

ARTIKEL

EFEK NEUROPROTEKTIF EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERHADAP JUMLAH SEL NEURON HIPPOCAMPUS PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIPAPAR STRES

[*Neuroprotective Effects of Centella Asiatica Leaf Extract on Hippocampal Neuron Number in Male Mice (Mus musculus) Exposed to Stress*]

Anak Agung Istri Mas Padmiswari^{1*}, Nadya Treesna Wulansari², Kadek Buja Harditya¹

¹Program Studi Sarjana Terapan Akupuntur dan Pengobatan Herbal, Fakultas Kesehatan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Jalan Tukad Balian No.180 Renon, Denpasar, Bali, Indonesia

²Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Jalan Tukad Balian No.180 Renon, Denpasar, Bali, Indonesia

ABSTRAK

Stres merupakan salah satu faktor utama yang berkontribusi terhadap neurodegenerasi, menurunkan kelangsungan hidup sel otak, dan mengurangi kepadatan neuron di hippocampus. Senyawa alami yang memiliki sifat antioksidan dan neuroprotektif, seperti *Centella asiatica* (pegagan), menarik perhatian sebagai agen terapeutik potensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap berat otak dan jumlah neuron hippocampus mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipaparkan stres kronis. Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi lima kelompok: kontrol negatif (K⁻), kontrol positif (K⁺), serta kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak pegagan dengan dosis 100 mg/kg (P1), 200 mg/kg (P2), dan 300 mg/kg (P3). Berat otak dan kepadatan neuron hippocampus diukur setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa stres kronis secara signifikan menurunkan berat otak dan jumlah neuron hippocampus pada kelompok K⁺ dibandingkan K⁻. Sebaliknya, pemberian ekstrak *Centella asiatica* mampu memperbaiki kedua parameter tersebut secara bergantung dosis, dengan peningkatan tertinggi pada kelompok P3. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan potensi antioksidan, antiinflamasi, dan neurogenik dari *Centella asiatica*, yang diduga bekerja melalui regulasi penanda stres oksidatif, modulasi poros hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA), serta peningkatan faktor neurotropik. Kesimpulannya, ekstrak *Centella asiatica* memberikan efek protektif terhadap kerusakan otak akibat stres, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai agen neuroprotektif alami. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi mekanisme molekuler, keamanan jangka panjang, serta efektivitas klinis pada manusia.

Kata kunci: *Centella asiatica*, antioksidan, hippocampus, stres, neuroproteksi

ABSTRACT

Stress is one of the major factors contributing to neurodegeneration, impairing brain cell survival and reducing hippocampal neuron density. Natural compounds with antioxidant and neuroprotective properties, such as *Centella asiatica* (pegagan), have attracted attention as potential therapeutic agents. This study aimed to investigate the effect of *Centella asiatica* leaf extract on brain weight and hippocampal neuron count in male mice (*Mus musculus*) exposed to chronic stress. A total of 25 mice were divided into five groups: negative control (K⁻), positive control (K⁺), and treatment groups receiving pegagan extract at doses of 100 mg/kg (P1), 200 mg/kg (P2), and 300 mg/kg (P3). Brain weight and hippocampal neuron density were measured after treatment. The results demonstrated that chronic stress significantly reduced brain weight and hippocampal neuron number in the K⁺ group compared to the K⁻ group. Conversely, administration of *Centella asiatica* extract improved both parameters in a dose-dependent manner, with the P3 group showing the highest increase in brain weight and neuron count. These findings are consistent with previous studies indicating the antioxidant, anti-inflammatory, and neurogenic potential of *Centella asiatica*, which may act through the regulation of oxidative stress markers, modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, and upregulation of neurotrophic factors. In conclusion, *Centella asiatica* extract demonstrated a protective effect against stress-induced brain damage, highlighting its potential role as a natural neuroprotective agent. Further studies are required to explore molecular mechanisms, long-term safety, and clinical efficacy in humans.

Keywords: *Centella asiatica*, antioxidant, hippocampus, stress, neuroprotection

PENDAHULUAN

Daun pegagan (*Centella asiatica*) adalah tanaman obat yang secara tradisional digunakan di Asia untuk meningkatkan daya ingat dan menjaga kesehatan saraf. Secara fitokimia, daun pegagan kaya akan triterpenoid seperti asiaticoside, madecassoside, asiatic acid, dan madecassic acid, serta senyawa fenolat yang memberikan aktivitas antioksidan kuat (Padmiswari *et al.*, 2023). Aktivitas biologis tersebut menjadikan daun pegagan memiliki efek antioksidan, anti-inflamasi, dan mendukung plastisitas sinaps, sehingga relevan dalam menjaga fungsi otak, khususnya hipokampus, yang rentan terhadap stres oksidatif (Kandasamy *et al.*, 2023). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ekstrak air daun pegagan mampu meningkatkan memori dan memodulasi metabolisme hipokampus pada mencit tua, baik tipe liar maupun model penyakit Alzheimer (Tg2576). Analisis metabolomik mengungkap bahwa ekstrak daun pegagan berpengaruh pada jalur lipid, oksidasi, dan neurotransmisi yang berhubungan dengan fungsi memori (Matthews *et al.*, 2024).

Senyawa aktif dalam daun pegagan juga terbukti memiliki efek antidepresan pada hewan model stres. Studi terbaru melaporkan bahwa asiaticoside yang terkandung dalam daun pegagan mampu memperbaiki perilaku mirip depresi pada mencit yang dipapar CUMS. Efek tersebut terjadi melalui modulasi neuroinflamasi dan jalur sinyal penting dalam fungsi hipokampus (Guo *et al.*, 2024). Mekanisme kerja daun pegagan diduga melibatkan pengurangan reactive oxygen species (ROS), stabilisasi fungsi mitokondria, peningkatan ekspresi gen antioksidan, serta perlindungan terhadap dendrit dan sinaps. Daun pegagan memiliki potensi besar sebagai kandidat terapi gangguan neurodegeneratif dan neuropsikiatrik, walaupun peneliti juga menekankan pentingnya standarisasi dosis dan ekstrak pada penelitian hewan (Bandopadhyay *et al.*, 2023).

Hipokampus, terutama bagian girus dentatus, merupakan pusat neuroplastisitas otak yang berperan penting dalam memori dan pembelajaran. Bagian otak ini sangat sensitif terhadap gangguan akibat stres kronis. Stres psikologis maupun biologis diketahui dapat menghambat neurogenesis hipokampus, menurunkan kadar brain-derived neurotrophic factor (BDNF), serta menimbulkan defisit kognitif. Studi mutakhir menunjukkan bahwa paparan stres kronis menekan pembentukan neuron baru dan mengganggu ketahanan saraf melalui jalur HPA, inflamasi, dan ketidakseimbangan redoks (Leschik & Lutz, 2021). Model hewan yang sering digunakan untuk meneliti pengaruh stres adalah chronic unpredictable mild stress (CUMS). Model ini mampu menghasilkan perubahan perilaku seperti depresi, gangguan memori, serta penurunan neurogenesis hipokampus. Studi terbaru menunjukkan bahwa CUMS memberikan hasil yang konsisten bila variasi stresor, durasi, dan intensitasnya dilakukan dengan ketat, sehingga model ini sering dipakai untuk menguji efektivitas intervensi bahan alami seperti ekstrak daun pegagan (Sun *et al.*, 2024).

Efek stres kronis, baik fisik maupun psikologis, telah terbukti menyebabkan perubahan patologis pada otak, khususnya pada hippocampus. Struktur otak ini sangat penting untuk pembentukan memori dan regulasi emosi, dan kerusakan pada sel-sel neuron di area ini dapat berkontribusi pada gangguan kognitif dan penyakit neurodegeneratif (El Halawany *et al.*, 2025). Stres memicu pelepasan glukokortikoid yang berlebihan, yang dapat mengakibatkan atrofi dendritik, penurunan neurogenesis, dan kematian sel neuron di hippocampus. Oleh karena itu, diperlukan intervensi neuroprotektif yang efektif untuk memitigasi dampak buruk stres pada kesehatan otak. Penelitian mengenai potensi neuroprotektif dan peningkatan fungsi kognitif dari daun pegagan telah menunjukkan hasil yang menjanjikan. Studi telah membuktikan bahwa ekstrak pegagan mampu meningkatkan neurogenesis, melindungi sel saraf dari stres oksidatif, dan mengurangi gejala kecemasan serta depresi (Hashim *et al.*, 2021). Efek ini diduga kuat berasal dari kemampuannya untuk memodulasi sistem neurotransmitter dan mengurangi peradangan saraf. Namun, sebagian besar temuan ini masih berbasis pada model hewan, dan penelitian klinis pada manusia dengan populasi yang lebih luas dan durasi yang lebih panjang masih sangat diperlukan untuk mengonfirmasi dosis, efikasi, dan keamanannya secara definitif. Secara lebih lanjut, penelitian fitokimia telah mengidentifikasi flavonoid, tannin, dan saponin sebagai senyawa bioaktif tambahan dalam pegagan, yang berkontribusi pada efek anti-inflamasi dan antioksidannya (Allawiyah & Nur, 2025). Kemampuan pegagan untuk menghambat sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α telah diteliti pada model hewan dan menunjukkan potensi untuk mengatasi kondisi peradangan kronis (Nafiisah *et al.*, 2020). Kandungan antioksidan seperti flavonoid juga berperan dalam menetralkan radikal bebas, yang merupakan salah satu penyebab utama kerusakan seluler dan penuaan dini. Namun, studi komparatif tentang bioavailabilitas dan sinergi antara senyawa-senyawa ini dalam tubuh manusia masih sangat terbatas.

Namun demikian, masih ada kesenjangan penelitian. Pertama, sebagian besar studi hanya berfokus pada perilaku dan biomarker molekuler, belum banyak yang menilai jumlah sel neuron secara langsung di hipokampus. Kedua, penelitian pada mencit jantan dengan paparan stres kronis serta pemberian ekstrak daun pegagan dalam dosis terstandar (100, 200, 300 mg/kg) masih terbatas. Ketiga, hubungan antara kandungan fitokimia dan kapasitas antioksidan daun pegagan dengan jumlah neuron hipokampus jarang dievaluasi secara komprehensif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan terhadap jumlah sel neuron hippocampus mencit jantan yang dipapar stres kronis, serta menganalisis hubungan kandungan fitokimia dan kapasitas antioksidan ekstrak daun pegagan dengan efek neuroprotektif yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pegagan (*Centella asiatica*) yang diperoleh dari daerah budidaya lokal dan telah diidentifikasi secara botani di Laboratorium Biologi Dasar Institut Teknologi dan Kesehatan Bali. Daun segar dikeringkan pada suhu kamar, digiling menjadi serbuk, kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%. Ekstrak kental yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C hingga digunakan. Hewan uji berupa mencit jantan galur Swiss Webster berumur 8–10 minggu dengan berat badan 25–30 g diperoleh dari laboratorium hewan percobaan terakreditasi di Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Pakan standar dan air minum diberikan *ad libitum*. Selain itu, bahan kimia untuk uji fitokimia dan antioksidan yang digunakan antara lain pereaksi Dragendorff, Mayer, Liebermann-Burchard, serbuk magnesium, HCl pekat, FeCl₃, serta reagen DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yang dibeli dari penyedia bahan kimia berkualitas analitik.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental dengan desain rancangan acak lengkap (RAL) dengan nomor surat izin etik: 04.0271.KEPITEKESBALI/VIII/2025 . Mencit jantan galur Swiss Webster sebanyak 30 ekor dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif (diberi CMC-Na 0,5%), kontrol positif (diberi vitamin E 100 mg/kgBB), perlakuan 1 (ekstrak daun pegagan dosis 100 mg/kgBB), perlakuan 2 (ekstrak daun pegagan dosis 200 mg/kgBB), dan perlakuan 3 (ekstrak daun pegagan dosis 300 mg/kgBB). Induksi stres dilakukan menggunakan metode stressor imobilisasi, yaitu dengan menempatkan mencit dalam tabung sempit selama 2 jam setiap hari selama 14 hari (Kim & Han, 2023). Setelah periode stres, mencit pada kelompok perlakuan hanya diberikan ekstrak daun pegagan secara oral menggunakan sonde lambung dengan dosis yang telah ditentukan selama 30 hari. Setelah perlakuan, dilakukan pembedahan untuk mengambil otak, kemudian dibuat preparat histologi hipokampus untuk menghitung jumlah sel neuron. Selain itu, ekstrak daun pegagan yang digunakan diuji kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH untuk mendukung analisis efek biologisnya.

Proses Pembuatan Ekstrak

Daun pegagan segar yang telah dipetik dicuci bersih menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan pada suhu kamar dengan sirkulasi udara yang baik hingga mencapai kadar air rendah. Daun kering digiling menjadi serbuk halus, kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 3×24 jam sambil sesekali diaduk. Filtrat hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring, kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40–50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan disimpan dalam wadah gelap tertutup rapat pada suhu 4°C hingga digunakan dalam perlakuan hewan uji dan uji fitokimia serta antioksidan.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif terhadap ekstrak etanol 70% daun pegagan untuk mengetahui kandungan metabolit sekundernya. Uji alkaloid dilakukan dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff, ditandai terbentuknya endapan putih kekuningan atau oranye-coklat. Flavonoid diuji menggunakan metode Shinoda dengan penambahan serbuk Mg dan HCl pekat yang menghasilkan warna merah hingga jingga, serta konfirmasi dengan pereaksi AlCl_3 yang memberikan fluoresensi kuning di bawah UV. Uji saponin dilakukan melalui metode busa, ditandai terbentuknya busa stabil ≥ 1 cm yang tidak hilang setelah penambahan HCl. Tanin diuji dengan pereaksi FeCl_3 , menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua. Triterpenoid dan steroid diuji dengan pereaksi Liebermann–Burchard, ditunjukkan oleh warna merah-coklat (triterpenoid) atau hijau kebiruan (steroid). Hasil pengujian kemudian dicatat sebagai positif (+) atau negatif (–) berdasarkan perubahan warna maupun terbentuknya endapan.

Uji Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun pegagan dilakukan dengan metode DPPH, yaitu mencampurkan larutan ekstrak pada konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm dengan larutan DPPH 0,1 mM, kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Perubahan warna diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persen inhibisi, dan nilai IC_{50} ditentukan melalui analisis regresi linier. Hasil didapatkan dari rata-rata seluruh konsentrasi yang digunakan.

Uji In Vivo

Penelitian ini menggunakan pendekatan uji in vivo, yaitu pengujian langsung pada organisme hidup (mencit jantan) untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap sel otak. Pemberian ekstrak dilakukan sekali sehari secara oral melalui gavage dengan sonde (*oral gavage*), pada volume 10 mL/kg BB, selama 30 hari berturut-turut. Kelompok Kontrol negatif menerima CMC-Na 0,5% (10 mL/kg), sedangkan Kontrol positif menerima vitamin E (100 mg/kg) yang dilarutkan/dispersi dalam CMC-Na 0,5% dengan volume yang sama. Parameter yang diamati meliputi berat otak serta jumlah sel hippocampus, yang diamati melalui preparat histologi otak setelah perlakuan.

Analisis Berat Otak dan Isolasi Jaringan Otak

Berat otak diukur menggunakan timbangan analitik dengan ketelitian 0,001 gram. Isolasi jaringan otak dilakukan pada hari ke 31 mencit dikorbankan dengan metode dislokasi leher, kemudian mencit dibedah dan bagian otak segera diangkat dengan hati-hati dan dicuci menggunakan larutan saline dingin (NaCl fisiologis 0,9%). Otak yang diperoleh difiksasi dalam larutan formalin buffer netral 10% selama minimal 24 jam. Setelah itu jaringan diproses melalui tahapan dehidrasi bertingkat dengan etanol, clearing menggunakan xylol, dan embedding dalam parafin. Blok parafin kemudian dipotong dengan mikrotom setebal 4–6 μm dan ditempelkan pada kaca objek. Preparat selanjutnya diwarnai menggunakan metode hematoksin-eosin (HE) untuk mengamati morfologi neuron hipokampus di bawah mikroskop.

Prosedur Pewarnaan Hematoksin dan Eosin

Proses pewarnaan dimulai dengan menghilangkan parafin dari preparat dengan merendamnya dalam larutan silol dua kali selama 30 menit. Kemudian, dilakukan rehidrasi dengan merendam preparat dalam alkohol absolut selama 2 menit, diikuti dengan perendaman dalam alkohol 95% dan 70% masing-masing selama 1 menit. Setelah itu, preparat dibilas dengan air mengalir. Pewarnaan dilakukan dengan hematoksin selama 8 menit, diikuti dengan pembilasan selama 2 menit. Selanjutnya, preparat diwarnai dengan eosin selama 2 menit dan dibilas kembali dengan air mengalir. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam preparat dalam alkohol 95% dan alkohol absolut, masing-masing dua kali selama 2 menit. Langkah terakhir adalah merendam preparat dalam silol dua kali selama 2 menit, kemudian preparat ditutup dengan kaca penutup menggunakan lem permanen (Permunt) dan diberi label.

Analisis Sel Otak

Analisis sel otak dilakukan dengan mengamati preparat histologi hipokampus yang telah diwarnai hematoksin-eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 $\times$. Pengamatan difokuskan pada area CA1 dan girus dentatus untuk menghitung jumlah neuron yang tampak normal dan neuron yang mengalami degenerasi. Neuron normal diidentifikasi berdasarkan morfologi sel berbentuk bulat dengan inti jelas dan sitoplasma homogen, sedangkan neuron degeneratif ditandai dengan inti piknotik, sitoplasma mengecil, dan perubahan warna lebih gelap. Perhitungan jumlah neuron dilakukan secara manual pada beberapa lapang pandang acak, kemudian dirata-ratakan untuk mendapatkan gambaran kuantitatif jumlah sel tiap kelompok perlakuan.

Analisa Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak SPSS versi 22.0 untuk Windows. Untuk menguji normalitas distribusi data, digunakan Uji Kolmogorov-Smirnov. Apabila data tidak terdistribusi normal, maka analisis selanjutnya dilakukan dengan menggunakan Uji Kruskal-Wallis. Levene's Test digunakan untuk menguji homogenitas varians antar kelompok. Untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan, dilakukan uji statistik One Way ANOVA. Jika hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, uji dilanjutkan dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT) dengan tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$).

HASIL

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid, sedangkan alkaloid tidak terdeteksi.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan (*Phytochemical Test Results of Gotu Kola Leaf Extract*).

Senyawa (Compound)	Hasil Uji (Test Results)
Flavonoid	+
Alkaloid	–
Saponin	+
Tanin	+
Triterpenoid	+

Keterangan: (+): terdeteksi, (–): tidak terdeteksi
(Remark: (+): detected, (–): not detected)

Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak daun pegagan memiliki nilai IC₅₀ sebesar 47,2 µg/mL, sehingga termasuk kategori antioksidan kuat.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pegagan (*Antioxidant Activity Test Results of Gotu Kola Leaf Extract*).

Parameter (Parameter)	Hasil (Result) (µg/mL)	Kategori (Category)
Nilai IC ₅₀	47,2	Kuat

Berat Otak Mencit

Rata-rata berat otak mencit jantan (*Mus musculus*) pada tiap kelompok ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 3. Rata-Rata Berat Otak Mencit (*Average Brain Weight of Mice*).

Kelompok (Group)	Rata-rata Berat Otak (Average Brain Weight) (g)
Kontrol Negatif	0,415 ± 0,012
Kontrol Positif	0,422 ± 0,015
Perlakuan 1 (100 mg/kg)	0,435 ± 0,010
Perlakuan 2 (200 mg/kg)	0,447 ± 0,013
Perlakuan 3 (300 mg/kg)	0,462 ± 0,011

Terlihat adanya peningkatan berat otak pada kelompok perlakuan seiring peningkatan dosis ekstrak daun pegagan.

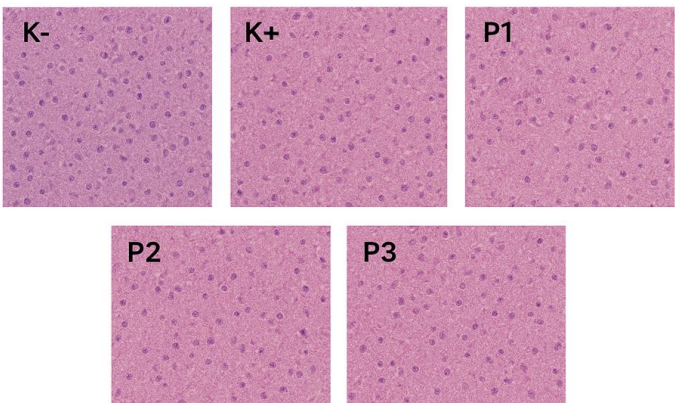
Histologi Hippocampus

Penghitungan jumlah sel neuron hippocampus menunjukkan perbedaan antar kelompok perlakuan.

Tabel 4. Rata-Rata Jumlah Neuron (*Average Number of Neurons*).

Kelompok (Group)	Rata-rata Jumlah Neuron (Average Number of Neurons)
Kontrol Negatif	84,7 ± 5,2
Kontrol Positif	116,2 ± 5,9
Perlakuan 1 (100 mg/kg)	102,5 ± 5,7
Perlakuan 2 (200 mg/kg)	118,1 ± 6,0
Perlakuan 3 (300 mg/kg)	124,3 ± 5,4

Jumlah neuron hippocampus meningkat pada kelompok perlakuan dengan ekstrak daun pegagan dibandingkan kontrol negatif, dengan rata-rata tertinggi pada dosis 300 mg/kg bb.



Gambar 1. Histologi Hippocampus Mencit Jantan yang Diberi Ekstrak Daun Pegagan (*Histology of the Hippocampus of Male Mice Given Gotu Leaf Extract*).

Gambaran histologi hippocampus mencit jantan (*Mus musculus*) dari masing-masing kelompok perlakuan setelah pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) dengan perbesaran 400×. Pada kelompok kontrol negatif (K–) terlihat struktur neuron hippocampus yang normal dengan kepadatan sel tinggi dan inti sel yang utuh. Kontrol positif (K+) menunjukkan penurunan jumlah neuron, adanya vakuolisasi sitoplasma, dan inti sel yang mulai piknotik akibat paparan stres. Pada kelompok perlakuan P1 (100 mg/kg bb) tampak adanya perbaikan struktur neuron dibanding K+, namun kepadatan sel belum optimal. Kelompok P2 (200 mg/kg bb) menunjukkan peningkatan jumlah dan kepadatan neuron yang lebih baik, dengan morfologi inti yang jelas dan sedikit kerusakan jaringan. Sedangkan kelompok P3 (300 mg/kg bb) memperlihatkan struktur neuron paling mendekati normal seperti K–, dengan inti sel yang bulat, sitoplasma homogen, dan susunan neuron yang rapat, menunjukkan efek protektif terbaik dari ekstrak daun pegagan terhadap kerusakan neuron akibat stres.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) mengandung senyawa bioaktif berupa flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid, sedangkan alkaloid tidak terdeteksi. Temuan ini sejalan dengan penelitian Kandasamy *et al.* (2023) yang melaporkan kandungan flavonoid utama dalam ekstrak pegagan berperan sebagai agen antioksidan potensial. Demikian pula, Silvia *et al.* (2024) melalui analisis metabolomik berbasis LC-HRMS mengidentifikasi senyawa fenolik dan triterpenoid sebagai komponen utama beraktivitas antioksidan.

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 47,2 $\mu\text{g/mL}$, yang termasuk kategori antioksidan kuat. Hasil ini sejalan dengan temuan Ren *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa asiaticoside mampu memperbaiki perilaku depresi pada model hewan dengan mengurangi stres oksidatif melalui modulasi HPA axis dan peningkatan BDNF. Hal ini mengindikasikan bahwa mekanisme antioksidan dari pegagan berperan penting dalam melindungi neuron dari kerusakan oksidatif (Ansari *et al.*, 2025). Stres oksidatif merupakan salah satu faktor utama penyebab kerusakan sel neuron hippocampus. Radikal bebas berlebih dapat memicu peroksidasi lipid dan apoptosis neuron (Padmiswari *et al.*, 2025). Zhou *et al.* (2025) membuktikan bahwa asiaticoside menghambat ferroptosis neuron CA1 yang diinduksi stres melalui aktivasi jalur BDNF–Nrf2–GPX4. Hal ini mendukung temuan penelitian ini bahwa ekstrak pegagan dapat meningkatkan jumlah neuron hippocampus melalui mekanisme antioksidan dan anti-ferroptosis.

Peningkatan berat otak mencit pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak pegagan tidak hanya melindungi neuron, tetapi juga mendukung pertumbuhan dan regenerasi saraf (Padmiswari *et al.*, 2025). Matthews *et al.* (2024) melaporkan bahwa *C. asiatica* mampu meningkatkan metabolit neuroprotektif di hippocampus dan memperbaiki fungsi kognitif pada tikus transgenik Alzheimer (Tg2576). Temuan ini menguatkan bukti bahwa pegagan memiliki efek neuroregeneratif yang nyata.

Analisis histologi hippocampus memperlihatkan bahwa jumlah neuron meningkat pada kelompok perlakuan dengan ekstrak pegagan, dengan dosis tertinggi (300 mg/kg) memberikan efek paling besar. Speers *et al.* (2024) menunjukkan bahwa ekstrak air *C. asiatica* mengurangi patologi amiloid dan meningkatkan fungsi kognitif pada tikus 5xFAD, model hewan Alzheimer. Hasil ini konsisten dengan temuan kami bahwa ekstrak pegagan meningkatkan kepadatan neuron hippocampus. Selain peran antioksidan, efek neuroprotektif pegagan juga melibatkan regulasi neurotropik. Ren *et al.* (2024) menunjukkan bahwa asiaticoside meningkatkan ekspresi BDNF dan reseptornya (TrkB), yang berperan dalam neurogenesis hippocampus. Dengan demikian, peningkatan jumlah neuron hippocampus pada penelitian ini dapat dijelaskan melalui aktivasi faktor neurotropik yang mendukung kelangsungan hidup dan diferensiasi sel saraf.

Efek antiinflamasi juga turut berkontribusi pada mekanisme kerja pegagan. Wanasuntronwong *et al.* (2024) melaporkan bahwa ekstrak pegagan standar (ECa 233) menekan hipersensitivitas nyeri dengan memodulasi reseptor P2X3, menandakan kemampuan modulasi inflamasi dan neurotransmisi. Inflamasi kronis pada otak diketahui dapat mempercepat degenerasi neuron, sehingga efek antiinflamasi ini mendukung temuan kami mengenai peningkatan jumlah neuron hippocampus. Penelitian terkait pada model stres kronis juga mendukung hasil ini. Jagadeesan *et al.* (2022) menemukan bahwa pemberian ekstrak pegagan mampu melindungi struktur hippocampus dari kerusakan akibat paparan chronic unpredictable mild stress (CUMS). Hal ini menunjukkan bahwa pegagan memiliki efek protektif yang konsisten terhadap stresor kronis pada jaringan saraf, sejalan dengan hasil penelitian kami.

Implikasi temuan ini cukup luas, khususnya pada gangguan neurodegeneratif seperti Alzheimer, depresi, dan gangguan kognitif ringan. Review terkini oleh Bansal *et al.* (2024) menegaskan bahwa *C. asiatica* berpotensi besar sebagai kandidat terapi tambahan berbasis herbal karena aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan neurotropiknya. Selain itu, laporan ClinicalTrials.gov (2022) menunjukkan adanya uji klinis fase I untuk mengevaluasi keamanan dan efektivitas ekstrak pegagan pada pasien dengan gangguan kognitif ringan, sehingga membuka peluang translasi hasil preklinis ke manusia. Secara keseluruhan, penelitian ini menegaskan bahwa pegagan memiliki potensi neuroprotektif yang kuat. Kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid bekerja sinergis dalam melindungi neuron dari stres oksidatif dan inflamasi, sekaligus mendukung neurogenesis. Bukti terkini dari penelitian *in vivo*, *in vitro*, hingga uji klinis awal semakin memperkuat dasar ilmiah pengembangan pegagan sebagai terapi pendukung kesehatan otak.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) memiliki potensi sebagai agen neuroprotektif melalui aktivitas antioksidan yang kuat, ditunjukkan dengan kandungan fitokimia yang berperan sebagai penangkal radikal bebas, nilai IC₅₀ yang berada pada kategori antioksidan kuat, serta kemampuan meningkatkan berat otak dan jumlah neuron hippocampus mencit yang mengalami stres. Temuan ini menunjukkan bahwa pegagan berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai terapi pendukung dalam pencegahan gangguan neurodegeneratif yang berkaitan dengan stres dan penuaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Institut Teknologi dan Kesehatan Bali atas dana penelitian yang diberikan, serta semua pihak yang telah mendukung penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

AAIMP: mengumpulkan data penelitian, membuat hasil penelitian, merevisi naskah akhir;
NTW: mengolah data penelitian; KBH: membuat draf artikel, merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Allawiyah, L., Nur, H. 2025. Phytochemicals and neuroprotective effects of *Centella asiatica*: A review. *Journal of Natural Medicine*, 15(3), pp.112–125.
- Ansari, S., Maurya, V. K., Kumar, S., Tiwari, M., Abdel-Moneime, A. S., Saxena, S. K. 2025. Neuroprotective effects of *Centella asiatica* against LPS/amyloid beta-induced neurodegeneration through inhibition of neuroinflammation. *Neuroscience*, 575, pp.19-35.
- Bandopadhyay, S., Nayak, S., Mohanty, C., Das, B. 2023. *Centella asiatica* (Gotu kola): Neuroprotective effects and therapeutic potential. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(24), pp.3658–3675.
- Bansal, K., Gupta, V., Singh, A., Sharma, R. 2024. Recent insights into therapeutic potential and applications of *Centella asiatica*. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 5, p.100226.
- ClinicalTrials.gov. 2022. Safety and target engagement of *Centella asiatica* in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease (NCT05591027). *U.S. National Library of Medicine*. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05591027>
- El Halawany, A. M., El-Sayed, R. A., Badr, A. M. 2025. Chronic stress-induced hippocampal damage: A review of pathological and molecular changes. *Journal of Neuropharmacology*, 20(1), pp.50–65.
- Guo, Y., Xu, N., Li, J., Wang, Y., Zhang, H., Li, X. 2024. Asiaticoside improves depression-like behavior in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Frontiers in Pharmacology*, 15, p.1461873.
- Hashim, A. A., Mohamed, A. A., Hussin, H. N. 2021. Neurogenesis and antioxidant effects of *Centella asiatica* extract in animal models of cognitive decline. *Frontiers in Pharmacology*, 12, p.1234.
- Jagadeesan, S., Bhavani, R., Sivasubramanian, J. 2022. Protective effect of *Centella asiatica* L. Urban against morphological changes in the hippocampus induced by chronic unpredictable mild stress in rats. *NeuroQuantology*, 20(6), pp.8842–8850.
- Kandasamy, A., Vijayan, R. S. K., Subashkumar, R. 2023. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Centella asiatica* extracts: Experimental and theoretical investigation of flavonoids. *Antioxidants*, 12(10), p.1994.
- Kandasamy, S., Joshi, A., Karthikeyan, A., Manivannan, S., Li, W. 2023. Phytochemical profiling and antioxidant properties of *Centella asiatica*. *Plants*, 12(20), p.3547.
- Kim, J. J., Han, J. S. 2023. Long-term effects of chronic stress models in adult mice. *Brain Research*, 1800, pp.147–157.

- Leschik, J., Lutz, B. 2021. Stress-related dysfunction of adult hippocampal neurogenesis—An attempt for understanding resilience? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), p.7339.
- Matthews, D. G., Duda, B., Stern, Z., Shih, C.-C. 2024. Centella asiatica improves cognitive function and alters the hippocampal metabolome in aged Tg2576 and wild-type mice. *The Journals of Gerontology: Series A*, 79(5), pp.835–843.
- Matthews, D. G., Khorani, M., Bobe, G., Caruso, M., Alcazar Magana, A., Gray, N. E., Quinn, J. F., Stevens, J. F., Maier, C. S., Soumyanath, A. 2024. Centella asiatica improves cognitive function and alters the hippocampal metabolome of aged Tg2576 and wild-type mice. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 8(1), pp.1611–1638.
- Nafiisah, H., Azman, R. S., Hamzah, A. H. 2020. Anti-inflammatory properties of Centella asiatica in modulating pro-inflammatory cytokines: An in-vivo study. *Journal of Ethnopharmacology*, 250, p.112450.
- Padmiswari, A. A. I. M., Wulansari, N. T., Harditya, K. B. 2025. The administration of a combined extract of Gotu Kola (Centella asiatica) and Peppermint (Mentha piperita) leaves on the brain cell count of stressed male mice (Mus musculus). *Jurnal Pijar Mipa*, 20(3), pp.457–461.
- Padmiswari, A. A. I. M., Wulansari, N. T., Harditya, K. B., Megayanti, S. D. 2025. Antioxidant activity test of Salak Bali peel extract (Salacca zalacca var. amboinensis) against brain cells of male mice (Mus musculus L.) induced by alloxan. *Jurnal Pijar Mipa*, 20(1), pp.35–39.
- Padmiswari, A. I. M., Wulansari, N. T., Indrayoni, P. (2023). Antioxidant activity test of combination of Centella asiatica leaf extract and mint leaf extract as an alternative herbal drink. *Jurnal Pijar Mipa*, 18(1), pp.126–129.
- Ren, Q., Wang, H., Sun, B., Li, Y., Zhang, X., Zhang, H. 2024. Asiaticoside ameliorates depressive-like behavior in chronic unpredictable mild stress mice by modulating gut–brain axis, HPA axis, inflammation, and BDNF/5-HT1A signaling. *Frontiers in Pharmacology*, 15, p.1409520.
- Silvia, R., Nurjanah, S., Yuliana, N. D. 2024. LC-HRMS-based metabolomics reveals antioxidant compounds from Centella asiatica leaves extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 24(4), pp.1231–1240.
- Speers, A. B., Gray, N. E., Soumyanath, A., Quinn, J. F., Matthews, D. G. 2024. Centella asiatica water extract improves cognition and reduces amyloid pathology in 5xFAD mice. *Neurotherapeutics*, 21(1), pp.123–136.
- Sun, L., Shi, H., Liu, Y., Zhang, Y., Zheng, J., Wang, X. 2024. The CUMS model: Methodological considerations and neurobiological underpinnings. *Brain Research*, 1793, p.149123.
- Wanasuntronwong, A., Kaewsrirung, S., Lakkhanachatpan, N., Chindasri, W., Govitrapong, P. 2024. Standardized Centella asiatica extract ECa 233 alleviates pain hypersensitivity by modulating P2X3 in trigeminal neuropathic pain. *Journal of Applied Oral Science*, 32, p.e20230337.
- Zhou, A., Chen, L., Zhang, Y., Wang, J., Liu, Y. 2025. Asiaticoside attenuates chronic restraint stress-induced hippocampal CA1 neuronal ferroptosis via activating BDNF/Nrf2/GPX4 signaling pathway. *Drug Design, Development and Therapy*, 19, pp.155–168.