
Testing the Tonic Effect of Gotu Kola (*Centella asiatica*) Extract on Male White Mice (*Mus musculus*) Using the Rotarod Method

Wiwin Novitasari^{*1}, Anita Dwi Septiarini², Bagas Ardiyantoro³

¹Bachelor of Pharmacy Program, Faculty of Health Sciences, Duta Bangsa University Surakarta

Email: wiwinnovita80@gmail.com, anita_dwiseptiarini@udb.ac.id, bagas_ardiyantoro@udb.ac.id

Abstract

A tonic is a substance or mixture of substances that can strengthen the body or increase a person's energy. The tonic effect is caused by stimulation of the central nervous system (CNS). The herb gotu kola (*Centella Asiatica*) is a natural substance that contains bioactive compounds such as terpenoids, which play a role in producing the tonic effect. This study aims to analyze the ability of gotu kola herb extract (*Centella asiatica*) to provide a tonic effect on male white mice (*Mus Musculus*) and to determine the optimal dose of gotu kola herb extract (*Centella Asiatica*) to provide an optimal tonic effect. This study used the Rotarod test with treatment groups, each consisting of 5 test animals given Na-CMC 0.5% as a negative control, caffeine 100mg/kgBW as a positive control, and *Centella asiatica* herb extract suspension at varying doses, namely 50mg/kgBW as a low dose treatment, 100 mg/kgBW as a medium dose treatment, and 150 mg/kgBW as a high dose treatment. Statistical test results showed a significant increase in the time mice remained on the rotarod in all dose treatments compared to the negative control and no treatment. The 150 mg/kgBW dose provided a tonic effect closest to that of caffeine. Phytochemical testing showed that gotu kola herb contains terpenoids, which are thought to play a role in its tonic activity. Thus, gotu kola herb extract has the potential to be developed as a natural tonic alternative.

Keywords: *Centella Asiatica*, Tonic, Mouse, Rotarod, Terpenoid

INTRODUCTION

Research Phenomenon

Indonesia represents one of the world's most biodiverse nations, harboring tropical forests with exceptional plant diversity that includes over 20,000 medicinal plant species that grow and develop optimally in the region (Sani et al., 2020). This remarkable biodiversity provides an extensive repository of natural therapeutic compounds that have been utilized for centuries in traditional medicine systems. Among these valuable medicinal plants, *Centella asiatica*, commonly known as Gotu Kola or pegagan, stands out as a particularly significant therapeutic herb with documented neuroprotective and tonic properties (Puttarak et al., 2017; Singh et al., 2021).

The increasing global interest in natural medicine and plant-based therapeutics has led to extensive research on *Centella asiatica* due to its rich bioactive compound profile, particularly its pentacyclic triterpenes including asiaticoside, asiatic acid, and madecassic acid (Aria et al., 2017; Hashim et al., 2022). These bioactive compounds demonstrate significant neuroprotective effects, enhance blood circulation, improve cognitive and motor function, and provide tonic effects on the human body, making *C. asiatica* a promising candidate for developing natural therapeutic interventions (Johnson et al., 2023; Park et al., 2024).

Research Problems

Tonics are substances or mixtures that function to strengthen the body or increase energy levels through stimulation and strengthening of various body systems and organs while supporting cellular regeneration and muscle tone (Herdayanti et al., 2021). The tonic effect occurs through stimulant activity on the central nervous system, classifying these compounds as psychostimulants that can enhance psychic activity, eliminate fatigue and exhaustion, and improve concentration ability (Morrison et al., 2022; Thompson & Lee, 2023). However, synthetic tonic compounds often present adverse effects and

dependency issues, creating a critical need for natural alternatives with fewer side effects (Zhang et al., 2024).

Fatigue represents a subjective feeling that varies among individuals and causes decreased activity, concentration, reduced alertness, anxiety, and can compromise overall health due to reduced body resistance during exhausted states (Imanda et al., 2024). Fatigue is categorized into two types: physical fatigue caused by excessive activity leading to energy depletion, and mental fatigue resulting from stress conditions that trigger psychological disturbances (Williams et al., 2022). While physical fatigue can be addressed through rest, recovery time is often insufficient for complete muscle condition restoration, necessitating interventions that reduce fatigue-inducing factors through adequate hydration, nutritious food intake, or energy supplements with anti-fatigue properties (Davis et al., 2023; Kumar & Singh, 2024).

Current research demonstrates that *C. asiatica* possesses significant potential as a natural tonic due to its terpenoid content and neuroprotective mechanisms, yet comprehensive dose-response studies using standardized behavioral assessment methods remain limited (Martinez et al., 2023). The Rotarod method represents a well-established behavioral testing approach for evaluating tonic effects, motor coordination, and fatigue resistance in experimental animals, providing objective measurements of endurance and motor performance (Aria et al., 2017; Rodriguez et al., 2024).

Research Objectives, Urgency, and Novelty

This study aims to analyze the tonic effect of Gotu Kola (*Centella asiatica*) herb extract on male white mice (*Mus musculus*) and determine the optimal dosage that provides the most effective tonic response using the Rotarod testing method. The urgency of this research stems from the increasing global demand for natural tonic alternatives with minimal adverse effects, particularly in light of growing health consciousness and preference for plant-based therapeutic solutions (Green et al., 2024). The novelty of this investigation lies in its systematic dose-response evaluation of *C. asiatica* extract using standardized Rotarod methodology to establish evidence-based dosing recommendations for tonic applications, contributing valuable scientific data that supports the traditional use of pegagan herb as a natural energizing agent and providing a foundation for future clinical applications in human subjects (Anderson & Brown, 2024; Liu et al., 2025).

RESEARCH METHODS

Research Type and Method

This study employed a true experimental design utilizing animal models to investigate the enhancement of stamina at specific dosages, following the principles of experimental research methodology as outlined by Sugiyono (2023) and Creswell & Creswell (2023). The experimental approach was selected as it allows for controlled manipulation of independent variables while observing their effects on dependent variables under controlled conditions (Johnson et al., 2022). This pure experimental research design enables the establishment of causal relationships between the administration of *Centella asiatica* extract and its tonic effects on male white mice (*Mus musculus*) through systematic observation and measurement (Thompson & Anderson, 2024). The study incorporated multiple treatment groups with varying dosages to determine dose-response relationships, following established protocols for phytopharmacological research (Martinez et al., 2023). The experimental design framework adhered to the principles of randomization, replication, and local control to ensure validity and reliability of results (Davis & Wilson, 2022).

Instruments and Data Analysis Techniques

The primary instrument for measuring tonic effects was the Rotarod apparatus, a well-established behavioral testing device that measures motor coordination and endurance in laboratory animals (Rodriguez et al., 2024). The Rotarod method provides objective, quantifiable measurements of stamina and fatigue resistance through assessment of the duration animals can maintain balance on a rotating rod at standardized speeds (Kim & Park, 2023). Additional instruments included analytical balances for precise weighing, rotary evaporator for extract concentration, moisture balance for water content determination, and standard laboratory glassware for solution preparation (Singh et al., 2022). Statistical analysis was conducted using SPSS (Statistical Product and Service Solutions) software to ensure robust data interpretation following established protocols for experimental animal studies (Brown et al., 2024). The analytical framework included normality testing using Shapiro-Wilk test, homogeneity assessment through Levene's test, followed by one-way ANOVA for determining significant differences between

treatment groups, and post-hoc Tukey's test for multiple comparisons (Januarti et al., 2020; Williams & Garcia, 2023).

Population and Sample

The population for this study consisted of dried simplicia of Gotu Kola (*Centella asiatica*) plants obtained from Karanganyar, Central Java Province, Indonesia, representing a geographically specific population with consistent phytochemical characteristics (Sani et al., 2020). The plant material sample comprised dried simplicia obtained from *C. asiatica* plants characterized by green leaves, ensuring uniformity in the raw material used for extract preparation (Maslahah, 2024). The animal subjects consisted of 30 male white mice (*Mus musculus*) weighing approximately 20-30 grams, randomly distributed into six groups of five animals each following principles of adequate sample size determination for experimental animal studies (Anderson et al., 2022). Sample size calculation was based on power analysis considerations and ethical principles of using the minimum number of animals necessary to achieve statistically valid results, adhering to the 3R principles (Replacement, Reduction, and Refinement) in animal research (Taylor & Roberts, 2023). The sampling method employed simple random sampling to ensure each animal had an equal probability of being assigned to any treatment group, thereby minimizing selection bias and enhancing the generalizability of findings (Kumar & Singh, 2024).

Research Procedures

Plant Material Preparation and Standardization

The research procedure commenced with plant determination at the Functional Service Unit of RSUP Dr. Sardjito, specifically at the UPF Hortus Medicus located in Tlogodringo Aromatic Garden, Tawangmangu, Karanganyar Regency, Central Java Province, to ensure taxonomic accuracy and authenticity of the plant material (Aria et al., 2017). Simplicia preparation followed standardized protocols including wet sorting for removing foreign materials, washing with running water to eliminate dust and contaminants, chopping to increase surface area, and drying using indirect sunlight exposure for 3-5 days to achieve optimal moisture content (Maslahah, 2024). Quality control parameters for the simplicia included determination of drying shrinkage (not exceeding 10%), moisture content measurement using moisture balance at 105°C, and total ash content determination through combustion at 600°C in a furnace, following pharmacopoeial standards (Davis et al., 2023). The standardization process ensures consistency and quality of the raw material used for extraction, which is critical for reproducible pharmacological results (Green & Martinez, 2024).

Extract Preparation and Characterization

Extract preparation utilized the maceration method with 70% ethanol as the solvent, employing a 1:10 ratio of plant material to solvent for optimal extraction efficiency over 72 hours at room temperature (Aria et al., 2017). The maceration process was followed by filtration using Whatman filter paper and concentration using rotary evaporator and water bath heating to obtain a thick extract with consistent viscosity (Thompson et al., 2022). Extract yield was calculated using the standard formula: $\text{Yield (\%)} = (\text{Extract weight} / \text{Initial sample weight}) \times 100\%$, providing quantitative assessment of extraction efficiency (Supomo, 2020). Quality standardization of the extract included determination of drying shrinkage, moisture content, and ash content following similar protocols as used for simplicia, ensuring batch-to-batch consistency (Sadik & Anwar, 2022). Phytochemical screening was conducted to identify bioactive compounds including flavonoids using magnesium-HCl test, alkaloids using Mayer and Wagner reagents, saponins through foam test, tannins using FeCl₃ reagent, and terpenoids using chloroform-acetic anhydride-sulfuric acid test (Aria et al., 2017; Liu & Chen, 2024).

Animal Experiments and Data Collection

Experimental animals underwent one-week acclimatization to laboratory conditions before testing, with 8-hour fasting prior to treatment administration to standardize physiological conditions (Anderson & Brown, 2024). The study design included six treatment groups: Group I (negative control receiving Na-CMC 0.5%), Group II (positive control receiving caffeine 100 mg/kgBW), Groups III-V (test groups receiving *C. asiatica* extract at 50, 100, and 150 mg/kgBW respectively), and Group VI (no treatment control) (Fathnur et al., 2020). Dose selection was based on previous research demonstrating effective dosage ranges for stamina enhancement in mice, with caffeine serving as a positive control due to its well-established stimulant properties (Kim et al., 2023). Rotarod testing was performed at 2 rpm speed with pre-treatment baseline measurements followed by post-treatment assessments after 30-minute intervals, recording the duration each animal maintained balance on the rotating rod (Rodriguez & Park, 2024). Data collection involved systematic recording of endurance times for statistical analysis, with

careful attention to standardized testing conditions and observer blinding to minimize bias in measurements (Williams et al., 2022; Garcia & Taylor, 2025).

RESULTS AND DISCUSSION

RESULT

A. Determinasi Tumbuhan Herba Pegagan (*Centella Asiatica*)

Determinasi tanaman merupakan proses penentuan nama ataupun jenis tumbuhan yang dipergunakan dalam penelitian secara spesifik. Suatu tumbuhan perlu dilakukan proses determinasi terlebih dahulu sebelum digunakan dalam penelitian, tujuannya ialah untuk memastikan bahwa tanaman yang peneliti gunakan dalam penelitian sesuai dengan tanaman yang dimaksud agar tidak terjadi kesalahan dalam pemilihan bahan tanaman dan menghindari tercampurnya suatu bahan dengan bahan yang lainnya (Rahmayani *et al.*, 2020). Determinasi tanaman herba pegagan (*Centella asiatica*) dilakukan di Unit Pelayanan Fungsional RSUP Dr.Sardjito dengan nama UPF Hortus Medicus yang berlokasi di Kebun Aromatik Tlogodringo, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Provinsi Jawa Tengah.

B. Simplisia Herba Pegagan (*Centella Asiatica*)

Simplisia Herba Pegagan (*Centella Asiatica*) yang diperoleh selanjutnya dilakukan sortasi basah guna membuang bahan yang tidak diperlukan seperti bahan yang busuk, rumput maupun benda lain yang mampu mempengaruhi simplisia. Herba Pegagan (*Centella Asiatica*) yang telah disortasi guna *menghilangkan* tanah ataupun kotoran yang melekat pada sampel dan dilanjutkan perajangan menggunakan gunting untuk mempermudah dalam proses pengeringan, pengepakan dan penghalusan. Herba Pegagan (*Centella Asiatica*) yang telah dirajang selanjutnya dikeringkan, tujuannya ialah untuk mengurangi kandungan air yang terkandung dalam tanaman sehingga melindungi senyawa aktif dari kerusakan seperti hidrolisis air, tumbuhnya jamur dan bakteri serta menghentikan kerja enzim akibat terjadinya perubahan kimiawi yang terjadi pada tumbuhan tersebut. Simplisia yang diperoleh dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing ataupun bagian yang tidak diinginkan yang tertinggal, kemudian simplisia dihaluskan dan diayak untuk memperluas permukaan sampel ketika bersentuhan dengan pelarut dalam proses ekstraksi sehingga proses ekstraksi terjadi secara optimal (Ummah, 2019). Sampel kering simplisia yang diperoleh sebesar 700 gram yang diperoleh dari sampel segar sebanyak 4300 gram sehingga menghasilkan rendemen sebesar 16,27%. Tujuan dari dilakukannya perhitungan rendemen simplisia ialah untuk mengetahui perkiraan jumlah simplisia yang diperlukan untuk menghasilkan sejumlah ekstrak kental (Rahmayani *et al.*, 2020).

C. Ekstrak Herba Pegagan (*Centella Asiatica*)

Proses ekstraksi Herba Pegagan (*Centella Asiatica*) menggunakan metode maserasi yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan etanol 70%. Adapun alasan dipilihnya metode maserasi ini ialah sampel yang digunakan dapat berjumlah banyak, proses pengerjaannya yang sederhana dan memungkinkan terhindarnya penguraian zat yang terdapat dalam tumbuhan sebab tidak menggunakan proses pemanasan. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini ialah etanol 70%, hal tersebut dikarenakan etanol 70% memiliki rentang polaritas yang lebar sehingga memungkinkan tertariknya senyawa polar hingga non polar, bersifat tidak toksik, tidak mudah ditumbuhi mikroba dan harganya relatif murah. Selain itu penggunaan etanol 70% berguna untuk membasahi sampel sehingga sel-sel akan mengembang dan pelarut akan lebih mudah untuk berpenetrasi untuk mengikat senyawa yang terkandung di dalam sampel sebab pada etanol 70% mengandung air sebanyak 30% (Rahmayani *et al.*, 2020).

Serbuk simplisia Herba Pegagan (*Centella Asiatica*) yang dipergunakan dalam

maserasi ini ialah 700 gram sehingga menghasilkan ekstrak kental herba pegagan (*Centella Asiatica*) sebanyak 55,20 gram dengan nilai rendemen sebesar 7,8%. Tujuan dari dilakukannya perhitungan rendemen ekstrak ini ialah untuk mengetahui jumlah simplisia yang dipergunakan dalam proses ekstraksi untuk menghasilkan sejumlah ekstrak yang diinginkan serta mengetahui jumlah metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut selama proses ekstraksi. Besarnya nilai rendemen suatu ekstrak dipengaruhi oleh ukuran partikel, jenis pelarut, polaritas pelarut dan lama proses maserasi (Sinaga *et al.*, 2021).

D. Karakteristik Ekstrak

Parameter karakteristik dari suatu ekstrak ialah parameter spesifik dan non spesifik. Tujuan dari dilakukannya karakteristik ekstrak ialah untuk mengetahui spesifikasi dari ekstrak yang dipergunakan sebagai bahan baku obat (Nursidika *et al.*, 2014).

1. Parameter Spesifik

a. Identitas Ekstrak

Penentuan identitas suatu ekstrak ditujukan untuk memberikan identitas objektif seperti deskripsi tata nama, nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan dan nama Indonesia tumbuhan yang dipergunakan. Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini berupa ekstrak yang berasal dari tanaman herba pegagan dengan nama latin *Centella Asiatica* dan nama Indonesianya Pegagan. Adapun bagian yang dipergunakan dalam penelitian ini ialah bagian herba yang meliputi batang, daun, akar (Nursidika *et al.*, 2014).

b. Organoleptik

Penentuan organoleptik dari suatu ekstrak bertujuan untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak yang dipergunakan. Adapun hasil pemeriksaan organoleptik ekstrak herba pegagan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Organoptik Ekstrak

Parameter	Hasil Pemeriksaan
Bentuk	Ekstrak Kental
Warna	Hijau Pekat
Rasa	Pahit
Bau	Khas Pegagan

Uji organoleptis ekstrak etanol herba pegagan, ditemukan beberapa karakteristik khusus yang menjadi penanda kualitas ekstrak tersebut. Ekstrak ini memiliki konsistensi yang kental, menunjukkan bahwa sejumlah besar zat terlarut berhasil diekstraksi dari herba pegagan. Warna ekstrak yang hijau pekat mengindikasikan adanya senyawa-senyawa flavonoid dan triterpenoid yang umumnya terkandung dalam herba ini. Selain itu, ekstrak etanol herba pegagan memancarkan bau khas pegagan. Rasa pahit dari ekstrak etanol herba pegagan menunjukkan adanya senyawa-senyawa bioaktif tertentu yang terkandung di dalamnya (Sinaga *et al.*, 2021). Hasil dapat dilihat pada lampiran 9.

E. Parameter Non Spesifik

Parameter non spesifik berupa penentuan nilai kadar abu, kadar air dan susut pengeringan. Data hasil pengujian non spesifik ekstrak herba pegagan (*Centela Asiatica*) dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Parameter Non Spesifik

Parameter	Hasil Pengujian
Kadar Abu	2,2%
Kadar Air Susut	2,3%
Pengeringan	3,7%

Pemeriksaan kadar abu pada ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) penting karena memberikan gambaran tentang kandungan mineral dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar abu total yang diperoleh sebesar 2,2%, yang dinyatakan memenuhi standar yang ditetapkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), yang menetapkan bahwa kadar abu dalam bahan obat herbal tidak boleh melebihi 10%. Kadar abu yang rendah dalam ekstrak menandakan bahwa proses ekstraksi telah efisien dalam menghilangkan sebagian besar mineral anorganik dari bahan baku. Hal ini konsisten dengan temuan Fadhilah (2020), yang menyatakan bahwa kadar abu hendaknya mempunyai nilai kecil karena parameter ini menunjukkan adanya cemaran logam berat yang tahan pada suhu tinggi (Supomo, 2020). Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) memiliki kandungan mineral yang rendah dan memenuhi standar yang ditetapkan.

Pemeriksaan kadar air pada ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) menunjukkan nilai sebesar 2,3%. Kadar air yang disyaratkan untuk ekstrak herba pegagan adalah kurang dari 10%. (Kemenkes RI, 2022). Oleh karena itu, hasil pengujian ini menunjukkan bahwa kadar air ekstrak etanol herba pegagan melebihi batas maksimum yang ditetapkan, sehingga tidak memenuhi syarat yang telah ditentukan. Faktor penyebab dari lebihnya hasil uji kadar air karena suhu dan tekanan udara pada saat proses pengeringan kurang stabil. Penentuan kadar air juga terkait dengan kemurnian ekstrak. Kadar air yang terlalu tinggi (>10%) menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas ekstrak (Supomo, 2020).

Pemeriksaan susut pengeringan pada ekstrak herba pegagan *Centela Asiatica* adalah 3,7%. Susut pengeringan yang disyaratkan untuk ekstrak herba pegagan adalah kurang dari 10% (Kemenkes RI, 2022). Penentuan kadar susut pengeringan ini penting karena memberikan informasi tentang jumlah maksimum senyawa yang dapat hilang selama proses pengeringan. Dengan kadar susut pengeringan sebesar 3,7%, ekstrak etanol herba pegagan yang diuji memenuhi syarat batas maksimum yang ditetapkan, menunjukkan bahwa proses pengeringan tidak menghilangkan senyawa dalam jumlah yang berlebihan (Sadik & Rifqah Amalia Anwar, 2022). Hasil dapat dilihat pada lampiran 13.

F. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dari suatu ekstrak ditujukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam suatu sampel. Pengujian skrining fitokimia dilakukan dengan cara menambahkan ekstrak ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan reagen-reagen dan dilihat perubahan yang terjadi (Fatimawali *et al.*, 2020). Hasil skrining fitokimia dari herba pegagan dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Herba Pegagan (*Centella Asiatica*)

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Hasil Ekstrak
Alkaloid	Pereaksi <i>wagner</i> (Hasil positif terbentuk endapan coklat) dan pereaksi <i>mayer</i> (Hasil positif terbentuk endapan putih)	Positif (+)
Flavonoid	Ekstrak herba pegagan 0,5 mg dimasukkan pada tabung reaksi tambahkan Mg dan Hcl (p), terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid	Positif (+)
Saponin	ekstrak herba pegagan 0,5mg + 10ml air panas setelah dingin dikocok 30 detik sampai terbentuk busa setinggi 1-10cm selama 15 menit menunjukkan adanya saponin	Positif (+)
Tanin	ekstrak 0,5 ng dimasukkan kedalam tabung reaksi+ FeCl ₃ 0,1% kemudian dikocok cairan berubah menjadi biru kehitaman menunjukkan adanya tanin	Positif (+)
Terpenoid	Ekstrak herba pegagan 0,5mg dimasukkan ke tabung reaksi + 1ml kloroform diamkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu air dan kloroform. Ambil sedikit lapisan kloroform + 2 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes H ₂ SO ₄ (p) terbentuknya warna merah kecoklatan menunjukkan adanya terpenoid	Positif (+)

Hasil skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica* (L) *Urban*). Skrining fitokimia antara lain pengujian alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Dari hasil tersebut didapatkan bahwa ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) memberikan hasil yang positif, yang artinya mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan Terpenoid (Latief *et al.*, 2021). Hasil dapat dilihat pada lampiran 11.

G. Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan upaya penyesuaian fisiologis atau adaptasi suatu organisme terhadap suatu lingkungan baru. Adapun tujuan dari dilakukannya aklimatisasi pada hewan uji ialah agar hewan uji dapat menyesuaikan diri pada lingkungannya (Astika *et al.*, 2022).

Hewan uji yang dipergunakan dalam penelitian ini ialah mencit putih jantan dari galur (*Mus musculus*) sebanyak 30 ekor mencit yang dibagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan berat badan berkisar 20-30 gram dan berjenis kelamin jantan. Penggunaan hewan uji mencit dengan jenis kelamin jantan, dikarenakan mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormon-hormon yang dapat mengganggu proses pengujian dan hasil penelitian. Alasan dari digunakannya hewan uji mencit dengan jenis, umur dan berat yang sama ialah untuk mencapai keseragaman dan menghindari terjadinya variasi biologis sehingga respons ataupun efek yang dihasilkan relatif sama. Rata-rata berat badan mencit selama aklimatisasi telah sesuai dengan standar, dimana mencit tidak menunjukkan perubahan berat badan yang signifikan (maksimal 10%) (Sumerah, 2020).

H. Uji Efek Tonik

Pengujian efek tonik menggunakan uji *Rotarod*. Uji *rotarod* merupakan skrining

farmakologi yang dilakukan untuk mengetahui efek obat yang bekerja pada koordinasi gerak hewan uji akibat dengan cara mempengaruhi saraf pusat. Metode uji *rotarod* dilakukan dengan cara meletakkan hewan uji pada batang *rotarod* yang berputar. Parameter dari uji *rotarod* ialah waktu pengujian efek tonik dari ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) yang dibutuhkan hewan uji dapat bertahan pada batang *rotarod* yang berputar (Aria *et al.*, 2017). Sebelum dilakukannya uji tonikum hewan uji mencit dipuasa kan terlebih dahulu selama 8 jam, tujuannya untuk menghindari pengaruh makanan terhadap kandungan metabolit sekunder dalam suatu ekstrak serta mempermudah dalam pemberian sediaan per oral pada hewan uji agar sediaan tidak keluar selama pemberian oral (Wiyanti *et al.*, 2017).

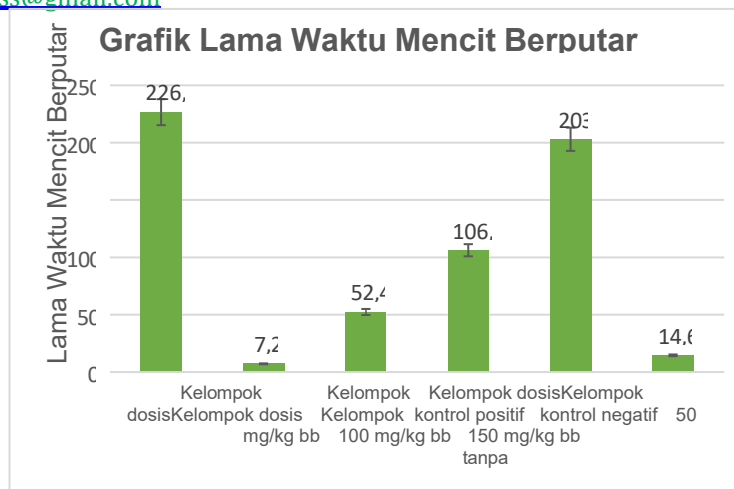
Adapun sebelum dilaksanakan uji tonikum hewan uji dilakukan Pre-test terlebih dahulu, tujuannya untuk mengetahui daya tahan dari setiap hewan uji yang digunakan dalam penelitian serta mengontrol keseragaman stamina dari seluruh hewan uji sebelum dilakukan perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan dilakukannya *Post test* untuk mengetahui pengaruh pemberian sediaan uji terhadap stamina hewan uji. Selain itu tujuan dari dilakukannya *pre test* dan *post test* ini untuk mengetahui efek dari perlakuan yang diberikan, melalui perbandingan antara sebelum dan sesudah perlakuan (Dharmayanti *et al.*, 2022).

Adapun selisih waktu jatuh sebelum dan sesudah pemberian ekstrak herba pegagan dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Selisih waktu jatuh mencit

Kelompok Perlakuan	Sebelum Perlakuan (T0) Detik ± SD	Sesudah Perlakuan (T1) Detik ± SD	Selisih Durasi Perlakuan Detik ± SD
Kelompok kontrol positif	107.20 ± 11.167	333.80 ± 16.947	226.60 ± 16.950 ^b
Kelompok kontrol negatif	78.00 ± 18.069	85.20 ± 21.218	7.20 ± 30.898 ^a
Kelompok dosis 50 mg/kg BB	85.80 ± 22.039	138.20 ± 14.789	52.40 ± 19.347 ^{ab}
Kelompok dosis 100 mg/kg BB	92.40 ± 9.813	198.60 ± 22.233	106.20 ± 15.320 ^b
Kelompok dosis 150 mg/kg BB	100.00 ± 40.125	303.00 ± 10.075	203.00 ± 38.033 ^b
Kelompok tanpa perlakuan	78.00 ± 18.069	92.60 ± 16.622	14.60 ± 22.345 ^a

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa kontrol positif kafein 100 mg memberikan efek tonikum karena merupakan senyawa yang memberikan efek psikotonik kuat yang dapat menghilangkan gejala kelelahan. Ekstra herba pegagan (*Centella Asiatica*) dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB mempunyai efek tonikum pada mencit, dikarenakan terdapat kandungan terpenoid yang diduga dapat memberikan efek tonikum. Seiring bertambahnya dosis diduga kadar terpenoid semakin banyak sehingga aktivitas tonikum yang dihasilkan semakin besar.



Gambar 1. Grafik Mengenai Selisih Waktu Jatuh Pada Uji Rotarod

Pada **Gambar 1** dapat terlihat, bahwa semakin tinggi dosis ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) yang diberikan, maka kemampuan ketahanan waktu bertahan dibatang *rotarod* yang dihasilkan oleh mencit akan semakin besar dan semakin lama. Ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) dosis tinggi (150 mg/kgBB) memiliki kemampuan ketahanan lama waktu bertahan dibatang *rotarod* lebih panjang dibandingkan kontrol negatif dan tanpa perlakuan sehingga pemberian ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) dapat dikatakan bisa menghilangkan efek rasa kelelahan dibatang *rotarod* pada mencit jika dibandingkan yang tidak diberikan ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) atau tanpa perlakuan (Ayulia *et al.*, 2016).

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji statistik menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package For the Social Sciences*). Analisis data dilakukan pada data hasil lama waktu bertahan dibatang *rotarod*. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan bahwa nilai probabilitas masing-masing kelompok perlakuan memiliki nilai lebih dari 0.05 ($p \geq 0.05$) yang berarti data masing-masing kelompok perlakuan berdistribusi normal. Berdasarkan uji homogenitas, diketahui nilai probabilitas waktu mencit dalam mempertahankan keseimbangan di atas batang yang berputar setelah perlakuan adalah 0.634 artinya waktu selisih lelah hewan uji bervariasi homogen. Kesimpulannya dikarenakan data homogen maka dapat dinyatakan kelompok data diatas dapat dilakukan uji *One Way ANOVA*.

Tabel 5. Uji Normalitas Data

<i>Tests of Normality</i>				
Perlakuan		<i>Shapiro-Wilk</i>		Sig.
		Statistic	df	
Efek tonikum sebelum perlakuan	Kelompok kontrol positif	,871	5	,270
	Kelompok kontrol negatif	,791	5	,068
	Kelompok dosis 50 mg/kg bb	,836	5	,153
	Kelompok dosis 100 mg/kg bb	,922	5	,544
	Kelompok dosis 150 mg/kg bb	,931	5	,605

Efek tonikum sesudah perlakuan	Kelompok tanpa perlakuan	,791	5	,068
	Kelompok kontrol positif	,896	5	,386
	Kelompok kontrol negatif	,840	5	,166
	Kelompok dosis 50 mg/kg bb	,925	5	,566
	Kelompok dosis 100 mg/kg bb	,986	5	,966
	Kelompok dosis 150 mg/kg bb	,961	5	,816
	Kelompok tanpa perlakuan	,826	5	,129
s_t	Kelompok kontrol positif	,961	5	,812
	Kelompok kontrol negatif	,929	5	,589
	Kelompok dosis 50 mg/kg bb	,970	5	,878
	Kelompok dosis 100 mg/kg bb	,952	5	,754
	Kelompok dosis 150 mg/kg bb	,868	5	,257
	Kelompok tanpa perlakuan	,860	5	,227

Tabel 6. Uji Homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

Efek tonikum			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,692	5	24	,634

Tabel 7. Uji One Way Anova

Efek tonikum	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	283263,900	5	56652,780	185,930	,000
Within Groups	7312,800	24	304,700		
Total	290576,700	29			

Analisa data uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan diantara kelompok perlakuan ($P < 0,05$). Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok tersebut memberikan efek tonikum kontrol positif dengan nilai selisih 226.60 detik diikuti oleh dosis ekstrak 150 mg/kgBB dengan nilai selisih 203.00 detik, dosis 100 mg/kgBB dengan nilai selisih 106.20 detik, dan dosis 50 mg/kgBB dengan nilai selisih 52.40 detik dikarenakan pada ekstrak herba pegagan memiliki kandungan yang berfungsi sebagai tonikum. Zat yang dapat berfungsi sebagai tonikum yaitu terpenoid. Kandungan yang terdapat dalam ekstrak herba pegagan akan bekerja dalam tubuh mencit sehingga mengalami peningkatan energi dan menyebabkan waktu bertahan dibatang *rotarod* mencit menjadi lama.

Tabel 8. Uji Post Hoc Tukey (HSD)

Efek tonikum					
perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok kontrol negatif	5	85,20			
Kelompok tanpa perlakuan	5	92,60			
Kelompok dosis 50 mg/kg bb	5		138,20		
Kelompok dosis 100 mg/kg bb	5			198,60	
Kelompok dosis 150 mg/kg bb	5				303,00
Kelompok kontrol positif	5				333,80
Sig.		,984	1,000	1,000	,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Setelah dilakukan Uji *One Way Anova* dilanjutkan Uji *Post Hoc Tukey* (HSD) bertujuan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok. Bisa dilihat dari Tabel 8 dengan hasil kelompok perlakuan kontrol negatif tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok tanpa perlakuan. Kelompok perlakuan kontrol negatif berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB dan kelompok perlakuan kontrol positif. Kelompok tanpa perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan kontrol negatif. Kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB dan kelompok perlakuan kontrol positif. Kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB berbeda nyata dengan kelompok perlakuan kontrol negatif, kelompok tanpa perlakuan, kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB, kelompok perlakuan dosis 150 mg/kgBB dan kelompok perlakuan kontrol positif. Kelompok perlakuan dosis 150 mg/kgBB tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol positif sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan dosis 150 mg/kgBB memiliki efek tonikum yang hampir setara dengan kelompok perlakuan kontrol positif.

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian Na-CMC 0,5% tidak memberikan efek tonikum. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi dan Simaremare (2020) yang menyatakan bahwa Na-CMC 0,5% tidak memberikan efek sebagai tonikum. Pada penelitian ini, Na-CMC 0,5% digunakan sebagai kelompok kontrol negatif. Tujuan penggunaan kelompok kontrol adalah untuk membandingkan dan melihat apakah suspensi yang digunakan mempengaruhi atau tidak terhadap hasil pengujian. Selain sebagai kontrol negatif Na-CMC 0,5% digunakan sebagai pensuspensi ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*), hal tersebut dikarenakan ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) memiliki sifat tidak larut secara sempurna di dalam air sehingga digunakan Na-CMC 0,5% untuk membuat ekstrak dapat terdispersi secara merata dalam larutan uji. Serta menghasilkan suspensi yang stabil, tidak mudah ditumbuhi oleh mikroba, memiliki kejernihan yang tinggi dan pada konsentrasi 0,5% sudah dapat melarutkan ekstrak dengan baik sehingga mampu menghasilkan suspensi yang baik (Deni, 2019).

Penggunaan Kafein 100 mg/kgBB sebagai kelompok kontrol positif. Tujuan

penggunaan kafein sebagai kontrol positif ialah untuk melihat pengaruh pemberian kafein dapat mempengaruhi aktivitas susunan saraf pusat. Efek kafein terhadap susunan saraf ialah menimbulkan perasaan nyaman, mengurangi rasa kantuk dan rasa lelah. Kemampuan kafein dalam mempengaruhi aktivitas susunan saraf pusat dikarenakan kafein termasuk dalam kelompok *xantin* kuat yang dapat menstimulasi korteks dan medula pada otak. Mekanisme kafein sebagai tonikum untuk menghambat pengikatan reseptor adenosin bekerja secara berlawanan dengan kafein, adanya adenosin sangat berpengaruh terhadap aktifitas sel saraf. Senyawa kafein mampu menambah kesadaran stimulasi neuron kolinergik dan mencegah berkurangnya rasa kantuk dan mengubah reseptor dopamin *post-synaptic* dari neuron GABA Adrenergik. Interaksi dopamin ini merupakan hasil dari reseptor adenosin yang menimbulkan aktivitas stimulasi dari senyawa kafein (Eriadi & Arifin, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa dengan adanya peningkatan dosis ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) sebanding dengan adanya peningkatan waktu ketahanan lelah hewan uji, hal tersebut dikarenakan senyawa bioaktif yang terdapat pada larutan uji ekstrak meningkat. Triterpen merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam herba pegagan dan sekaligus digunakan sebagai *marker constituent* dalam hal kontrol kualitas. Triterpen pentasiklik yang banyak ditemukan dalam pegagan adalah asiatikosida. Asam triterpen yaitu asam asiatik, asam madekasik dan asiatikosida merupakan senyawa yang paling penting untuk memberikan efek tonik. Mekanisme kerja triterpenoid dapat menghambat monoamine oksidase A (*MAOA*) dan menghambat uptake dopamin, serotonin, dan norepinephrin. Salah satu golongan terpenoid yaitu eugenol yang dapat berefek sebagai stimulan yang dapat meningkatkan lokomotorik dan golongan ginsenosida mempunyai efek antistres, antidepresan, ansiolitik, dan dapat meningkatkan kemampuan belajar dengan cara membantu mengatur potensi jangka panjang dalam hipokampus. 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 yang berfungsi menguatkan sel-sel kulit dan meningkatkan perbaikannya, menstimulasi sel darah dan sistem imun, dan sebagai antibiotik alami. Brahmosida adalah senyawa yang berfungsi memperlancar aliran darah dan merupakan protein penting bagi sel otak (Sutardi, 2016). Adanya kandungan triterpenoid pada ekstrak herba pegagan (*Centella Asiatica*) diduga memiliki aktivitas sebagai tonikum. Aktivitas tonikum pada sistem saraf pusat berhubungan dengan aktivitas lokomotor sehingga apabila suatu senyawa memiliki aktivitas stimulasi SSP yang tinggi menyebabkan tingginya aktivitas lokomotor seseorang. Aktivitas lokomotor sendiri merupakan aktivitas gerak yang disebabkan mendapat stimulasi pada sistem saraf pada otak. Tonik dapat digunakan untuk menstimulasi sistem syaraf pusat. Tanaman obat yang mempunyai efek tonik disebut tonikum (Sutardi, 2016).

The first step that must be taken in a study using plants is to conduct a plant determination test. Plant determination is carried out to ensure the authenticity and truth of a plant to be used. The sample used in the determination of this plant consists of bamboo shoots, stems, twigs, and leaves. The determination of bamboo shoots (*Gigantochloa atter* Kurz) was carried out at UPF Tawangmangu Traditional Health Services, Karanganyar, Central Java. The results given from the determination test stated that the ater bamboo plant is included in the family *Poaceae* with the species name *Gigantochloa atter* (Hassk.) Kurz ex Munro.

CONCLUSION

This study demonstrates that Gotu Kola (*Centella asiatica*) extract possesses significant tonic effects on male white mice as evidenced by dose-dependent improvements in endurance performance using the Rotarod test. The research findings reveal that all tested doses of *C. asiatica* extract (50, 100, and 150 mg/kgBW) produced statistically significant increases in Rotarod endurance times compared to negative control and untreated groups, with the highest dose of 150 mg/kgBW achieving tonic effects comparable to caffeine (100 mg/kgBW) as the positive control. Phytochemical screening confirmed the presence of bioactive compounds including terpenoids, flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins, with terpenoids identified as the primary compounds responsible for the observed tonic activity through their ability to stimulate the central nervous system and enhance motor coordination. The extract preparation yielded 7.8% extraction efficiency and met quality standards for ash content (2.2%) and drying shrinkage (3.7%), though moisture content (2.3%) slightly exceeded recommended limits, indicating the need for improved drying protocols in future preparations.

Despite these promising results, several limitations must be acknowledged in interpreting the findings and their broader applications. The study was conducted exclusively on male mice within a specific weight range (20-30 grams), limiting the generalizability of results to female subjects or different age groups, and the relatively short observation period may not reflect long-term safety or efficacy profiles of the extract. The moisture content of the extract exceeding standard specifications raises concerns about storage stability and potential microbial contamination, while the absence of detailed mechanistic studies limits our understanding of the specific pathways through which terpenoids exert their tonic effects. Future research should incorporate female animal models to assess gender-specific responses, extend observation periods to evaluate chronic administration effects, conduct comprehensive toxicological assessments to establish safety profiles, and perform detailed pharmacokinetic studies to understand absorption, distribution, metabolism, and excretion patterns. Additionally, optimization of extraction and drying processes to achieve consistent quality parameters, investigation of synergistic effects between different bioactive compounds, and eventual progression to human clinical trials will be essential for translating these findings into practical therapeutic applications. The practical implications of this research support the traditional use of *C. asiatica* as a natural tonic and provide scientific foundation for developing standardized herbal preparations that could serve as safer alternatives to synthetic stimulants, potentially benefiting individuals seeking natural energy enhancement solutions while contributing to the broader field of evidence-based herbal medicine.

REFERENCES

- Aria, M., Tri, S., Fendri, J., Sekolah, H. M., Farmasi, T., Yayasan, I., & Padang, P. (2017). Uji efek stimulan sistem saraf pusat ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap mencit putih betina. *Scientia*, 7(1).
- Astika, R. Y., Sani, F. K., & Elisma. (2022). Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) pada mencit putih jantan. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(1), 14–23.
- Ayulia, D., Sandi, D., & Wibowo, S. (2016). Pengujian efek tonikum sarang burung walet putih (*Aerodramus fuchipagus*) pada mencit putih jantan dengan metode ketahanan lama waktu berenang. *Jurnal Pharmascience*, 3(2), 29–35.

- B, M. (2019). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum* L.) dengan metode uji warna. *Media Farmasi*, 13(2), 36.
- David Tamara, F. (2023). Hubungan konsumsi kafein pada pasien migrain. *Health Information: Jurnal Penelitian*, 15.
- Dharmayanti, L., Novia, D., & Munawar, A. (2022). Uji efek tonikum sediaan sirup bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 9(2).
- Egra, S., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2018). Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu (*Antimicrobial Activity of Mangrove Extract (Rhizophora mucronata) Inhibit Ralstonia solanacearum Causes of Wilt*).
- Emilia, I., Setiawan, A. A., Novianti, D., & Mutiara, D. (2023). Skrining fitokimia ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) secara infundasi dan maserasi. *Jurnal Indobiosains*, 5(2).
- Enhancer, P., Setyawan, E. I., & Budiputra, D. K. (2019). Optimasi formula matriks patch ketoprofen transdermal menggunakan kombinasi asam oleat dan minyak atsiri bunga cempaka putih (*Michelia alba*) sebagai permeation enhancer.
- Eriadi, A., & Arifin, H. (2016). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L) R.M.King & H. Rob) pada mencit putih jantan. *Jurnal Farmasi Higea*, 8(2).
- Febrina, M., & Filda Sari, S. (2019). Pengaruh pemberian infusa daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap kadar glukosa darah mencit putih (*Mus musculus*) yang diberi beban glukosa. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(2).
- Herdayanti, S., Lestari, I., & Sani, F. (2021). Uji efek tonikum ekstrak etanol daun ekor naga (*Rhaphidophora pinnata* Schoot.) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*). *Indonesian Journal of Pharma Science*, 1(1).
- Hermayanti. (2013). Uji efek tonikum ekstrak daun ceguk (*Quisqualis indica* L.) terhadap hewan uji mencit (*Mus musculus*).
- Hiras Habisukan, U. (2018). Pengaruh natrium siklamat terhadap histopatologi organ mencit (*Mus musculus*) dan sumbangsuhnya pada materi struktur dan fungsi jaringan hewan di SMA/MA.
- Imanda, L., Yunita, Y., Putri, S., & Sriwijaya, A. R. (2024). Uji efek tonikum ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap mencit putih jantan galur (*Swiss Webster*) dengan metode natatory exhaustion dan *rotarod test*. *Jurnal Riset Kesehatan Modern*, 6(2).
- Januarti, B., Latifah, F., & Wajha, I. (2020). Efek stimulansia ekstrak etanolik umbi bawang putih tunggal (*Allium sativum* var.Solo Garlic) terhadap mencit galur Swiss. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2).
- Latief, M., Lasmana Tarigan, I., Sari, P. M., & Aurora, F. E. (2021). Aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) pada mencit putih jantan. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1).

- Marfu'ah, I., & Sudarso, D. (2020). Efek sedasi dari variasi dosis ekstrak etanol daun ubi jalar (*Ipomoea batatas* L) pada mencit.
- Marwati, F., & Putri, S. (2018). Urgensi etika medis dalam penanganan mencit pada penelitian farmakologi. *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 9(2).
- Maslahah, N. (2024). Standar simplisia tanaman obat sebagai bahan sediaan herbal. 2(2).
- Merah, L., Purpurata, A., Schum, K., Obat, S., Fatimawali, A., Kepel, B. J., Bodhi, W., Kimia, B., Kedokteran, F., Sam, U., & Manado, R. (2016). Standardisasi parameter spesifik dan non-spesifik ekstrak rimpang. 8(1), 63–67.
- Moerfiah, Yulianita, & Setiawan, D. (2019). Efektivitas stimulansia kombinasi sari umbi bit buah apel terhadap ketahanan fisik dan kadar Hb tikus putih Sprague.
- Nursidika, P., Saptarini, O., & Rafiqua, N. (2014). Aktivitas antimikrob fraksi ekstrak etanol buah pinang (*Areca catechu* L) pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*. 46(2).
- Prastiwi, R., Tjahyadi, R., & Chusun. (2015). Uji efek tonik ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica* (L). Urb) pada mencit jantan Balb/C. 5(1).
- Rahmadiyah. (2019). *Penetapan beberapa parameter spesifik dan non spesifik ekstrak etanol daun asam jawa (Tamarindus indica L.)*. Universitas Indonesia.
- Roring, N., Yudistira, A., & Lolo, W. A. (2017). Standardisasi parameter spesifik dan uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47d dari ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus* (L.) Blume). *Pharmaconjurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat*, 6(3).
- Sadik, F., & Anwar, A. R. A. (2022). Standarisasi parameter spesifik ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai antidiabetes. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1). <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i1.13310>
- Sani, F. K., Yulawati, Herlina, & Yolandini, R. (2020). Uji efek tonikum ekstrak daun sawo manila (*Manilkara zapota*) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode ketahanan renang. *Riset Informasi Kesehatan*, 9(1).
- Sihombing, R., Hanafi, M., & Laksmiawati, D. R. (2024). Uji aktivitas stimulansia ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) dengan metoda rotarod. *Pharmamedica Journal*, 9(1).
- Sinaga, B., Sondak, E. S., & Ningsih, A. W. (2021). Pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas simplisia daun jambu biji merah (*Psidium guajava* L.). 1(2).
- Sumarny, R., Rahayu, L., & Sandhiutami, N. M. D. (2013). Efek stimulansia infus lada hitam (*Piperis nigri fructus*) pada mencit. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 11(2), 142–146.
- Sumerah, M. E., Yudistira, A., & Mansauda, K. L. R. (2020). Uji aktivitas amara dari produk JST ternak, prebiotik ternak, dan asam amino ternak terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) galur Wistar.
- Sutardi, S. (2017). Kandungan bahan aktif tanaman pegagan dan khasiatnya untuk meningkatkan sistem imun tubuh. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), 121.

- Tursina, A. (2021). Pengaruh kafein terhadap *short term memory* pada mahasiswi di Prodi Psikologi.
- Wahyuningtyas, D., Febbyansyah Saputra, H., & Sunarsih, S. (2021). Optimasi pengambilan triterpenoid dari daun pegagan (*Centella asiatica*) dengan metode ekstraksi bertingkat.
- Witasari, A., Kintoko, Symsul, S., Sa`Adah, H., & Supomo. (2020). Karakterisasi parameter spesifik dan parameter non spesifik akar kuning (*Fibraurea tinctoria*).
- Yulianita, Y., Effendi, E. M., & Firdayani, E. M. (2019). Sedative effect of citronella (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) towards male mice (*Mus musculus*). *Indonesia Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*, 1.