

Potensi Daun Pegagan (*Centela Asiatica*) Dalam Rehabilitasi Hepatitis Alkoholik Pada Sel Hepar Mencit (*Mus Musculus*)

Ninin Khoirunnisa AS¹, Zulkhah Noor²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran UMY, ²Bagian Fisiologi UMY

Abstract

Centela asiatica contains flavonoids to keep the tissue from damage and saponin to modulate immune function, restoring the production of cytokines, antioxidant system, and multiorgan injury. This study aims to determine the rehabilitation potential of *Centella asiatica* in alcoholic hepatitis liver cells.

This study design is experimental in vivo in animal test, post-test only control group design. Thirty male Swiss Webster mice, 2-3 months, \pm 20grams were divided into six groups: normal control, negative control, control prednisolone, and three *Centela asiatica* extract group (55mg/kg, 110mg/kg and 220mg/kg dose per day). Alcohol 14.7% with doses of 1:12mg/20gr BB induced for 21 days, continued with extract treatment and prednisolone for the next 21 days. On the 24th day, mice were sacrificed and the liver tissue was taken for HE-stained histology preparations. Extract effect were assessed by liver damage degree such as picnotic, karyorectic and karyolytic nucleated liver cells. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis SPSS15 continued with Mann-Whitney.

The average degree of damage to liver cells per 100 cells in one lobe of the normal control group: 5,0% \pm 2,0%; Negative control: 34,6% \pm 3,5%; prednisolone control: 19,6% \pm 4,2%; 55mg/kg dose: 29,1% \pm 4,5%; 110mg/kg dose: 21,8% \pm 1,7%; and 220mg/kg dose: 18,7% \pm 2,6%. Kruskal-Wallis analysis of the data showed significant differences $p = 0.0001$ ($p < 0.05$). The 220mg/kg extract dose group had low average degree of liver cell damage; almost close to prednisolone control groups. This study concluded that *Centella asiatica* extract potentially rehabilitate alcoholic hepatitis liver cell damage.

Keywords: alcoholic hepatitis, *Centela asiatica*, the degree of cell damage

Abstrak

Kerusakan sel hepar dapat terjadi karna bahan toksik, salah satunya alkohol. Perlu stimulan untuk mempercepat regenerasi sel. *Centela asiatica* memiliki kandungan flavonoid untuk mencegah kerusakan jaringan dan Saponin untuk memodulasi fungsi kekebalan tubuh, mengembalikan produksi sitokin, sistem antioksidan, dan cedera multiorgan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi *Centella asiatica* dalam rehabilitasi sel hepar hepatitis alkoholik.

Desain penelitian ini adalah eksperimental *in vivo* pada hewan uji, *post-test only control group design*. Tigapuluh ekor mencit jantan galur *Swiss Webster*, 2-3 bulan, ± 20 gram dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kontrol prednisolon, dan tiga kelompok ekstrak *Centela asiatica* (dosis 55mg/kgbb, 110mg/kgbb, dan 220mg/kgbb per hari). Alkohol 14,7% dengan dosis 1,12 mg/20gr BB diinduksi selama 21 hari, perlakuan ekstrak *Centela asiatica* dan prednisolon selama 21 hari berikutnya. Hari ke-24 mencit dikorbankan dan jaringan hepar diambil untuk dibuat preparat histology dengan pengecatan HE. Efek ekstrak dinilai dari derajat kerusakan hepar berupa jumlah sel hepar yang berinti piknotik, karioreksis, dan kariolisis. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskal-wallis* dilanjutkan *Mann-Whitney*.

Rata-rata derajat kerusakan sel hepar per 100 sel dalam satu lobus kelompok kontrol normal : $5,0\% \pm 2,0\%$; kontrol negatif: $34,6\% \pm 3,5\%$; kontrol prednisolon: $19,6\% \pm 4,2\%$; dosis 55mg/kg: $29,1\% \pm 4,5\%$; dosis 110mg/kg: $21,8\% \pm 1,7\%$; dan dosis 220mg/kg: $18,7\% \pm 2,6\%$. Analisis *Kruskal-wallis* menunjukkan data memiliki perbedaan bermakna $p=0,001$ ($p<0,05$). Kelompok ekstrak *Centela asiatica* dosis 220mg/kg memiliki rata-rata derajat kerusakan sel hepar terendah, sehingga menurunkan derajat kerusakan setara dengan prednisolon. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa ekstrak *Centela asiatica* berpotensi merehabilitasi kerusakan sel hepar hepatitis alkoholik

Kata kunci: *Centela asiatica*, derajat kerusakan sel, hepatitis alkoholik

Pendahuluan

Alcohol Liver Diseases (ALD) merupakan penyebab dari sirosis hati. *ALD* terdiri dari spektrum penyakit yaitu *alcoholic fatty liver*, hepatitis alkoholik, fibrosis alkoholik, sirosis, dan kanker hepatoselular. Penggunaan alkohol secara signifikan akan berasosiasi pada lebih dari 60 jenis penyakit dan cedera, sehingga kejadian kematian (mortalitas) akibat *ALD* pada setiap tahunnya kira-kira mencapai 2,25 juta. Saat ini *ALD* termasuk salah satu dari sepuluh penyebab kematian di dunia. Fibrosis hati ataupun sirosis hati yang disebabkan oleh penyalahgunaan alkohol merupakan masalah kesehatan terbesar di seluruh negara. Lebih dari 60% pasien dengan sirosis hati dan hepatitis alkoholik hanya memiliki harapan hidup selama empat tahun (Saucedo, 2013).

Hepatitis alkoholik adalah sindrom inflamasi hepar secara progresif yang berkaitan erat dengan konsumsi alkohol dalam jangka waktu yang panjang dan akan mengakibatkan terjadi akumulasi asetaldehid. Akumulasi asetaldehid meningkatkan stres oksidatif atau nitosatif, mengganggu fungsi mitokondria, meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, mengaktifasi sinyal kematian sel dan menurunkan kadar antioksidan tubuh (Moon, MA, & BJ., 2007).

Daun pegagan atau (*Centella asiatica*) memiliki banyak fitokimia, misalnya terpen, saponin, glikosida, alkaloid, flavonoid dan lain-lain sebagai sekunder metabolit (Jamil, Q.Nizami, & M., 2007; Hashim, Sidek, Helan, & Sabery, 2011; Vohra, Pal, Gupta, Singh, & Bansal, 2011). Flavonoid bermanfaat sebagai antioksidan. Sedangkan saponin bermanfaat untuk memodulasi fungsi kekebalan tubuh, mengembalikan produksi sitokin sistem antioksidan, dan cedera multiorgan (Duggina, Kalla, Varikasuvu, Bukke, & Tarte, 2015).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *post test control group design*.

Subjek penelitian mencit (*Mus musculus*) berkelamin jantan, galur *Swiss Webster* usia 2-3 bulan dengan berat badan 20 gram, berjumlah 30 ekor yang di acak menjadi 6 kelompok, masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor subjek. Subjek didapat dari laboratorium hewan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Subjek di pelihara di Laboratorium PAU Pasca Sarjana Universitas Gadjadara dengan pencahayaan yang cukup yaitu dengan perbandingan 50:50, siang hari terang dan malam hari gelap dengan suhu

ruangan 20-25 derajat celsius dan makanan yang diberikan jenis AD 2. Ukuran kandang panjang 20 cm lebar 12 cm dan tinggi 15 cm dan dalam 1 kandang terdapat 5 subjek.

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil mencit yang memiliki genetik dan sifat yang sama. Hal ini dilakukan untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan. Pengelompokan sampel dilakukan secara acak dan dilakukan penimbangan berat badan sebelum dan sesudah perlakuan. Kemudian dibagi menjadi enam kelompok secara *Simple Random Sampling* yaitu kelompok.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah rangkaian dosis ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica*) yaitu 55mg/kgBB, 110mg/kgBB, 220mg/kgBB. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah hasil tes indikator SGOT dan SGPT. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah kondisi pakan, kondisi kandang, faktor genetik, umur serta berat badan subjek penelitian

Bahan yang digunakan antara lain simplisia daun pegagan (*Centela asiatica*), mencit (*Mus musculus*) jantan galur *Swiss webster* umur 2-3 bulan dan berat \pm 20 gram, pakan dan minum, alkohol 14,7 %, aquades, prednisolon, etanol 80% untuk pembuatan ekstrak, formalin 10% untuk pengawetan organ hepar.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, Blender, Kain saring, Tabung, Saringan, Sonde, Pipet, Gelas kaca, Spuit, seperangkat alat pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE, tabung kecil untuk organ hepar, kapas, kandang mencit diberi kode, dan mikroskop cahaya dan optilab.

Lokasi penelitian diantaranya di Laboratorium PAU Pasca Sarjana Universitas Gadjadara sebagai tempat pemeliharaan dan perawatan. Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Gadjadara untuk pembuatan preparat histologi. Pengamatan, penilaian preparat, dan pengumpulan data dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Penelitian ini dimulai dengan pembuatan ekstrak *Centela asiatica* dengan cara daun *Centela asiatica* kering disiapkan sebanyak 10kg kemudian dihaluskan dengan blender menjadi partikel-partikel kecil atau disebut sebagai simplisia. Simplisia ditimbang kemudian dimaserasi berulang kali dalam toples kaca dengan pelarut etanol 80% dengan perbandingan simplisia : etanol 80% = 1 : 10 pada suhu ruangan selama 5 x 24 jam sambil sesekali diaduk sampai semua komponen terekstraksi. Setelah 24 jam, ekstrak etanol disaring dengan kain saring dan ditampung pada toples kaca. Sisa bahan penyaringan

direndam lagi dengan etanol (remaserasi) selama 2 x 24 jam, sama seperti perendaman yang dilakukan sebelumnya. Bahan yang sudah disaring kemudian diuapkan untuk menghilangkan kandungan etanol dalam bahan ekstrak pada suhu 50°C dalam *water bath*. Hasil penguapan berupa ekstrak kental ditimbang dan dicatat berapa gram hasilnya.

Pengelompokkan hewan uji sebanyak 30 ekor mencit ditimbang dan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok, yaitu : kelompok I sebagai kelompok kontrol normal (tanpa induksi alkohol dan tanpa perlakuan), kelompok II sebagai kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok III sebagai kontrol positif (Prednisolon), kelompok IV, V dan VI sebagai kelompok ekstrak *Centela*

Hasil Penelitian

Rata-rata derajat kerusakan hepar setelah diberikan perlakuan dianalisis menggunakan analisis statistik *Kruskal*

asiatica masing masing 55mg/kgBB, 110 mg/kgBB dan 220 mg/kgBB.

Induksi alkoholik dilakukan dengan pemberian anggur merah 14,7% dengan dosis 1,12 mg/20grBB peroral 1 kali sehari selama 21 hari. Dilanjutkan pada 21 hari berikutnya pemberian terapi prednisolon dan ekstrak *Centela asiatica*). Setelah 42 hari dilakukan pengambilan jaringan hepar guna dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE.

Data hasil pengamatan derajat kerusakan hepar, didapatkan hasil perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dengan menggunakan metode statistik *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

Wallis dilanjutkan dengan *Mann Whitney*. Hasil uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney* ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil pengujian Kruskal Wallis dan Mann- Whitney.

No	Kelompok	N	Derajat kerusakan Hepar Rata-rata ± SD (SKH)	Nilai P Kruskal Wallis
1.	Kontrol Normal	5	5,0% ± 2,0% ^a	Sig. 0,001 (p<0,05)
2.	Kontrol Negatif	5	34,6% ± 3,5% ^b	
3.	Kontrol Positif	5	19,6% ± 4,2% ^c	
4.	<i>Centela asiatica</i> 55mg	5	29,1% ± 4,5% ^b	
5.	<i>Centela asiatica</i> 110mg	5	21,8% ± 1,7% ^{b c}	
6.	<i>Centela asiatica</i> 220mg	5	18,7% ± 2,6% ^c	

Hasil uji statistik *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai $p = 0.001$ ($p < 0.05$), artinya terdapat perbedaan rata-rata derajat kerusakan hepar yang bermakna, maka uji statistik dilanjutkan dengan Uji *Mann Whitney*. Uji *Mann Whitney* dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki persamaan yang signifikan.

Hasil Mann-Whiney mendapatkan hasil persamaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak *Centela asiatica* dosis 110mg dan ekstrak *Centela asiatica* dosis 220mg. Kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak *Centela asiatica* dosis 110mg dan kelompok ekstrak *Centela asiatica* dosis 55mg. Sedangkan kelompok kontrol normal tidak memiliki persamaan yang signifikan dengan kelompok manapun.

Diskusi

Perlemakan hati merupakan konsekuensi awal dan reversibel dari pengonsumsi alkohol jangka panjang. Efek penginduksian alkohol selama 21 hari pada mencit (*Mus musculus*) jantan galur *Swiss webster* terbukti dapat merusak hepar mulai dari perlemakan menjadi hepatitis alkoholik. Kerusakan hepar dapat dideteksi dengan peningkatan kadar SGOT SGPT mencit setelah penginduksian alkohol 14,7% dengan dosis 1.12 mg/20gr BB. Setelah mengonsumsi alkohol (etanol),

terdapat peningkatan 3 fosfat (3-GP) yang berhubungan dengan peningkatan rasio nikotinamid adenin dinukleotida (NAD⁺) dibandingkan dengan bentuk tereduksi (NADH) di dalam hati. Konsentrasi 3-GP yang lebih tinggi memperkuat esterifikasi asam lemak. Peran sitokin proinflamasi seperti TNF-alfa pada stadium awal perlemakan hati, yang juga terdapat pada steatohepatitis alkoholik. (Kapita Selekta Kedokteran, 2014).

Mengonsumsi etanol secara terus menerus dapat meningkatkan angka kematian dan penyakit liver, paru (Massey, et al., 2015). Penelitian oleh Parvati membuktikan bahwa kenaikan SGOT SGPT pada pemberian parasetamol dosis tunggal 500 mg / kg secara intraperitoneal dapat merusak hepar (Patel, et al., 2010). Jumlah konsumsi alkohol yang besar dapat memperkuat liposis melalui stimulasi langsung aksis adrenal-pituitari. Konsumsi etanol kronik akan menghambat oksidasi asam lemak di dalam hati dan pelepasan *VLDL* (*Very Low Density Lipoprotein*) kedalam darah, dimana penumpukan itu membuat keadaan steatosis (Kapita Selekta Kedokteran, 2014).

Peningkatan kadar enzim penanda serum adalah indikasi kebocoran seluler dan hilangnya integritas fungsional dari membran sel dalam hati. Hal ini terlihat dari ketinggian di tingkat SGOT SGPT dan ALP

(*Alkaline Phosphatase*) (Patel, et al., 2010; Antony, Santhakumari, Merina, Sheeba, & Mukkadan, 2006). Peningkatan beberapa parameter seperti serum glutamat oksaloasetat transaminase, serum glutamat piruvat transaminase, alkali fosfatase dan pemeriksaan histopatologi hati, memberikan perubahan besar histopatologi seperti nekrosis, kapal padat, daerah multifokal perubahan lemak, disintegrasi nuklir, pelebaran sinusoidal, dan hiperplasia sel Kupffer. Pencegahan fenomena tersebut dapat dianggap sebagai aktivitas hepatoprotektif (Antony, Santhakumari, Merina, Sheeba, & Mukkadan, 2006).

Pilihan pengobatan untuk pasien dengan hepatitis alkoholik berat (AH) adalah penggunaan kortikosteroid (Lucey, Mathurin, & TR., 2009). Mathurin dan kawan-kawan di Perancis melakukan penelitian dengan menganalisis data pasien dari 3 RCT. Hasil meta-analisis menunjukkan bahwa steroid memiliki keuntungan bertahan hidup 85% diantara pasien yang diobati dan 65% untuk pasien yang menerima plasebo ($p = 0,001$). Ini juga terkait dengan peningkatan fungsi hati dalam minggu pertama dengan terapi steroid (Mathurin, et al., 2002). Kortikosteroid bertindak dengan mengurangi sitokin inflamasi seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α), antar molekul

adhesi 1, Interleukin (IL) -6 dan IL-8 (Spahr, et al., 2001; Taïeb, et al., 2000).

Patogenesis utama dari hepatitis alkoholik adalah peradangan. Bahkan, dalam sebuah penelitian, jumlah sel darah putih perifer adalah $>5500/cm$. Jumlah polymorphonuclear infiltrasi leucocytic pada spesimen biopsi hati adalah prediktor independen untuk respon dan kelangsungan hidup pengobatan steroid (Mathurin, et al., 1996). Meskipun, obat lain juga diuji di seluruh studi yang berbeda, prednisolon menjadi pilihan. Obat ini diberikan peroral dengan dosis 40-60 mg/hari untuk total durasi 4 minggu. Durasi pengobatan dengan prednisolon kemudian divalidasi lagi menjadi 2-3 minggu. Jika pasien tidak kuat dengan efek samping prednisolon berupa mual dan muntah, pasien bisa diberikan intravena dengan metilprednisolon sampai pasien bisa diberi terapi peroral (Singal, Walia, Singal, & Soloway, 2011).

Penelitian ini menunjukkan hasil perbaikan sel pada derajat kerusakan hepar dengan dosis ekstrak daun pegagan (*Centela asiatica*) 55 dan 110 mg/kgBB/hari/mencit mengalami penurunan kerusakan dibandingkan kerusakan sel hepar yang tidak mendapatkan terapi. Dosis 220 mg/kgBB/hari/mencit menunjukkan nilai yang mendekati nilai perbaikan sel pada

terapi prednisolon 0,1044 mg. Dosis ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) 55, 110, dan 220 mg/kgBB/hari/mencit terbukti berpotensi sebagai hepatoprotektor dan dapat memperbaiki kerusakan jaringan hepar akibat hepatitis alkoholik dengan menurunkan nekrosis jaringan hepar. Terbukti dari hasil nilai piknotik, karioreksis, dan kariolisis disetiap kelompok perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) yang berbeda disetiap dosisnya.

Penelitian oleh Antoni dan kawan-kawan dilakukan untuk mengevaluasi efek hepatoprotektif daun pegagan (*Centella asiatica*) di tetraklorida-induced cedera hati karbon pada tikus. Sprague Dawley tikus diobati dengan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) peroral dengan dosis 20 dan 40 mg/kgBB/hari selama 3 bulan bersama dengan injeksi intraperitoneal karbon tetraklorida 1 ml/kgBB. Pemeriksaan histopatologi jaringan hati terdapat perubahan biokimia, steatosis hati, degenerasi hidropik, dan nekrosis yang diamati pada kelompok tetraklorida-diperlakukan karbon. Efek hepatotoksik karbon tetraklorida-induced terlihat jelas oleh yang signifikan ($p < 0,05$) peningkatan enzim penanda serum dan penurunan protein serum total dan albumin. Pemberian ekstrak pegagan efektif menghambat perubahan ini dengan cara tergantung dosis

yang diberikan, efek maksimum adalah dengan 40 mg/kg (Antony, Santhakumari, Merina, Sheeba, & Mukkadan, 2006). Pencapaian perbaikan kerusakan sel hepar berbanding lurus dengan dosis yang diberikan.

Daftar Pustaka

1. Antony, B., Santhakumari, G., Merina, B., Sheeba, V., & Mukkadan, J. (2006). Hepatoprotective effect of *Centella asiatica* (L) in carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Scientific Publication of the Indian Pharmaceutical Association*, 68(6), 772-776.
2. Bayyinatul, M. (2011). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Jumlah Korpus Luteum dan Kebuntingan Mencit (*Mus musculus*) Betina.
3. Duggina, P., Kalla, C. M., Varikasuvu, S. R., Bukke, S., & Tarte, V. (2015). Protective effect of centella triterpene saponins against cyclophosphamide-induced immune and hepatic system dysfunction in rats: its possible mechanisms of action. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 71(3), 435-454.
4. Hashim, P., Sidek, H., Helan, M., & Sabery, A. (2011). Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica*. *Molecules*, 1310-1322, 16.
5. Heuman, D. M. (2014). *Alcoholic Hepatitis*. American Association for the Study of Liver Diseases.
6. Jamil, Q.Nizami, & M., S. (2007). *Centella asiatica* (Linn.) Urban o' A Review . *Natural Product Radiance* , 12, 6.

7. Kusumawati. (2004). *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
8. Longo, K. D. (2011). *Harrison's principle of internal medicine*. New York: McGraw-Hill: McGraw-Hill.
9. Lucey, Mathurin, & TR., M. (2009). Alcoholic hepatitis. *N Engl J Med (PubMed)*, 360, 2758–2769.
10. Massey, V. L., Poole, L. G., Sio, D. L., Torres, E., Warner, N. L., Schmidt, R. H., . . . Arteel, G. E. (2015). Chronic Alcohol Exposure Enhances Lipopolysaccharide-Induced Lung Injury in Mice: Potential Role of Systemic Tumor Necrosis Factor-Alpha. *ISBRA*, 39(10), 1978–1988.
11. Mathurin, Duchatelle, Ramond, Degott, Bedossa, Erlinger, T, P. (1996). Survival and prognostic factors in patients with severe alcoholic hepatitis treated with prednisolone. *Gastroenterology [PubMed]*, 110, 1847–1853.
12. Mathurin, L. A. (2013). Prednisolone with vs without pentoxifylline and survival of patients with severe alcoholic hepatitis: a randomized clinical trial. *JAMA*.
13. Mathurin, Mendenhall, Carithers, Ramond, Maddrey, Garstide, T, P. (2002). Corticosteroids improve short-term survival in patients with severe alcoholic hepatitis (AH): individual data analysis of the last three randomized placebo controlled double blind trials of corticosteroids in severe AH. *Hepatology [PubMed]*, 36, 480–487.
14. Moon, MA, A., & BJ., S. (2007). Inactivation of cytosolic aldehyde dehydrogenase via S-nitrosylation in ethanol-exposed rat liver. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*.
15. Patel, P. B., Patel, T. K., Shah, P., Baxi, S. N., Sharma, H. O., & Tripathi, C. B. (2010). Protective Effect of Ethanol Extract of *Gymnosporia montana* (Roth) Benth. in Paracetamol-induced Hepatotoxicity in Rats. *US National Library of Medicine*, 72(3), 392–396.
16. Rahman, M. (2013). Antioxidant Activity of *Centella asiatica* (Linn.) Urban: Impact. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 27.
17. Rohyani, I. S. (2015). Phytochemical content of some of local plant species frequently used as raw materials for. 7.
18. Saucedo, R. S. (2013). Harmful use of Alcohol Alcohol Use Disorders and Alcoholic Liver Diseases. *Priority Medicines for Europe and the World "A Public Health Approach to Innovation"*.
19. eeverathnam, P. M. (2012). Functionall Properties of *Centella asiatica* (L.). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol 4*, 8.
20. Shoreibah, A. B. (2014). Alcoholic hepatitis and concomitant hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, 34.
21. Singal, A. K., Walia, I., Singal, A., & Soloway, R. D. (2011). Corticosteroids and pentoxifylline for the treatment of alcoholic hepatitis: Current status. *World J Hepatol (US National Library of Medicine)*, 205–210, 3(8).
22. Spahr, Rubbia-Brandt, Pugin, Giostra, Frossard, Borisch, & A, H. (2001). Rapid changes in alcoholic hepatitis histology under steroids: correlation with soluble intercellular adhesion molecule-1 in hepatic venous blood. *J Hepatol [PubMed]*, 35, 582–589.

23. Taïeb, Mathurin, Elbim, Cluzel, Arce-Vicioso, Bernard, . . . S, C.-M. (2000). Blood neutrophil functions and cytokine release in severe alcoholic hepatitis: effect of corticosteroids. *J Hepatol [PubMed]*, 32, 579–586.
24. Vohra, Pal, Gupta, Singh, & Bansal. (2011). An Insight on *Centella asiatica* Linn. : A review on recent research. *Pharmacology online*, 440-463, 2.

