilin, cefadroxil,

gentamycin dan enrofloxacin. Antibiotik cefadroxil umum direkomendasikan untuk penanganan inflamasi bersifat bakterisid dengan jalan menghambat sintesis dinding sel bakteri, aktif terhadap *Streptococcus beta-hemolytic*, *Staphylococcus aureus* (termasuk penghasil enzim) dan Clindamycin dengan dosis 500 mg, 2x sehari (Hashim, 2011; Amir *et al.* 2014).

Salah satu tanaman obat sering digunakan oleh masyarakat untuk mengobati peradangan atau inflamasi adalah Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L)). Dalam pengobatan tradisional Cina dan negara-negara Asia lainnya digunakan sebagai antioksidan, inflamasi, antihepatoma, antigenotoksik dan antikanker. Di Indonesia digunakan selama ribuan tahun untuk mengobati berbagai kondisi kesehatan yang abnormal, paling dominan untuk tujuan peningkatan kognitif (Dorni A *et al.* 2017; Hashim P *et al.* 2011; Zhao Y *et al.* 2014; Gray N E *et al.* 2018).

Senyawa bioaktif dari *Centella asiatica* mengandung, flavonoid, saponin, steroid, tanin dan alkaloid, merupakan komponen dari *Centella asiatica* sebagai biomarker yang berhasil didirikan oleh beberapa peneliti (Dorni A *et al.* 2017; Zhao Y *et al.* 2014; Patella F *et al.* 2009; Hashim P *et al.* 2011). Penelitian Widiastuti *et al* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan konsentrasi 60%, 80%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Penelitian Dutta *et al* (2016) ) ekstrak daun pegagan mengandung sejumlah besar

flavonoid dan senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan cukup tinggi (80%).

Berdasarkan beberapa fakta bahwa kejadian mastitis cukup tinggi disebabkan adanya reaksi inflamasi yang menimbulkan peradangan atau abses payudara pada ibu nifas dan menyusui, adapun tanaman dapat di jadikan sebagai obat tradisional yaitu daun pegagan. Penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun pegagan terhadap kadar IL-6 pada mammae tikus betina *Sprague dawley* diinduksi *Staphylococcus aureus* belum pernah dilakukan. Maka peneliti tertarik melakukan penelitian tersebut untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak daun pagagan (*Centella asiatica* (L) ) terhadap kadar IL-6 yang di uji cobakan pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi *Staphylococcus aureus*.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) efektif menurunkan kadar IL-6 pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi *Staphylococcus aureus*?

## **C. Tujuan Penelitian**

Untuk menganalisis efektivitas ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) pada hari ke-4 dan hari ke-7 terhadap kadar IL-6 pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi *Staphylococcus aureus*.



#### **D. Kegunaan Penelitian**

##### 1. Kegunaan Ilmiah

Memberikan informasi ilmiah tentang pengobatan herbal, pada ibu nifas atau wanita yang mengalami mastitis, serta dapat digunakan sebagai bahan masukan pengetahuan dan informasi pengembangan bagi penelitian selanjutnya.

##### 2. Kegunaan Praktis

Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L) Urban*) diharapkan menjadi salah satu terapi komplementer sebagai antiinflamasi yang diakibatkan oleh mastitis, suplemen pendamping untuk terapi mastitis.

#### **E. Definisi dan Istilah**

1. Abses payudara : Peradangan (bengkak, merah) dan bernanah yang di sebabkan oleh bakteri
2. Anti-inflamasi : Obat yang menghilangkan radang disebabkan bukan karena mikroorganisme (non infeksi)
3. Flavonoid : Senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon umumnya tersebar di dunia tumbuhan
4. IL 6 : Interleukin berfungsi sebagai sitokin pro-inflamasi dan miokin anti-inflamasi
5. Makrofag : Sel pada jaringan berasal dari sel darah putih yang membersihkan tubuh dari partikel mikroskopis, tidak diinginkan seperti bakteri dan sel mati.

6. Mammae : Payudara
7. Patogen : agen biologis menyebabkan penyakit pada inangnya
8. Respon imun : respon tubuh berupa suatu urutan kejadian yang kompleks terhadap antigen untuk mengeliminasi antigen tersebut
9. Sitokin : Suatu molekul protein dikeluarkan oleh sel ketika diaktifkan oleh antigen
10. Sitokin pro-inflamasi : Protein memberikan sinyal kepada sistem imun untuk bekerja lebih keras.

#### **F. Ruang Lingkup**

Adapun ruang lingkup dari penelitian ini adalah :

- 1) Subjek dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban).
- 2) Objek penelitian ini adalah kadar sitokin pro-inflamasi khususnya IL-6 pada tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*

#### **G. Sistematika**

Secara garis besar pembahasan pada penelitian ini terbagi dalam beberapa bagian, antara lain :

BAB I : Pendahuluan, latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, manfaat penelitian, lingkup penelitian, dan sistematika.

BAB II : Tinjauan pustaka, kerangka teori, kerangka konsep, hipotesis dan definisi operasional.

BAB III : Metode penelitian dikemukakan mengenai jenis penelitian, lokasi dan waktu penelitian, populasi dan sampel , jenis data dan sumber data, teknik pengumpulan data dan teknik analisa data.

BAB IV : Hasil penelitian dan pembahasan

BAB V : Kesimpulan dan saran.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Tentang Mastitis**

Mastitis adalah melemahkan kondisi akut yang terjadi pada sekitar 20% wanita menyusui disebabkan oleh infeksi mikroba (*Staphylococcus aureus* penyebab utama selama laktasi (Amir *et al.* 2014; Mengyao *et al.* 2013; Lai *et al.* 2017). Mastitis heifer adalah penyakit yang berpotensi mengancam produksi dan kesehatan ambing pada laktasi pertama dan selanjutnya (Vlieghe *et al.* 2012; Elliman *et al.* 2012).

Mastitis merupakan suatu kondisi peradangan yang terjadi pada payudara yang ditandai dengan daerah payudara bengkak, merah dan panas yang terjadi karena infeksi bakteri maupun non infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu bakteri bersifat gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Dua penyebab utama mastitis adalah stasis ASI dan infeksi. Stasis ASI biasanya merupakan penyebab primer, yang dapat disertai atau berkembang menjadi infeksi (Amir, 2014; Jawetz, 2013)

Mastitis dibagi menjadi infeksi klinis dan sub klinis. Infeksi klinis disebabkan oleh kelenjar meradang, penurunan produksi susu, dan meningkatkan konduktifitas. Infeksi sub klinis ketika kelenjar memiliki SCC>6.0 sel/ml, tanpa bakteri *Staphylococcus aureus* (patogen dominan pada abses payudara pascapartum) (Leitner *et al.* 2018; Elliman *et al.* 2012). Ibu yang mengalami mastitis biasanya akan memberhentikan

sementara pemberian ASI, padahal hisapan bayi sangat membantu membersihkan infeksi di samping pemberian antibiotic diberbagai terapi (Amir *et al.* 2014).

## 1. Patofisiologi

Terjadinya mastitis diawali peningkatan tekanan di dalam duktus (saluran ASI) bila asi tidak segera dikeluarkan maka terjadi tegangan alveoli berlebihan dan mengakibatkan sel epitel yang memproduksi ASI menjadi datar dan tertekan, sehingga permeabilitas jaringan ikat meningkat. Beberapa komponen (terutama protein kekebalan tubuh dan natrium) dari plasma masuk ke dalam ASI dan selanjutnya ke jaringan sekitar sel sehingga memicu respons imun, serta adanya respons inflamasi, dan kerusakan jaringan memudahkan terjadinya infeksi.

Terdapat beberapa cara masuknya kuman yaitu melalui duktus laktiferus ke lobus sekresi, melalui puting yang retak ke kelenjar limfe sekitar duktus (periduktal) atau melalui penyebaran hematogen (pembuluh darah). Organisme yang paling sering adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherecia coli* dan *Streptococcus* (Alasiry E, 2013).

## 2. Gejala klinis

Mastitis biasanya muncul secara tiba-tiba terasa sangat menyakitkan. Biasanya hanya mempengaruhi satu payudara dan bahkan ibu merasakan satu atau lebih benjolan pada payudara:

Adapun faktor resiko terjadinya mastitis sebagai berikut:

- a. Retaknya puting payudara merupakan mediator terpaparnya mikroorganisme. Mikroorganisme kadang ditemui pada puting payudara dan kultur ASI adalah bakteri *staphylococcus aureus*.
  - b. Payudara membesar
  - c. Kelebihan produksi ASI
  - d. Kurangnya menyusui
  - e. ASI keluar setelah lebih dari 24 jam setelah pascapersalinan
  - f. Penggunaan pompa ASI
  - g. Riwayat mastitis sebelumnya dalam keluarga
  - h. Usia ibu, dimana wanita usia muda lebih berisiko terkena mastitis.
  - i. Paritas
3. Penatalaksanaan dan Pengobatan

- a. Pemberian ASI yang efektif

Pendekatan alternatif untuk payudara bengkak adalah mobilisasi cairan, bertujuan untuk mendorong cairan kelenjar getah bening aksila. Caranya, ibu bersandar dan gerakan tangan lembut mulai memijat kulit dari areola ke aksila (Bolman *et al.* 2013).

- b. Tata laksana suportif

Hal yang perlu diperhatikan adalah ibu harus beristirahat, mengonsumsi cairan yang adekuat dan nutrisi seimbang. Anggota keluarga lain perlu membantu ibu di rumah agar ibu dapat beristirahat. Kompres hangat saat menyusui akan membantu

mengalirkan ASI. Setelah menyusui atau memerah ASI, kompres dingin dapat dipakai untuk mengurangi nyeri dan bengkak (Bolman *et al.* 2013).

c. Penggunaan obat-obatan

Meskipun ibu menyusui sering enggan mengonsumsi obat, ibu dengan mastitis dianjurkan mengonsumsi beberapa obat sesuai indikasi:

1) Analgesik

Parasetamol dianggap aman digunakan oleh ibu menyusui. Dengan dosis maksimum 4 gram/24 jam. NSAID (Non-steroid anti-inflammatory drugs) seperti ibu profen efektif dalam mengurangi gejala yang berhubungan dengan peradangan.

2) Antibiotik

Sebuah penelitian memperlihatkan bahwa pemberian antibiotik disertai pengosongan payudara pada mastitis mempercepat penyembuhan bila dibandingkan dengan pengosongan payudara saja (Bolman *et al.* 2013).

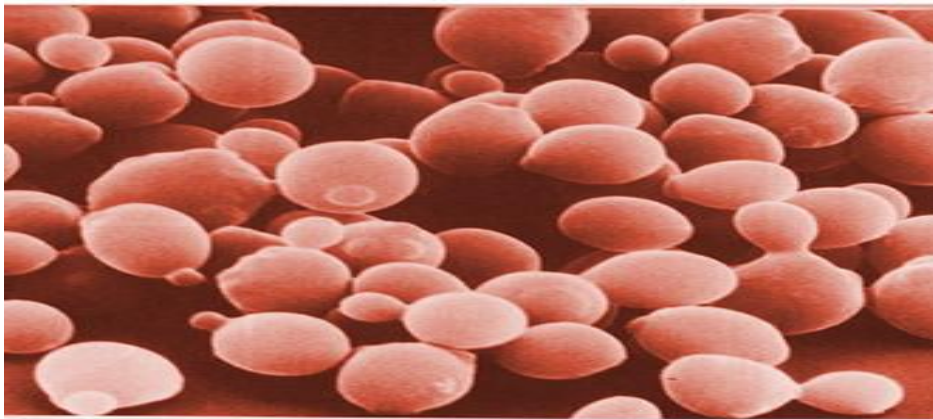
## **B. Tinjauan tentang *Staphylococcus Aureus***

*Staphylococcus aureus* adalah mikroorganisme etiologi utama yang bertanggung jawab untuk kedua mastitis yaitu klinis dan sub klinis (Mengyao *et al.* 2013).

## 1. Klasifikasi

Tabel 1. Taksonomi bakteri *Staphylococcus aureus*

Taksonomi	
Kingdom	<i>Monera</i>
Class	<i>Bacilli</i>
Order	<i>Bacillales</i>
Family	<i>Staphylococcaceae</i>
Genus	<i>Staphylococcus</i>
Species	<i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 1. *Staphylococcus aureus* yang dilihat dari mikroskop elektron.  
Sumber : Berg *et al.*,(2013)

## 2. Sifat kultur

*Staphylococcus aureus* dapat tumbuh di berbagai media dan berkembang biak dengan cara pembelahan biner, dimana dua anakan sel tidak terpisah secara sempurna sehingga terlihat seperti membentuk koloni kluster seperti anggur. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik pada media bakteriologi dengan suasana aerobik atau mikroaerofilik pada suhu 20-35°C. *Staphylococcus aureus* memiliki 4 karakteristik, yaitu faktor virulensi menyebabkan



penyakit yang berat pada individu normal, faktor diferensiasi menyebabkan penyakit berbeda pada sisi atau tempat berbeda, faktor persisten bakteri pada lingkungan faktor resistensi terhadap berbagai antibiotik (Brooks *et al.* 2007; Berg *et al.* 2013).

### 3. Faktor Virulensi

*Staphylococcus aureus* membuat tiga macam metabolit, yaitu yang bersifat *nontoksin*, *eksotoksin*, dan *enterotoksin*. Metabolit *nontoksin* antara lain adalah antigen permukaan, *koagulase*, *hialuronidase*, *fibrinolisin*, *gelatinosa*, *protease*, *lipase*, *tributirinase*, *fosfatase*, dan *katalase*. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, sebagai berikut:

#### a. *Katalase*

*Katalase* adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus*.

#### b. *Koagulase*

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma *oksalat* atau plasma *sitrat*, karena adanya faktor *koagulase* reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. *Esterase* yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk

*depositfibrin* pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat *fagositosis*.

c. *Leukosidin*

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis.

d. *Toksin eksfoliatif*

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks *mukopolisakarida epidermis*, sehingga menyebabkan pemisahan *intraepithelial* pada ikatan sel *distratum granulosum*. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *staphylococcus Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit.

e. *TSST (Toksin Sindrom Syok Toksik)*

Sebagian besar galur *S. aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh.

f. *Enterotoksin*

Enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus.

g. Hemolisin

Hemolisin Merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri (Jawetz, 2005).

### C. Tinjauan tentang Interleukin

Interleukin merupakan kelompok sitokin (disekresi hormon) yang pertama kali diekspresikan oleh sel darah putih (leukosit). Sitokin adalah protein kecil awalnya dianggap komponen dari sistem kekebalan tubuh, tetapi sejak ditemukan untuk memainkan peran yang lebih luas dalam fisiologi. Interleukin mempromosikan pengembangan dan diferensiasi T, B, dan sel-sel hematopoietik. Peran interleukin didasarkan pada sinyal dari beberapa jenis sel yang berbeda, mereka berinteraksi untuk mengontrol sistem kekebalan tubuh (Hirano, 2010).

Interleukin 6 merupakan sitokin yang memprovokasi efek seluler dan respon fisiologis yang luas, IL-6 berfungsi dalam imunitas nonspesifik dan spesifik, diproduksi fagosit monoculer, sel endotel vasculer, vibroblast dan sel lain sebagai respon terhadap mikroba dan sitokin lain (Baratawidjaja, 2012). IL-6 merupakan sitokin proinflamasi berperang penting dalam maturasi dan aktifasi neutrofil, maturasi makrofag, serta diferensiasi dari limfosit T sitotoksik dan sel NK, terlibat dalam mekanisme kekebalan tubuh serta modulasi pertumbuhan dan defensi dalam berbagai keganasan dimana sitokin dan reseptor merupakan kelas polipeptida yang memediasi proses inflamasi (Verri *et al.* 2006).

Respon inflamasi memainkan peran utama dalam membentuk lingkungan mikro dari kedua cedera, tumor dan interaksi kompleks antara komponen seluler dalam lingkungan yang mempengaruhi patofisiologi. Lingkungan mikro jenis tumor seperti kanker payudara dan glioma bermutu tinggi ditandai dengan populasi padat makrofag. Makrofag tumor terkait (TAM) mempromosikan perkembangan tumor dengan merangsang angiogenesis, merangsang invasi sel tumor dan metastasis, berunding sifat chemoresistant ke sel-sel tumor. Makrofag juga memainkan peran penting dalam penyembuhan luka normal dan memperbaiki jaringan (Anton *et al.* 2012).

Imunitas didefinisikan sebagai pertahanan terhadap penyakit, terutama penyakit infeksi. Komponen utama sistem imun adalah sangat bermanfaat untuk meringkas sifat-sifat kunci respons imun terhadap mikroba. Terdapat dua mekanisme utama sistem imun alami menghadapi mikroba, yaitu peradangan (inflamasi) serta mekanisme anti viral.

- a. Peradangan, yang dipicu oleh semua kelas mikroba adalah pengerahan leukosit dari sirkulasi darah (misalnya fagosit dan limfosit) dan berbagai protein plasma (misalnya: komplemen, antibodi, fibrinogen) kelokasi infeksi, dimana mereka melakukan fungsi mereka yaitu menghancurkan mikroba dan memperbaiki jaringan yang rusak.
- b. Mekanisme anti viral menyebabkan sel inang menjadi tidak bersahabat terhadap infeksi firus serta reproduksinya.

Respons imun alamiah mencegah terjadinya infeksi di jaringan atau darah. Untuk menjaga kesiap-siagaan tersebut sistem imun alami memenuhi semua jaringan dengan sel-sel sentinel, termasuk makrofag, sel dendritik dan sel mast, yang mengekspresikan berbagai molekul permukaan dan intraseluler yang mengenali ribuan pola yang sama dari berbagai kelas mikroba misalnya dinding sel bakteri, atau asam nukleat virus. Sistem imun alami juga mengenal dan merespon sel mati atau rusak, keadaan cedera mungkin menjadi tempat dimana mikroba dapat masuk dan berkembang. Serta dapat memperbaiki penyembuhan jaringan yang rusak serta mengembalikan struktur dan fungsinya seperti semula. Respon imun adaptif menggunakan strategi berikut ini untuk memerangi sebagian besar mikroba:

- a. Antibodi yang disekresi akan mengikat mikroba ekstraseluler, menghambat kemampuan mereka untuk menginfeksi sel inang, dan merangsang penelanan serta penghancuran oleh fagosit.
- b. Fagosit menelan mikroba dan membunuh mereka dan sel T *helper* memperkuat kemampuan mikrobisidal fagosit.
- c. Sel T *helper* mengerahkan leukosit untuk menghancurkan mikroba dan meningkatkan fungsi pertahanan epitel untuk mencegah masuknya mikroba.
- d. Limfosit T sitotoksik membunuh sel yang terinfeksi mikroba.

Imunitas seluler (cell-mediated immunity) aktivasi limfosit T dan eliminasi mikroba yang terkait sel. Ketika diaktifkan oleh antigen dan konstimulator di organ limfoid, sel T naif mensekresi sitokin yang berfungsi sebagai faktor pertumbuhan dan respon pada sitokin lain disekresikan oleh sel dendritik. Kombinasi sinyal (antigen, konstimulasi dan sitokin) merangsang proliferasi sel T dan diferensiasinya menjadi sel T efektor. Sel-sel efektor ini diaktifkan oleh antigen di tempat infeksi dan melakukan fungsinya untuk memberantas mikroba.

Imunitas humoral : Aktifasi limfosit B dan eliminasi mikroba ekstra seluler. Setelah diaktivasi, limfosit B berproliferasi dan kemudian berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mengeluarkan berbagai macam kelas antibodi dengan fungsi yang berbeda. Antigen protein biasanya terlibat dan tidak mengandung banyak epitop yang identik, sehingga mereka tidak mampu mengikat secara bersamaan kebanyakan reseptor antigen, sehingga respon penuh sel B untuk antigen protein membutuhkan bantuan dari sel T CD4+. Sel B menelan antigen protein, menghancurkannya, dan menyajikan peptide yang terikat dengan molekul MHC untuk dikenali dan aktifasi sel T *helper*. Sel T helper kemudian menekspresikan sitokin dan protein permukaan sel, yang bekerja sama untuk mengaktifkan sel B (Abbas, 2017).

#### D. Tinjauan tentang Daun Pegagan

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) merupakan tanaman liar yang dapat tumbuh diladang, perkebunan maupun dipekarangan. Biasanya tumbuh pada tanah yang lembab dan cukup sinar matahari. Tanaman ini dikenal memiliki antiinflamasi atau efek terapi pada penyakit seperti kusta, TBC kulit dan penyembuhan luka artritis dan tekanan darah (Dorni *et al.* 2017; Bibi *et al.* 2011).

##### 1. Klasifikasi tanaman daun pegagan

Tabel 2. Pegagan diklasifikasikan sebagai berikut :

Kindom	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Magnolyophyta</i>
Kelas	<i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	<i>Umbellales</i>
Suku	<i>Umbelliferae</i>
Marga	<i>Centella</i>
Jenis	<i>Centella asiatica</i> (L).Urban



Gambar 2. Daun Pegagan (*Centella Asiatica* (L). Urban)  
(Bolman et al. 2013).

Tanaman pegagan mudah tumbuh dan mempunyai daya adaptasi yang luas. Pegagan tumbuh baik pada tanah yang agak lembap, tetapi cukup sinar matahari atau agak terlindung. Pegagan tumbuh optimun di dataran medium pada ketinggian sekitar 700 m dpl, namun juga mampu tumbuh di daerah tinggi hingga 2.500 m dpl. Secara empiris tanaman pegagan mempunyai syarat tumbuh spesifik dalam hal kebutuhan cahaya matahari, yang akan memengaruhi bentuk morfologi daun dan kandungan bioaktif. (Sutardi, 2016).

## 2. Kandungan bahan bioaktif

Triterpenoid merupakan senyawa paling penting dalam tanaman pegagan. Triterpenoid berfungsi meningkatkan fungsi mental dan memberi efek menenangkan. Senyawa ini juga dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga memperlancar peredaran darah menuju otak. Asiatikosida merupakan bagian dari triterpenoid berfungsi menguatkan sel-sel kulit dan meningkatkan perbaikannya, menstimulasi sel darah dan sistem imun, dan sebagai antibiotik alami (Sutardi, 2016; James et al. 2013). Kandungan bahan aktif yang



terpenting adalah triterpenoid dan saponin, yang meliputi: 1) asiatikosida, 2) sentelosida, 3) madekosida, dan 4) asam asiatik serta komponen lain seperti minyak volatil, flavonoid, tanin, fitosterol, asam amino, dan karbohidra. tanaman ini dimanfaatkan sebagai obat anti pikun, anti stress, penyembuhan luka, radang, wasir, tuberkolosis, lepra, disentri, demam, penambah selera makan, memperlancar sirkulasi darah, mengobati sakit kulit, antioksidan, antikanker, lupus, keloid, dan antihipertensi (Chandrika *et al.* 2011).

### 3. Sistem imun dan pengaruh komponen bioaktif

Sistem imun adalah suatu sistem dalam tubuh terdiri atas sel-sel penghasil senyawa tertentu dan senyawa tersebut bekerja secara kolektif dan terkoordinasi melawan benda asing seperti kuman penyakit atau racun yang masuk ke dalam tubuh. Beberapa komponen bioaktif pegagan sebagai antioksidan triterpenoid saponin berfungsi meningkatkan aktivasi makrofag yang meningkatkan fagositosis dan sekresi interleukin.

Bioaktif flavonoid, tanin, steroid, dan glikosida berkasiat untuk kesehatan sebagai metabolit sekunder, triterpenoid glikosida termasuk golongan steroid yang merupakan bahan baku sintesis hormon testosteron, melaporkan bahwa triterpenoid glikosida menghambat enzim yang mengkatalis konversi androgen menjadi estrogen sehingga konsentrasi hormon testosteron meningkat.

### E. Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan pengerat, sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian, karena mewakili dari kelas mamalia, kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, system reproduksi, pernapasan, peredaran darah, ekskresi menyerupai manusia (Wolfensohn dan Lloyd, 2013).

Tabel 3. Taksonomi tikus putih

Taksonomi	
Kingdom	Animalia
Filum	Chordata
Sub filum	Vertebrata
Kelas	Mamalia
Sub kelas	Theria
Ordo	Rodentia
Subordo	Muridae
Family	Muridae
Genus	Rattus
Spesies	Rattus Norvegicus L.

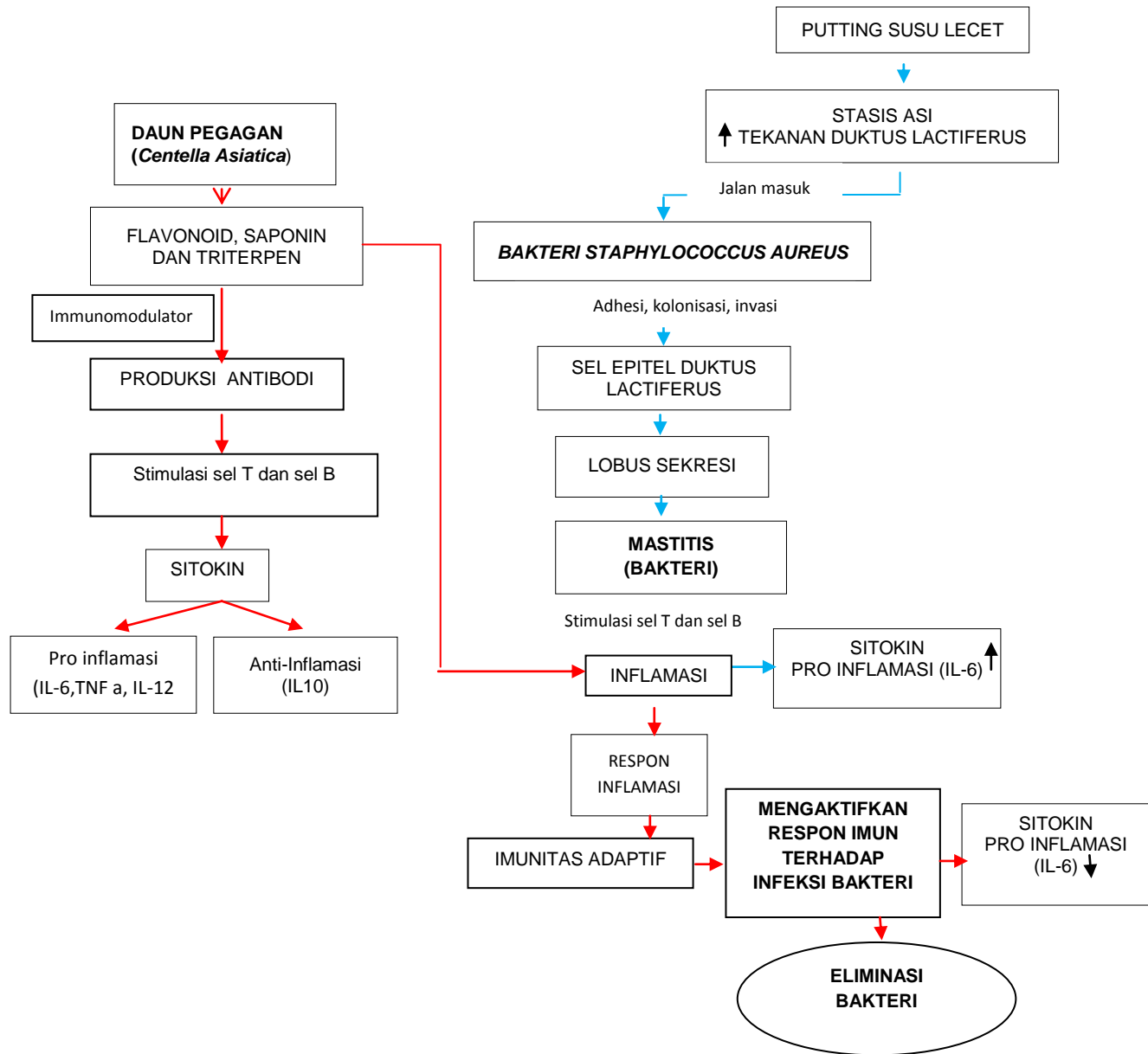
Tikus galur *Sprague dawley* paling sering digunakan sebagai hewan percobaan karena memiliki berbagai sifat menguntungkan, seperti :

- a. Cepat berkembang baik
- b. Mudah dipelihara dalam jumlah banyak
- c. Lebih tenang, dan ukurannya lebih besar dari pada mencit
- d. Pola makan omnivora seperti manusia
- e. Memiliki saluran pencernaan dengan tipe monogastrik seperti manusia

- f. Kebutuhan nutrisi menyerupai manusia
- g. Mudah diberi makan per oral dan tidak mengalami muntah karena tikus ini tidak memiliki kantung empedu (Wolfensohn dan Lloyd, 2013).

Tikus hewan percobaan dilaboratorium yang paling umum digunakan adalah tikus Norwegia yang telah berevolusi menjadi *Rattus norvegicus* yang umumnya memiliki ciri-ciri albino, kepala kecil dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya buruk, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap perlakuan. Ekor tikus menjadi bagian badan yang paling penting untuk mengurangi panas tubuh. Mekanisme perlindungan lain adalah tikus akan mengeluarkan banyak ludah dan menutupi bulunya dengan ludah tersebut (Wolfensohn dan Lloyd, 2013).

### F. KerangkaTeori

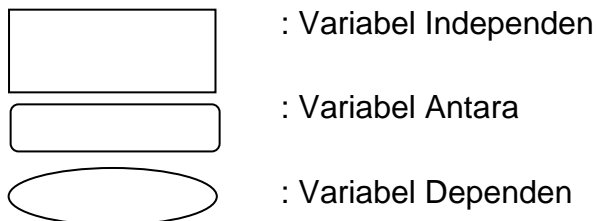


Sumber : Alasiry, 2012; Hashim et al. 2011; Anasari dan Sumarni, 2014; Leitner et al. 2018; Zarshenas et al. 2017

## G. Kerangka Konsep



### Keterangan :



## H. Hipotesis

Ekstrak daun pegagan (*Centella Asiatica* (L) Urban) dapat menurunkan kadar IL-6 pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

## I. Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

### 1. Efektivitas

Efektivitas ditandai dengan menurunnya kadar IL-6 setelah pemberian ekstrak daun pegagan.

Cara ukur : Melihat hasil akhir pengukuran kadar IL-6 setelah perlakuan.

## 2. Mastitis

Mastitis merupakan peradangan payudara yang terjadi pada salah satu payudara tikus *Sprague dawley* yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Cara ukur : Melihat tanda inflamasi:

## 3. Ekstrak daun pegagan

Ekstrak yang diperoleh dari kab. Wajo diolah dengan metode maserasi dan dilarutkan menggunakan etanol 70%.

## 4. Kadar IL-6

Kadar sitokin IL-6 adalah sitokin pro-inflamasi, kadarnya meningkat sebagai penanda inflamasi.

Alat ukur : Diukur dengan metode elisa

Satuan yang digunakan : pg/ml

Skala pengukuran : Rasio

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah True Experiment atau eksperimen murni yaitu percobaan pada laboratorium, dengan rancangan post test Only Control Group Design. Kelompok dibagi menjadi 4 yaitu: kelompok I (kontrol negatif) diberi Na. CMC 0,5%, kelompok II (kontrol positif) diberi antibiotik Cefadroxil, kelompok III diberi ekstrak daun pegagan, dan kelompok IV diberi ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### 1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada empat tempat yaitu sebagai berikut:

- a. Laboratorium Mikrobiologi RSP Universitas Hasanuddin untuk pengukuran kadar IL-6 dan pembiakan bakteri.
- b. Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk proses adaptasi tikus sampai dengan akhir perlakuan.
- c. Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia untuk melakukan pengeringan dan ekstraksi tanaman.

d. Laboratorium Biofarmaka Unhas untuk penguapan ekstrak pegagan

## 2. Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2019.

### **C. Populasi dan teknik sampel**

#### 1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan berat badan 200-250 gram sebanyak 20 ekor di Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

#### 2. Teknik Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus strain *Sprague dawley* dengan berat 200-250 gram sebanyak 20 ekor. Dengan pengambilan Teknik *Non-Probability Sampling* yaitu secara *Quota Sampling* dengan menentukan sampel dari populasi yang mempunyai ciri-ciri tertentu sampai jumlah (kuota) yang diinginkan sesuai standar WHO (*World Healths Organization*) yaitu minimal 5 (lima) ekor tikus strain *sprague dawley* pada masing-masing kelompok. Tikus dipelihara di Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin selama 7 hari agar kondisi fisik dan psikis tikus stabil dalam ruangan dengan sirkulasi udara cukup dan dipertahankan pada



suhu ruangan dengan kondisi standar. Lampu ruangan dengan siklus 12 jam menyala dan 12 jam dipadamkan. Selama pemeliharaan tikus diberikan makan diet standar dan diberi minum secukupnya secara *ad libitum*. Berikut kriteria sampel:

Kriteria Inklusi :

- a. Tikus *Sprague dawley* betina
- b. Umur 3-4 bulan.
- c. Sehat dan aktif.
- d. Berat badan 200-250 gram.

Kriteria eksklusi :

- a. Tikus sakit atau mati saat penelitian berlangsung
- b. Tikus hamil

#### **D. Teknik Pengumpulan Data**

##### 1. Bahan dan peralatan

a. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1) ELISA
- 2) Timbangan digital
- 3) Kandang tikus
- 4) Sarung tangan
- 5) Mikropipet dan spoit 1 mL

b. Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:

- 1) Ekstrak daun pegagan

- 2) Tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley* betina dewasa, berat badan 200-250 gram
- 3) Makanan hewan (pallet)
- 4) Aqua pro injeksion
- 5) Antibiotik Cefadroxil @500 mg, sebanyak 5 butir
- 6) Bakteri *Staphylococcus aureus* di peroleh di Lab Mikrobiologi RSP Universitas Hasanuddin yang telah di biakkan dan diinduksi dengan jumlah  $2 \times 10^7$  CFU/ml

## 2. Protokol penelitian

### a. Ekstraksi

Daun pegagan diperoleh dari Kabupaten Wajo sebanyak 1 kg daun segar, kemudian dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan air mengalir lalu sampel dipotong-potong kecil, lalu dikeringkan menggunakan *herb dryer* hingga mengandung kadar air dibawah 10 %, setelah itu daun pegagan diayak dengan ukuran mesh 40 sehingga didapatkan sampel simplisia.

Simplisia yang diperoleh di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pada proses maserasi terlebih dahulu sampel dibasahkan dengan etanol 70% hingga terendam sepenuhnya selama 15 menit, setelah itu dicukupkan lagi menjadi 2 liter dengan etanol 70% pada suhu ruang selama 3 x 24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian

diuapkan dengan menggunakan rotavapor hingga mengental, kemudian dikeringkan dengan bantuan penangas air. Ekstrak kental yang dihasilkan dimasukkan ke dalam cawan porselen dan ditimbang bobot ekstrak.

b. Uji kualitatif ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L) Urban*)

1. Uji alkaloid

Pada pengujian alkaloid, ekstrak daun pegagan sebanyak 0,5 gram ditambahkan 2 ml etanol 70% kemudian ditambahkan HCl2N 5 ml dan dipanaskan, hal ini bertujuan untuk menghilangkan protein dimana protein ini dapat memberikan hasil positif palsu dalam pengujian. Selanjutnya ditetaskan pereaksi Dragendorff yang ditandai dengan adanya endapan yang disebabkan karena adanya ikatan antara nitrogen pada alkaloid dengan pereaksi.

2. Uji flavonoid

Ekstrak daun pegagan 0,5 gram ditambahkan 2 ml etanol 70% dan kemudian ditambahkan MgSO<sub>4</sub> 0,5 gram dan 3 tetes HCl pekat. Flavonoid di tunjukkan dengan terbentuknya warna merah-orange, karena adanya reaksi antara flavonoid dengan magnesium dan asam klorida pekat.

3. Uji Steroid/Terpenoid

Pada uji steroid, ekstrak daun pegagan 0,5 gram ditambahkan etanol 70% 2 ml ditambahkan 2 ml kloroform dan 2

ml  $H_2SO_4$  yang ditambahkan pada dinding tabung reaksi. Terbentuknya cincin warna merah menunjukkan adanya steroid.

#### 4. Uji Saponin

Pada uji saponin, ekstrak daun pegagan sebanyak 0,5 gram ditambahkan 2 ml etanol 70% kemudian ditambahkan 2 ml aquades lalu dikocok dan didiamkan selama 15-20 menit, kemudian diamati apakah terbentuk busa. Hasil positif jika terbentuk busa yang mantap selama 10 menit dan tidak hilang setelah ditetesi dengan  $HCl$  1 tetes.

#### 5. Uji Tanin

Pada pengujian tanin, ekstrak daun pegagan sebanyak 0,5 gram ditambahkan etanol 70% 2 ml kemudian ditetaskan  $FeCl_3$  3 tetes dan akan terbentuk warna biru, hijau, atau terdapat endapan. Perubahan warna dapat terjadi karena adanya reaksi antara senyawa hidroksil pada tanin dengan pereaksi (Hapsari, 2017).

#### c. Perlakuan pada subjek penelitian

Tikus dipelihara di Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Uji coba dilakukan berdasarkan uji coba *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicine* sesuai dengan standar WHO yaitu minimal 5 ekor. Tikus *Sprague dawley* terdiri 20 ekor dibagi menjadi 4 kelompok, dilakukan sesuai dengan panduan

penggunaan dan perawatan hewan laboratorium dan telah mendapat izin dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Unhas Makassar.

Tikus betina *Sprague dawley* sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 4 kelompok secara random, diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*  $2 \times 10^7$  CFU/ml, 1x24 jam, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dengan pembagian kelompok sebagai berikut :

- 1) Kelompok I (kontrol negatif) : Suspensi Na. CMC 0,5% 4 ml/grBB.
  - 2) Kelompok II (kontrol positif) : Pemberian antibiotik Cefadroxil 45 mg/kgBB.
  - 3) Kelompok II : Pemberian ekstrak daun pegagan 100 mg/kgBB.
  - 4) Kelompok III : Pemberian ekstrak daun pegagan 100 mg/kgBB kombinasi antibiotik Cefadroxil 45 mg/kgBB.
- d. Uji Efektivitas ELISA daun pegagan terhadap kadar IL-6

Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan dengan metode R & D system Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Rat untuk mengukur kadar IL-6. Sebelumnya, dilakukan pengambilan sampel darah tikus pada hari ke-4 dan hari ke-7 setelah perlakuan pemberian ekstrak daun pegagan. Penyimpanan spesimen plasma menggunakan EDTA, kemudian dilakukan centrifuge dengan kecepatan 2000-3000 RPM selama

15 menit, kemudian antibody monoklonal spesifik IL-6 telah dicoated dalam mikroplate. Sampel dan standar dihisap menggunakan pipit ke dalam well, dan keberadaan sitokin IL-6 akan disandwich (dipasangkan) oleh immobilized antibody t dalam well. Setelah dilakukan pencucian untuk menghilangkan substansi-substansi yang tidak terikat, kemudian ditambahkan enzym-linked polyclonal antibody yang spesifik terhadap IL-6. Kemudian setelah dilakukan pencucian kembali untuk menghilangkan reagen antibodi enzyme yang tidak berikatan, selanjutnya larutan substrate ditambahkan ke dalam well dan kemudian terbentuklah warna yang sebanding dengan jumlah IL-6 yang terikat. Pembentukan warna dihentikan dan kemudian intensitas warna diukur. Berikut Tahap yang dilakukan adalah :

- 1) Menyiapkan reagen, standar kerja, kontrol, dan sampel seperti yang diarahkan pada bagian sebelumnya.
- 2) Menghilangkan kelebihan strip lempeng dari frame piring, mengembalikan mereka ke kantong foil yang berisi paket pengering, dan reseal.
- 3) Menambahkan 50  $\mu$ L assay pengencer untuk masing-masing dengan baik.
- 4) Menambahkan 50  $\mu$ L standard, control, atau sampel masing-masing dengan baik, campur dengan menekan lembut frame

piring untuk 1 menit. Menutup dengan setrip perekat yang disediakan. Inkubasi selama 2 jam pada suhu kamar.

- 5) Mengaspirasi masing-masing dengan baik dan mencuci, mengulangi proses empat kali untuk total lima mencuci. Mencuci dengan mengisi masing-masing dengan baik dengan Wash Buffer (400  $\mu$ L) menggunakan botol semprot, dispenser manifold, atau autowasher. Penghapusan lengkap cair pada setiap langkah sangat penting untuk kinerja yang baik. Setelah mencuci terakhir, menghilangkan sisa Wash Buffer oleh aspirating atau dengan membalik piring dan blotting melawan handuk kertas yang bersih.
- 6) Menambahkan 100  $\mu$ L Rat IL-6 Conjugate untuk masing-masing dengan baik. Tutup dengan strip perekat baru. Inkubasi selama 2 jam pada suhu kamar.
- 7) Mengulangi aspirasi / mencuci seperti pada langkah 5.
- 8) Menambahkan 100  $\mu$ L substrat solusi untuk masing masing dengan baik. Inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Lindungi dari cahaya.
- 9) Menambahkan 100  $\mu$ L stop solution untuk setiap baik. Tekan dengan lembut piring untuk memastikan menyeluruh pencampuran.
- 10) Menentukan kepadatan optik masing-masing dengan baik dalam waktu 30 menit, menggunakan microplate reader set ke

450 nm. Jika koreksi panjang gelombang tersedia, set ke 540 nm atau 570 nm. Jika koreksi panjang gelombang tidak tersedia, kurangi pembacaan pada 540 nm atau 570 nm dari pembacaan pada 450 nm. Pengurangan ini akan mengoreksi ketidak sempurnaan optik dipiring. Pembacaan dilakukan secara langsung di 450 nm tanpa koreksi mungkin lebih tinggi dan kurang akurat.

### **E. Etika Penelitian**

Dalam hal memanfaatkan hewan percobaan untuk penelitian kesehatan digunakan prinsip 3R, yaitu: replacement, reduction dan refinement.

#### **1. Replacement**

Ada dua alternatif untuk replacement, yaitu:

- a. Replacement relatif, yaitu tetap memanfaatkan hewan percobaan sebagai donor organ, jaringan, atau sel.
- b. Replacement absolut, yaitu tidak memerlukan bahan dari hewan, melainkan memanfaatkan galur sel (cell lines) atau program komputer.

#### **2. Reduction**

Mengurangi pemanfaatan jumlah hewan percobaan sehingga sesedikit mungkin dengan bantuan ilmu statistik, program komputer,



dan teknik-teknik biokimia serta tidak mengulangi penelitian dengan hewan percobaan apabila tidak perlu.

### 3. Refinement

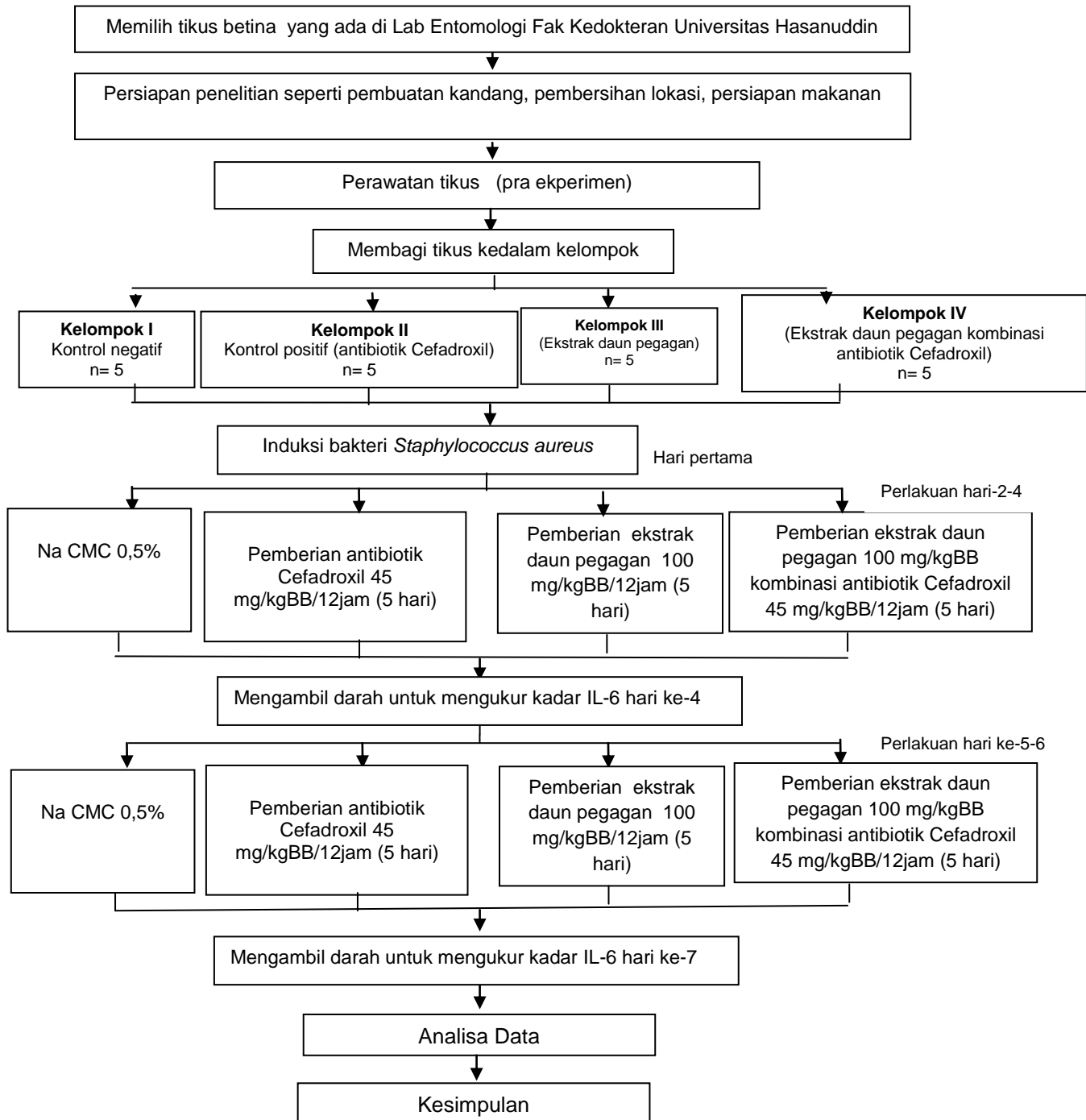
Mengurangi ketidaknyamanan yang diderita oleh hewan percobaan sebelum, selama, dan setelah penelitian, misalnya dengan pemberian analgetik.

## F. Analisis data

Data diolah dan dianalisis dengan bantuan komputer. Efek pemberian ekstrak daun pegagan kadar IL-6 ditampilkan dalam bentuk  $\text{mean} \pm$  (standar deviasi) dengan confidence interval (95% CI). Apabila data terdistribusi normal dilakukan Uji Paired samples T tes untuk melihat perbedaan kadar IL-6 pada kelompok I (kontrol negatif), kelompok II (kontrol positif) diberi antibiotik Cefadroxil, kelompok III (diberi ekstrak daun pegagan), kelompok IV (diberi ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil). Selain itu, Uji *One Way ANOVA* juga dilakukan untuk melihat perbedaan kadar IL-6 antar kelompok dan dilanjutkan dengan analisis *post hoc* LSD.

## G. Alur Penelitian

Alur Penelitian ini adalah sebagai berikut:



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### a. Uji Kualitatif Ekstrak Daun Pegagan

Hasil uji fitokimia ekstrak daun pegagan secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit yang terdapat didalam ekstrak daun pegagan. Berdasarkan hasil uji tersebut diperoleh kandungan senyawa daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) yaitu Alkaloid, Flavonoid, Steroid, Saponin dan Tanin (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil uji fitokimia kandungan senyawa daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)

No.	Senyawa fitokimia	Pengujian	Hasil	Pustaka (Sugianto I.S., Subandi, dan Munthalib, 2012)	Keterangan
1	Alkaloid	Dragendorff	Terbentuk warna biru dan endapan	Ditunjukkan dengan adanya perubahan warna biru dan terdapat endapan	+
2	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Terbentuk warna hijau dan endapan	Ditunjukkan dengan adanya perubahan warna kehijauan dan terdapat endapan	+
3	Saponin	Dikocok	Terbentuk busa	Ditunjukkan dengan terbentuk busa selama 30 menit	+
4	Steroid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk cincin merah	Ditunjukkan dengan terbentuk cincin merah	+
5	Flavonoid	MgSO <sub>4</sub>	Terbentuk warna merah orange	Ditunjukkan dengan adanya perubahan warna kekuningan, merah atau orange	+

Sumber : Data Primer 2019

Keterangan: +(positif) Ada indikasi senyawa bioaktif

b. Karakteristik Tikus *Sprague dawley*

Tikus *Sprague dawley* bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga tebal dan pendek, rambut halus, mata berwarna merah dan ekornya lebih panjang dari tubuhnya, lama hidup berkisar antara 4 – 5 tahun dengan bobot badan tikus umur dua belas minggu mencapai 200 gram (Fauziyah, 2016). (Tabel 5).

Tabel 5. Rerata berat badan tikus pada masing-masing kelompok

Kelompok Perlakuan	Rerata $\pm$ SD	(Min-Maks)	Nilai $\rho$
Kelompok I (Kontrol negatif)	228 $\pm$ 22	200 - 250	0,943
Kelompok II (Kontrol positif) (Antibiotik Cefadroxil)	228 $\pm$ 22	200 - 250	
Kelompok III (Ekstrak daun pegagan)	232 $\pm$ 17	210 - 250	
Kelompok IV ( Ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil)	224 $\pm$ 18	200 - 250	

\*One way Anova. Data disajikan dalam bentuk rerata  $\pm$ SD

Hasil rerata berat badan tikus pada kelompok kontrol negatif (228 $\pm$ 22 gram), kelompok antibiotik Cefadroxil (228 $\pm$ 22 gram), kelompok ekstrak daun pegagan (232 $\pm$ 17 gram), kelompok ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil (224 $\pm$ 18 gram). Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro wilk* dan *uji homogenitas* di peroleh nilai  $\rho > 0,05$ . Hal tersebut menunjukkan data berat badan terdistribusi secara normal dan homogenitas. Sedangkan hasil uji statistik *one way ANOVA* diperoleh nilai  $\rho = 0,943$  lebih besar dari nilai  $\alpha = 0,05$ . Hal tersebut menunjukkan

tidak terdapat perbedaan berat badan tikus pada semua kelompok, baik pada kelompok kontrol negatif, kelompok antibiotik, kelompok ekstrak daun pegagan, kelompok ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil.

- c. Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Pegagan terhadap kadar IL-6 pada tikus *Sprague dawley* yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 6. Rerata perbedaan kadar IL-6 pada masing-masing kelompok perlakuan tikus betina *Sprague dawley* diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus* hari ke-4 dan hari ke-7.

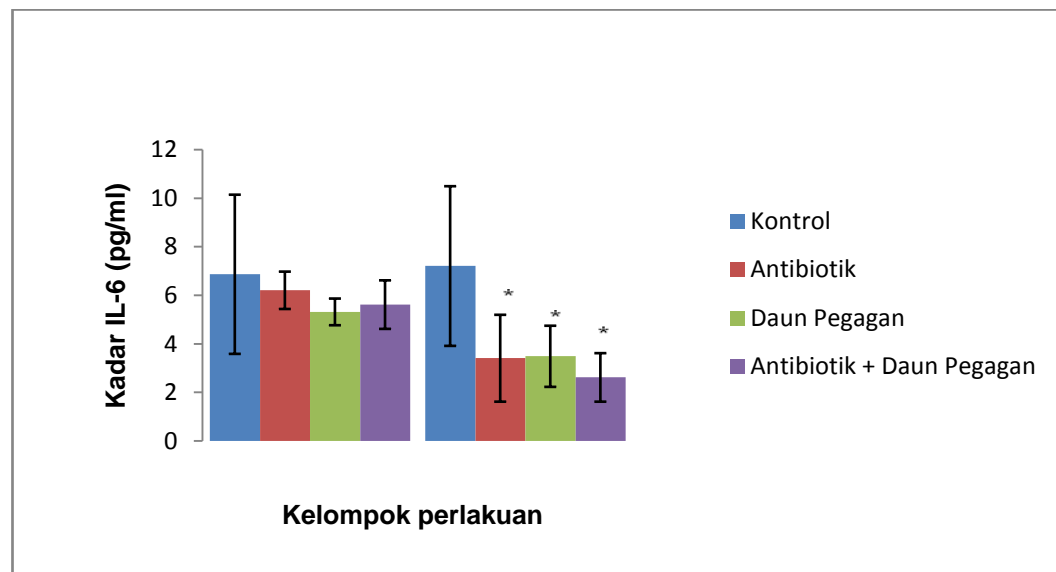
Kelompok Sampel (n=5)	Kadar IL-6 (pg/ml)		Niali $\rho$
	Hari ke-4	Hari ke-7	
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	
<b>Kelompok I</b> (Kontrol negatif)	6,87 $\pm$ 3,28	7,21 $\pm$ 3,29	0,796 <sup>a</sup>
<b>Kelompok II</b> (Kelompok positif) (antibiotik Cefadroxil 45 mg/kgBB)	6,21 $\pm$ 0,77	3,41 $\pm$ 1,79	*0,049 <sup>a</sup>
<b>Kelompok III</b> (ekstrak daun pegagan 100 mg/kgBB )	5,32 $\pm$ 0,55	3,49 $\pm$ 1,26	*0,017 <sup>a</sup>
<b>Kelompok IV</b> (ekstrak daun pegagan 100 mg/kgBB) kombinasi antibiotik Cefadroxil 45 mg/kgBB)	5,62 $\pm$ 1,66	2,62 $\pm$ 0,56	*0,010 <sup>a</sup>
Nilai $\rho$	0,595 <sup>b</sup>	*0,010 <sup>b</sup>	

\*ANOVA

<sup>a</sup> Paired samples T tes

<sup>b</sup>One way Anova

Ket: \* ( $p < 0,05$ )



Gambar 6. Trend kadar sitokin IL-6 pada kelompok tikus betina Sprague dawley pada perlakuan hari-4 dan ke-7

Ket: \* : ( $p < 0,05$ )

Hasil pengukuran kadar IL-6 pada semua kelompok yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*, setelah 4 hari tanpa perlakuan pada kelompok kontrol negatif diperoleh kadar IL-6 sebesar 6,87 pg/ml dan setelah 7 hari tanpa perlakuan pada kelompok kontrol negatif diperoleh kadar IL-6 sebesar 7,21 pg/ml. Hal tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan kadar IL-6 dengan nilai  $p = 0,796$ . Sedangkan pada kelompok perlakuan setelah 4 hari diberikan antibiotik Cefadroxil diperoleh kadar IL-6 sebesar 6,21 pg/ml, kelompok yang diberikan ekstrak daun pegagan diperoleh kadar IL-6 sebesar 5,32 pg/ml, dan kelompok ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil diperoleh kadar IL-6 sebesar 5,62 pg/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada uji statistik paired sampel T tes terdapat perbedaan kadar IL-6 antar kelompok setelah 4 hari diberikan *treatment* dengan nilai  $p < 0,05$ , sedangkan pada uji One

Way ANOVA menunjukkan tidak terdapat perbedaan kadar IL-6 pada pada semua kelompok setelah 4 hari diberikan *treatment* dengan nilai ( $p=0,595>\alpha=0,05$ ).

Pengukuran IL-6 setelah 7 hari perlakuan menunjukkan pada kelompok yang diberikan antibiotik Cefadroxil terjadi penurunan kadar IL-6 sebesar 3,41 pg/ml dan secara statistik menunjukkan signifikan berbeda dengan nilai ( $p=0,049<0,05$ ), begitu pula pada kelompok yang diberikan ekstrak daun pegagan terjadi penurunan kadar IL-6 sebesar 3,49 pg/ml dan secara statistik menunjukkan signifikan berbeda dengan nilai ( $p=0,017<0,05$ ). Sama halnya pada kelompok yang diberikan ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil terjadi penurunan kadar IL-6 sebesar 2,62 pg/ml, dan secara statistik menunjukkan signifikan berbeda dengan nilai ( $p=0,010<0,05$ ). Hal tersebut menunjukkan semua kelompok yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus* setelah 7 hari perlakuan pada kelompok yang diberikan antibiotik Cefadroxil, kelompok yang diberikan ekstrak daun pegagan, dan kelompok yang diberikan ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil, dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif secara statistik kadar IL-6 nya signifikan berbeda dengan nilai ( $p=0,010<0,05$ ). Penurunan kadar IL-6 terkait dengan mekanisme kerja ekstrak daun pegagan yang sinergis antibiotik Cefadroxil dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri dan menghambat jalur metabolisme utama bakteri dan senyawa metabolit yang terdapat didalam

ekstrak daun pegagan memiliki aktivasi pro-inflamasi dan antibakteri. (Nester, 2009; Kim et al, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim (2018) menunjukkan bahwa ekstrak daun pagoda (*Clerodendrum paniculatum. L*) yang dikombinasi dengan antibiotik amoxicillin efektif menurunkan kadar IL-6. Senyawa metabolit daun pagoda dapat memperkuat fungsi organ tubuh, menyingkirkan racun atau penyakit dan dapat membangun sistem kekebalan tubuh. Ekstrak daun beruwes laut (*Scaevola taccada*) yang dikombinasi dengan antibiotik amoxicillin efektif pada kasus mastitis yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Peradangan payudara disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi inflamasi atau infeksi, sitokin yang membantu komunikasi sel-sel dalam respon kekebalan tubuh yang diperlukan pada awal reaksi inflamasi dan IL-6 merupakan sitokin pro-inflamasi yang terlibat dalam imono patogenesis *Staphylococcus aureus*. (Siagian, 2018; Amir et al. 2014; Anton et al. 2012).

Ekstrak daun pegagan menunjukkan aktivitas dalam melawan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Ekstrak daun pagagan mampu merangsang limfosit B dan T, serta mengaktifkan neutrophil untuk melakukan fagositosis. Pada saat IL-6 terinduksi secara sementara, IL-6 akan segera berperan dalam pertahanan tubuh seperti infeksi dan trauma. Pada saat yang bersamaan IL-6 akan memberikan sinyal dengan memicu spektrum yang luas dalam



meningkatkan kekebalan tubuh, penyakit inflamasi kronis dan kanker (Wang *et al.* 2015; Myles *et al.* 2012)

Senyawa saponin memiliki kemampuan memodulasi sistem kekebalan tubuh yang dimediasi oleh sistem sel untuk meningkatkan produksi antibodi, dan saponin tidak hanya memiliki efek stimulasi pada komponen imunitas tertentu tapi memiliki efek pada beberapa reaksi kekebalan tubuh non spesifik seperti peradangan, begitu juga dengan senyawa tanin yang berfungsi sebagai antibakteri (iqbal, 2007).

Flavonoid mampu menghentikan pembentukan dan pengeluaran zat-zat yang menyebabkan peradangan melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim Siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) secara langsung yaitu menghambat biosintesis prostaglandin dan leukotrien serta menghambat akumulasi leukosit dan degranulasi netrofil yang secara langsung mengurangi pelepasan asam arakidonat oleh netrofil dan menghambat pelepasan histamin. Pada kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel dan selama inflamasi berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen menyebabkan adhesi leukosit kedinding endotel. Pemberian flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan merupakan aktivitas antiinflamasi yang efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. (Hashim P, 2011)

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica (L) Urban*) dapat menekan perkembangan sitokin pro-inflamasi, ekstrak daun pegagan efektif menurunkan kadar IL-6 setelah pemberian *treatment* pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### B. Saran.

1. Perlu dilakukan kajian penambahan jumlah dosis dan lamanya pemberian ekstrak daun pegagan untuk penyembuhan peradangan pada payudara yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait dengan efek ekstrak daun pegagan pada kasus penyakit lainnya yang terinfeksi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas K A., Liichtman, A H., Pillai S. 2016. *Fungsi dan Kelainan Sistem Imun. In Immunologi Dasar* (Edisi Ke-5ed). Jakarta. Elsevier.
- Álvarez J L P. 2009. *La interleucina 6 en la fisiopatología de la artritis reumatoide. Reumatología Clínica*, 5(1), 34–39.
- Amir L. H., Services, P., Force, T., dan Task, A. A. 2014. *ABM Clinical Protocol 4: Mastitis, Revised March 2014*. Breastfeeding Medicine 9(5), 239–243. <https://doi.org/10.1089/bfm.2014.9984>
- Anasari T dan Sumarni. 2014. *Faktor - Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Mastitis di RSUD Prof. Dr. Margono Soekarjo Purwokerto. Jurnal Involusi Kebidanan*. Vol 4 No 7; 40-52
- Anton K., Banerjee, D., dan Glod, J. 2012. *Macrophage-Associated Mesenchymal Stem Cells Assume an Activated , Migratory , Pro-Inflammatory Phenotype with Increased IL-6 and CXCL10 Secretion*, 7(4), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035036>
- Baratawidjaja K. G., dan Rengganis, I. 2012. *Imunologi Dasar*. Badan Penerbit FKUI. Jakarta. 259-282
- Berg, S. Van Den, Laman, J. D., Boon, L., Kate, M. T., Knecht, G. J. De, Verdijk, R. M., Bakker-woudenberg, I. A. J. M. 2013. *Distinctive Cytokines as Biomarkers Predicting Fatal Outcome of Severe Staphylococcus aureus Bacteremia in Mice* , 8 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059107>
- Bibi, Y., Zia, M., Nisa, S., Habib, D., Waheed, A., Chaudhary, F. M. 2011. *Regeneration of Centella asiatica plants from non- embryogenic cell lines and evaluation of antibacterial and antifungal properties of regenerated calli and plants*. Journal of Biological Engineering. 5-13
- Bolman, M., Saju, L., Oganessian, K., Kondrashova, T., Witt, A. M. 2013. *Recapturing the Art of Therapeutic Breast Massage during Breastfeeding*. Journal of Human Lactation. <https://doi.org/10.1177/0890334413475527>

- Brooks.(2007). *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta
- Chandrika, U. G., Salim, N., Wijepala, G. D. D. J., Perera, K. S. U. 2011. *Carotenoid and mineral content of different morphotypes of Centella asiatica L . ( Gotukola )*. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 62 (5) : 552-557
- Chinchali, J. F.,Kaliwal, B. B. 2014. *Histopathology of mammary gland in Staphylococcus aureus induced mastitis in mice*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4(Suppl 1), S320–S325. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60463-1](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60463-1)
- Dutta S.,Roy D.,De archmidman.,Dutta C., Bhattacharya. 2016. *Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Trigonella foenum-graecum L, Murayya koegini, Coriandrum sativum and Centella asiatica*.Turkish Jouornal of Agriculture-Food Science and Tehnology. 2148-1237x
- Dorni, A. I. C., Peter, G., Jude, S., Arundhathy, C. A., Jacob, J., Amalraj, A. 2017. *UHPLC – Q-ToF-MS-guided enrichment and purification of triterpenoids from Centella asiatica (L) extract with macroporous resin*, Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 40(1), 13–25.
- Elliman B W., Golen, T. H., Gold, H. S., Yassa, D. S., Baldini, L. M., & Wright, S. B. 2012. *Risk Factors for Staphylococcus aureus Postpartum Breast Abscess*. 54, 71–77.
- Fauziyah, K. R. 2016. *Profil Tekanan Darah Tikus Putih Galur Sprague dawley*. Fakultas kedokteran hewan. Bogor
- Gray, N. E., Zweig, J. A., Caruso, M., Martin, M. D., Zhu, J. Y., Quinn, J. F.,Soumyanath, A. 2018. *Centella asiatica increases hippocampal synaptic density and improves memory and executive function in aged mice*. Wiley Brain and Behaviour. <https://doi.org/10.1002/brb3.1024>
- Hashim P. 2011. *Triterpen Komposisi dan Bioaktivitiens dari Centella asiatica*. Molekul.16, 1310-1322
- Hirano T. 2010. *Review Interleukin 6 in autoimmune and in fl ammatory diseases : a personal memoir*. The Japan Academy 86(7), 717–730.

- Ibrahim F 2018. Efek Pemberian Ekstrak Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum. L*) Terhadap Kadar IL-6 pada mammae Tikus betina Sprague dawley yang Diinduksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. Universitas pascasarjana Unhas. Makassar
- iqbal, Rajput Zahid, Hu Song-Hua, Xiao Chan-Wen, Arijio AbdullahG, 2007. *Adjuvant Effects Of Saponins n Animal ImmuneRespomses. Journal Of Zhejiang UniversityScience B*.Issn 1673-1581 (Print); Issn 1862-1783 (Online)
- James, J. T., Tugizimana, F., Steenkamp, P. A.,Dubery, I. A. 2013. *Metabolomic Analysis of Methyl Jasmonate-Induced Triterpenoid Production in the Medicinal Herb Centella asiatica (L.) Urban*. molecules 4267–4281.
- Jawetz, M. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC: Jakarta
- Jimenez E, Arroyo, R., Ca, N., Rodri, J. M. 2017. *Mammary candidiasis : A medical condition without scientific evidence*. PloS ONE 12(7):e0181071
- Lai, J., Liu, Y., Peng, Y., Ge, P., He, C., Liu, C., Hu, C. 2017. *Indirubin Treatment of Lipopolysaccharide-Induced Mastitis in a Mouse Model and Activity in Mouse Mammary Epithelial Cells*. Hindawi Mediators of inflammation. Vol 2017 .
- Leitner, G., Zilberman, D., Papirov, E., Shefy, S. 2018. *Assessment of acoustic pulse therapy ( APT ), a non-antibiotic treatment for dairy cows with clinical and subclinical mastitis*. PLoS ONE 13(7):0199195
- Mengyao, G., Naisheng, Z., Depeng, L., Dejie, L., Zhicheng, L., Fenyang, L., Zhengtao, Y. 2013. *Baicalin plays an anti-inflammatory role through reducing nuclear factor-  $\kappa$  B and p38 phosphorylation in S . aureus -induced mastitis*. *International Immunopharmacology*, 16(2), 125–130.
- Moghaddam, S. S., Jaafar, H. B., Aziz, M. A., Ibrahim, R., Rahmat, A. B., Philip, E. 2011. *Flavonoid and Leaf Gas Exchange Responses of Centella asiatica to Acute Gamma Irradiation and Carbon Dioxide Enrichment under Controlled Environment Conditions*, Journal molecules. 8930–8944.

- Mora E, Fernando A. 2012. *Optimasi Ekstraksi Triterpenoid Total Pegagan (Centella asiatica(L)Urban) yang Tumbuh di Riau*. Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia. ISSN 2302-187X
- Myles, I. A., Datta, S. K. 2012. *Staphylococcus aureus*: an introduction. Bedhesda, MD 20892, USA. 34: 181–184. <https://doi.org/10.1007/s00281-011-0301-9>
- Nickerson, E. K., Hongsuwan, M., Limmathurotsakul, D., Wuthiekanun, V., West, T. E., Teerawatanasuk, N., Peacock, S. J. 2009. *Staphylococcus aureus* Bacteraemia in a Tropical Setting: Patient Outcome and Impact of Antibiotic Resistance, 4(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004308>
- Pittella, F., Dutra, R. C., Junior, D. D., Lopes, M. T. P., & Nádia, R. 2009. *Antioxidant and Cytotoxic Activities of Centella asiatica ( L ) Urb*. *International Journal of Molecular Sciences* 3713–3721. <https://doi.org/10.3390/ijms10093713>
- Ramadhan N S., Rasyid S.2015. *Daya hambat Daun Pegagan (Centella asiatica) Yang Diambil Dibatu Sangkar Terhadap Pertumbuhan Kuman Vibrio Cholerae Secara In Vitro*.Jurnal Kesehatan andalans. <http://jurnal.fk.unand.ac.id>
- Sugimoto, Y., Wakai, K., Nakagawa, H., Suma, S., Sasakabe, T., & Sakamoto, T. 2015. *Associations between polymorphisms of interleukin-6 and related cytokine genes and serum liver damage markers: a cross-sectional study in the Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort ( J-MICC ) Study*. *Gene*, 557(2), 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.12.025>
- Sugianto I.S. Subandi dan Muntholib, 2012, *Uji Fitokomia Ekstrak Pegagan (Centella asiatica L. Urban) dan Buah sirsak (Annona murica L.) Serta Potensinya Sebagai Inhibitor Enzim Xantin Okdidase*, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Malang.
- Sutardi. 2016. *Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan Dan Khasiatnya Untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh*. Jurnal Litbang Pertanian Vol 35 No. 3: 121-130.

- Siagian 2018 . *The Antiinflammatory Effect Of Beruwas Laut Leaf Extract (Scaevola taccada) On Il-6 Levels In Mammary Of Female Rats Strain prague Dawley Induced By Stahylococcus aureus*. Jurnal University Hasanuddin. Makassar.
- Vliegheer, S. De, Fox, L. K., Piepers, S., Mcdougall, S., & Barkema, H. W. 2012. *Invited review : Mastitis in dairy heifers : Nature of the disease , potential impact , prevention , and control*. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1025–1040. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4074>
- Verri, W. A.2006 '*Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development?*', *Pharmacology and Therapeutics*, 112(1), pp. 116-138.
- Wang, M., Zhang, Y., Li, B., Zhu, J. 2015. *Construction of scFv that bind both fibronectin-binding protein A and clumping factor A of Stapylococcus aureus*. *Research in Veterinary Science* 100, 109–114.
- Wolfensohn S dan Lloyd M. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Edisi ke 4. Wiley-Blackwell. New Delhi
- Zarshenas M., Zhao Y., Poorarian, S., Binns, C. W., & Scott, J. A. 2017. *Incidence and Risk Factors of Mastitis in Shiraz , Iran : Result of a Cohort Study*. *Breastfeeding Medicine*. 12(5), 1–7.
- Zhao Y., Shu P., Zhang Y., Lin L., Zhou H., Xu Z., SuoD., Xie A., Jin X. 2014. *Effeck of Centella asiatica on Oxidative Stress and Lipid Metabolism in Hyperlipidemic Animal Model*. Hindawi Publishing Corporation Article ID 154295, 7page. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/154295>

## LAMPIRAN 1

Analisis perbedaan kadar sitokin IL-6 hari-4 dan hari ke-7

Pengukuran	Mean $\pm$ SD	Selisih Mean	Nilai $\rho^*$	Nilai $\rho$
<b>Kadar sitokin IL-6 hari ke-4</b>				
Kontrol negatif	6,87 $\pm$ 3,28	0,66	0,591	0,595
Antibiotik	6,21 $\pm$ 0,77			
Kontrol negatif	6,87 $\pm$ 3,28	1,55	0,216	
Daun Pegagan	5,32 $\pm$ 0,55			
Kontrol negatif	6,87 $\pm$ 3,28	1,25	0,313	
Antibiotik + Daun Pegagan	5,62 $\pm$ 1,66			
<b>Kadar sitokin IL-6 hari ke-7</b>				
Kontrol negatif	7,21 $\pm$ 3,29	3,8	0,009	
Antibiotik	3,41 $\pm$ 1,79			
Kontrol negatif	7,21 $\pm$ 3,29	3,92	0,010	0,010
Daun Pegagan	3,49 $\pm$ 1,26			
Kontrol negatif	7,21 $\pm$ 3,29	4,79	0,002	
Antibiotik + Daun Pegagan	2,62 $\pm$ 0,56			

\*One way ANOVA + post hoc LSD



## LAMPIRAN 2

Analisis perbedaan kadar sitokin IL-6 pada antar kelompok tikus betina *Sprague dawley* perlakuan hari ke-4 dan hari ke-7

Pengukuran	Mean $\pm$ SD	Selisih Mean	Nilai p
<b>Kelompok_Kontrol negatif</b>			
Hari ke-4	6,87 $\pm$ 3,28		
Hari ke-7	7,21 $\pm$ 3,29	-0,34	0,796
<b>Kelompok_Antibiotik</b>			
Hari ke-4	6,21 $\pm$ 0,77		
Hari ke-7	3,41 $\pm$ 1,79	2,8	0,049
<b>Kelompok_Daun pegagan</b>			
Hari ke-4	5,32 $\pm$ 0,55		
Hari ke-7	3,49 $\pm$ 1,26	1,83	0,017
<b>Kelompok_Antibiotik+Daun pegagan</b>			
Hari ke-4	5,62 $\pm$ 1,66		
Hari ke-7	2,62 $\pm$ 0,56	3	0,010

\* Paired samples T tes + post hoc LSD

**LAMPIRAN 3**

Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis (spesies) hewan uji (Wahyuningsih,2018)

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 10 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,80	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 10 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Evaluation of drug activities ; pharmacometri, ed by Laurence and A.L Bacharach)

**LAMPIRAN 4****PERHITUNGAN DOSIS****A. Dosis antibiotik Cefadroxil**

Konversi dosis tersebut diperoleh dari :

Dosis Cefadroxil untuk tikus dengan BB 200 gram :

= Dosis lazim Cefadroxil pada manusia x faktor konversi

= 500 mg x 0,018

= 9 mg/200gr BB

= 9 mg/0,2kg

= 45 mg/kgBB

Jadi tikus diberi Cefadroxil menggunakan dosis 45 mg/kgBB/12 jam selama 5 hari.

2. Perhitungan pada dosis Cefadroxil 500 mg :

$$= \frac{\text{Bobot yang diinginkan}}{\text{Bobot etiket}} \times \text{Bobot rata-rata}$$

$$= \frac{9 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 500 \text{ mg}$$

$$= 9 \text{ mg}$$

Disuspensikan dengan Na. CMC

Cara membuat suspense antibiotik Cefadroxil : larutan 500 mg, antibiotik Cefadroxil kedalam 100 ml larutan Na. CMC 0,5% kedalam labu ukur.

$$= \frac{9 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml Na. CMC} = 1,8 \text{ ml}$$

Jadi, dosis yang digunakan untuk satu ekor tikus 200 gram = 9 mg disuspensikan kedalam Na.CMC 1,8 ml untuk satu kali pemberian. (dosis 2x1 = 2x1,8 ml = 3,6 ml/hari).

## B. Dosis ekstrak daun pegagan

### 1. Dosis ekstrak daun pegagan untuk tikus BB 200.

Tikus diberikan ekstrak daun pegagan menggunakan dosis :

$$= 100\text{mg} / \text{kg BB}/12\text{jam}$$

$$= 100 \times 0,2\text{kg}$$

$$= 20 \text{ mg}$$

Jadi dosis yang digunakan sehari  $20 \text{ mg} \times 2 = 40 \text{ mg/hr}$  selama 5 hari

### 2. Membuat ekstrak daun pegagan suspensi Na. CMC 0,5% untuk 20 ekor tikus : larutkan 400 mg ekstrak daun pegagan kedalam 40 ml suspensi Na. CMC 0,5% dalam labu ukur.

$$\text{Untuk satu ekor tikus} = \frac{20 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 40\text{ml} = 2\text{ml}$$

Jadi 2 ml ekstrak daun pegagan suspensi Na. CMC 0,5%

Untuk satu kali pemberian (dosis  $2 \times 1 = 2 \times 2 \text{ ml} = 4 \text{ ml/hr}$  selama 5 hari

MASTER TABEL  
EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban)  
TERHADAP KADAR IL-6 PADA MAMMAE TIKUS BETINA  
SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI  
*Staphylococcus aureus*

No.	KELOMPOK	BB	KADAR IL-6			KADAR IL-6			PRE	POST TEST SELISIH HARI KE- 4DAN KE7
			PRE	POST TEST		PRE	POST TEST			
				HARI KE-4	HARI KE-7		HARI KE-4	HARI KE-7		
1	KONTROL 1	210 gram		0.4028	0.468		6.56	7.86		1.3
2	KONTROL 2	250 gram		0.0956	0.1757		2.11	3.23		1.12
3	KONTROL 3	230 gram		0.3539	0.4960		5.82	8.01		2.19
4	KONTROL 4	200 gram		0.6464	0.7358		10.41	11.89		1.48
5	KONTROL 5	250 gram		0.5897	0.3027		9.49	5.06		4.43
6	ANTIBIOTIK 1	230 gram		0.3280	0.0935		5.44	2.08		3.39
7	ANTIBIOTIK 2	210 gram		0.4145	0.1757		6.74	3.33		3.41
8	ANTIBIOTIK 3	250 gram		0.4012	0.0935		6.56	2.09		4.47
9	ANTIBIOTIK 4	200 gram		0.4329	0.1732		7.02	3.23		3.79

10	ANTIBIOTIK 5	250 gram		0.3211	0.3961		5.33	6.46		1.13
11	PEGAGAN 1	250 gram		0.3109	0.1310		5.18	2.60		2.58
12	PEGAGAN 2	250 gram		0.2872	0.1544		4.84	2.93		1.91
13	PEGAGAN 3	230 gram		0.2952	0.2428		4.94	4.19		0.75
14	PEGAGAN 4	210 gram		0.3810	0.3245		6.23	5.39		0.84
15	PEGAGAN 5	220 gram		0.3289	0.1154		5.45	3.38		2.07
16	PEGAGAN + ANTIBIOTIK 1	220 gram		0.2116	0.1481		3.74	2.84		0.9
17	PEGAGAN + ANTIBIOTIK 2	220 gram		0.3577	0.0898		5.88	2.03		3.85
18	PEGAGAN + ANTIBIOTIK 3	250 gram		0.4329	0.1497		7.02	2.86		4.16
19	PEGAGAN + ANTIBIOTIK 4	200 gram		0.4568	0.1832		7.39	3.33		4.06
20	PEGAGAN + ANTIBIOTIK 5	230 gram		0.2359	0.0913		4.09	2.05		2.04

```

EXAMINE VARIABLES=BB_TIKUS BY Kelompok
  /PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPLOT
  /COMPARE GROUPS
  /STATISTICS DESCRIPTIVES
  /CINTERVAL 95
  /MISSING LISTWISE
  /NOTOTAL.

```

## Explore

### KELOMPOK TIKUS

#### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	Kelompok	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BB_TIKUS	Kontrol_negatif	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	Antibiotik Cefadroxil	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	Ekstrak daun_pegagan	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	Ekstrak daun pegagan kombinasi Antibiotik	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	Cefadroxil						



### Descriptives

			Statistic	Std. Error	
	Kelompok				
BB_TIKUS	Kontrol_negatif	Mean	228.00	10.198	
		95% Confidence Interval for	Lower Bound	199.69	
		Mean	Upper Bound	256.31	
		5% Trimmed Mean		228.33	
		Median		230.00	
		Variance		520.000	
		Std. Deviation		22.804	
		Minimum		200	
		Maximum		250	
		Range		50	
		Interquartile Range		45	
		Skewness		-.228	.913
		Kurtosis		-2.507	2.000
		Antibiotik Cefadroxil		Mean	228.00
95% Confidence Interval for	Lower Bound			199.69	
Mean	Upper Bound			256.31	
5% Trimmed Mean				228.33	
Median				230.00	
Variance				520.000	
Std. Deviation				22.804	

	Minimum		200	
	Maximum		250	
	Range		50	
	Interquartile Range		45	
	Skewness		-.228	.913
	Kurtosis		-2.507	2.000
Ekstrak daun pegagan	Mean		232.00	8.000
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	209.79	
	Mean	Upper Bound	254.21	
	5% Trimmed Mean		232.22	
	Median		230.00	
	Variance		320.000	
	Std. Deviation		17.889	
	Minimum		210	
	Maximum		250	
	Range		40	
	Interquartile Range		35	
	Skewness		-.052	.913
	Kurtosis		-2.324	2.000
Ekstrak daun pegagan	Mean		224.00	8.124
kombinasi antibiotik	95% Confidence Interval for	Lower Bound	201.44	
Cefadroxil	Mean	Upper Bound	246.56	
	5% Trimmed Mean		223.89	

Median	220.00	
Variance	330.000	
Std. Deviation	18.166	
Minimum	200	
Maximum	250	
Range	50	
Interquartile Range	30	
Skewness	.267	.913
Kurtosis	1.074	2.000

### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB_TIKUS	Kontrol_negatif	.233	5	.200*	.884	5	.329
	Antibiotik Cefadroxil	.233	5	.200*	.884	5	.329
	Ekstrak daun pegagan	.243	5	.200*	.894	5	.377
	Ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil	.213	5	.200*	.963	5	.826

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

ONEWAY BB\_TIKUS BY Kelompok  
 /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY  
 /MISSING ANALYSIS.

## Oneway

### Descriptives

BB\_TIKUS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol_negatif	5	228.00	22.804	10.198	199.69	256.31	200	250
Antibiotik Cefadroxil	5	228.00	22.804	10.198	199.69	256.31	200	250
Ekstrak daun pegagan	5	232.00	17.889	8.000	209.79	254.21	210	250
Ekstrak daun pegagan kombinasi antibiotik Cefadroxil	5	224.00	18.166	8.124	201.44	246.56	200	250
Total	20	228.00	19.084	4.267	219.07	236.93	200	250

### Test of Homogeneity of Variances

BB\_TIKUS

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.427	3	16	.736

### ANOVA

BB\_TIKUS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	160.000	3	53.333	.126	.943
Within Groups	6760.000	16	422.500		
Total	6920.000	19			

```

EXAMINE VARIABLES=HARI_4 HARI_7 BY KELOMPOK
/PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPLOT
/COMPARE GROUPS
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.

```

## Explore KELOMPOK\_PERLAKUAN

### Case Processing Summary

		Valid		Cases Missing		Total	
KELOMPOK_PERLAKUAN		N	Percent	N	Percent	N	Percent
KADAR_IL6_HARI_4	KONTROL	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	ANTIBIOTIK	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	DAUN PEGAGAN	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
KADAR_IL6_HARI_7	KONTROL	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	ANTIBIOTIK	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	DAUN PEGAGAN	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

### Descriptives

		Statistic	Std. Error
KADAR_IL6_HARI_4	KELOMPOK_PERLAKUAN		
	KONTROL	Mean	6.8780
		95% Confidence Interval for Mean	1.47058
		Lower Bound	2.7950
		Upper Bound	10.9610
		5% Trimmed Mean	6.9467
		Median	6.5600
		Variance	10.813
		Std. Deviation	3.28831
		Minimum	2.11
		Maximum	10.41
		Range	8.30
		Interquartile Range	5.99
		Skewness	-.559
		Kurtosis	2.000
	ANTIBIOTIK	Mean	6.2180
		95% Confidence Interval for Mean	.34832
		Lower Bound	5.2509
		Upper Bound	7.1851
		5% Trimmed Mean	6.2228
		Median	6.5600
		Variance	.607
		Std. Deviation	.77886

	Minimum		5.33	
	Maximum		7.02	
	Range		1.69	
	Interquartile Range		1.50	
	Skewness		-.417	.913
	Kurtosis		-2.939	2.000
DAUN	Mean		5.3280	.24891
PEGAGAN	95% Confidence Interval for	Lower Bound	4.6369	
	Mean	Upper Bound	6.0191	
	5% Trimmed Mean		5.3050	
	Median		5.1800	
	Variance		.310	
	Std. Deviation		.55657	
	Minimum		4.84	
	Maximum		6.23	
	Range		1.39	
	Interquartile Range		.95	
	Skewness		1.348	.913
	Kurtosis		1.666	2.000
ANTIBIOTIK+	Mean		5.6240	.74282
DAUN	95% Confidence Interval for	Lower Bound	3.5616	
PEGAGAN	Mean	Upper Bound	7.6864	
	5% Trimmed Mean		5.6306	



		Median	5.8800	
		Variance	2.759	
		Std. Deviation	1.66100	
		Minimum	3.74	
		Maximum	7.39	
		Range	3.65	
		Interquartile Range	3.29	
		Skewness	-.187	.913
		Kurtosis	-2.800	2.000
KADAR_IL6_HARI_7	KONTROL	Mean	7.2100	1.47356
		95% Confidence Interval for	Lower Bound	3.1187
		Mean	Upper Bound	11.3013
		5% Trimmed Mean	7.1711	
		Median	7.8600	
		Variance	10.857	
		Std. Deviation	3.29499	
		Minimum	3.23	
		Maximum	11.89	
		Range	8.66	
		Interquartile Range	5.81	
		Skewness	.353	.913
		Kurtosis	-.019	2.000
	ANTIBIOTIK	Mean	3.4380	.80152

	95% Confidence Interval for	Lower Bound	1.2126	
	Mean	Upper Bound	5.6634	
	5% Trimmed Mean		3.3456	
	Median		3.2300	
	Variance		3.212	
	Std. Deviation		1.79225	
	Minimum		2.08	
	Maximum		6.46	
	Range		4.38	
	Interquartile Range		2.81	
	Skewness		1.638	.913
	Kurtosis		2.916	2.000
DAUN	Mean		3.4980	.56734
PEGAGAN	95% Confidence Interval for	Lower Bound	1.9228	
	Mean	Upper Bound	5.0732	
	5% Trimmed Mean		3.4550	
	Median		2.9300	
	Variance		1.609	
	Std. Deviation		1.26861	
	Minimum		2.38	
	Maximum		5.39	
	Range		3.01	
	Interquartile Range		2.30	

	Skewness		.979	.913
	Kurtosis		.587	2.000
ANTIBIOTIK+	Mean		2.6220	.25329
DAUN	95% Confidence Interval for	Lower Bound	1.9188	
PEGAGAN	Mean	Upper Bound	3.3252	
	5% Trimmed Mean		2.6156	
	Median		2.8400	
	Variance		.321	
	Std. Deviation		.56637	
	Minimum		2.03	
	Maximum		3.33	
	Range		1.30	
	Interquartile Range		1.06	
	Skewness		-.036	.913
	Kurtosis		-2.088	2.000

### Tests of Normality

	KELOMPOK_PERLAK	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		UAN	Statistic	df	Sig.	Statistic	df
KADAR_IL6_HARI_4	KONTROL	.186	5	.200*	.948	5	.721
	ANTIBIOTIK	.270	5	.200*	.851	5	.198
	DAUN PEGAGAN	.213	5	.200*	.885	5	.331
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	.222	5	.200*	.890	5	.355
KADAR_IL6_HARI_7	KONTROL	.204	5	.200*	.963	5	.830
	ANTIBIOTIK	.324	5	.093	.802	5	.084
	DAUN PEGAGAN	.273	5	.200*	.883	5	.324
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	.250	5	.200*	.875	5	.287

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

### Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minim um	Maxim um
						Lower Bound	Upper Bound		
KADAR_IL6_HARI_4	KONTROL	5	6.8780	3.28831	1.47058	2.7950	10.9610	2.11	10.41
	ANTIBIOTIK	5	6.2180	.77886	.34832	5.2509	7.1851	5.33	7.02
	DAUN PEGAGAN	5	5.3280	.55657	.24891	4.6369	6.0191	4.84	6.23
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	5	5.6240	1.66100	.74282	3.5616	7.6864	3.74	7.39
	Total	20	6.0120	1.84971	.41361	5.1463	6.8777	2.11	10.41
KADAR_IL6_HARI_7	KONTROL	5	7.2100	3.29499	1.47356	3.1187	11.3013	3.23	11.89
	ANTIBIOTIK	5	3.4380	1.79225	.80152	1.2126	5.6634	2.08	6.46
	DAUN PEGAGAN	5	3.4980	1.26861	.56734	1.9228	5.0732	2.38	5.39
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	5	2.6220	.56637	.25329	1.9188	3.3252	2.03	3.33
	Total	20	4.2420	2.55919	.57225	3.0443	5.4397	2.03	11.89

ONEWAY HARI\_4 HARI\_7 BY KELOMPOK  
 /MISSING ANALYSIS  
 /POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).

### Oneway

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KADAR_IL6_HARI_4	Between Groups	7.054	3	2.351	.649	.595
	Within Groups	57.953	16	3.622		
	Total	65.007	19			
KADAR_IL6_HARI_7	Between Groups	63.117	3	21.039	5.260	.010
	Within Groups	63.997	16	4.000		
	Total	127.114	19			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I)	(J)	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	KELOMPOK_PERL	KELOMPOK_PERLAK	Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
KADAR_IL6_HARI_4	AKUAN	UAN					
	KONTROL	ANTIBIOTIK	.66000	1.20367	.591	-1.8917	3.2117
		DAUN PEGAGAN	1.55000	1.20367	.216	-1.0017	4.1017
		ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	1.25400	1.20367	.313	-1.2977	3.8057
	ANTIBIOTIK	KONTROL	-.66000	1.20367	.591	-3.2117	1.8917
		DAUN PEGAGAN	.89000	1.20367	.470	-1.6617	3.4417
		ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	.59400	1.20367	.628	-1.9577	3.1457
	DAUN PEGAGAN	KONTROL	-1.55000	1.20367	.216	-4.1017	1.0017
		ANTIBIOTIK	-.89000	1.20367	.470	-3.4417	1.6617
		ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	-.29600	1.20367	.809	-2.8477	2.2557
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	KONTROL	-1.25400	1.20367	.313	-3.8057	1.2977
		ANTIBIOTIK	-.59400	1.20367	.628	-3.1457	1.9577
	DAUN PEGAGAN	.29600	1.20367	.809	-2.2557	2.8477	
KADAR_IL6_HARI_7	KONTROL	ANTIBIOTIK	3.77200*	1.26488	.009	1.0906	6.4534

	DAUN PEGAGAN	3.71200*	1.26488	.010	1.0306	6.3934
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	4.58800*	1.26488	.002	1.9066	7.2694
ANTIBIOTIK	KONTROL	-3.77200*	1.26488	.009	-6.4534	-1.0906
	DAUN PEGAGAN	-.06000	1.26488	.963	-2.7414	2.6214
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	.81600	1.26488	.528	-1.8654	3.4974
DAUN PEGAGAN	KONTROL	-3.71200*	1.26488	.010	-6.3934	-1.0306
	ANTIBIOTIK	.06000	1.26488	.963	-2.6214	2.7414
	ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	.87600	1.26488	.499	-1.8054	3.5574
ANTIBIOTIK+DAUN PEGAGAN	KONTROL	-4.58800*	1.26488	.002	-7.2694	-1.9066
	ANTIBIOTIK	-.81600	1.26488	.528	-3.4974	1.8654
	DAUN PEGAGAN	-.87600	1.26488	.499	-3.5574	1.8054

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



**KELOMPOK KONTROL NEGATIF**

T-TEST PAIRS=HARI\_4 WITH HARI\_7 (PAIRED)  
 /CRITERIA=CI (.9500)  
 /MISSING=ANALYSIS.

**T-Test****Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4	6.8780	5	3.28831	1.47058
	KADAR_IL6_HARI_7	7.2100	5	3.29499	1.47356

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 & KADAR_IL6_HARI_7	5	.665	.220

**Paired Samples Test**

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Paired Differences		t	df	Sig. (2- tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 - KADAR_IL6_HARI_7	-.33200	2.69280	1.20426	-3.67555	3.01155	-.276	4	.796

**KELOMPOK PEMBERIAN ANTIBIOTIK**

T-TEST PAIRS=HARI\_4 WITH HARI\_7 (PAIRED)  
 /CRITERIA=CI (.9500)  
 /MISSING=ANALYSIS

**T-Test****Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4	6.2180	5	.77886	.34832
	KADAR_IL6_HARI_7	3.4380	5	1.79225	.80152

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 & KADAR_IL6_HARI_7	5	-.414	.488

**Paired Samples Test**

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Paired Differences		t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 - KADAR_IL6_HARI_7	2.78000	2.23034	.99744	.01067	5.54933	2.787	4	.049

**KELOMPOK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN**

T-TEST PAIRS=HARI\_4 WITH HARI\_7 (PAIRED)  
 /CRITERIA=CI (.9500)  
 /MISSING=ANALYSIS.

**T-Test****Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4	5.3280	5	.55657	.24891
	KADAR_IL6_HARI_7	3.4980	5	1.26861	.56734

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 & KADAR_IL6_HARI_7	5	.606	.279

**Paired Samples Test**

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Paired Differences		t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference	Upper			
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 - KADAR_IL6_HARI_7	1.83000	1.03114	.46114	.54967	3.11033	3.968	4	.017

## KELOMPOK PEMBERIAN ANTIBIOTIK+EKSTRAK DAUN PEGAGAN

T-TEST PAIRS=HARI\_4 WITH HARI\_7 (PAIRED)  
 /CRITERIA=CI (.9500)  
 /MISSING=ANALYSIS.

### T-Test

#### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4	5.6240	5	1.66100	.74282
	KADAR_IL6_HARI_7	2.6220	5	.56637	.25329

#### Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 & KADAR_IL6_HARI_7	5	.504	.386

#### Paired Samples Test

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	KADAR_IL6_HARI_4 - KADAR_IL6_HARI_7	3.00200	1.45973	.65281	1.18950	4.81450	4.599	4	.010

## DOKUMENTASI PEMBUATAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN

### 1. Pengambilan tanaman daun pegagan



Membersihkan daun dari kotoran

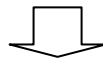
2. Pensortiran daun, dicuci dan dirajang, pengeringan



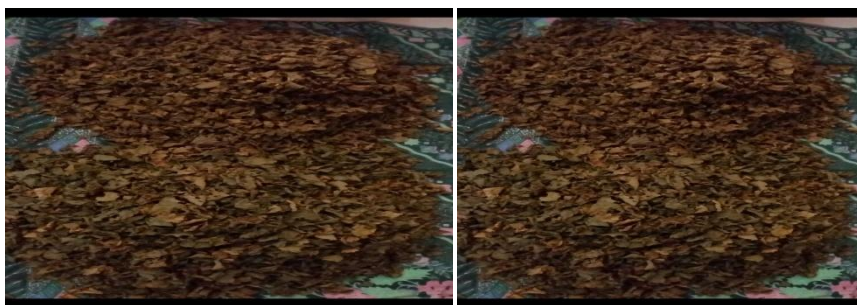
Menimbang daun pegagan mentah



Disortasi dan dicuci



Proses pengeringan 3-4 hari



Pengeringan menggunakan Herbs Dryer dengan suhu  $\pm 45$  °C selama 5-7 hari

### 3. Proses ekstraksi simplisia



Menimbang daun pegagan yang sudah dikeringkan

Memotong kecil2 daun pegagan



Didapatkan simplisia halus



Di blender

#### 4. Proses ekstraksi



Menimbang ekstrak simplisia



Maserasi menggunakan etanol 70%



Melarutkan daun pegagan dengan etanol 70% selama 3 hari



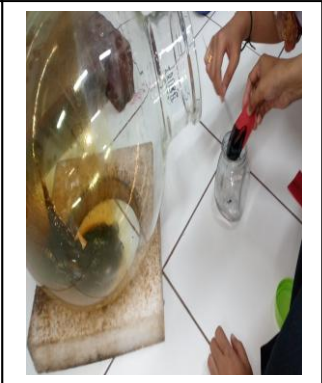
5. Proses penyaringan



Larutan ekstrak

# 6. Evaporator

Diuapkan menggunakan rotavator



Proses pengambilan ekstrak kental



Menimbang ekstrak kental



## 7. Uji fitokimia



Persiapan peralatan



Ekstrak pegagan sebanyak 0,5 gram



Hasil uji fitokimia daun pegagan

## DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN

1. Proses penerimaan tikus, dan pembuatan kandang



Perawatan tikus

## 2. Peroses perawatan tikus



Pemberian pakan AD II dan pemberian minum

3. Menimbang BB tikus dan pembagian kelompok sesuai BB tikus



Timbang BB tikus



Pembagian kelompok sesuai dengan BB tikus

1. Kelompok kontrol negatif
2. Kelompok pemberian ekstrak pegagan
3. Kelompok pemberian antibiotik dan ekstrak pegagan

4



## DOKUMENTASI PERLAKUAN

### 1. Induksi bakteri



Bakteri *Staphylococcus aureus*



Bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 0,2 ml diinduksikan pada tikus



Mengusapkan kapas sebelum penyuntikan *Staphylococcus aureus*



Penyuntikan *Staphylococcus aureus* pada daerah mammae tikus

## 2. Pemberian treatment



Terjadi Inflamasi pada bagian payudara yang telah diinduksi *Staphylococcus aureus*



1. Ekstrak daun pegagan
2. Antibiotik
3. Nacmc 0,5%



Pemberian treatment

## 3. Pengambilan darah



Pengambilan darah pada area mata sebanyak 0,5 ml



#### 4. Proses pemeriksaan ELISA



**FOTO TEAM**





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
SEKOLAH PASCASARJANA

Jalan Perintis Kemerdekaan km. 10 Makassar 90245  
Telp. : (0411) 585034, 585036 Fax. : (0411) 585868  
E-mail : info@pasca.unhas.ac.id.http://.pasca.unhas.ac.id

Nomor : 025/UN4.20.1/PL.00.00/2019  
Perihal : Permintaan Izin Etik Penelitian

2 Januari 2019

Yth. **Ketua Komisi Etik**  
**Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin**

Kota Makassar

Dengan hormat disampaikan bahwa mahasiswa Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang tersebut dibawah ini :

Nama : **Ani**  
Nomor Pokok : P102171012  
Program Pendidikan : Magister (S2)  
Program Studi : Ilmu Kebidanan

Bermaksud melakukan penelitian dalam rangka persiapan penulisan tesis terkait dengan judul "**Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica (L)*) terhadap Kadar IL-6 pada Mammae Tikus Betina *Sprague Dawlwy* yang di Induksi *Staphylooccus Aureus***".

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon kiranya Saudara berkenan memberikan izin surat persetujuan etik penelitian dengan menggunakan subyek hewan.

Atas perkenan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

a.n. Dekan

Wakil Dekan Bidang Akademik,  
Riset dan Publikasi Ilmiah



Prof. Dr. Ir. Laode Asrul, M.P.

6303071988121001

Tembusan Yth:

1. Dekan SPs Unhas "sebagai laporan"
2. Mahasiswa yang bersangkutan
3. Pertinggal



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
RSPTN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
RSUP Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR  
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN



Sekretariat : Lantai 3 Gedung Laboratorium Terpadu  
JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245.  
Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, MMed, PhD, SpGK TELP. 081241850858, 0411 5780103, Fax : 0411-581431

**REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK**

Nomor : 201 / UN4.6.4.5.31 / PP36-KOMETIK / 2019

Tanggal: 22 Maret 2019

Dengan ini Menyatakan **Amandemen** Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :

No Protokol	<b>UH19010004</b>	No Sponsor Protokol	
Peneliti Utama	<b>Ani, SST</b>	Sponsor	<b>Pribadi</b>
Judul Penelitian	<b>Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (Cantella asiatica L) Terhadap Kadar IL-6 Pada Mammas Tikus Betina Sprague Dawley Yang Diinduksi Staphylococcus aureus</b>		
No Versi Protokol	<b>2</b>	Tanggal Versi	<b>20 Maret 2019</b>
No Versi PSP		Tanggal Versi	
Tempat Penelitian	Laboratorium Entomologi Hewan FKUH, Laboratorium Mikrobiologi RSUH, Lab Fak Farmasi UH, Lab Fak Farmasi UMI dan Lab Fak Farmasi Biologi UIN Alauddin Makassar		
Dengan Nomor rekomendasi etik lama :	Nomor: 164/UN4.6.4.5.31/PP36-/2019		
Jenis Review	<input checked="" type="checkbox"/> Exempted <input type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku <b>4 Februari 2019</b> sampai <b>4 Februari 2020</b>	Frekuensi review lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama <b>Prof.Dr.dr. Suryani As'ad,</b> <b>M.Sc.,Sp.GK (K) (K)</b>	Tanda tangan 	
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama <b>dr. Agussalim Bukhari,</b> <b>M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)</b>	Tanda tangan 	

Kewajiban Peneliti Utama:

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan
- Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 Jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Laporan SUSAR dalam 72 Jam setelah Peneliti Utama menerima laporan
- Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah
- Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir
- Melaporkan penyimpangan dari protokol yang disetujui (protocol deviation / violation)
- Mematuhi semua peraturan yang ditentukan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
SEKOLAH PASCASARJANA

Jalan Perintis Kemerdekaan km. 10 Makassar 90245  
Telp. : (0411) 585034, 585036 Fax. : (0411) 585868  
E-mail : [info@pasca.unhas.ac.id](mailto:info@pasca.unhas.ac.id) <http://pasca.unhas.ac.id>

Nomor : 1498/UN4.20.1/PL.00.00/2019  
Perihal : Permintaan Izin Penggunaan Laboratorium

12 Maret 2019

Yth. Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Muslim Indonesia Makassar

Kota Makassar

Dengan hormat disampaikan bahwa mahasiswa Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang tersebut dibawah ini :

Nama : Ani  
Nomor Pokok : P102171012  
Program Pendidikan : Magister (S2)  
Program Studi : Ilmu Kebidanan

Bermaksud menggunakan Laboratorium Fitokimia pada Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia untuk kepentingan penelitian dalam rangka persiapan penulisan tesis terkait dengan judul "Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Cantella Asiatica L*) terhadap Kadar IL-6 pada Mammae Tikus Betina *Sprague Dawley* yang Diinduksi *Staphylococcus Aureus*".

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon kesediaan Bapak/Ibu Dekan untuk memberikan izin kepada mahasiswa tersebut untuk menggunakan Laboratorium yang ada pada Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.

Atas perkenan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

a.n. Dekan  
Wakil Dekan Bidang Akademik,  
Riset dan Publikasi Ilmiah  
  
Prof. Dr. Ir. Laode Asrul, M.P.  
NIP. 196303071988121001

Tembusan Yth:

1. Dekan SPs Unhas "sebagai laporan"
2. Kepala Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia
3. Mahasiswa yang bersangkutan
4. Pertinggal



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
SEKOLAH PASCASARJANA

Jalan Perintis Kemerdekaan km. 10 Makassar 90245  
Telp. : (0411) 585034, 585036 Fax. : (0411) 585868  
E-mail : [info@pasca.unhas.ac.id](mailto:info@pasca.unhas.ac.id), <http://pasca.unhas.ac.id>

Nomor : 1911/UN4.20.1/PL.00.00/2019  
Perihal : Permohonan Izin Penggunaan Laboratorium

2 April 2019

Yth. Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin

Kota Makassar

Dengan hormat disampaikan bahwa mahasiswa Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang tersebut dibawah ini :

Nama : Ani  
Nomor Pokok : P102171012  
Program Pendidikan : Magister (S2)  
Program Studi : Ilmu Kebidanan

Berencana menggunakan Laboratorium pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin untuk melakukan penelitian dalam rangka persiapan penulisan tesis terkait dengan judul "Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.)Urban) terhadap Kadar IL-6 pada *Mammæ* Tikus Betina *Sprague Dawley* yang Diinduksi *Staphylococcus Aureus*".

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon kesediaan Bapak/Ibu Dekan untuk memberikan izin kepada mahasiswa tersebut untuk menggunakan Laboratorium yang ada pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Atas perkenan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Dekan  
Wakil Dekan Bidang Akademik,  
Riset dan Publikasi Ilmiah  
  
ProL Dr. Ir. Laode Asrul, M.P.  
NIP. 196303071988121001

Tembusan Yth:

1. Dekan SPs Unhas "sebagai laporan"
2. Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
3. Mahasiswa yang bersangkutan
4. Arsip



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**SEKOLAH PASCASARJANA**

Jalan Perintis Kemerdekaan km. 10 Makassar 90245  
Telp. : (0411) 585034, 585036 Fax. : (0411) 585868  
E-mail : [info@pasca.unhas.ac.id](mailto:info@pasca.unhas.ac.id) <http://pasca.unhas.ac.id>

Nomor : 1409/UN4.20.1/PL.00.00/2019 5 Maret 2019  
Perihal : Permintaan Izin Penggunaan Laboratorium

Yth. Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin

Kota Makassar

Dengan hormat disampaikan bahwa mahasiswa Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang tersebut dibawah ini :

Nama : Ani  
Nomor Pokok : P102171012  
Program Pendidikan : Magister (S2)  
Program Studi : Ilmu Kebidanan

Bermaksud menggunakan Laboratorium Entomologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk kepentingan penelitian dalam rangka persiapan penulisan tesis terkait dengan judul "Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Cantella asiatica L*) terhadap Kadar IL-6 pada *Mammæ* Tikus Betina *Sprague Dawley* yang Diinduksi *Staphylococcus aureus*".

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon kesediaan Bapak/Ibu Dekan untuk memberikan izin kepada mahasiswa tersebut untuk menggunakan Laboratorium yang ada pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Atas perkenan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

  
Wakil Dekan Bidang Akademik,  
Riset dan Publikasi Ilmiah  
Prof. Dr. Ir. Laode Asrul, M.P.  
NIP. 196303071988121001

Tembusan Yth:

1. Dekan SPs Unhas "sebagai laporan"
2. Kepala Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
3. Mahasiswa yang bersangkutan
4. Arsip



**LABORATORIUM ENTOMOLOGI-PARASITOLOGI**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNHAS**

Sekretariat : Laboratorium Parasitologi Lt.4 Fakultas Kedokteran UNHAS  
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 11 Tamalanrea, Makassar 90245  
Telp. 0411-6164712, Fax. 0411-586297

**SURAT IZIN MENELITI**

No: 83/Ento/ XII /2018

Dengan ini saya yang bertanda tangan dibawah ini, mengajukan permohonan izin penelitian, dengan data sebagai berikut :

Nama : Ani  
Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan VII  
Telp/Hp : 081242613131  
Universitas : Universitas Hasanuddin  
Program Studi/Konsentrasi : S2 Ilmu Kebidanan PascaSarjana Unhas  
Penelitian : Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L).  
*Urban*) Terhadap Kadar IL-6 pada *Mammæ* Tikus Betina  
*Sprague Dawley* yang Diinduksi *Staphylococcus aureus*  
Waktu Pelaksanaan : DESEMBER 2018 - JANUARI 2019  
Jumlah Personil : 1 ORANG  
Pelaksana kegiatan  
(jika ada)  
Nama Personil : Ani

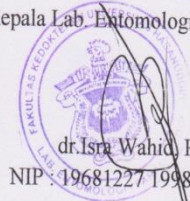
Demikian surat izin meneliti ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Peneliti

Ani

NIM : P102171012

Mengetahui,  
Makassar, 14 Desember 2018  
Kepala Lab. Entomologi-Parasitologi



dr. Isra Wahid, Ph.D

NIP : 19681227 199802 1 001





**LABORATORIUM ENTOMOLOGI-PARASITOLOGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNHAS**

Sekretariat : Laboratorium Parasitologi Lt.4 Fakultas Kedokteran UNHAS  
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 11 Tamalanrea, Makassar 90245  
Telp. 0411-6164712, Fax. 0411-586297

**SURAT KETERANGAN**

No: 017 /Ento/V/2019

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Entomologi-Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin menerangkan bahwa :

Nama : ANI  
Nim : P102171012  
Institusi : Universitas Hasanuddin Makassar  
Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan VII  
Judul Penelitian : Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kadar IL-6 pada mammae tikus betina *Sprague dawley* yang diinduksi *Staphylococcus aureus*

Benar telah melakukan penelitian di Laboratorium Entomologi/Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Kedokteran UNHAS.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 07 Mei 2019

Kepala Lab. Entomologi-Parasitologi



Dr. Isra Wahid, Ph.D

NIP : 19681227 199802 1 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**SEKOLAH PASCASARJANA**

Jalan Perintis Kemerdekaan km. 10 Makassar 90245  
Telp. : (0411) 585034, 585036 Fax. : (0411) 585868  
E-mail : [info@pasca.unhas.ac.id](mailto:info@pasca.unhas.ac.id) <http://pasca.unhas.ac.id>

Nomor : 1410/UN4.20.1/PL.00.00/2019  
Perihal : Permintaan Izin Penggunaan Laboratorium

5 Maret 2019

Yth. **Direktur Utama RSPTN**  
**Universitas Hasanuddin**

Kota Makassar

Dengan hormat disampaikan bahwa mahasiswa Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang tersebut dibawah ini :

Nama : **Ani**  
Nomor Pokok : P102171012  
Program Pendidikan : Magister (S2)  
Program Studi : Ilmu Kebidanan

Bermaksud menggunakan Laboratorium Mikrobiologi pada RSPTN Universitas Hasanuddin untuk kepentingan penelitian dalam rangka persiapan penulisan tesis terkait dengan judul "**Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Cantella asiatica L*) terhadap Kadar IL-6 pada *Mammæ* Tikus Betina *Sprague Dawley* yang Diinduksi *Staphylococcus aureus*".**

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon kesediaan Bapak/Ibu Dekan untuk memberikan izin kepada mahasiswa tersebut untuk menggunakan Laboratorium yang ada pada RSPTN Universitas Hasanuddin.

Atas perkenan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.






**Wakil Dekan Bidang Akademik,  
Riset dan Publikasi Ilmiah**

**Prof. Dr. Ir. Laode Asrul, M.P.**  
NIP. 196303071988121001

Tembusan Yth:

1. Dekan SPs Unhas "sebagai laporan"
2. Kepala Laboratorium Mikrobiologi RSPTN Universitas Hasanuddin
3. Mahasiswa yang bersangkutan
4. Arsip

 <b>RUMAH SAKIT UNIVERSITAS HASANUDDIN</b>	<b>SURAT IZIN PENELITIAN</b>	
	<b>Nomor:</b> 4856/UN4.26.1.2/PL.00.00/ 2019	<b>Tanggal</b> 04 April 2019
<b>FORMULIR 2</b>  <b>BIDANG PENELITIAN DAN INOVASI</b>	Kepada Yth <b>Kepala Ruang Laboratorium Penelitian</b>	
<p>Dengan hormat,</p> <p>Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/ mahasiswa berikut ini:</p> <p>Nama : ANI</p> <p>NIM / NIP : P102171012</p> <p>Institusi : S2 KEBIDANAN, Fakultas pascasarjana, Universitas Hasanuddin Makassar</p> <p>Kode penelitian : 190404_4</p> <p>Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati:</p> <p>Terhitung : 04 April 2019 s/d 04 Mei 2019</p> <p>Jumlah Subjek/Sample : 19</p> <p>Jenis Data : uji kadar Interleukin 6</p> <p>Untuk penelitian dengan judul:</p> <p><b>"EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEGAGAN ( Centella asiatica (L) Urban.) TERHADAP KADAR IL-6 PADA MAMMAE TIKUS BETINA SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI STAPHYLOCOCCUS AUREUS"</b></p> <p>Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya.</p> <p>Kepala Bidang Penelitian dan Inovasi</p> <p>  <b>Dr. Muhsin Firdaus Kasim, M.Sc</b>  NIP. 198412012018073001</p> <p></p> <p>Catatan: Lembaran ini diarsipkan oleh Bidang Penelitian dan Inovasi</p>		



KEMENTERIAN RISET TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
RUMAH SAKIT UNIVERSITAS HASANUDDIN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245

Website: [www.rs.unhas.ac.id](http://www.rs.unhas.ac.id) Email: [info@rs.unhas.ac.id](mailto:info@rs.unhas.ac.id) Telp: (0411) 591331 Fax: (0411) 591332

Nomor : 5644 /UN4.26.1.2/PL.00.00/2019  
Hal : **Surat Keterangan Selesai Penelitian**

24 April 2019

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa yang beridentitas :

Nama : ANI  
NIM : P102171012  
Institusi : Universitas Hasanuddin Makassar  
Kode : 190404\_4  
penelitian

Telah menyelesaikan penelitian di Rumah Sakit Unhas

Terhitung : 04 Mei 2019

Sampel : uji kadar Interleukin 6

Untuk memperoleh data dalam rangka penyusunan Tesis yang berjudul:

**"EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN PEGAGAN ( Centella asiatica (L) Urban.) TERHADAP KADAR IL-6 PADA MAMMAE TIKUS BETINA SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI STAPHYLOCOCCUS AUREUS"**

Demikian surat keterangan ini dibuat dan diberikan kepada yang bersangkutan untuk dipergunakan seperlunya.

Kepala Bidang Penelitian dan  
Inovasi  
  
**dr. Muh. Hirdaus Kasim, M.Sc**  
NIP. 198412012018073001