

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PECUT KUDA (*Stachytarpheta
jamaicensis*) TERHADAP VIABILITAS DAN MORFOLOGI KULTUR SEL
MAKROFAG PERITONEUM SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

**OLEH
NAHDYA ZAHARA ARROHMA
NIM. 220602110043**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PECUT KUDA (*Stachytarpheta jamaicensis*)
TERHADAP VIABILITAS DAN MORFOLOGI KULTUR SEL
MAKROFAG PERITONEUM SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

**OLEH
NAHDYA ZAHARA ARROHMA
NIM. 220602110043**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
Dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Nahdya Zahara Arrohma
NIM : 220602110043
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) Terhadap Viabilitas dan Morfologi Sel Makrofag Peritoneum Secara *In vitro*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji pada tanggal 11 Juni 2026 dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002

(.....)

Pembimbing II : Didik Wahyudi, M.Si
NIP. 19860102 201801 1 001

(.....)

Tim Penguji : Dr. Kiptiyah M.Si
NIP. 19731005 200212 2 003

(Ketua) (.....)

Ns. Wiwik Agustina, S. Kep., M.Biomed
NIP. 19820801 202321 2 029

(Anggota) (.....)



Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamiin, puji dan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT. atas segala Rahmat, karunia, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW. sebagai suri tauladan terbaik bagi umat-Nya. Penulis mempersembahkan skripsi ini dan mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Diri saya sendiri, sebagai bentuk penghargaan atas segala usaha, ketekunan, dan perjuangan yang telah dilalui selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semua usaha, doa, air mata, dan perjuangan menjadi bukti bahwa saya mampu melewati setiap tantangan hingga akhirnya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Semoga pencapaian ini menjadi awal dari langkah-langkah baik berikutnya.
2. Kedua orang tua tersayang, Bapak H. Rohmatulloh dan (Almh) Ibu Hj. Isrofin yang selalu membimbing, memberi kasih sayang, berjuang mengusahakan yang terbaik untuk anaknya serta perjalanan penulis yang tak pernah luput dari doanya sehingga dapat menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.
3. Ibu Kholifah Holil, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan memberikan banyak ilmu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Bapak Didik Wahyudi, M.Si selaku dosen pembimbing bidang integrasi sains-islam yang telah memberikan banyak ilmu dan arahan terkait sains dan islam.
5. Bu Lil Hanifah dan Pak Basyar yang selalu sabar memberi bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis dalam melakukan penelitian.
6. Chilya Jazilah A., rekan penelitian yang kebersamaian penulis selama proses penyusunan skripsi ini, terima kasih atas kerja sama, dukungan, bantuan, serta semangat yang diberikan dalam melewati setiap proses penelitian hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
7. Angkatan Raventalizm 2022, khususnya kelas A (Arteria Bio'22) yang telah menjadi bagian dari perjalanan penulis selama perkuliahan. Terima kasih atas kebersamaan, semangat, dukungan, serta pengalaman berharga yang diberikan.
8. Teman-teman seperjuangan (Zuhairini Zakiyah, Wildatul Bahriyah, Shofia Azzahra, warga kos kembar) yang selalu memberi semangat satu sama lain, yang selalu mengulurkan tangan untuk membantu dan kebersamaian dalam keadaan senang maupun susah. Semoga kita semua senantiasa diberikan kesuksesan di masa yang akan datang.

Malang, 27 Mei 2026

Penulis

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S. Al-Baqarah [2]:286)

“Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”

(Q.S. Al-Insyirah [94]:5)

“Teruslah berbuat baik pada siapapun dan di manapun, karena kita tak tau dari arah mana kebaikan itu akan kembali”

-Bapak dan Ibu

“Pressure is a privilege”

-dr. Gia Pratama

“You get to do things that you’re scared of and that’s I think when the most growth happens”

-Maudy Ayunda

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nahdya Zahara Arrohma
NIM : 220602110043
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) Terhadap Viabilitas dan Morfologi Sel Makrofag Peritoneum Secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 11 Juni 2026

Yang membuat pernyataan,



Nahdya Zahara Arrohma
NIM. 220602110043

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PECUT KUDA (*Stachytarpheta jamaicensis*)
TERHADAP VIABILITAS DAN MORFOLOGI KULTUR SEL
MAKROFAG PERITONEUM SECARA IN VITRO**

Nahdya Zahara Arrohma, Kholifah Holil, Didik Wahyudi

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Stres oksidatif akibat peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dapat menyebabkan kerusakan sel, termasuk pada sel makrofag peritoneum yang diinduksi lipopolisakarida (LPS). Daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) diketahui mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan alami yang dapat melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pecut kuda terhadap viabilitas dan morfologi kultur sel makrofag peritoneum secara *in vitro*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima kelompok perlakuan dan tiga kali ulangan, yaitu kontrol normal, kontrol LPS, serta perlakuan ekstrak konsentrasi 50, 100, dan 150 µg/ml. Parameter yang diamati meliputi viabilitas sel menggunakan *Countess Cell Counter* dan morfologi sel yang dihitung persentase abnormalitasnya setelah difiksasi menggunakan metanol 96% dan diwarnai dengan pewarna giemsa. Data dianalisis menggunakan *One way ANOVA* ($\alpha=0,05$) dan uji lanjut Duncan ($\alpha=0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pecut kuda berpengaruh signifikan terhadap viabilitas dan morfologi sel makrofag peritoneum yang diinduksi LPS ($p < 0,001$). Pemberian ekstrak pecut kuda konsentrasi 100 µg/ml menghasilkan viabilitas tertinggi dan tidak berbeda nyata dengan kontrol normal. Pada parameter morfologi, pemberian ekstrak pecut kuda konsentrasi 150 µg/ml menunjukkan persentase abnormalitas sel terendah dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun pecut kuda mampu mempertahankan viabilitas serta mengurangi kerusakan morfologi sel makrofag akibat induksi LPS.

Kata kunci: Antioksidan, LPS, makrofag peritoneum, morfologi, *Stachytarpheta jamaicensis*, viabilitas.

THE EFFECT OF JAMAICA VERVAIN LEAVES (*Stachytarpheta jamaicensis*) EXTRACT ON THE VIABILITY AND MORPHOLOGY OF PERITONEAL MACROPHAGE CELL CULTURE IN VITRO

Nahdya Zahara Arrohma, Kholifah Holil, Didik Wahyudi

Department of Biology, Faculty of Science and Technology
Islamic State University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Oxidative stress caused by an increase in *reactive oxygen species* (ROS) can induce cell damage, including in macrophage cells induced by lipopolysaccharide (LPS). *Stachytarpheta jamaicensis* leaves are known to contain bioactive compounds with potential antioxidant activity that may protect cells from oxidative stress-induced damage. The study aimed to determine the effect of *Stachytarpheta jamaicensis* leaves extract on the viability and morphology of peritoneal macrophage cell cultures in vitro. A Completely Randomized Design (CRD) was employed with five treatment groups and three replications, consisting of a normal control, an LPS control, and extract-treated groups at concentrations of 50, 100, and 150 µg/mL. Cell viability was measured using a Countess Cell Counter, while cell morphology was assessed by determining the percentage of abnormal cells following fixation with 96% methanol and Giemsa staining. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at a significance level of $\alpha = 0.05$. The results demonstrated that *Stachytarpheta jamaicensis* leaf extract significantly affected the viability and morphology of LPS-stimulated peritoneal macrophages ($p < 0.001$). Treatment with 100 µg/mL of the extract resulted in the highest cell viability and was not significantly different from the normal control group. In terms of morphology, treatment with 150 µg/mL of the extract produced the lowest percentage of abnormal cells among all treatment groups. These findings indicate that *Stachytarpheta jamaicensis* leaf extract can maintain cell viability and reduce morphological damage in LPS-stimulated macrophages.

Keywords: Antioxidant, LPS, morphology, peritoneal macrophages, *Stachytarpheta jamaicensis*, viability.

أثر مستخرجة لأوراق جامايكي الفيرفين (*Stachytarpheta jamaicensis*) على حيوية ومزرعة خلوية لخلايا البلاعم البريتونية في المختبر

نخضية زهرة الرحمة، خليفة خليل، ديديك وحيودي

برنامج دراسة علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا
جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

الملخص

الإجهاد التأكسدي الناتج عن زيادة أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) يمكن أن يسبب تلف الخلايا، بما في ذلك خلايا البلاعم البريتونية التي تم تحفيزها بمتعدد سكريد لبييدي (LPS). من المعروف أن أوراق جامايكي الفيرفين (*Stachytarpheta jamaicensis*) تحتوي على مركبات قد تكون مضادات أكسدة طبيعية يمكن أن تحمي الخلايا من التلف الناتج عن الإجهاد التأكسدي. لذلك، تهدف هذه الدراسة إلى معرفة أثر مستخرجة الإيثانول 70٪ من أوراق جامايكي الفيرفين على حيوية و تشكل خلايا البلاعم البريتونية في المختبر. التصميم البحثي المستخدم هو التصميم العشوائي الكامل (RAL) مع خمس مجموعات معالجة وثلاث تكرارات. المعلمة التي تمت مراقبتها تشمل حيوية الخلايا باستخدام جهاز عد الخلايا *Countess Cell Counter* ومزرعة خلوية تم حساب نسبة الشدوذ فيها بعد التثبيت باستخدام ميثانول 96٪ وتصبيغها بصبغة Giemsa. تم تحليل البيانات باستخدام اختبار ANOVA أحادي الاتجاه واختبار Duncan متعدد المدى عند مستوى دلالة ($\alpha = 0.05$). وأظهرت النتائج أن مستخلص أوراق جامايكي الفيرفين أحدث تأثيراً معنوياً في حيوية ومورفولوجية خلايا البلاعم البريتونية المحفزة بمتعدد سكريد لبييدي ($p < 0.001$). وقد أسفر التركيز 100 ميكروغرام/مل عن أعلى نسبة لحيوية الخلايا البلاعم البريتونية، ولم يختلف معنوياً عن مجموعة الضبط الطبيعية. أما من حيث التشكل، فقد أدى التركيز 150 ميكروغرام/مل إلى أدنى نسبة من الخلايا غير الطبيعية مقارنةً ببقية المجموعات المعالجة. وتشير هذه النتائج إلى أن مستخلص أوراق جامايكي الفيرفين قادر على المحافظة على حيوية الخلايا وتقليل الأضرار التشكل الناتج عن تحفيز البلاعم بمتعدد سكريد لبييدي.

الكلمات المفتاحية: تشكل، جامايكي الفيرفين، حيوية، خلايا البلاعم البريتونية، متعدد سكريد لبييدي، مضادة أكسدة

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirrohiim, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) Terhadap Viabilitas dan Morfologi Sel Makrofag Peritoneum Secara *In Vitro*”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nur Diana, M.Si., CAHRM., CRMP. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. H. Agus Mulyono, S.Pd., M. Kes. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si. dan Didik Wahyudi, M.Si. selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Prilya Dewi Fitriyari, M.Si. selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. *Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 11 Juni 2026

Nahdya Zahara Arrohma

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
الملخص.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Hipotesis.....	7
1.5 Manfaat	7
1.6 Batasan Masalah.....	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 9
2.1 Simplisia Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>).....	9
2.1.1 Klasifikasi pecut kuda (<i>S. jamaicensis</i>)	10
2.1.2 Kandungan fitokimia daun pecut kuda (<i>S. jamaicensis</i>).....	10
2.2 Stres Oksidatif.....	14
2.2.1 Radikal bebas	15
2.2.2 Reactive oxygen species (ROS).....	16
2.2.3 Lipopolisakarida (LPS) <i>Escherichia coli</i>	18
2.2.4 Antioksidan	19
2.3 Makrofag.....	20
2.3.1 Makrofag peritoneum.....	23
2.4 Pengaruh Ekstrak Pecut Kuda Terhadap Sel Makrofag.....	25
2.5 Ekstraksi.....	27

BAB III METODE PENELITIAN	30
3.1 Rancangan Penelitian	30
3.2 Variabel Penelitian	30
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	31
3.4 Alat dan Bahan	31
3.4.1 Alat	31
3.4.2 Bahan	31
3.5 Prosedur Penelitian	32
3.5.1 Preparasi ruang kultur	32
3.5.2 Preparasi alat dan bahan	32
3.5.3 Pembuatan ekstrak daun pecut kuda	33
3.5.4 Pembuatan media stok kultur RPMI 1640	33
3.5.5 Pembuatan stok lipopolisakarida (LPS)	34
3.5.6 Isolasi sel makrofag	34
3.5.7 Kultur sel makrofag	35
3.5.8 Induksi lipopolisakarida dan perlakuan ekstrak	36
3.5.9 Pengamatan viabilitas sel makrofag peritoneum	36
3.5.10 Pengamatan morfologi sel makrofag peritoneum	37
3.6 Analisis Data	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Morfologi Sel Makrofag Peritoneum	39
4.2 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum	49
BAB V PENUTUP	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil Pemeriksaan Kadar Flavonoid, Fenolik, dan Steroid Ekstrak Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>)	39
Tabel 4. 2 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Rata-rata Abnormalitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang diinduksi LPS	43
Tabel 4. 3 Hasil uji Duncan Pengaruh ekstrak daun pecut kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Abnormalitas sel makrofag peritoneum mencit (<i>Mus musculus</i>) yang diinduksi LPS	44
Tabel 4. 4 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Rerata Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang diinduksi LPS	50
Tabel 4. 5 Hasil uji Duncan Pengaruh ekstrak daun pecut kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap viabilitas sel makrofag peritoneum mencit (<i>Mus musculus</i>) yang diinduksi LPS	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2. 1 Morfologi Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>)	9
Gambar 2. 2 Struktur Kimia Flavonoid.....	11
Gambar 2. 3 Struktur Kimia Tanin	12
Gambar 2. 4 Struktur Kimia Saponin.....	12
Gambar 2. 5 Morfologi Sel Makrofag.....	24
Gambar 2. 6 Struktur Flavonoid yang Berfungsi Sebagai Agen Anti Radikal Bebas	26
Gambar 4. 1 Morfologi sel makrofag peritoneum hasil pewarnaan giemsa yang diamati menggunakan mikroskop inverted perbesaran 200× dan analisis viabilitas sel makrofag peritoneum pada countess cell counter	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Menggunakan Countess	67
Lampiran 2. Data Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Viabilitas Makrofag Peritoneum Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang diinduksi LPS	68
Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Menggunakan SPSS	69
Lampiran 4. Data Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>) terhadap Abnormalitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang diinduksi LPS	71
Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik Abnormalitas Sel Makrofag Peritoneum Menggunakan SPSS	72
Lampiran 6. Hasil Uji Kadar Flavonoid, Fenolik dan Steroid pada Ekstrak Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>)	74
Lampiran 7. Surat Determinasi Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>)	81
Lampiran 8. Jurnal Bimbingan.....	82
Lampiran 9 Form Cek Plagiasi	84

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stres oksidatif merupakan kondisi ketika produksi radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) berlebihan sehingga tidak seimbang dengan kemampuan antioksidan dalam tubuh (Gusnirwan dan Sangging, 2024). Secara fisiologis, ROS dalam jumlah normal berperan penting sebagai mekanisme pertahanan pada sistem imun, khususnya dalam membunuh patogen (Suryadinata, 2018). Namun, jika jumlah ROS meningkat berlebihan dapat memicu stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan seluler. Kerusakan tersebut dapat ditandai melalui perubahan morfologi sel, seperti mengecilnya ukuran sel, kondensasi sitoplasma, hingga fragmentasi inti sel (Karimaa, 2018). Lebih lanjut, stres oksidatif juga berperan meningkatkan respon inflamasi dan berkontribusi pada berbagai penyakit kronis seperti kanker, alzheimer, diabetes, dan aterosklerosis (Wibawa dkk., 2020).

Makrofag adalah salah satu sel imun yang dapat mengalami kerusakan apabila terpapar ROS secara berlebihan karena perannya dalam mekanisme pertahanan tubuh. Sel ini berasal dari sel monosit yang beredar di dalam aliran darah dan kemudian bermigrasi ke jaringan untuk berdiferensiasi menjadi sel makrofag (Kalsun *et al.*, 2017). Makrofag tersebar luas di seluruh tubuh dan rongga peritoneum adalah salah satu tempat yang menjadi sumber utama makrofag. Rongga peritoneum mudah digunakan untuk memanen makrofag resident yang belum mengalami manipulasi. Makrofag resident merupakan sel fagosit yang hidup bebas dalam rongga peritoneum (Susanti dkk., 2015; Cassado *et al.*, 2015).

Makrofag berperan penting dalam proses fagositosis yaitu proses penyerapan dan penghancuran patogen atau sel-sel yang telah mati serta mensekresikan mediator inflamasi (Kalsun *et al.*, 2017). Makrofag dapat teraktivasi akibat adanya stimulasi oleh patogen dalam bentuk produk bakterial lipopolisakarida (LPS) dan sitokin inflamasi seperti interferon- γ (IFN- γ), interleukin- 1β (IL- 1β), dan tumor necrosis factor (TNF- α) (Susilawati, 2021). Stimulus tersebut dapat memicu pelepasan mediator inflamasi dan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang merupakan produk sampingan dari sel selama respon pertahanan terhadap patogen. Apabila produksi ROS diproduksi dalam jumlah tinggi maka dapat berpotensi merusak sel (Digyo, 2024; Rahmad *et.al.*, 2018).

Kerusakan sel akibat ROS dapat diminimalisir atau dicegah dengan antioksidan untuk menjaga homeostasis sistem imun dan mengurangi dampak stres oksidatif yang memperburuk inflamasi. Antioksidan merupakan zat yang dapat berfungsi untuk melindungi sel dari kerusakan akibat ROS atau radikal bebas (Fadlilah & Lestari, 2023). Tubuh sebenarnya memiliki antioksidan yang berperan dalam sistem imun sebagai penetralisir radikal bebas yang terbentuk. Namun, antioksidan dapat berkurang dengan cepat atau bahkan habis akibat adanya infeksi bakteri, virus, proses penuaan, atau inflamasi kronik (Andarina & Djauhari, 2017). Oleh karena itu, tubuh memerlukan suplai antioksidan eksogen atau dari luar tubuh untuk menjaga keseimbangan dan mempertahankan fungsi sel secara optimal.

Antioksidan eksogen alami banyak terdapat di dalam tumbuhan salah satunya adalah pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*). Tanaman pecut kuda mengandung beberapa kelompok utama metabolit sekunder tanaman seperti

alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Senyawa aktif tersebut dapat ditemukan melimpah di semua bagian tanaman. Secara khusus, senyawa fitokimia dalam senyawa fenolik *Stachytarpheta jamaicensis* meliputi kumarin, flavonoid, tanin, dan saponin (Liew dan Yong, 2016).

Senyawa flavonoid dalam tanaman pecut kuda memiliki peran penting sebagai antioksidan yang mampu menghambat dan menetralkan radikal bebas, sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan (Jumawardi dkk., 2021). Mekanisme perlindungan sel oleh flavonoid dilakukan dengan mendonorokan ion hidrogen melalui gugus hidroksil pada cincin B sehingga berperan sebagai penangkap radikal bebas. Mekanisme ini dapat menghambat peroksidasi lipid, yaitu proses oksidasi radikal bebas pada membran sel yang berpotensi merusak DNA, protein, dan enzim. Dengan demikian, flavonoid berkontribusi menurunkan kadar ROS serta meningkatkan viabilitas sel (Salwa dkk., 2021). Melalui mekanisme ini dapat dipahami bahwa tumbuhan menyimpan potensi besar bagi pemeliharaan kesehatan.

Al-Qur'an menegaskan bahwa tumbuhan yang diciptakan oleh Allah memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Hal ini sebagaimana firman Allah dalam Q.S. Asy-Syu'ara ayat 7-9 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾ وَإِنَّ رَبَّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ ﴿٩﴾

Artinya: “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah), tetapi kebanyakan mereka tidak beriman. Sesungguhnya Tuhanmu, Dialah yang benar-benar Maha Perkasa lagi Maha Penyayang.” (Q.S. Asy-Syu'ara (26): 7-9).

Menurut Shihab (2002) dalam *Tafsir Al-Misbah* menjelaskan bahwa sebab turunnya ayat ini karena pada saat itu kaum musyrikin enggan percaya, bahkan

memperolok-olokkan ayat-ayat Allah. Mereka enggan percaya karena bersikap keras kepala dan keadaan mereka dipertanyakan, adakah yang tetap mempertahankan kekufuran mereka padahal banyak bukti yang dipaparkan dan terhampar di bumi. Mereka enggan memperhatikan gugusan bintang di langit dan tidak melihat ke bumi bahwasanya Allah telah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang semuanya tumbuh subur dan bermanfaat. Ayat yang diturunkan oleh Allah ini merupakan tanda adanya Pencipta Yang Maha Esa, serta membuktikan pula kekuasaan-Nya yang menghidupkan dan membangkitkan siapa yang telah mati. Dengan demikian, kata *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* mengandung makna yang mengajak manusia mengarahkan pandangannya ke seluruh permukaan bumi hingga batas kemampuannya melihat, dengan memperhatikan berbagai jenis tanah, tumbuh-tumbuhan, dan keajaiban yang ada di dalamnya. Pengamatan tersebut mendorong manusia untuk merenungkan tanda-tanda kebesaran Allah yang tercermin dalam ciptaan-Nya. Bukti kebesaran Allah yang telah diperlihatkan salah satunya adalah dengan menumbuhkan tanaman yang baik (*كَرِيمٌ*) yaitu tanaman yang tumbuh subur dan bermanfaat.

Menurut Asy-Syaukani (1834 M.) dalam *Tafsir Fathul Qadir* yang ditahqiq oleh Ibrahim (2013) menjelaskan bahwa *رَوْحٌ كَرِيمٌ* memiliki makna bahwa hanya Allah Tuhan semesta alam yang menciptakan semesta alam berbagai macam tumbuhan yang bermanfaat. Lebih lanjut, kitab Tafsir Ilmi dari Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an (2015) ayat ini menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan di alam raya segala macam tumbuhan dengan berbagai jenis yang berguna. Hal ini menunjukkan adanya kandungan yang bermanfaat dalam tumbuhan ciptaan ilahi itu, baik berupa zat-zat kimia, bahan baku industri, bahan dasar obat, maupun

bahan-bahan untuk keperluan lainnya. Ash-Shiddieqy (2000) dalam *Tafsir An-Nuur* menegaskan bahwa penciptaan tumbuh-tumbuhan terdapat tanda yang besar dan pelajaran yang tinggi yang menunjukkan pada hal-hal yang wajib kita imani. Sayangnya, kebanyakan manusia tidak mau beriman dan terus menerus berada dalam kekafiran dan kesesatan. Ayat *وَإِنَّ رَبَّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ* memberi penegasan bahwa terdapat peringatan dari Allah yang akan memberi pembalasan pada mereka yang mendustakan dan mempersekutukan Allah dengan menyembah berhala. Allah adalah tuhan yang mempunyai rahmat yang luas untuk orang yang bertaubat dari kekafiran dan kemaksiatan.

Penjelasan tafsir tentang manfaat tumbuhan sebagai tanda kekuasaan Allah sejalan dengan berbagai penelitian yang membuktikan bahwa tumbuhan mengandung senyawa kimia yang bermanfaat salah satunya adalah flavonoid dalam daun pecut kuda. Beberapa penelitian untuk mengetahui senyawa flavonoid dalam daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) sudah banyak dilakukan. Penelitian Astuti (2016) menyebutkan bahwa kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada bagian daun dilaporkan lebih tinggi dibandingkan bagian batang dan herba. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ololade *et al.* (2017) ekstrak metanol daun *Stachytarpheta jamaicensis* memiliki kadar flavonoid total sebesar 29,29 µg/mg setelah dilakukan analisis Total Flavonoid Content (TFC). Penelitian lain dilakukan oleh Kalaa dkk. (2020) menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak daun *Stachytarpheta jamaicensis* memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ berkisar antara 12,91-19,76 µg/mL.

Octasari dan Ramayani (2021) menyebutkan bahwa ekstrak *Stachytarpheta jamaicensis* memiliki aktivitas antioksidan terhadap kulit tikus putih (*Rattus*

novergicus) yang mengalami luka bakar akibat dipapar HCl pekat. Antioksidan berupa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak *Stachytarpheta jamaicensis* dapat mempercepat proses penyembuhan dan pemulihan luka bakar karena menghambat pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom sel neutrofil serta menurunkan migrasi monosit akibat diblokirnya jalur lipooksigenase. Penelitian Khairani *et al.* (2025) melaporkan bahwa ekstrak daun *Stachytarpheta jamaicensis* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $14,85 \pm 0,30$ $\mu\text{g/mL}$, dimana kemampuan antioksidan ini berperan dalam menekan stres oksidatif akibat hiperglikemia sehingga mendukung peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum pada mencit yang diinduksi aloksan.

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dijelaskan, dapat diketahui bahwa daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan serta pengaruhnya terhadap fungsi imun, termasuk fagositosis makrofag. Namun, penelitian yang menguji efek ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap viabilitas dan morfologi sel makrofag secara *in vitro* masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap viabilitas dan morfologi kultur sel makrofag peritoneum, serta mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di dalamnya sebagai dasar dalam menginterpretasikan respons sel yang diamati.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap morfologi dan viabilitas kultur sel makrofag peritoneum?

1.3 Tujuan

Tujuan pada penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap morfologi dan viabilitas kultur sel makrofag peritoneum.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) berpengaruh terhadap morfologi dan viabilitas kultur sel makrofag peritoneum.

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Untuk memberikan informasi tentang pengaruh ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap morfologi dan viabilitas sel makrofag secara in vitro.
2. Untuk memberikan alternatif pemanfaatan daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) yang berpotensi digunakan sebagai produk herbal yang bersifat antioksidan.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) yang digunakan berasal dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dalam bentuk simplisia dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi.
2. Sampel sel makrofag yang digunakan adalah sel makrofag yang diperoleh dari cairan peritoneum *Mus musculus* jantan strain Balb/C berusia 6-8 minggu, kemudian dikultur selama 48 jam dalam media RPMI 1640 yang ditambah 10% serum FBS.
3. Konsentrasi ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) yang dipaparkan pada sel makrofag yang ditumbuhkan pada media RPMI dengan 10% FBS adalah konsentrasi 50, 100 dan 150 µg/ml. Parameter yang diamati meliputi viabilitas sel menggunakan *Countess Cell Counter* dan morfologi sel makrofag yang diamati dengan mikroskop inverted setelah difiksasi menggunakan metanol 96% dan diwarnai dengan pewarna giemsa.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Simplisia Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*)

Simplisia merupakan bahan alami yang digunakan sebagai bahan baku dalam penelitian maupun pengobatan, yang umumnya belum mengalami pengolahan kecuali proses pengeringan dan dihaluskan menjadi serbuk (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Simplisia yang digunakan adalah bagian tanaman daun pecut kuda yang berasal dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dan telah dilakukan proses determinasi untuk memastikan kebenaran suku, marga, dan jenis tanaman yang digunakan. Berdasarkan surat determinasi yang diterbitkan (Lampiran 7), tanaman yang digunakan termasuk dalam suku Verbenaceae, marga *Stachytarpheta*, dengan nama jenis *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl, yang di beberapa daerah juga dikenal dengan nama jarong (Sunda), biron, karomenal, sekar laru, dan ngadirenggo (Jawa).



Gambar 2. 1 Morfologi Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*). (a) Seluruh tanaman (b) Bunga (c) Daun dan Bunga (Yuliana dan Fatmawati, 2019)

Pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) merupakan terna tahunan yang tumbuh tegak dengan tinggi berkisar antara 20 hingga 90 cm (Gambar

2.1 a). Daun bertipe tunggal, bertangkai, dan terletak berhadapan, dengan helaian daun berbentuk bulat telur, pangkal menyempit, dan ujung runcing. Tepi daun bergerigi dengan permukaan yang berlekuk-lekuk jelas, panjang daun antara 4 sampai 8 cm, dan lebar antara 3 sampai 6 cm, berwarna hijau tua (Gambar 2.1 c). Bunga tersusun majemuk dalam poros bulir yang memanjang seperti pecut, dengan panjang 4 sampai 20 cm, mekar dalam waktu yang berbeda-beda, berukuran kecil, umumnya berwarna ungu dan jarang berwarna putih (Gambar 2.1 b). Buah berbentuk garis dengan dua biji, sedangkan biji berbentuk jarum dan berwarna hitam (Van Steenis, 2008).

2.1.1 Klasifikasi pecut kuda (*S. jamaicensis*)

Klasifikasi *Stachytarpheta jamaicensis* menurut Zapino dan Fitri (2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Lamiales

Famili : Verbenaceae

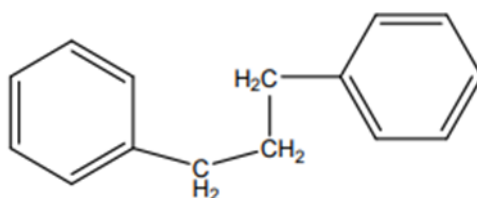
Genus : *Stachytarpheta*

Spesies : *Stachytarpheta jamaicensis* L.

2.1.2 Kandungan fitokimia daun pecut kuda (*S. jamaicensis*)

Stachytarpheta jamaicensis atau pecut kuda diketahui memiliki beberapa kandungan senyawa fitokimia. Beberapa senyawa yang telah teridentifikasi yaitu,

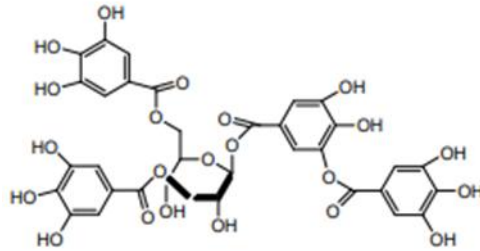
polifenol, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Octasari dan Ramayani, 2021). Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada bagian daun dilaporkan lebih tinggi dibandingkan bagian batang dan herba (Astuti 2016; Hermawati 2016). Penelitian Thangiah (2019) menyebutkan bahwa daun *Stachytarpheta jamaicensis* mengandung berbagai metabolit sekunder seperti tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, fenol, alkaloid, steroid, dan glikosida. Hal ini diperkuat dengan penelitian lain yang melakukan analisis GC-MS pada ekstrak daun *Stachytarpheta jamaicensis* menemukan 30 senyawa organik dengan komponen utama 3,5-dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one (13,7%), D-arabinitol (13,5%), 2-benzylidenemalonic acid (11,9%), dan 1,3-cyclopentadione (8,9%). Selain itu, ekstrak *Stachytarpheta jamaicensis* juga kaya fenol, flavonoid, tanin, asam askorbat, β -karoten, dan likopen yang diketahui berperan penting dalam aktivitas antioksidan dan terapeutik (Ololade *et al.*, 2017).



Gambar 2. 2 Struktur Kimia Flavonoid (Noer, 2018)

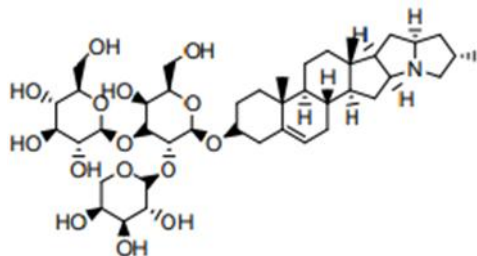
Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok senyawa fenol yang struktur benzennya tersubstitusi dengan gugus OH. Senyawa ini merupakan senyawa kimia turunan dari 2-phenyl-benzyl- γ -pyrone dengan biosintesis menggunakan jalur fenilpropanoid (Ningsih dkk., 2023). Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Dua cincin benzene (C6) terikat oleh rantai propana (C3) (Gambar 2.1) (Noer, 2018). Flavonoid pada tumbuhan berkontribusi dalam memproduksi pigmen berwarna

merah, kuning, biru, oranye, dan ungu pada buah, bunga, dan daun (Ningsih dkk., 2023).



Gambar 2. 3 Struktur Kimia Tanin (Noer, 2018)

Tanin adalah senyawa aktif golongan polifenol yang terdiri dari gugus hidroksil dan beberapa gugus terkait seperti karboksil yang dihasilkan oleh tanaman. Senyawa ini memiliki berat molekul sekitar 500 hingga 20.000 g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein (Hersila dkk., 2023). Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzene (C₆) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) (Gambar 2.2) (Noer, 2018). Tanin mudah terhidrolisis dalam kondisi asam, basa, atau enzimatik, melepaskan asam fenolik dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat karena terdapat banyak gugus hidroksil pada strukturnya (Cosme *et al.*, 2025). Tanin banyak ditemukan pada vakuola atau dinding permukaan tanaman, seperti tunas, jaringan akar, daun, batang, dan benih (Hersila dkk., 2023).



Gambar 2. 4 Struktur Kimia Saponin (Noer, 2018)

Saponin merupakan senyawa glikosida dengan berat molekul relatif tinggi yang tersusun atas gula yang berikatan dengan triterpen atau steroid aglikon yang

dapat berupa steroid atau triterpenoid (Gambar 2.3). Senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 414,62 g/mol dengan rumus molekul $C_{27}H_{42}O_3$ (Santosa dkk., 2018). Struktur saponin beragam dan terdiri dari aglikon non polar yang digabungkan dengan satu atom atau lebih gugus monosakarida (Santosa dkk., 2018). Penelitian Khan *et al.* (2022) saponin memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menurunkan pembentukan ROS dalam sel. Penelitian dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *dichlorofluorescein diacetate* (DCFDA) pada sel HEK293 yang dipapar H_2O_2 . Hasil penelitian menyebutkan bahwa perlakuan senyawa saponin dapat mengaktifkan mekanisme penekanan stres oksidatif dan pertahanan antioksidan sel. Hal tersebut dilakukan dengan mekanisme penurunan kadar ROS dan peningkatan ekspresi gen Nrf2 dan *glutamate cysteine ligase* (GCL).

Senyawa bioaktif pada daun pecut kuda seperti flavonoid, tanin, dan saponin, menunjukkan bahwa tumbuhan merupakan sumber daya alam yang memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan manusia dan merupakan salah satu tanda kebesaran dan rahmat Allah SWT. hal tersebut sebagaimana dijelaskan dalam Al-Qur'an surah Luqman ayat 10 sebagai berikut:

خَلَقَ السَّمُوتَ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالَّذِي فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya “Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi) tidak menggoyangkan kamu dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuhan yang baik.”

Shihab (2005) dalam kitab *Tafsir Al-Misbah* menjelaskan bahwa ayat ini memaparkan kekuasaan, kehebatan, dan keperkasaan Allah. Ayat ini menjelaskan

bahwa Allah menciptakan langit yang tinggi dan besar tanpa tiang sehingga dapat dilihat oleh manusia. Allah menjadikan permukaan bumi sebagai hunian manusia dan gunung-gunung yang tertancap kuat sehingga bumi tidak goncang meskipun berbentuk lonjong dan terus berputar. Allah juga mengembangbiakkan segala jenis binatang yang berakal, menyusui, bertelur, maupun melata. Selain itu, Allah menurunkan air hujan dari langit, baik berupa cair ataupun membeku yang kemudian bercampur dengan tanah sehingga menumbuhkan berbagai macam pasangan tumbuhan yang baik. Kata كَرِيمٌ pada ayat ini digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik sesuai dengan objeknya. *Rizq* yang *karim* adalah yang banyak, halal, dan bermanfaat. Pasangan tumbuhan yang baik (*karim*) merupakan tanaman yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamannya.

Menurut Asy-Syaukani (1834 M.) dalam *Tafsir Fathul Qadir* yang di tahqiq oleh Sayyid Ibrahim (2013) maksud dari ayat ini adalah, Allah menurunkan hujan dari langit, lalu dengan sebab penurunan hujan itu Allah tumbuhkan berbagai macam tumbuhan. Penyifatan dengan kata كَرِيمٌ (*baik*) karena keindahan warnanya dan manfaatnya yang banyak. Menurut Az-Zuhaili (2005) dalam *Tafsir Al-Munir* yang diterjemahkan oleh al-Kattani dkk. (2013) pada ayat tersebut lafadz مِنْ كُلِّ رَوْحٍ memiliki arti dari setiap jenis, varietas, dan spesies tumbuhan yang baik dan banyak manfaatnya.

2.2 Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan akibat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang melebihi kapasitas sistem pertahanan tubuh (Mulianto, 2020). Radikal bebas sebagai sumber

utama ROS dapat terbentuk secara alami melalui proses fisiologis, seperti metabolisme sel dan respons imun. Dalam kondisi normal, keberadaan radikal bebas dapat dikendalikan oleh sistem antioksidan sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada sel atau jaringan. Namun, produksi radikal bebas yang berlebihan dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan berbagai komponen sel, seperti lipid membran, protein, dan DNA, sehingga mengganggu struktur serta fungsi sel (Yuslianti, 2018).

2.2.1 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan atom tidak stabil yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron tersebut cenderung mengikat atom dari molekul lain kemudian menghasilkan senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai dalam tubuh (Ladeska dkk., 2022). Radikal bebas dalam jumlah normal memiliki manfaat bagi kesehatan seperti memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh. Apabila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebihan, maka akan menyebabkan stres oksidatif yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit (Yuslianti, 2018).

Efek radikal bebas dianggap berbahaya karena memiliki efek negatif yaitu dapat menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektron yang dapat menimbulkan kerusakan pada berbagai bagian sel, protein, DNA, dan lipid (Islamiyati dan Pujiastuti, 2020). Apabila radikal bebas tidak segera diatasi, maka akan melukai sel atau bahkan jaringan dan menstimulasi adanya kerusakan organ. Kerusakan organ dapat berpotensi menyebabkan munculnya penyakit kronis (Ladeska dkk., 2022). Penyakit degeneratif yang dapat ditimbulkan akibat radikal

bebas seperti, kanker, penuaan, rheumatoid arthritis, autoimun, dan neurodegeneratif (Mudjiran dan Karneli, 2024).

Reaksi rantai oksidasi radikal bebas melalui sederetan mekanisme reaksi. Rantai reaksi ini terdiri dari tahap inisiasi yaitu pembentukan awal radikal bebas, kemudian tahap propagasi yaitu perambatan atau terbentuknya radikal baru, dan terakhir tahap terminasi yaitu pemusnahan atau pengubahan menjadi radikal bebas stabil atau tidak reaktif (Yuslianti, 2018). Sumber radikal bebas yaitu endogen (dari dalam tubuh) dan eksogen (dari luar tubuh). Sumber radikal bebas endogen sangat bervariasi seperti autoksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis, transport elektron di mitokondria, dan oksidasi ion-ion logam transisi (Yuslianti, 2018). Sementara, radikal bebas eksogen berasal dari polusi udara, radiasi ultraviolet (UV), asap rokok, senyawa kimia, senyawa hasil pemanggangan, dan zat pewarna (Mudjiran dan Karneli, 2024).

2.2.2 *Reactive oxygen species (ROS)*

Reactive oxygen species (ROS) adalah kelompok molekul turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif dan mencakup senyawa radikal maupun nonradikal. Molekul ini memiliki elektron tidak berpasangan sehingga sifatnya sangat mudah bereaksi dengan zat lain. Keseimbangan antara produksi dan pembuangan ROS sangat menentukan apakah ROS berperan sebagai faktor merusak atau sinyal pelindung. Radikal bebas jenis ini dapat merusak membran sel dan juga diketahui berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, stroke, penyakit kardiovaskular, dan arthritis (Yuslianti, 2018). ROS dihasilkan secara alami dalam tubuh, khususnya dalam mitokondria selama proses metabolisme oksigen (Wibawa dkk., 2020), dan dapat diproduksi secara enzimatik dan nonenzimatik oleh sel-sel

fagositik seperti neutrofil, monosit, dan makrofag maupun nonfagositik seperti endotel, SMC, dan fibroblas (Susilawati, 2021). Selain itu, pembentukan ROS juga dapat dipicu oleh faktor eksternal, misalnya paparan polusi lingkungan, sinar ultraviolet, radiasi, pola makan tinggi lemak, proses pengolahan makanan, serta kondisi ketika kadar antioksidan di dalam tubuh rendah atau menurun (Yuslianti, 2018).

ROS dalam sistem pertahanan tubuh memiliki peran penting dalam imunitas bawaan dan imunitas adaptif. Pada imunitas bawaan, fagosit akan menghasilkan ROS dalam jumlah yang besar melalui ledakan oksidatif (*oxidative burst*) sebagai upaya cepat untuk menghancurkan patogen, meskipun aktivitasnya terbatas karena beberapa patogen masih dapat bertahan hidup. Jika patogen masih bertahan, imunitas adaptif akan diaktifkan melalui penyajian antigen pada limfosit T yang kemudian berproliferasi menjadi sel efektor spesifik. Pada tahap ini, ROS tetap berperan dengan meningkatkan transduksi sinyal intraseluler pada sel T sehingga memperkuat aktivasi dan efektivitas respon imun (Alfadda and Sallam, 2012).

Makrofag merupakan salah satu sumber utama ROS karena memiliki aktivitas enzimatik yang tinggi, terutama melalui kerja NADPH oksidase. Enzim ini berperan mengkatalisis reduksi molekul oksigen menggunakan NADPH sebagai donor elektron sehingga menghasilkan radikal superoksida. NADPH oksidase pada sel-sel vaskuler aktif secara konstitutif dan memproduksi ROS dalam jumlah kecil pada kondisi basal. Akan tetapi, NADPH oksidase akan memproduksi ROS dalam jumlah besar bila merespon stimuli produk-produk bacterial seperti LPS (lipopolisakarida) dan lipoprotein, growth factor (PDGF, platelet-derived growth

factor), atau oleh stimuli sitokin seperti interferon- γ (IFN- γ), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor (TNF- α) atau IL-8 (Susilawati, 2021).

Pada makrofag teraktivasi, kompleks NADPH oksidase di membran plasma akan diaktifkan melalui translokasi protein sitosolik ke membran, sehingga terbentuk enzim aktif yang mampu menghasilkan ROS dalam jumlah besar. Aktivasi ini biasanya dipicu oleh adanya *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs), sitokin proinflamasi seperti TNF- α atau IL-1 β , serta faktor pertumbuhan. Proses produksi ROS yang masif pada makrofag tersebut dikenal sebagai *oxidative burst*. dan menjadi mekanisme pertahanan penting dalam sistem imun terhadap patogen (Susilawati, 2021).

Ketika jumlah ROS yang terbentuk lebih banyak dibanding kemampuan antioksidan dalam menetralkan, maka akan terjadi ketidakseimbangan redoks atau yang dikenal dengan stres oksidatif. Keadaan ini dapat menimbulkan kerusakan sel dan jaringan, memicu proses inflamasi, serta berkontribusi terhadap mekanisme kematian terprogram sel atau apoptosis. Dengan demikian, stres oksidatif akibat akumulasi ROS berperan besar dalam berbagai patogenesis penyakit degeneratif maupun inflamasi (Situmorang dan Zulham, 2020).

2.2.3 Lipopolisakarida (LPS) *Escherichia coli*

Lipopolisakarida (LPS) merupakan komponen utama membran luar bakteri Gram-negatif, termasuk *Escherichia coli*, yang berperan sebagai endotoksin dan faktor virulensi penting dalam proses patogenesis infeksi (Sari dkk., 2018). Secara struktural, LPS tersusun atas tiga bagian utama, yaitu lipid A, inti oligosakarida (*core oligosaccharide*), dan antigen O (*O-antigen*). Di antara ketiga komponen

tersebut, lipid A merupakan bagian yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis dan toksisitas LPS (Kawahara et al., 2021).

Lipid A pada *E. coli* memiliki struktur heksaasil dengan dua gugus fosfat yang memberikan aktivitas endotoksin tinggi dibandingkan lipid A dari beberapa bakteri Gram-negatif lainnya. Struktur tersebut memungkinkan LPS *E. coli* berinteraksi secara efektif dengan kompleks Toll-like receptor 4 (TLR4)/MD-2 pada sel imun, sehingga mengaktifasi jalur pensinyalan intraseluler yang melibatkan NF- κ B dan MAPK. Aktivasi jalur tersebut memicu produksi berbagai mediator proinflamasi, seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), dan interleukin-6 (IL-6), sehingga LPS *E. coli* banyak digunakan sebagai model induksi inflamasi pada berbagai penelitian (Garcia-Vello dkk., 2022; Bierwagen dkk., 2023).

Selain menginduksi respons inflamasi, LPS *E. coli* juga dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan sehingga menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan komponen seluler. Karakteristik ini menjadikan LPS *E. coli* sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antiinflamasi dan antioksidan suatu bahan uji. LPS bersifat relatif stabil terhadap pemanasan biasa (*heat stable*), namun aktivitas biologisnya dapat menurun akibat paparan suhu sangat tinggi, oksidator kuat, basa kuat, maupun kondisi pH ekstrem yang menyebabkan perubahan struktur lipid A (Gorman & Golovanov, 2022).

2.2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa atau molekul yang stabil dan mampu mendonorkan hidrogen atau elektron ke molekul atau senyawa radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut bisa dinetralkan. Dengan demikian, kemampuan

radikal bebas untuk memicu rantai reaksi berantai yang merusak sel dapat berkurang. Antioksidan dapat menghambat atau menunda kerusakan sel terutama melalui sifat penangkal radikal bebasnya. Dalam proses metabolisme normal, tubuh juga menghasilkan antioksidan alami, seperti glutathione, ubiquinol, dan asam urat (Ibroham dkk., 2022). Antioksidan yang banyak dikenal adalah glutathione yang dihasilkan oleh hati. Glutathione memiliki peran penting dalam menangkal radikal bebas serta mencegah terjadinya kerusakan sel. Selain itu, tubuh juga menghasilkan enzim seperti katalasi dan superoksida dismutase (SOD) yang juga memiliki fungsi mengurangi radikal oksigen serta mencegah kerusakan sel (Nurkhasanah dkk., 2023).

Antioksidan selain diproduksi di dalam tubuh juga ditemukan dalam bahan makanan. Meskipun terdapat beberapa sistem enzim dalam tubuh yang menangkap radikal bebas, namun mikronutrien utama (vitamin) antioksidan seperti vitamin E (*α -tocopherol*), vitamin C (asam askorbat), dan β -karoten (Comert *et al.*, 2020). Terdapat juga beberapa senyawa metabolik sekunder lain seperti senyawa flavonoid, senyawa fenolik, atau asam organik yang didapat dari tumbuh-tumbuhan (Sies, 2019). Antioksidan yang didapat dari tumbuhan merupakan kelompok besar senyawa bioaktif yang terdiri dari senyawa fenolik, senyawa yang mengandung belerang, flavonoid, tanin, alkaloid, diterpen fenolik, dan vitamin (Ibroham dkk., 2022).

2.3 Makrofag

Makrofag merupakan salah satu sel imun yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh, baik spesifik maupun non spesifik. Secara alami, sel ini terdapat di dalam tubuh dan tersebar di berbagai jaringan (Erniati dan Ezraneti,

2020). Makrofag berperan penting dalam menjaga keseimbangan homeostasis tubuh serta menjadi lini pertahanan utama terhadap patogen maupun sel asing yang menyerang, termasuk sel kanker (Besung *et al.*, 2016). Jika ditinjau lebih dalam, peran penting makrofag ini tidak hanya menggambarkan kompleksitas sistem imun dari sudut pandang ilmiah, tetapi juga mengingatkan bahwa Allah menciptakan manusia dengan sistem pertahanan yang sempurna.

Allah menciptakan manusia dalam bentuk yang sebaik mungkin, sempurna, seimbang, serta dilengkapi dengan sistem pertahanan tubuh yang berfungsi melindungi tubuh dari berbagai ancaman penyakit, salah satunya melalui peran sel makrofag. Allah berfirman dalam surah Al-A'la ayat 2 yang berbunyi:

الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّىٰ ۖ

Artinya: “yang menciptakan, lalu menyempurnakan (ciptaan-Nya).” (Q.S. Al-A'la: 2).

Menurut Shihab (2005) dalam *Tafsir Al-Misbah*, kata *خَلَقَ* pada ayat di atas tidak disebut objeknya sehingga ia dapat dipahami dalam arti yang umum mencakup segala yang tercipta. Namun, ulama membatasi objek kata pada manusia karena adanya kata *fa sawwa* yang berarti *maka disempurnakan (ciptaan itu)*, sedangkan hanya manusia saja yang secara gamblang dinyatakan Allah sebagai makhluk yang paling sempurna. Kata *فَسَوَّىٰ* dari segi bahasa pada mulanya berarti *menyeimbangkan sesuatu dari segi kualitas dan kuantitasnya dengan sesuatu yang lain*. Dalam konteks ayat ini adalah menyempurnakan penciptaan masing-masing makhluk dari sisi kualitas dan kuantitasnya serta menyeimbangkannya dengan tugas dan fungsi yang dimaksud dari penciptaannya itu.

Menurut Az-Zuhaili (2005) dalam *Tafsir al-Munir* yang diterjemahkan oleh Kattani dkk. (2013) Allah adalah zat yang menciptakan seluruh alam, termasuk

manusia dan menyempurnakan ciptaan manusia dalam bentuk yang paling baik, imbang dan pas antara seluruh organ tubuhnya. Menjadikan bentuk manusia dengan tepat tanpa cacat, untuk menunjukkan kesungguhan penciptaannya dari Tuhan Yang Maha Bijaksana, Mengatur, dan Mengetahui. Lebih lanjut, menurut Sayyid Quthb (1992) dalam *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an* yang diterjemahkan oleh Yasin (2001) menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu dan menyempurnakan ciptaannya pada tingkat kesempurnaan yang sesuai untuknya. Sebuah sel hidup sempurna penciptaan dan persiapannya untuk menjalankan semua tugasnya. Keadaannya bagaikan keadaan makhluk hidup yang tinggi yang tersusun dari berbagai unsur yang saling melengkapi.

Penjelasan diatas menunjukkan bahwa baik dari sudut sains maupun agama, keberadaan makrofag menunjukkan kesempurnaan ciptaan yang memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan. Secara biologis, makrofag berperan signifikan dalam melawan patogen melalui mekanisme fagositosis serta pembentukan senyawa reaktif dari oksigen dan nitrogen untuk membunuh mikroba. Makrofag juga memiliki beberapa fungsi lain seperti menginisiasi respon inflamasi, mengaktifkan sistem imun adaptif, mempertahankan keseimbangan jaringan, mendukung proses perkembangan jaringan, serta memperbaiki jaringan yang rusak (Linehan *et al.*, 2015).

Fisiologi makrofag dapat berubah sesuai dengan kondisi lingkungan dan rangsangan lokal yang ada. Makrofag jaringan berasal dari dua sumber yaitu monosit yang masuk ke jaringan atau hasil proliferasi makrofag yang sudah menetap di jaringan (makrofag resident). Monosit berasal dari sel progenitor di sumsum tulang yang berkembang melalui tahapan monoblast, promonosit, hingga

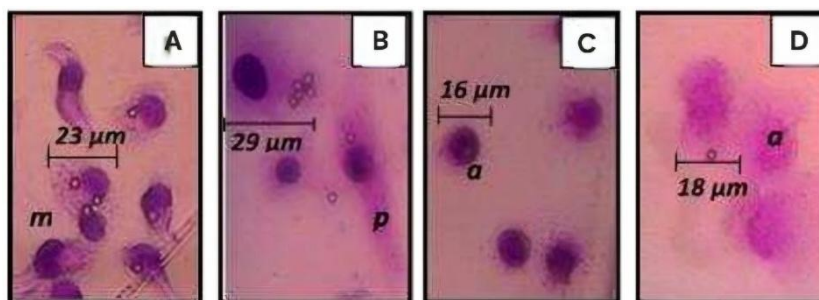
menjadi monosit matang. Monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag setelah meninggalkan sirkulasi dan masuk ke jaringan (Susanti, 2015).

Selain sebagai sel fagosit, makrofag juga tersebar di berbagai jaringan tubuh dan memiliki peran yang sesuai dengan lingkungannya. Contohnya, makrofag pada hati dikenal sebagai sel kupffer yang berperan dalam menjaga homeostasis neuron, pada paru-paru dikenal sebagai makrofag alveolar yang melindungi dari patogen inhalasi, serta osteoklas pada tulang yang berperan dalam resorpsi tulang (Wynn dan Vanella, 2016). Makrofag dapat diaktivasi oleh berbagai sinyal, baik yang berasal dari patogen *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs) seperti LPS, peptidoglikan, dan flagelin, maupun sinyal dari kerusakan jaringan *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMPs) seperti ATP ekstraseluler (Yellanki *et al.*, 2024).

2.3.1 Makrofag peritoneum

Makrofag peritoneum adalah sel fagosit mononuklear yang berada bebas di dalam rongga peritoneum. Peritoneum adalah membran serosa terbesar dalam tubuh yang terdiri atas dua lapisan, yaitu peritoneum viseral yang menyelubungi organ-organ di dalam rongga perut dan peritoneum parietal yang melapisi dinding rongga abdomen. Ruang di antara kedua lapisan tersebut dikenal sebagai rongga peritoneal atau kantung peritoneum (Renowati dkk., 2022). Sel makrofag peritoneum sering dijadikan sumber utama kultur primer (Gambar 2.4) karena jumlahnya melimpah dan relatif mudah diperoleh. Dari satu ekor mencit dapat diisolasi jutaan sel makrofag peritoneum dengan rata-rata $1,03 \times 10^6$ sel/ml (Susanti *et al.*, 2015).

Makrofag peritoneum memiliki tingkat kematangan yang lebih tinggi dibandingkan makrofag di jaringan lain seperti limpa (*spleen*) atau sumsum tulang belakang (*bone marrow*). Sel ini menunjukkan ekspresi molekul MHC II dan CD86 yang tinggi sebagai indikator kematangan dan kesiapan fungsi imun. (Susanti *et al.*, 2015). Makrofag peritoneum berperan dalam fagositosis cepat terhadap mikroba dan partikel asing yang masuk ke dalam rongga peritoneum. Selain itu, sel ini berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang memproses patogen dan mempresentasikannya ke limfosit T sehingga menginisiasi respon imun adaptif. Makrofag pada jaringan lain lebih terkait dengan fungsi khusus sesuai organ, seperti contoh makrofag alveolar paru-paru yang beradaptasi untuk membersihkan partikel dari udara atau makrofag mikroglia di otak yang mendukung sistem saraf pusat (Renowati dkk., 2022).



Gambar 2. 5 Morfologi sel makrofag peritoneum *Mus musculus*, (A) Sel makrofag normal dengan adanya pseudopodia (B) Sel makrofag normal (C) Sel makrofag abnormal yang ditandai dengan kondensasi sitoplasma, namun membran utuh (D) Sel makrofag abnormal yang ditandai dengan fragmentasi nukleus, sitoplasma, dan membran sel (Karimaa, 2018)

Sel makrofag yang berada dalam kondisi normal atau tidak teraktivasi (makrofag naif) umumnya memiliki bentuk bulat hingga oval dengan membran plasma yang relatif halus, sitoplasma homogen (sitoplasma tampak rata dan tidak menunjukkan adanya kerusakan), dan nukleus yang utuh. Ketika teraktivasi dan melakukan fagositosis, makrofag mengalami perubahan morfologi menjadi lebih

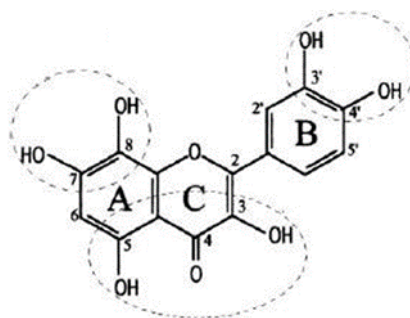
irregular disertai pembentukan pseudopodia yang berfungsi untuk menangkap dan menelan partikel asing (Adegbenro *et al.*, 2024). Pada sel makrofag stres oksidatif mengakibatkan perubahan morfologi. Apabila stres oksidatif berlangsung lebih berat, kondisi tersebut dapat memicu apoptosis atau kematian sel terprogram. Karakteristik apoptosis antara lain berkurangnya volume sel, organel di sitoplasma terkondensasi, serta fragmentasi nukleus yang diikuti sitoplasma dan membran sel (Gambar 2.4 C dan D) (Karimaa, 2018).

2.4 Pengaruh Ekstrak Pecut Kuda Terhadap Sel Makrofag

Pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) adalah tanaman liar yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan seperti alergi dan penyakit respiratori termasuk batuk, flu, asma, dan bronkitis. Selain itu, beberapa penelitian juga melaporkan bahwa tanaman ini memiliki potensi antidiare, antibakteri, antiinflamasi, dan kemampuan dalam menangkap radikal bebas (Kalaa dkk., 2020). Aktivitas farmakologis tanaman ini diduga kuat berasal dari kandungan flavonoid yang terkandung di dalamnya.

Flavonoid memiliki peran penting sebagai antioksidan yang bekerja melalui tiga mekanisme yaitu mengurangi pembentukan ROS (*reactive oxygen species*), menghancurkan ROS yang terbentuk, serta mengatur dan melindungi sel dengan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan endogen (Widiasriani dkk., 2024). Aktivitas flavonoid sebagai antioksidan dipengaruhi oleh struktur kimia flavonoid, terutama keberadaan dan posisi gugus hidroksil (-OH) pada cincin aromatiknya (Gambar 2.5). Adanya struktur orto-dihidroksi pada cincin B memungkinkan konjugasi antara ikatan rangkap C2-C3 dengan gugus karbonil di C4, sedangkan gugus hidroksil pada posisi C3 pada cincin C dan C5 pada cincin A juga berperan

penting dalam menangkap ROS. Kombinasi gugus tersebut dapat mengoptimalkan kemampuan flavonoid dalam menetralkan radikal bebas (Arifin dan Ibrahim 2018; Widiarsiani dkk., 2024).



Gambar 2. 6 Struktur Flavonoid yang Berfungsi Sebagai Agen Anti Radikal Bebas (Widiarsiani dkk., 2024)

Flavonoid dalam aktivitas antioksidannya bekerja dengan dua cara, yaitu secara langsung sebagai *radical scavenger* (penetrasi radikal bebas) dan secara tidak langsung melalui peningkatan enzim antioksidan endogen (Jabbar dkk., 2019). Sebagai *radical scavenger*, flavonoid mendonorkan atom hidrogen (H^+) atau elektron dari gugus hidroksilnya kepada radikal bebas untuk membentuk radikal fenoksil yang lebih stabil (Wang *et al.*, 2021; Widiarsiani dkk., 2024). Mekanisme ini mampu menghentikan reaksi berantai oksidasi seperti peroksidasi lipid, yaitu proses di mana radikal bebas mengambil elektron dari lipid membran dan menimbulkan kerusakan pada DNA, protein, serta mengganggu fungsi enzim. Peroksidasi lipid yang tidak terkendali dapat memicu apoptosis dan kematian sel. Dengan kemampuannya memutus rantai peroksidasi, flavonoid dapat menurunkan kadar ROS, mempertahankan viabilitas, dan menjaga morfologi sel agar tetap normal (Su *et al.*, 2019; Salwa dkk., 2021).

Aktivitas flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan berperan dalam aktivasi sistem pertahanan antioksidan endogen melalui jalur faktor transkripsi *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) (Suraweera *et al.*,

2020). Pada kondisi normal, Nrf2 berada di sitoplasma dan terikat pada protein negatif regulator *Kelch ECH associating protein 1* (Keap 1). Ketika terjadi stres oksidatif, residu sistein pada Keap1 mengalami perubahan redoks sehingga ikatannya dengan Nrf2 terlepas. Nrf2 kemudian bertranslokasi ke inti sel dan berikatan dengan *Antioxidant Responsive Element* (ARE), yang menginduksi ekspresi gen sitoprotektif dan enzim antioksidan endogen seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT), dan *Glutathione Peroxidase* (GPx) (Mendonca *et al.*, 2020).

Ketiga enzim antioksidan endogen tersebut memiliki peran saling melengkapi dalam menekan stres oksidatif. SOD mengkatalis konversi anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Selanjutnya, CAT yang terutama berada di mitokondria menguraikan H_2O_2 menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). GPx bekerja menggunakan glutathion tereduksi (GSH) untuk mereduksi peroksida menjadi air sambil membentuk glutathion teroksidasi (GSSG). Aktivitas sinergis SOD, CAT, dan GPx yang diinduksi flavonoid secara efektif menurunkan akumulasi ROS dan mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif (Bhutto *et al.*, 2018; Diniz *et al.*, 2015). Dengan demikian, flavonoid dalam ekstrak pecut kuda memiliki mekanisme antioksidan yang kompleks, baik dengan menetralkan ROS secara langsung maupun dengan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan endogen. Kombinasi kedua mekanisme ini berkontribusi dalam mempertahankan integritas membran, morfologi, dan viabilitas sel.

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen kimia yang larut menggunakan pelarut dengan tujuan memperoleh senyawa tertentu dari simplisia

atau campurannya (Octavia dkk., 2023). Salah satu metode ekstraksi yang banyak digunakan adalah maserasi karena prosesnya sederhana, tidak memerlukan peralatan yang mahal, serta tidak melibatkan pemanasan sehingga kandungan kimia dalam simplisia lebih terjaga (Ningsih dkk., 2020).

Maserasi dilakukan melalui perendaman simplisia dalam pelarut pada suhu ruang dengan sesekali pengadukan (Agustina dkk., 2018). Prinsip metode ini didasarkan pada sifat kelarutan senyawa (*like dissolves like*), yaitu senyawa akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama (Wahyuni dkk., 2024). Tahapan maserasi meliputi pengecilan ukuran bahan, perendaman dalam pelarut selama waktu tertentu, pengadukan untuk mempercepat difusi zat aktif, dan penyaringan untuk memisahkan residu dari ekstrak (Mun'im dan Ahmad, 2023; Suci dan Mahfud, 2025). Selama proses perendaman, pelarut menembus dinding sel sehingga metabolit sekunder di dalam sel terlarut dan berpindah ke dalam pelarut melalui mekanisme difusi akibat perbedaan konsentrasi antara bagian dalam sel dan pelarut hingga tercapai keseimbangan (Fakhruzzy dkk., 2020).

Ekstraksi dengan metode maserasi diperlukan penggunaan pelarut yang sesuai dengan karakteristik senyawa yang diidentifikasi. Pelarut yang dipilih harus mampu melarutkan sebagian besar metabolit sekunder dalam simplisia sehingga kandungan yang ditargetkan dapat diperoleh secara optimal (Agustina dkk., 2018). Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang ditargetkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar

akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya (Simamora dkk., 2021). Salah satu pelarut yang sesuai dengan prinsip tersebut adalah etanol.

Etanol merupakan salah satu pelarut organik yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi. Pemilihan etanol sebagai pelarut didasarkan pada beberapa alasan, antara lain karena sifatnya yang relatif tidak toksik dibandingkan dengan metanol dan aseton, biaya yang dibutuhkan lebih ekonomis, dan dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi. Selain itu, etanol juga dianggap aman digunakan pada ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan bahan pangan. Keunggulan lainnya adalah ketersediaannya yang mudah diperoleh, efisien, ramah lingkungan, serta kemampuan ekstraksi yang baik (Chen *et al.*, 2020; Fan *et al.*, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan deskriptif kuantitatif. Penelitian ini menggunakan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Bentuk rancangan perlakuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok isolat sel makrofag tanpa induksi LPS dan pemberian ekstrak daun pecut kuda.
2. Kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok isolat sel makrofag yang diberi induksi LPS tanpa pemberian ekstrak daun pecut kuda.
3. Kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok isolat sel makrofag yang diberi induksi LPS dengan pemberian ekstrak pecut daun kuda konsentrasi 50 µg/ml.
4. Kelompok perlakuan 4 yaitu kelompok isolat sel makrofag yang diberi induksi LPS dengan pemberian ekstrak daun pecut kuda konsentrasi 100 µg/ml.
5. Kelompok perlakuan 5 yaitu kelompok isolat sel makrofag yang diberi induksi LPS dengan pemberian ekstrak daun pecut kuda konsentrasi 150 µg/ml.

3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tiga variabel yang terdiri dari:

1. Variabel bebas adalah pemberian ekstrak daun pecut kuda dengan berbagai konsentrasi yaitu 50, 100 dan 150 µg/ml.
2. Variabel terikat berupa morfologi dan viabilitas kultur sel makrofag peritoneum mencit (*Mus musculus*).

3. Variabel kontrol yakni jenis sel, jenis media, lama inkubasi, suhu, dan kelembaban.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2025 – Mei 2026 di Laboratorium Kultur Jaringan Hewan dan Laboratorium Fisiologi Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator CO₂, autoklaf, oven, timbangan analitik, *rotary evaporator*, *sentrifuge*, *cell countest*, mikroskop inverted, *beaker glass*, *erlenmayer*, batang pengaduk, kertas saring, gelas ukur, spatula, *membrane filter* 0,22 µm, botol tutup ulir (*shot*), *TC dish (tissue culture treated dish)* 35x10 mm, *cell strainer*, cawan petri, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, *white tip*, *microtube*, *tube sentrifuge*, spuit 20 cc, spuit 10 ml, spuit 3 ml, pinset, gunting bedah, *hand glove*, masker, kertas label, *aluminium foil*, bunsen, *tissue*, dan korek api.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: isolat sel makrofag peritoneum *Mus musculus* strain Balb/C usia 6-8 minggu, daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*), DMSO (dimetil sulfoksida), media RPMI 1640, *penicillin*, *streptomycin*, NaHCO₃ (natrium bikarbonat), HEPES, DI Water, *Phosphat Buffer Saline* (PBS), *Fetal Bovine Serum* (FBS), pewarna *trypan blue*,

pewarna giemsa, methanol merck, etanol 70%, alkohol 70%, aquadest, wipol, tipol, media NA dan PDA.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi ruang kultur

Ruang kultur dipreparasi dengan mensterilkan ruangan yang akan digunakan sebagai tempat penelitian. Langkah pertama yang dilakukan adalah membersihkan peralatan dengan disemprot alkohol 70% kemudian dilap menggunakan tissue. Lantai ruangan kemudian dibersihkan dengan cara disapu lalu dilap menggunakan kain basah yang diberi wipol. Selanjutnya dilakukan penyinaran dengan sinar UV selama 30 menit. Untuk memastikan ruangan sudah benar-benar steril dilakukan uji sterilitas ruang dengan media PDA dan NA yang ditempatkan pada cawan petri.

3.5.2 Preparasi alat dan bahan

Preparasi alat dilakukan dengan melakukan sterilisasi pada alat-alat yang akan digunakan untuk penelitian. Langkah pertama yang dilakukan yaitu alat-alat dissecting seperti pinset, gunting bedah, dan alat-alat gelas, alat non-gelas, dan logam direndam dalam air yang ditambah tipol selama 1 X 24 jam. Kemudian alat-alat disikat dan dibilas dengan air mengalir sebanyak 21 kali dan pada tahap terakhir dibilas dengan aquadest dan DI water hingga tidak ada busa yang menempel pada alat. Langkah selanjutnya alat-alat dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C. Setelah kering, semua alat dibungkus dengan aluminium foil. Peralatan gelas dan logam disterilisasi menggunakan oven pada suhu 125°C selama 3 jam. Sedangkan peralatan plastik disterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.3 Pembuatan ekstrak daun pecut kuda

Pembuatan ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) berdasarkan penelitian Octavia dkk. (2023) yang telah dimodifikasi. Serbuk simplisia yang didapatkan dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu diayak menggunakan saringan kemudian ditimbang sebanyak 50 gram dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Selanjutnya, ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Proses maserasi dilakukan selama tiga hari dalam wadah tertutup yang terlindungi dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk. Setelah tiga hari, simplisia tersebut disaring untuk memisahkan ekstrak cair atau maserat dengan ampas. Maserat kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu waterbath 40°C dengan kecepatan 50 rpm dan dibantu dengan pendingin balik hingga diperoleh ekstrak kental daun pecut kuda. Ekstrak kental kemudian dilarutkan dengan DMSO 0,5% v/v dan *DI water* lalu dibuat variasi konsentrasi 50, 100 dan 150 µg/ml yang masing-masing konsentrasi uji disiapkan sebanyak 10 ml.

3.5.4 Pembuatan media stok kultur RPMI 1640

Langkah awal yang dilakukan dalam pembuatan media stok kultur RPMI 1640 adalah menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, meliputi erlenmayer, spuit 20 cc, *membrane filter* 0,22 µm, gelas ukur, botol ulir dan jar kaca. Selanjutnya, bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan, yaitu 0,84 gram media RPMI 1640, 0,2 gram NaHCO₃, 0,01 gram *penicillin*, 0,01 gram *streptomycin*, dan 0,23 gram HEPES. Bahan-bahan yang telah ditimbang kemudian dibungkus menggunakan alumunium foil. Setelah itu, alat dan bahan disterilisasi dengan penyinaran UV di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) selama 30 menit.

Setelah sterilisasi menggunakan UV selesai, media RPMI 1640, NaHCO₃, *penicillin*, *streptomycin*, dan HEPES dimasukkan ke dalam erlenmayer, kemudian dilarutkan dengan DI *water* hingga volume akhir mencapai 100 ml. larutan Media kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkan erlenmayer hingga media homogen. Setelah homogen, media disterilisasi menggunakan *membrane filter* 0,22 µm, kemudian dimasukkan dalam botol ulir steril dan disimpan dalam lemari pendingin. Pembuatan media stok kultur RPMI dilakukan berdasarkan prosedur Mani *et.al.* (2023) yang telah dimodifikasi.

3.5.5 Pembuatan stok lipopolisakarida (LPS)

Pembuatan larutan kerja lipopolisakarida (LPS) dilakukan dengan metode pengenceran dari larutan stok LPS yang tersedia dengan konsentrasi 10 mg/ml. stok LPS diambil sebanyak 5 µl menggunakan pipet steril, kemudian dimasukkan ke dalam botol ulir steril yang berisi 50 ml media RPMI untuk memperoleh konsentrasi kerja sebesar 1 µg/ml. Campuran media RPMI dengan stok LPS kemudian dihomogenkan perlahan hingga larutan tercampur merata dan selanjutnya digunakan sebagai media induksi pada sel makrofag peritoneum.

3.5.6 Isolasi sel makrofag

Isolasi sel makrofag peritoneum mencit (*Mus musculus*) dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Prosedur isolasi sel makrofag peritoneum mengacu pada penelitian Susanti *et.al.* (2015) yang telah dimodifikasi, dengan tahapan sebagai berikut:

1. Mencit (*Mus musculus*) berusia 6-8 minggu dieuthanasia dengan dislokasi tulang leher belakang menggunakan benda tumpul kemudian bagian abdomen disterilisasi dengan disemprot alkohol 70%.

2. Kulit luar abdomen dibedah dan kulit bagian dalam disterilisasi dengan alkohol 70%.
3. Medium RPMI dingin sebanyak 5 ml diinjeksikan menggunakan jarum ukuran 21G di bagian lapisan peritoneum.
4. Abdomen mencit ditepuk-tepuk perlahan selama 1 menit kemudian cairan peritoneum diambil menggunakan jarum ukuran 23G dengan dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus.
5. Cairan peritoneum kemudian dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan disentrifus dengan kecepatan 1600 rpm selama 5 menit. Hasil sentrifus berupa supernatan dibuang.
6. Sentrifugasi diulang secara bertahap dengan menambahkan media dingin RPMI 0% serum, RPMI 3% serum, dan RPMI 10% serum. Supernatan hasil sentrifus dibuang dan disisakan sebanyak 1 ml lalu ditambah 2 ml media RPMI.
7. Jumlah sel makrofag dihitung menggunakan sel *countest* kemudian diresuspensi hingga didapatkan suspensi sel dengan kepadatan $2,5 \times 10^5$ sel.

3.5.7 Kultur sel makrofag

Langkah yang dilakukan untuk mengkultur sel makrofag adalah sebagai berikut:

1. Media kultur disiapkan terlebih dahulu dengan menambahkan media komplit (RPMI 1640 dan 10% FBS) dan ekstrak pecut kuda variasi konsentrasi 50, 100, dan 150 $\mu\text{g/ml}$ sebanyak 100 μl pada TC dish. Media kultur kemudian diinkubasi selama 30 menit untuk menyesuaikan suhu pertumbuhan sel.

2. Suspensi sel yang telah dihitung ditumbuhkan dalam *TC dish* dan setiap *dish* berisi $2,5 \times 10^5$ sel.
3. Sel diinkubasi dalam inkubator CO_2 5% dengan suhu 37°C selama 24 jam hingga kultur sel makrofag menempel pada bagian dasar *dish* dan siap untuk digunakan uji viabilitas dan pengamatan morfologi sel.

3.5.8 Induksi lipopolisakarida dan perlakuan ekstrak

Media kultur sel makrofag yang ditumbuhkan dalam TC dish terlebih dahulu dibuang, kemudian dicuci dengan media RPMI sebanyak dua kali. Selanjutnya ditambahkan 200 μl lipopolisakarida (LPS) konsentrasi 1 mg/ml dan dilanjutkan inkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam sel sudah siap untuk diuji viabilitas menggunakan *countess cell*.

3.5.9 Pengamatan viabilitas sel makrofag peritoneum

Pengamatan viabilitas sel makrofag peritoneum dilakukan dengan perhitungan langsung menggunakan alat *Countess cell*. Prosedur pengamatan viabilitas sel disesuaikan dengan *Countess TM II FL automated cell counter user guide* (2019). Sebanyak 10 μl suspensi sel diambil dan dicampurkan dengan 10 μl pewarna *trypan blue* lalu dihomogenkan dengan dipipet naik turun perlahan. Selanjutnya, sebanyak 10 μl campuran tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam *chamber slide*. *Chamber slide* kemudian dimasukkan ke dalam *slide port instrument* dan alat akan secara otomatis dengan mengatur fokus cahaya. Pada akhir proses, alat akan menunjukkan konsentrasi sel dan persentase sel yang hidup dan yang mati.

3.5.10 Pengamatan morfologi sel makrofag peritoneum

Pengamatan morfologi sel makrofag peritoneum dilakukan melalui proses fiksasi kultur sel makrofag yang sudah diberi perlakuan. Kultur sel makrofag peritoneum dicuci terlebih dahulu dengan PBS sebanyak 2 kali kemudian diberi methanol merck lalu dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya, sel diwarnai dengan pewarna giemsa lalu didiamkan selama 15 menit. Kultur sel makrofag yang telah diberi pewarna kemudian dicuci menggunakan aquadest dan Kembali dikeringkan. Morfologi sel makrofag kemudian diamati menggunakan mikroskop inverted dengan perbesaran 200 kali. Morfologi sel makrofag diamati dan dihitung persentase abnormalitas selnya dengan rumus sebagai berikut:

$$Abnormalitas\ Sel\ (\%) = \left(\frac{Jumlah\ sel\ makrofag\ abnormal}{Jumlah\ sel\ makrofag\ yang\ diamati} \right) \times 100$$

Pengamatan ini berdasarkan prsedur penelitian Nurhayati *et.al.* (2021) yang sudah dimodifikasi.

3.6 Analisis Data

Analisis data mengenai viabilitas dan morfologi dilakukan dengan menggunakan *software* IBM SPSS Statistics 23. Data yang didapatkan sebelumnya diuji normalitas dan homogenitas. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka data bisa diuji *One Way ANOVA*. Perhitungan hasil uji ANOVA ditentukan dengan perbedaan signifikan (nilai F hitung > F tabel). Jika hasil yang didapatkan menunjukkan nilai ($p < 0,05$), maka terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan uji lanjut Duncan, BNT, atau BNJ sebagai uji pembandingan. Uji lanjut yang dipilih didasarkan pada nilai koefisien keragaman (KK). Apabila nilai $KK > 10\%$, maka menggunakan uji Duncan. Jika nilai KK 5-

10%, maka menggunakan uji BNT dan apabila nilai $KK < 5\%$, maka menggunakan uji BNJ.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Morfologi Sel Makrofag Peritoneum

Aktivitas biologi ekstrak tanaman erat hubungannya dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya. Analisis kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) dilakukan untuk mengetahui komponen yang berpotensi berperan dalam memberikan efek terhadap sel makrofag peritoneum pada penelitian ini. Pemeriksaan kandungan senyawa aktif ekstrak pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) dilakukan oleh laboran Laboratorium Central Riset dan Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat Malang menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) menggunakan alat ELISA Reader Diatek DR-200BC. parameter yang dianalisis yaitu kadar flavonoid total, fenolik total, dan steroid dengan lima konsentrasi ekstrak, yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Hasil analisis kadar flavonoid total, fenolik total, dan steroid disajikan pada Tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4. 1 Hasil Pemeriksaan Kadar Flavonoid, Fenolik, dan Steroid Ekstrak Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*)

Konsentrasi Sediaan (ppm)	Kadar Flavonoid Total (mg QE/gram)	Kadar Fenolik Total (mg QE/gram)	Kadar Steroid (mg/L)
20	277,18	65,09	18,13
40	312,78	110,73	37,20
60	433,83	191,67	56,67
80	448,19	198,05	58,20
100	461,30	203,87	59,60

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar flavonoid total, fenolik total, dan steroid pada ekstrak pecut kuda meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi

sediaan ekstrak. Pada konsentrasi 20 ppm, kadar flavonoid total tercatat sebesar 277,18 mg QE/gram, kadar fenolik total sebesar 65,09 mg QE/gram, dan kadar steroid sebesar 18,13 mg/L. Nilai tersebut terus mengalami peningkatan pada setiap kenaikan konsentrasi hingga mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi 100 ppm, yaitu kadar flavonoid total sebesar 461,30 mg QE/gram, kadar fenolik total sebesar 203,87 mg QE/gram, dan kadar steroid sebesar 59,60 mg/L.

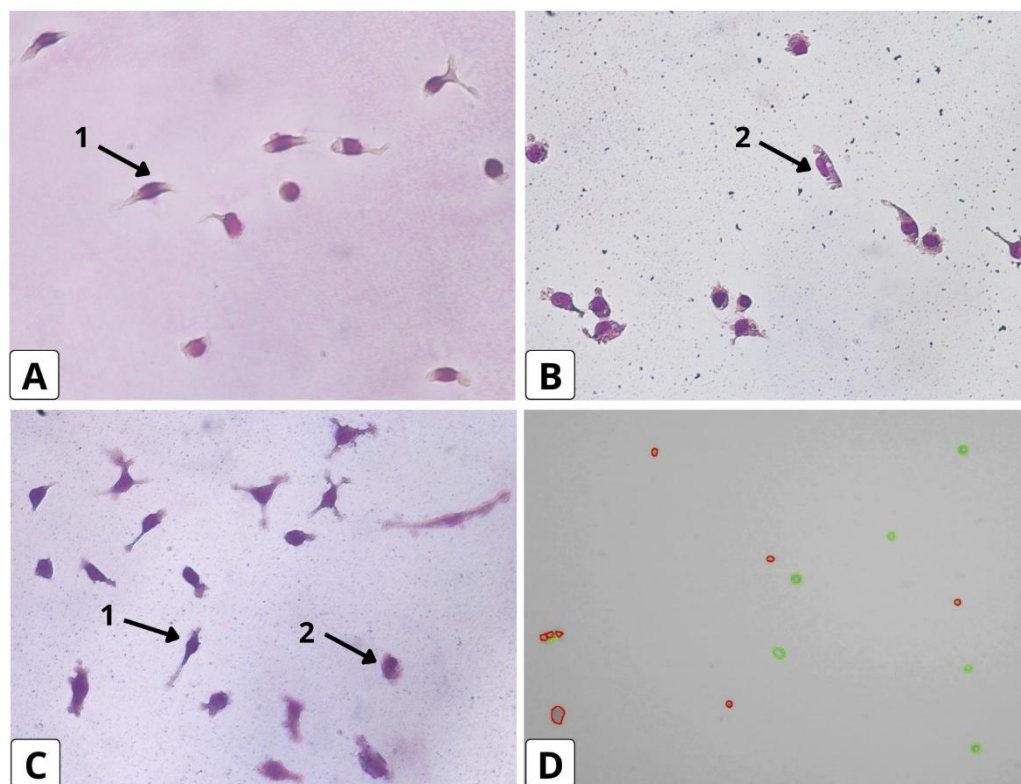
Kadar flavonoid total diketahui lebih tinggi dibandingkan kadar fenolik dan steroid pada seluruh konsentrasi yang menunjukkan bahwa flavonoid merupakan komponen dominan dalam ekstrak pecut kuda. Dominasi kandungan flavonoid pada ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) sejalan dengan penelitian Liew & Yong (2016) yang melaporkan bahwa tanaman ini kaya akan senyawa metabolit sekunder, terutama flavonoid dan senyawa fenolik. Penelitian Fatmawati dkk. (2023) melaporkan bahwa senyawa bioaktif pada daun pecut kuda tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat melalui uji DPPH, ABTS, dan α -glukosidase.

Selain flavonoid dan fenolik, ekstrak daun pecut kuda juga mengandung senyawa steroid. Steroid diketahui memiliki aktivitas biologis, antara lain sebagai antiinflamasi dan imunomodulator. Penelitian Liu dkk. (2019) melaporkan bahwa senyawa fitosterol mampu meredakan reaksi inflamasi pada makrofag RAW264.7 yang diinduksi LPS, dengan menghambat produksi nitrit oksida (NO), pelepasan TNF- α , serta ekspresi dan aktivitas mediator proinflamasi COX-2, iNOS, dan p-ERK. Kandungan flavonoid, fenolik, dan steroid dalam ekstrak daun pecut kuda menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki potensi biologis yang dapat berperan dalam melindungi sel dari kerusakan akibat proses inflamasi dan stres

oksidatif. Potensi tersebut selanjutnya dievaluasi melalui pengamatan terhadap perubahan morfologi sel makrofag peritoneum setelah pemberian perlakuan dan induksi LPS. Pengamatan morfologi dilakukan karena perubahan bentuk dan struktur sel dapat mencerminkan kondisi fisiologis serta tingkat kerusakan sel yang terjadi.

Morfologi sel merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengevaluasi kondisi kesehatan sel secara langsung. Perubahan morfologi pada sel makrofag dapat menjadi indikator terjadinya kerusakan sel akibat stres oksidatif (Selig *et al.*, 2024). Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak daun pecut kuda dalam memberikan efek protektif terhadap kerusakan sel makrofag peritoneum akibat induksi LPS. Morfologi sel diamati setelah inkubasi selama 24 jam melalui pewarnaan Giemsa dan pengamatan menggunakan mikroskop inverted dengan perbesaran 200 $\times$.

Hasil pengamatan morfologi pada sel makrofag peritoneum (Gambar 4. 1) terlihat adanya perbedaan karakteristik sel makrofah peritoneum pada masing-masing perlakuan. Sel makrofag peritoneum kontrol yang tidak diberi perlakuan (Gambar 4.1 A) menunjukkan morfologi sel normal dengan karakteristik bentuk sel bulat dan sedikit memanjang, sitoplasma yang merata, dan inti sel yang utuh. Sebaliknya, Sel makrofag peritoneum yang hanya diinduksi lipopolisakarida (Gambar 4.1 B) menunjukkan karakteristik sel makrofag peritoneum yang mengalami kerusakan, yaitu penyusutan ukuran sel, kondensasi sitoplasma, berkurangnya pembentukan pseudopodia, dan fragmentasi inti sel.



Gambar 4. 1 Morfologi sel makrofag peritoneum hasil pewarnaan giemsa yang diamati menggunakan mikroskop inverted perbesaran 200× dan analisis viabilitas sel makrofag peritoneum pada countess cell counter. Keterangan: A: Makrofag peritoneum kontrol, B: Makrofag peritoneum kontrol yang diinduksi LPS, C: Makrofag peritoneum yang diinduksi LPS dan diberi perlakuan ekstrak daun pecut kuda, D: viabilitas sel makrofag peritoneum dengan warna hijau adalah sel hidup dan warna merah sel mati. (1) sel normal yang ditandai dengan membran sel, sitoplasma, dan inti sel yang utuh (2) sel abnormal (mengalami kerusakan) yang ditandai dengan fragmentasi membran sel, sitoplasma, dan inti sel.

Sel makrofag peritoneum yang diinduksi LPS dan diberi perlakuan ekstrak daun pecut kuda (Gambar 4.1 C), menunjukkan kondisi morfologi yang lebih baik dibandingkan sel makrofag peritoneum yang diinduksi LPS. Sel makrofag peritoneum menunjukkan morfologi dengan struktur yang lebih utuh dengan jumlah sel abnormal yang lebih sedikit. Perbaikan morfologi tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak daun pecut kuda mampu memberikan efek protektif terhadap sel makrofag yang mengalami kerusakan akibat induksi LPS.

Hasil pengamatan morfologi tersebut didukung oleh hasil pengukuran viabilitas menggunakan *Countess Cell Counter* pada Gambar 4.1 D. Warna hijau pada gambar menunjukkan sel hidup karena tidak menyerap pewarna *trypan blue* sedangkan warna merah menunjukkan sel mati karena menyerap pewarna *trypan blue*. Menurut Bahi dkk. (2016) prinsip dasar pewarnaan *trypan blue* adalah sel hidup memiliki membran sel yang utuh sehingga mampu menghambat zat asing masuk ke dalam sel termasuk pewarna *trypan blue*. Sementara sel yang mati mengalami perubahan permeabilitas membran atau terjadi kerusakan membran sel, sehingga pewarna mampu menembus sel makrofag peritoneum.

Setelah dilakukan pengamatan morfologi, jumlah sel normal dan abnormal dihitung untuk menentukan persentase abnormalitas sel makrofag pada setiap kelompok perlakuan. Data abnormalitas morfologi sel makrofag peritoneum pada setiap kelompok disajikan pada tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4. 2 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Rata-rata Abnormalitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi LPS

Perlakuan	Abnormalitas Sel Makrofag (%) Ulangan			Rerata $\pm$ SD
	I	II	III	
K	29	21	39	29,7 $\pm$ 9,0
K+LPS	68	60	75	67,7 $\pm$ 7,5
P1 (50 μ g/ml)	51	53	60	54,7 $\pm$ 4,7
P2 (100 μ g/ml)	34	29	43	35,3 $\pm$ 7,1
P3 (150 μ g/ml)	26	37	23	28,7 $\pm$ 7,4

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan rerata abnormalitas sel makrofag peritoneum antara kontrol dengan perlakuan ekstrak. Perlakuan kontrol memiliki rerata abnormalitas sel sebesar 29,7 $\pm$ 9,0%, sedangkan kontrol yang diinduksi LPS (K+LPS) menunjukkan abnormalitas tertinggi yaitu 67,7 $\pm$ 7,5%.

Sementara itu, seluruh kelompok yang diberikan ekstrak daun pecut kuda yaitu pada P1, P2, dan P3 menunjukkan penurunan abnormalitas sel dibandingkan K+LPS. Penurunan abnormalitas sel semakin terlihat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, dengan kelompok P3 (150 µg/ml) menunjukkan rerata abnormalitas terendah.

Data kemudian diuji secara statistik untuk mengetahui signifikansi antar perlakuan. Data persentase abnormalitas morfologi sel makrofag peritoneum terlebih dahulu diuji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Levene. Hasil uji yang dilakukan menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen (lampiran 3). Selanjutnya data tersebut diuji *One Way*-ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak daun pecut kuda terhadap morfologi sel makrofag peritoneum. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan nilai $F = 16,8092$ dengan $p = 0,0002$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan nyata persentase abnormalitas morfologi sel makrofag antar kelompok perlakuan. Oleh karena nilai koefisien keragaman (KK) sebesar 16,84% melebihi 10%, maka uji lanjut yang digunakan adalah Uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok secara lebih spesifik.

Tabel 4. 3 Hasil uji Duncan Pengaruh ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Abnormalitas sel makrofag peritoneum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi LPS

Perlakuan	Rerata (%) $\pm$ SD	Notasi
P3 (150 µg/ml)	28,7 $\pm$ 7,4	a
K	29,7 $\pm$ 9,0	a
P2 (100 µg/ml)	35,3 $\pm$ 7,1	a
P1 (50 µg/ml)	54,7 $\pm$ 4,7	b
K+LPS	67,7 $\pm$ 7,5	b

Keterangan: notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($\alpha = 0,05$)

Berdasarkan hasil uji Duncan pada Tabel 4.3, kontrol normal (K) memiliki notasi yang sama dengan P2 (100 µg/ml) dan P3 (150 µg/ml). Hal tersebut menunjukkan bahwa kedua konsentrasi tersebut mampu menurunkan persentase abnormalitas morfologi sel sehingga tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Sebaliknya, perlakuan K+LPS memiliki notasi b yang berbeda nyata dengan K, P2, dan P3, yang mengindikasikan bahwa induksi LPS meningkatkan abnormalitas morfologi sel makrofag secara signifikan. P1 (50 µg/ml) juga memiliki notasi b yang sama dengan K+LPS. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak terendah belum mampu memberikan efek perlindungan yang signifikan terhadap kerusakan morfologi sel akibat induksi LPS.

Persentase abnormalitas yang tinggi pada perlakuan kontrol yang diinduksi LPS (K+LPS) disebabkan oleh aktivasi respon inflamasi akibat paparan LPS. LPS akan berikatan dengan reseptor *Toll-like receptor 4* (TLR4) pada permukaan makrofag dan mengaktifasi enzim NADPH oksidase sehingga meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan atau *oxidative burst*. Akumulasi ROS yang berlebihan menyebabkan stres oksidatif yang memicu peroksidasi lipid membran sel, kerusakan protein, dan gangguan struktur organel sel (Sawoo & Bishayi, 2025).

Pemberian ekstrak daun pecut kuda pada sel makrofag yang diinduksi LPS mampu memperbaiki kondisi morfologi sel, yang ditunjukkan menurunnya persentase abnormalitas morfologi dibandingkan kelompok K+LPS. Penurunan abnormalitas tersebut semakin besar seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, sehingga menunjukkan bahwa efek protektif ekstrak bersifat bergantung pada konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin besar

kemampuan ekstrak dalam melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif. Hasil ini sejalan dengan penelitian Peng dkk. (2023) yang melaporkan bahwa flavonoid mampu menurunkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan mempertahankan morfologi sel makrofag yang diinduksi LPS berdasarkan dosis.

Kemampuan ekstrak daun pecut kuda dalam memperbaiki dan melindungi morfologi sel makrofag berasal dari kandungan senyawa bioaktifnya, seperti flavonoid dan fenol yang memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan bekerja dengan menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan komponen sel. Dengan berkurangnya akumulasi ROS, integritas membran sel dan struktur organel dapat dipertahankan sehingga perubahan morfologi sel dapat dikurangi.

Flavonoid merupakan salah satu komponen utama yang berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil dan tidak lagi merusak komponen sel. Mekanisme tersebut mampu menghambat peroksidasi lipid pada membran sel yang merupakan salah satu penyebab utama kerusakan morfologi sel (Liu & Jiao, 2025). Selain itu, flavonoid juga diketahui dapat menekan produksi mediator proinflamasi dan mengurangi akumulasi ROS intraseluler (Cao dkk., 2024). Selain flavonoid, senyawa fenolik seperti tanin juga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak. Tanin bekerja melalui mekanisme penangkapan radikal bebas serta pengkelatan ion logam yang berperan dalam pembentukan ROS, sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi yang merusak sel. Liu dkk. (2025) melaporkan bahwa senyawa polifenol yang diekstraksi dari biji *Torreya grandis*

mampu melindungi sel makrofag RAW264.7 dari kerusakan oksidatif dan apoptosis melalui penghambatan stres oksidatif dan respon inflamasi.

Efek protektif ekstrak daun pecut kuda terhadap sel makrofag yang diinduksi LPS menunjukkan adanya potensi penyembuhan melalui senyawa alami yang diciptakan oleh Allah SWT. Obat dan berbagai senyawa alami yang ada di alam hanyalah sebagai perantara yang Allah ciptakan. Kemampuan senyawa bioaktif dalam membantu proses pemulihan kerusakan sel tidak sepenuhnya dapat dikendalikan oleh manusia. Manusia hanya dapat berusaha melalui pengobatan, sedangkan hasil akhir dari proses penyembuhan tetap berada dalam kuasa Allah. Dengan demikian, Hal ini selaras dengan firman Allah SWT dalam surah Asy-Syu'ara ayat 80 sebagai berikut:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya: “Apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku.” (Q.S. Asy-Syu'ara: 80).

Menurut Imam Al-Qurthubi dalam kitab *Tafsir Al-Qurthubi* yang diteliti oleh Utsman (2014) kata مَرِضْتُ “aku sakit” menunjukkan adab dan kesopanan bahasa sehingga penyakit tidak secara langsung disandarkan kepada Allah. Namun, hal ini bukan berarti bahwa Allah tidak berkuasa atas penyakit, karena pada hakikatnya baik sakit maupun kesembuhan tetap datangnya dari Allah. Menurut Az-Zuhaili (2005) dalam tafsir Al-Munir yang diterjemahkan oleh Kattani dkk. (2013) ayat tersebut menjelaskan bahwa Nabi Ibrahim a.s. menyandarkan sakit kepada dirinya sendiri dan tidak menyebut Allah sebagai pemberi penyakit sebagai bentuk etika kepada Allah meskipun pada hakikatnya sakit dan kesembuhan sama-sama berasal dari Allah Maha perkasa dan Maha bijaksana. Keduanya terjadi atas kuasa dan ketetapan-Nya.

Shihab (2015) dalam *Tafsir Al-Misbah* kata *وَإِذَا مَرَضْتُ* memiliki makna bahwa sakit baik fisik maupun atau mental merupakan suatu kemungkinan yang dapat dialami manusia, namun kesembuhan tetap berasal dari Allah. Nabi Ibrahim as. menggunakan ungkapan “apabila aku sakit” dengan mengaitkan kata sakit kepada dirinya sendiri, bukan kepada Allah. Sebaliknya, kata "menyembuhkan" secara langsung disandarkan kepada Allah karena merupakan bentuk nikmat dan karunia-Nya. Meskipun kesembuhan berasal dari Allah, manusia tetap dianjurkan untuk berikhtiar memperoleh kesembuhan, seperti menjalani pengobatan dan mengikuti anjuran dokter. Penyembuhan yang ditegaskan oleh Nabi Ibrahim a.s. bukan berarti meniadakan usaha manusia untuk meraih kesembuhan. Hal ini juga ditegaskan dalam hadis Nabi Muhammad SAW. yang memerintahkan untuk berobat. Hadis anjuran berobat dari baginda Nabi Muhammad SAW. adalah sebagai berikut:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

Artinya: “*Sejatinya semua penyakit ada obatnya. Maka apabila sesuai antara penyakit dan obatnya, maka akan sembuh dengan izin Allah*” (H.R. Muslim, Nomor 2204).

Imam An-Nawawi (2013) dalam kitab *Al-Minhaj Syarh Shahih Muslim* menjelaskan bahwa di dalam hadits ini terdapat penjelasan yang lugas, karena telah diketahui bahwa para dokter mengatakan bahwa sakit adalah ketika kondisi tubuh tidak normal. Pengobatan adalah mengembalikan tubuh pada kondisi normal, sedangkan menjaga kesehatan adalah menjaga tubuh agar tetap dalam kondisi normal. Menjaga kesehatan adalah dengan memperbaiki makanan-makanan yang bergizi dan lain sebagainya. Mengembalikan kondisi tubuh yang normal adalah dengan obat-obatan yang sesuai dan dapat melawan penyakit. Namun nabi

mengisyaratkan di akhir sabdanya bahwa kesembuhan terjadi dengan izin Allah *azza awa Jalla*.

Menurut Al-Bassam (2006) dalam *Syarah Bulughul Maram* menjelaskan bahwa beberapa hadis yang berkaitan dengan pengobatan mengandung konsep sebab akibat dan serta menolak pandangan orang yang mengingkari konsep tersebut. Perintah untuk berobat yang dijelaskan dalam hadist tidak bertentangan dengan sikap tawakal. Ibnu Qayyim Al-Jauziyah dalam *Mukhtashar Zadul-Ma'ad* yang diterjemahkan oleh Suhardi (2000) menjelaskan bahwa hadis ini menyebutkan perintah untuk berobat dan hal ini tidak bertentangan dengan tawakal. Manusia tetap dianjurkan memanfaatkan sebab-sebab yang telah Allah ciptakan, seperti obat untuk penyembuhan, sedangkan hasil akhirnya tetap berada dalam kuasa Allah SWT.

4.2 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum

Viabilitas sel merupakan jumlah sel yang masih hidup dalam suatu sampel dan mencerminkan kemampuan sel mempertahankan fungsi metaboliknya setelah diberikan perlakuan tertentu (Komiloglu *et.al.*, 2020). Pengukuran viabilitas sel digunakan untuk mengevaluasi respons sel terhadap paparan senyawa atau agen uji yang diberikan (Khalef *et.al.*, 2021). Hasil pengamatan viabilitas sel pada penelitian ini dinyatakan dalam bentuk persentase pada setiap kelompok perlakuan seperti yang tertera pada tabel 4.4 sebagai berikut:

Tabel 4. 4 Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Rerata Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi LPS

Perlakuan	Viabilitas Sel Makrofag (%) pada Ulangan			Rerata $\pm$ SD
	I	II	III	
K	63	57	55	58,3 $\pm$ 4,2
K+LPS	33	17	20	23,3 $\pm$ 8,5
P1 (50 μ g/ml)	35	39	45	39,7 $\pm$ 5,0
P2 (100 μ g/ml)	58	71	61	63,3 $\pm$ 6,8
P3 (150 μ g/ml)	49	68	57	58,0 $\pm$ 9,5

Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas sel makrofag memiliki perbedaan rerata antara kontrol dengan perlakuan ekstrak daun pecut kuda. Perlakuan kontrol menunjukkan rerata viabilitas sel makrofag sebesar $58.3 \pm 4.2\%$, sedangkan perlakuan K+LPS memiliki viabilitas terendah yaitu $23.3 \pm 8.5\%$. Penurunan tersebut menunjukkan bahwa induksi LPS dapat menyebabkan kerusakan sel makrofag sehingga menurunkan viabilitas sel. Dibandingkan dengan kelompok K+LPS, seluruh kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun pecut kuda menunjukkan peningkatan viabilitas sel.

Viabilitas tertinggi pada konsentrasi 100 μ g/ml (P2) menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut merupakan dosis optimal dalam memberikan efek protektif terhadap sel sehingga dapat mempertahankan viabilitas sel makrofag. Namun, pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, yaitu 150 μ g/ml (P3) terjadi penurunan viabilitas sel makrofag. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut telah melampaui dosisi optimal sehingga manfaat yang diberikan oleh senyawa dalam ekstrak tidak lagi meningkat. Hal ini selaras dengan penelitian Jang *et al.* (2025) yang melaporkan bahwa ekstrak *Andrographis paniculata* pada konsentrasi 100 μ g/ml mampu mengurangi kematian sel RAW264.7 yang diinduksi LPS, sedangkan

pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 200 µg/ml tidak menunjukkan adanya peningkatan viabilitas sel.

Data kemudian diuji secara statistik untuk mengetahui signifikansi antar perlakuan. Sebelum dilakukan analisis parametrik, data terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas menggunakan uji Levene untuk mengetahui distribusi dan keseragaman data. Hasil uji yang dilakukan menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen (lampiran 3). Selanjutnya data tersebut diuji *One Way*-ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak daun pecut kuda terhadap viabilitas sel makrofag peritoneum.

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan (lampiran 3), sehingga terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak daun pecut kuda berpengaruh nyata terhadap viabilitas sel makrofag peritoneum yang diinduksi LPS. Selanjutnya, data diuji lanjut untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari masing-masing perlakuan. Jenis uji lanjut yang digunakan tergantung pada besar nilai KK (koefisien keragaman). Uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan karena hasil perhitungan nilai KK yang diperoleh sebesar 14.63% (lampiran 3). Hasil uji Duncan pengaruh ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap viabilitas sel makrofag peritoneum pada $\alpha = 0,05$ (5%) disajikan pada tabel 4.5 sebagai berikut:

Tabel 4. 5 Hasil uji Duncan Pengaruh ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap viabilitas sel makrofag peritoneum mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi LPS

Perlakuan	Rerata (%) $\pm$ SD	Notasi
K + LPS	23.3 $\pm$ 8.5	a
P1 (50 μ g/ml)	39.7 $\pm$ 5.0	b
P3 (150 μ g/ml)	58.0 $\pm$ 9.5	c
K	58.3 $\pm$ 4.2	c
P2 (100 μ g/ml)	63.3 $\pm$ 6.8	c

Keterangan: notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan

Berdasarkan hasil uji Duncan (tabel 4.5), diketahui bahwa perlakuan K+LPS memiliki notasi a sehingga berbeda nyata pengaruhnya dengan seluruh kelompok perlakuan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa induksi LPS menyebabkan penurunan viabilitas sel makrofag secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol maupun yang diberi perlakuan ekstrak. Perlakuan kontrol memiliki notasi c yang sama dengan P2 dan P3, sehingga tidak berbeda nyata pengaruhnya dengan kelompok tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pecut kuda dosis 100 μ g/ml dan 150 μ g/ml mampu mempertahankan viabilitas sel makrofag sehingga tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Namun, perlakuan kontrol berbeda nyata dengan P1 yang memiliki notasi b. Perbandingan antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa P1 berbeda nyata dengan P2 dan P3 karena memiliki notasi huruf yang berbeda. Sementara itu, P2 dan P3 tidak menunjukkan perbedaan nyata karena sama-sama memiliki notasi c.

Penurunan viabilitas sel pada kelompok induksi LPS berkaitan dengan sifat LPS sebagai endotoksin kuat dari bakteri gram negatif yang mampu memicu respon inflamasi dan stres oksidatif pada sel. LPS akan dikenali oleh reseptor CD14/TLR4 pada permukaan makrofag dan mengaktifasi jalur proinflamasi sehingga meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β (Zhao *et al.*,

2024). Selain itu, induksi LPS juga meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel gangguan metabolisme sel, hingga kematian sel. Li *et al.* (2023) melaporkan bahwa pemberian LPS pada sel RAW264.7 dapat meningkatkan kadar ROS dan MDA serta menurunkan aktivitas enzim antioksidan SOD. Kondisi stres oksidatif yang berlangsung terus-menerus dapat memicu kerusakan membran mitokondria dan pelepasan sitokrom c ke sitoplasma yang berakhir pada kematian sel (Srimuang *et al.*, 2025).

Kerusakan sel akibat akumulasi ROS tersebut dapat diminimalisir melalui pemberian senyawa antioksidan eksogen, salah satunya berasal dari ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) yang terbukti memperbaiki morfologi sekaligus mempertahankan viabilitas sel pada kelompok perlakuan. Kemampuan tersebut berasal dari kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak, seperti flavonoid, fenol, dan saponin, yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan kuat (Utomo *et al.*, 2021).

Mekanisme senyawa antioksidan dalam ekstrak daun pecut kuda bekerja melalui dua jalur utama. Pertama, secara langsung sebagai *radical scavenger*, flavonoid mendonorkan atom hidrogen dari gugus hidroksil pada cincin B kepada radikal bebas sehingga membentuk radikal fenoksil yang lebih stabil (Liu & Jiao, 2025; Cao dkk., 2024). Kedua, secara tidak langsung, senyawa antioksidan seperti flavonoid mengaktifasi jalur *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2), yang meningkatkan ekspresi enzim antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), dan *glutathione peroxidase* (GPx), serta menekan jalur NF- κ B sehingga produksi mediator inflamasi seperti NO, IL-6, dan

TNF- α turut menurun (Khan *et al.*, 2022; Suriyaprom *et al.*, 2023). Melalui kombinasi kedua mekanisme ini, ekstrak daun pecut kuda mampu menekan akumulasi ROS akibat induksi LPS, sehingga kerusakan struktur sel dapat dikurangi dan kelangsungan hidup sel tetap terjaga. Kondisi ini ditunjukkan oleh perbaikan morfologi sel yang disertai dengan peningkatan viabilitas sel.

Pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap kedua parameter menunjukkan adanya respons yang bergantung pada dosis. Pada parameter morfologi, kelompok P2 (100 $\mu\text{g/ml}$) dan P3 (150 $\mu\text{g/ml}$) tidak berbeda nyata, yang menunjukkan bahwa konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ telah efektif dalam menekan kerusakan morfologi sel. Sementara itu, pada parameter viabilitas terjadi sedikit penurunan pada P3 dibandingkan P2, meskipun secara statistik keduanya tidak berbeda nyata. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ merupakan dosis yang optimal dalam memberikan efek sitoprotektif pada sel makrofag.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan viabilitas sel sejalan dengan perubahan morfologi sel pada seluruh kelompok perlakuan. Kelompok dengan persentase abnormalitas morfologi yang rendah cenderung memiliki viabilitas yang lebih tinggi, sedangkan peningkatan abnormalitas morfologi diikuti oleh penurunan viabilitas sel. Hasil ini sejalan dengan penelitian Ganuza dkk. (2026) yang melaporkan bahwa salah satu senyawa isoflavon yaitu genistein, mampu memperbaiki morfologi sekaligus mempertahankan viabilitas sel makrofag yang diinduksi LPS melalui penghambatan stres oksidatif.

Kelompok kontrol tanpa perlakuan menunjukkan viabilitas sel sebesar 58.3%. Nilai ini masih belum memenuhi standar viabilitas sel yang layak untuk kultur sel *in vitro*. Menurut Gruber & Nickel (2023), presentase viabilitas sel

kontrol yang memenuhi syarat harus menunjukkan angka lebih dari 70% dalam kultur sel *in vitro*. Rendahnya viabilitas tersebut diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti teknik lavage pada proses isolasi sel makrofag peritoneum, sterilitas, waktu pemrosesan, dan suhu selama isolasi. Keterlambatan pemrosesan atau kondisi yang kurang optimal dapat menurunkan viabilitas sel sebelum kultur dimulai. Selain itu, sel makrofag primer memiliki kemampuan hidup yang terbatas dalam kondisi *in vitro* sehingga sangat dipengaruhi oleh kualitas media, serum, dan kondisi inkubasi (Dalzon *et al.*, 2021).

Faktor lain yang menjadi penyebab rendahnya viabilitas kultur sel adalah luas permukaan TC dish yang digunakan. Pada penelitian ini, sel makrofag ditanam sebanyak $2,5 \times 10^5$ sel dalam TC dish berdiameter 35 mm, yang memiliki luas permukaan efektif sebesar $\pm 8,8 \text{ cm}^2$. Dengan demikian kepadatan sel yang dihasilkan hanya sekitar $2,84 \times 10^4 \text{ sel/cm}^2$. Menurut Lu dan Varley (2013) untuk mengkultur sel makrofag dengan optimal, digunakan 12-well plate dengan kepadatan 2 juta sel/well dalam 1 ml media RPMI. Ruder *et al.* (2023) menyatakan bahwa kondisi kepadatan sel yang terlalu rendah (*undercrowding*) dapat menyebabkan berkurangnya sinyal parakrin antarsel yang dibutuhkan sel makrofag untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya secara *in vitro*. Sel makrofag yang ditanam pada kepadatan yang terlalu rendah menunjukkan respons yang kurang optimal terhadap aktivasi reseptor *toll-like* (TLR), yang kemungkinan disebabkan oleh kondisi *quiescence* atau viabilitas sel yang terganggu akibat minimnya interaksi antarsel.

Meskipun demikian, data penelitian ini tetap dapat dibandingkan antar kelompok perlakuan karena seluruh kelompok berada pada kondisi kultur yang

sama. Keseragaman kondisi kultur sel diketahui dapat mengurangi variasi selama proses penelitian, sehingga hasil antar kelompok perlakuan tetap dapat diinterpretasikan dan dibandingkan dengan baik (Riss *et al.*, 2021). Selain itu, keseragaman kondisi kultur seperti media, oksigen, dan lingkungan pertumbuhan sangat memengaruhi interpretasi hasil penelitian kultur sel dan validitas perbandingan antar kelompok perlakuan (Abbas dkk., 2021).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan hasil penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) berpengaruh terhadap morfologi dan viabilitas kultur sel makrofag peritoneum yang diinduksi LPS. Persentase abnormalitas terendah pada perlakuan P3 (150 µg/ml) sebesar $28,7 \pm 7,4\%$, sedangkan persentase viabilitas tertinggi pada perlakuan P2 (100 µg/ml) sebesar $63,3 \pm 6,8\%$.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukam optimasi terhadap luas permukaan kultur dan jumlah sel yang dikultur agar diperoleh kondisi kultur sel yang lebih optimal.
2. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan rentang konsentrasi yang lebih luas antara 100–150 µg/mL, untuk menentukan konsentrasi ekstrak optimal dalam mempertahankan struktur morfologi dan viabilitas sel makrofag.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, M., Moradi, F., Hu, W., *et al.* (2021). *Vertebrate cell culture as an experimental approach – limitations and solutions*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 254, 110570. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110570>
- Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., & Hadi, M. I. (2018). Identifikasi senyawa aktif dari ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dengan perbandingan beberapa pelarut pada metode maserasi. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 2(2), 108-118.
- Al-Bassam, Abdullah bin Abdurrahman. (2006). *Syarah Bulughul Maram*. Pustaka Azzam.
- Al-Jauziyyah, I. Q. (2000). *Mukhtashar Zadul ma'ad: Bekal perjalanan ke akhirat* Diterjemahkan oleh Kathur Suhardi. Pustaka Azzam.
- Al-Qurthubi, Imam. (2014). *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 13*. Diterjemahkan oleh Mahmud Hamid Utsman. Pustaka Azzam.
- Alfadda, A. A. & Sallam, R. M. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol*, <https://doi.org/10.1155/2012/936486>
- An-Nawawi, Imam. (2013). *Al-Minhaj Syarh Shahih Muslim*. Darus Sunnah.
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(1), 39-48.
- Arifin, B. & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6 (1), 21-29.
- Ash-Shiddieqy, Muhammad Hasbi. (2000). *Tafsir Al-Qur'anul majid An-Nur*. Cetakan Kedua. Edisi Kedua. Pustaka Rizki Putra.
- Astuti, E. (2016). Kadar Total Flavonoid Pada Berbagai Organ Tanaman Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis* (L). Akademi Farmasi Theresiana, Semarang.
- Asy-Syaukani, Al-Imam Muhammad bin Ali bin Muhammad. (2013). *Tafsir Fathul Qadir. Translated by Sayyid Ibrahim*. Pustaka Azzam.
- Asy-Syaukani, Muhammad bin Ali bin Muhammad Asy-Syaukani. (1993). *Fathul Qadir*. Beirut, Lebanon: Darul Fikr.
- Az-Zuhaili, Wahbah. (2005). *At-Tafsiirul Munir: Fii 'Aqidah wasy-Syarri'ah wal Manhaj*. Damaskus: Darul Fikr.
- Az-Zuhaili, Wahbah. (2013). *At-Tafsiirul Munir: Fii 'Aqidah wasy-Syarri'ah wal Manhaj*, terj. Abdul Hayyie al-Kattani, dkk. Gema Insani.
- Bahi, M., Jacob, C., & Khairan, K. (2016). Efek Sitotoksik Haarlem Oil Terhadap HL-60 Cell Line Dan *Steinernema Feltiae* (Cytotoxic Effect of Haarlem Oil on HL-60 Cell Line and *Steinernema feltiae*). *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 10(2), 110-114.
- Besung, I. N., Astawa, N. M., Suata, K., Suwiti, N. K., (2016). Hubungan antara aktivasi makrofag dengan kadarinterleukin-6 dan antibodi terhadap salmonella typhipada mencit (Relationship between the macrophageactivity with interleukin-6 levels and titers of antibodiesagainst Salmonella typhi. *Jurnal Kedokteran Hewan*.2016. 10(1): 1-4.
- Bhutto, A. A Ş. Kalay, S. T. H. Sherazi, and M. Culha. (2018). Quantitative structure activity relationship between antioxidant capacity of phenolic

- compounds and the plasmonic properties of silver nanoparticles. *Talanta*, vol. 189, pp. 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.06.080>
- Bierwagen, J., Wiegand, M., Laakmann, K., Danov, O., Limburg, H., Herbel, S. M., ... & Jung, A. L. (2023). Bacterial vesicles block viral replication in macrophages via TLR4-TRIF-axis. *Cell Communication and Signaling*, 21(1), 65.
- Cao, Y., Tan, Y. J., & Huang, D. (2024). Molecular Mechanism of 5,6-Dihydroxyflavone in Suppressing LPS-Induced Inflammation and Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10694. <https://doi.org/10.3390/ijms251910694>
- Cassado, A., Lima, M. & Bortoluci, K. (2015). Revisiting mouse peritoneal macrophages: heterogeneity, development, and function. *Frontiers in Immunology*, 6,225. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00225>
- Chen, H., Xiao, H., & Pang, J. (2020). Parameter Optimization and Potential Bioactivity Evaluation of a Betulin Extract from White Birch Bark. *Plants*, 9(3), 392. <https://doi.org/10.3390/plants9030392>
- Chen, Y., Li, X., Yang, M., & Liu, S. B. (2024). Research progress on morphology and mechanism of programmed cell death. *Cell death & disease*, 15(5), 327. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06712-8>
- Cosme, Fernanda, Alfredo Aires, Teresa Pinto, Ivo Oliveira, Alice Vilela, and Berta Gonçalves. (2025). A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: functional properties, health benefits, and sensory qualities. *Molecules* 30, no. 4. doi: [10.3390/molecules30040800](https://doi.org/10.3390/molecules30040800)
- Dalzon, B., Torres, A., Devcic, J., Fenel, D., Sergent, J. A., & Rabilloud, T. (2021). A low-serum culture system for prolonged in vitro toxicology experiments on a macrophage system. *Frontiers in Toxicology*, 3, 780778. <https://doi.org/10.3389/ftox.2021.780778>
- Digyo, O. D. K. (2024). Aktivitas Imunomodulator Infusa Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*) pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Veteriner dan Biomedis*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.29244/jvetbiomed.2.1.1-8>
- Diniz TC, Silva JC, Lima-Saraiva SRG, Ribeiro PRA. (2015). The Role of Flavonoids on Oxidative Stress in Epilepsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1(1), 1-9. <https://doi.org/10.1155/2015/171756>
- Dong Z, Yuan Y. (2018). Accelerated inflammation and oxidative stress induced by LPS in acute lung injury: Inhibition by ST1926. *Int J Mol Med*, 41(6):3405-3421. doi: [10.3892/ijmm.2018.3574](https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3574).
- Duque, C., Vizoto, N. L., Nunes, G. P., Peres, G. R., Feiria, S. N. B., Hofling, J. F., & Regasini, L. O. (2025). Metabolic regulation and oxidative stress attenuation in LPS-stimulated macrophages by flavonoids. *Odontology*, 113(4), 1594-1602. <https://doi.org/10.1007/s10266-025-01085-6>
- Garcia-Vello, P., Di Lorenzo, F., Zucchetta, D., Zamyatina, A., De Castro, C., & Molinaro, A. (2022). Lipopolysaccharide lipid A: A promising molecule for new immunity-based therapies and antibiotics. *Pharmacology & therapeutics*, 230, 107970.
- Gruber, S., & Nickel, A. (2023). Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity assessment of an identical medical device. *Frontiers in*

- medical technology*, 5, 1195529.
<https://doi.org/10.3389/fmedt.2023.1195529>
- Elmitra, E., Jasmansyah, J., & Isnaini, I. (2022). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum Wight*) menggunakan metode DPPH. *Jurnal Farmasi Higea*, 14(1), 52–61.
- Erniati, E., & Ezraneti, R. (2020). Aktivitas imunomodulator ekstrak rumput laut. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 79-86.
<https://doi.org/10.29103/aa.v7i2.2463>
- Fadlilah, A. R., & Lestari, K. (2023). Peran Antioksidan dalam Imunitas Tubuh. *Farmaka*, 21(2). <https://doi.org/10.24198/farmaka.v21i2.45929>
- Fakhruzy, F. (2020). Optimalisasi Metode Maserasi Untuk Ekstraksi Tanin Rendemen Tinggi. *Menara Ilmu: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah*, 14(2). <https://doi.org/10.31869/mi.v14i2.1739>
- Fan, S., Yang, G., Zhang, J., Li, J., & Bai, B. (2020). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Using Response Surface Methodology for Simultaneous Quantitation of Six Flavonoids in Flos Sophorae Immaturus and Antioxidant Activity. *Molecules*, 25(8), 1767.
<https://doi.org/10.3390/molecules25081767>
- Fardian, N., Johan, A., & RMD, R. K. (2015). Pengaruh pemberian seng terhadap indeks fagositosis makrofag dan kadar nitric oxide mencit balb/c yang terpapar lipopolisakarida e. coli. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 3(2), 68-72. <https://doi.org/10.14710/jgi.3.2.68-72>
- Fatmawati, S., Auwaliah, F., Yuliana, Hasanah, N., Putri, D. A., Kainama, H., & Choudhary, M. I. (2023). Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of compound isolated from *Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl. leaves. *Scientific Reports*, 13(1), 18597. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45357-z>
- Fux, A. C., Casonato Melo, C., Michelini, S., Swartzwelter, B. J., Neusch, A., Italiani, P., & Himly, M. (2023). Heterogeneity of lipopolysaccharide as source of variability in bioassays and LPS-binding proteins as remedy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 8395. doi: [10.3390/ijms24098395](https://doi.org/10.3390/ijms24098395)
- Ganuza, C. R., López, S., & Mendoza, G. (2026). Exploring the anti-inflammatory effects of genistein in an in vitro lipopolysaccharide-induced macrophage model. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-026-42357-7>
- Gorman, A., & Golovanov, A. P. (2022). Lipopolysaccharide structure and the phenomenon of low endotoxin recovery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 180, 289-307.
- Gusnirwan, A., & Sangging, P. R. A. (2024). Tinjauan: Malondialdehyde (MDA) sebagai Marker Stres Oksidatif Berbagai Penyakit. *Medical Profession Journal of Lampung*, 14(2), 321-325.
<https://doi.org/10.53089/medula.v14i2.990>
- Hersila, N., MP, M. C., Si, V. M., & Si, I. M. (2023). Senyawa Metabolit Sekunder (Tanin) pada Tanaman sebagai Antifungi. *Jurnal Embrio*, 15(1), 16-22.
<https://doi.org/10.31317/embrio.v15i1.882>
- Islamiyati, R., & Pujiastuti, E. (2020). Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak

- Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 169-174. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.110>
- Jabbar A, Wahyuni, Malaka MH, Apriliani. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah, Daun, Batang, dan Rimpang Pada Tanaman Wualae (*Etlintera elatior* (Jack) R.M Smith). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 189-197.
- Jang, Y. A., Hwang, U. K., & Kwon, Y. J. (2025). Anti-inflammatory effects of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. Ex Nees leaf in LPS-Induced RAW264. 7 macrophages. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 25(1), 430. <https://doi.org/10.1186/s12906-025-05143-y>
- Jumawardi, R., Ananto, A. D., & Deccati, R. F. (2021). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) menggunakan metode ekstraksi berbasis gelombang ultrasonic. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(2), 80-86. <https://doi.org/10.29303/sjp.v2i2.85>
- Kalaâ, T. R., Simbala, H. E. I., & Mansauda, K. L. R. (2020). Skrining fitokimia dan potensi antioksidan dari ekstrak daun tumbuhan ekor tikus (*Stachytarpheta jamaicensis* L) dengan metode 1.1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Mipa*, 9(2), 91-96. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.29000>
- Kalsum, N., Sulaeman, A., Setiawan, B., & Wibawan, I. W. T. (2017). Efek propolis cair trigona spp. terhadap respons imun tikus sprague dawley yang diinfeksi staphylococcus aureus. *Jurnal Gizi Dan Pangan*, 12(1), 23-30. <https://doi.org/10.25182/jgp.2017.12.1.23-30>
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., & Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. *Food frontiers*, 1(3), 332-349. <https://doi.org/10.1002/fft2.44> Digital Object Identifier (DOI)
- Karimaa, A. (2018). Uji in Vitro Senyawa Antikanker SA 2014 terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag (*Mus musculus*). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2), 27-33.
- Khairani, I. A., Lestari, W. D., Riana, E. N., Mulyana, J. S., Anisa, H. A. N., Fatriani, R., & Andriani, S. (2025). Antioxidant Activity and Immunomodulatory Effect of *Stachytarpheta* sp. Leaf Extract on Phagocytic Activity of Mice Peritoneal Macrophages in Alloxan Induction. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 17(2), 158-168. <https://doi.org/10.25134/quagga.v17i2.404>
- Khalef L, Lydia R, Filicia K, Moussa B. Cell viability and cytotoxicity assays: Biochemical elements and cellular compartments. *Cell Biochem Funct*. 2024;42:e4007. <https://doi.org/10.1002/cbf.4007> Digital Object Identifier (DOI)
- Khan, M. I., Karima, G., Khan, M. Z., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2022). Therapeutic effects of saponins for the prevention and treatment of cancer by ameliorating inflammation and angiogenesis and inducing antioxidant and apoptotic effects in human cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), doi: [10.3390/ijms231810665](https://doi.org/10.3390/ijms231810665)
- Ladeska, V., Saudah, S., & Inggrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264, 7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 12 (2). DOI: 10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022

- Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an Badan Litbang & Diklat Kemenag RI dengan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. (2015). *Tumbuhan Dalam Perspektif Al-Qur'an Dan Sains*. Widya Cahaya.
- Li, Q., Wu, L., Cheng, B., Tao, S., Wang, W., Luo, Z., & Fan, J. (2023). Penfluroidol Attenuates the Imbalance of the Inflammatory Response by Repressing the Activation of the NLRP3 Inflammasome and Reduces Oxidative Stress via the Nrf2/HO-1 Signaling Pathway in LPS-Induced Macrophages. *Mediators of Inflammation*, 2023(1), 9940858. <https://doi.org/10.1155/2023/9940858>
- Liew, P. M., & Yong, Y. K. (2016). *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl: from traditional usage to pharmacological evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016 (1), 7842340. <https://doi.org/10.1155/2016/7842340>
- Linehan E, Fitzgerald DC. (2015). Ageing and the immune system: focus on macrophages. *Eur J Microbiol Immunol*, 5(1):14–24. <https://doi.org/10.1556/eujmi-d-14-00035>
- Liu, R., Zhou, B., Che, K., Gao, W., Luo, H., Yang, J., Chen, Z., & Hu, W. (2025). *Torreya grandis* Seed Polyphenols Protect RAW264.7 Macrophages by Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation. *Food Science & Nutrition*. <https://doi.org/10.1002/fsn3.70682>
- Liu, Y., & Jiao, A. (2025). Flavonoids as Immunoregulators: Molecular Mechanisms in Regulating Immune Cells and Their Therapeutic Applications in Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology*, 16, 1703672. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1703672>
- Lu, M. and Varley, A. W. (2013). Harvest and Culture of Mouse Peritoneal Macrophages. *Bio-protocol* 3(22): e976. DOI: [10.21769/BioProtoc.976](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.976).
- Mani, S., Singh, M., & Kumar, A. (2023). *Animal Cell Culture: Principles and Practice*. Springer.
- Mendonca P, Karam FA, Soliman. (2020). Flavonoids Activation of the Transcription Factor Nrf2 as a Hypothesis Approach for the Prevention and Modulation of SARS-CoV-2 Infection Severity. *Antioxidants*, 9(659), 2-28. <https://doi.org/10.3390/antiox9080659>
- Suriyaprom, S., Srisai, P., Intachaisri, V., Kaewkod, T., Pekkoh, J., Desvaux, M., & Tragoolpua, Y. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory activity on LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells of white mulberry (*Morus alba* L.) leaf extracts. *Molecules*, 28(11), 4395. <https://doi.org/10.3390/molecules28114395>
- Mudjiran, M., & Karneli, Y. (2024). Analisis Aktivitas Antioksidan dalam Menghambat Radikal Bebas. *Jurnal Kolaborasi Sains dan Ilmu Terapan*, 2(2), 55-59. <https://doi.org/10.69688/juksit.v2i2.33>
- Mulianto, N. (2020). Malondialdehid sebagai penanda stres oksidatif pada berbagai penyakit kulit. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(1), 39-44. <https://doi.org/10.55175/cdk.v47i1.13>
- Mun'm, A. & Ahmad, I. (2023). *Aplikasi Teknik Ekstraksi Hijau pada pengembangan Obat Herbal*. Penerbit Deepublish Digital.
- Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdt, S., ... & Wynn, T. A. (2014). Macrophage activation and polarization:

- nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 41(1), 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>
- Ningsih, A. W., Nurrosyidah, I. H., & Hisbiyah, A. Y. (2020). Pengaruh perbedaan metode ekstraksi rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap rendemen dan skrining fitokimia. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-Pham)*, 2(2), 96-104. <http://dx.doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.27>
- Ningsih, I. S., & Advinda, L. (2023). Senyawa aktif flavonoid yang terdapat pada tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 257-263.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2018). Penetapan kadar senyawa fitokimia (tanin, saponin dan flavonoid) sebagai kuersetin pada ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19-29.
- Novilla, A., Khairinisa, G., Rihibiha, D., Syahrian, H., & Shabri, S. (2023). Sitotoksitas ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dari gambung, jawa barat terhadap sel makrofag raw 264.7. *Metamorfosa Journal of Biological Sciences*, 10(1), 23. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2023.v10.i01.p03>
- Nurhapsari, A., & Kusuma, A. R. P. (2022). Levels of malondialdehyde and calcitonin gene-related peptide in pulp inflammation due to LPS induction duration. *Odonto: Dental Journal*, 9(1), 148-152.
- Nurhayati, A. P. D., Santoso, M., Setiawan, E., Cintyasari, A., Abdillah, S., Lianingsih, F., & Ghaissani, S. S. (2021). In vitro Test of Deazaelliptisina 1 Compound on Phagocytotic activity of Macrophage Cell. *Sustain. Nat. Resour. Res*, 27, 6-12.
- Octasari, P. M., & Ramayani, S. L. (2021). Potensi Hidrogel Ekstrak Etanolik Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis* [L.] Vahl) Terhadap Proses Penyembuhan Ulkus Diabetikum Pada *Rattus Novergicus* Galur Wistar. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 8(1), 23-34. doi: <http://dx.doi.org/10.56710/wiyata.v8i1.425>
- Octavia, A. A., Waris, R., & Yuliana, D. (2023). Identifikasi Organoleptik, Dan Kelarutan Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) Pada Pelarut Dengan Kepolaran Berbeda. *Makassar Nat Prod J*, 1(4), 203-11.
- Odoh, U. S., Sangwan, P. L., & Odoh, I. S. (2023). Antidiabetic and anti-inflammatory activities of ursolic acid, a triterpenoid from leaves of *Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl (Verbenaceae). *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 25(9), 1–10. <https://doi.org/10.9734/jamps/2023/v25i9637>
- Oh, Y. J., Jin, S. E., Shin, H. K., & Ha, H. (2023). Daeshiho-tang attenuates inflammatory response and oxidative stress in LPS-stimulated macrophages by regulating TLR4/MyD88, NF-κB, MAPK, and Nrf2/HO-1 pathways. *Scientific Reports*, 13(1), 18891. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46033-y>
- Permana, A. H. C., Husni, A., & Budhiyanti, S. A. (2016). Antioxidant activity and toxicity of seagrass *Cymodocea* sp. extracts. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 17(1), 37-46.
- Peng, J., Yang, Z., Li, H., Hao, B., Cui, D., Shang, R., ... & Wang, S. (2023). Quercetin reprograms immunometabolism of macrophages via the SIRT1/PGC-1α signaling pathway to ameliorate lipopolysaccharide-

- induced oxidative damage. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5542. <https://doi.org/10.3390/ijms24065542>
- Qu, Y., Yang, C., Li, X., Luo, H., Li, S., Niu, M., ... & Jiang, Y. (2020). CpG-Oligodeoxynucleotides Alleviate Tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Macrophage Apoptosis by Regulating Mitochondrial Function and Suppressing ROS Production. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020(1), 1714352. <https://doi.org/10.1155/2020/1714352>
- Quthb, Sayyid. (1992). *Fi Zhilalil Qur'an*. Beirut: Darusy-Syuruq.
- Rahmad, Endharti, A.T., & Fitri, L.E. (2018). Efek pemberian artemisin dan minyak buah merah (*Pandanus conoideus*) terhadap produksi reactive oxygen intermediate sel makrofag peritoneum mencit diinfeksi malaria. *Majalah kesehatan*, 8(1). DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.majalahkesehatan.005.01.1>
- Renowati, R., Tofrizal, T., Wahyuni, F., & Yanti, I. (2022). Jumlah Makrofag di Rongga Peritoneal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Diingestikan Bakteri Salmonella typhi. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*, 5 (2), 42-49. <https://jurnal.upertis.ac.id/index.php/PSKP/article/view/946>
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Duellman, S. J., & Niles, A. L. (2021). *Treating cells as reagents to design reproducible assays*. *SLAS Discovery*, 26(10), 1219–1234. <https://doi.org/10.1177/24725552211039754>
- Rosi, D. H., Qalbi, A. H., & Afriani, T. (2025). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-heksan Tangkai Daun Kemumu (*Colocasia gigantea* Hook. f) secara in vitro terhadap Sel Makrofag Peritoneum. *JFIONline| Print ISSN 1412-1107| e-ISSN 2355-696X*, 17(1), 164-177. <https://doi.org/10.35617/jfionline.v17i1.396>
- Ruder, A. V., Temmerman, L., van Dommelen, J. M., Nagenborg, J., Lu, C., Sluimer, J. C., ... & Biessen, E. A. (2023). Culture density influences the functional phenotype of human macrophages. *Frontiers in Immunology*, 14, 1078591. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1078591>
- Sari, E. K., Wihastuti, T. A., & Ardiansyah, W. (2018). Probiotik Meningkatkan Konsentrasi Hemoglobin Pada Tikus Putih Yang Diinduksi Lipopolisakarida *Escherichia coli*. *Majalah Kesehatan*, 5(1), 18-25. <https://doi.org/10.21776/ub.majalahkesehatan.005.01.3>
- Sawoo, R., & Bishayi, B. (2025). Concomitant inhibition of TLR4 and NLRP3 inflammasome in macrophages regulates lipopolysaccharide induced inflammation. *Molecular Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2025.06.001>
- Selig, M., Poehlman, L., Lang, N. C., Völker, M., Rolaufts, B., & Hart, M. L. (2024). Prediction of six macrophage phenotypes and their IL-10 content based on single-cell morphology using artificial intelligence. *Frontiers in immunology*, 14, 1336393. [10.3389/fimmu.2023.1336393](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1336393)
- Shi H, Guo Y, Liu Y, Shi B, Guo X, Jin L, Yan S. The *in vitro* effect of lipopolysaccharide on proliferation, inflammatory factors and antioxidant enzyme activity in bovine mammary epithelial cells. *Anim Nutr*, 2(2):99-104. doi: [10.1016/j.aninu.2016.03.005](https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.03.005)
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Alquran*. Lentera Hati.

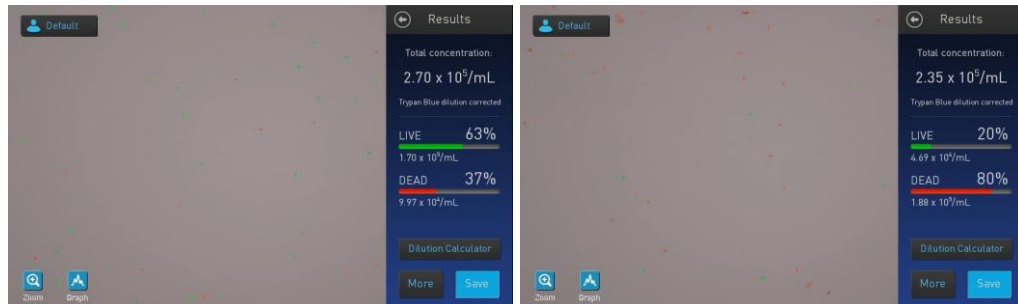
- Simamora, A. C. Y., Yusasrini, N. L. A., & Putra, I. N. K. (2021). Pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F) Menggunakan metode maserasi. *J. Ilmu Dan Teknol. Pangan*, 10(4), 681.
- Situmorang, N., & Zulham, Z. (2020). Malondialdehyde (MDA) (zat oksidan yang mempercepat proses penuaan). *Jurnal Keperawatan Dan Fisioterapi (JKF)*, 2(2), 117-123. <https://doi.org/10.35451/jkf.v2i2.338>
- Srimuang, K., Buakaew, W., Thongsri, Y., Daowtak, K., Potup, P., Ferrante, A., & Usuwanthim, K. (2025). In Silico and In Vitro Studies of Anti-Inflammatory, Anti-Oxidative Stress, and Anti-Apoptosis Effect of 7-Octenoic Acid Derived from *Moringa oleifera* Lam., on LPS-Induced Monocyte-Derived Macrophages (MDM). *International Journal of Molecular Sciences*, 26(18), 8911. <https://doi.org/10.3390/ijms26188911>
- Su, L. J., Zhang, J. H., Gomez, H., Murugan, R. (2019). Reactive Oxygen Species Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1(1), 1-13. <https://doi.org/10.1155/2019/5080843>
- Suci, W. G. & Mahfud, M. (2025). *Operasi Teknik Kimia: Proses Ekstraksi dan Leaching*. PT. Nas Media Indonesia.
- Sujono, T. A., Kusumowati, I. T. D., & Munawaroh, R. (2021). Aktivitas imunomodulator ekstrak metanol dan fraksi buah talok (*Muntingia calabura* L.) pada Sel RAW 264.7. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 6(2), 82-95. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v6i2.47009>
- Suraweera, T. L., Rupasinghe, H. V., Delleire, G., & Xu, Z. (2020). Regulation of Nrf2/ARE pathway by dietary flavonoids: a friend or foe for cancer management? *Antioxidants*, 9(10),973. <https://doi.org/10.3390/antiox9100973>
- Susanti, E. (2015). Karakterisasi Kultur Makrofag Hasil Isolasi Mouse Peritoneum Makrofag (MPM). *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 5(3), 103-109. <https://doi.org/10.18860/elha.v5i3.3096>
- Susilawati, I. D. A. (2021). Kajian pustaka: sumber reactive oxygen species (ROS) vaskular. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 18(1), 1-10.
- Thangiah, A. S. (2019). Phytochemical screening and antimicrobial evaluation of ethanolic-aqua extract of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) vahl leaves against some selected human pathogenic bacteria. *Rasayan Journal of Chemistry*, 12(1), 300-307. <http://dx.doi.org/10.31788/RJC.2019.1215042>
- Utomo, D. S., Elok Kristiani, E. B., & Mahardika, A. (2021). Pengaruh lokasi tumbuh terhadap kadar flavonoid, fenolik, klorofil, karotenoid dan aktivitas antioksidan pada tumbuhan pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), 143–149. <https://doi.org/10.14710/bioma.22.2.143-149>
- Wahyuni, S., Yunita, I., Sundari, U.Y., Pagalla, D.B., Kalalinggi, S.Y., Alpian, Nurmalasarim, E., Suryandani, H., Ramlah, Nasrullah, M. (2024). *Ekstraksi Bahan Alam*. CV Gita Lentera.
- Wang, X., and P. J. Quinn. (2010). Review Lypopolysaccaride: Biosynthetic Pathway and Structure Modification. *Progress in Lipid Reasearch*. Elsevier 49(5):77-107. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.06.002>

- Wang, Y., Liu, X. J., Chen, J. B., Cao, J. P., Li, X., & Sun, C. D. (2021). Citrus flavonoids and their antioxidant evaluation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(14), 3833-3854. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1870035>
- Wang, Z., Zhang, L., Chen, Y., & Li, X. (2025). Macrophages as multifaceted orchestrators of tissue repair: bridging inflammation, regeneration, and therapeutic innovation. *Frontiers in Immunology*, 16, 1450. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.01450>
- Waris, R., Kurnia, N., & Fadilla, N. (2025). Pharmacognostic Identification and Specific Quality Parameters of Blue Porterweed (*Stachytarpheta jameicensis*) Leaf Extract from Enrekang Regency, South Sulawesi. *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 7(2), 220-228. <https://doi.org/10.35451/jfm.v7i2.2477>
- Wei, M. J., Huang, K. L., Kang, H. F., Liu, G. T., Kuo, C. Y., Tzeng, I. S., Hsieh, P. C., & Lan, C. C. (2024). Jing Si Herbal Tea Modulates Macrophage Polarization and Inflammatory Signaling in LPS-Induced Inflammation. *International Journal of Medical Sciences*, 21(16), 3098–3112. <https://doi.org/10.7150/ijms.100720>
- Widiasriani, I. A. P., Udayani, N. N. W., Triansyah, G. A. P., Dewi, N. P. E. M. K., Wulandari, N. L. W. E., & Prabandari, A. A. S. S. (2024). Artikel Review: Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 6(2). <https://doi.org/10.37311/jsscr.v6i2.27055>
- Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity*, 44(3), 450–462. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.015>
- Yasin, As'ad. (2001). *Tafsir fi Zhilalil Qur'an: di Bawah Naungan al-Qur'an*. Gema Insani.
- Yellanki, H. M., Khan, A., Muddasir, S., & Shashank, A. (2024). Macrophage polarization and future perspectives: a comprehensive review. *Immunological Reviews and Research*, 5(1), 45–60. <https://doi.org/10.1007/s43939-024-00133-2>
- Yuslianti, Euis Reni. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.
- Yuliana, Y., & Fatmawati, S. (2019). 6 β -hydroxyipolamiide of *Stachytarpheta jamaicensis* Leaves. *IPTEK J. Technol. Sci*, 30(3), 68-72. <https://doi.org/10.12962/j20882033.v30i3.5408>
- Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., & Pinzon, R. T. (2016). Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Antioksidan. *Cermin dunia kedokteran*, 43(10), 733-6. DOI: [10.55175/cdk.v43i10.870](https://doi.org/10.55175/cdk.v43i10.870)
- Zapino, T dan Fitri, C. (2022). *Kamus Nomenklatur Flora dan Fauna*. Bumi Aksara.
- Zhao, X., Wang, M., Zhang, Y., Zhang, Y., Tang, H., Yue, H., ... & Song, D. (2024). Macrophages in the inflammatory response to endotoxic shock. *Immunity, inflammation and disease*, 12(10), e70027. <https://doi.org/10.1002/iid3.70027>
- Zingaro, F., Gianoncelli, A., Ceccone, G., Birarda, G., Cassano, D., La Spina, R., ... & Pascolo, L. (2023). Morphological and lipid metabolism alterations in macrophages exposed to model environmental nanoplastics traced by high-

resolution synchrotron techniques. *Frontiers in Immunology*, 14, 1247747.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1247747>

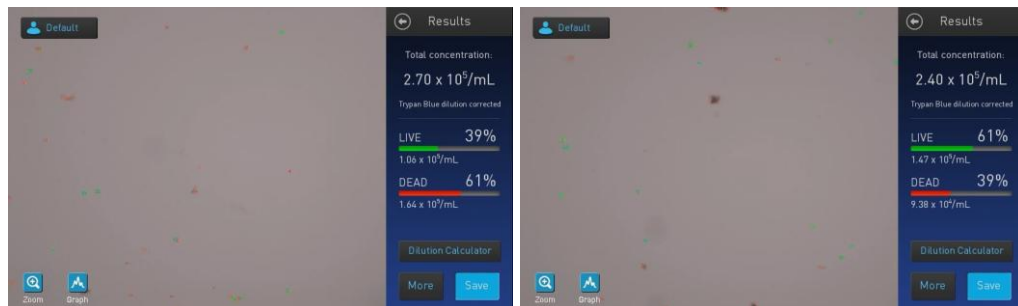
LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Menggunakan Countess



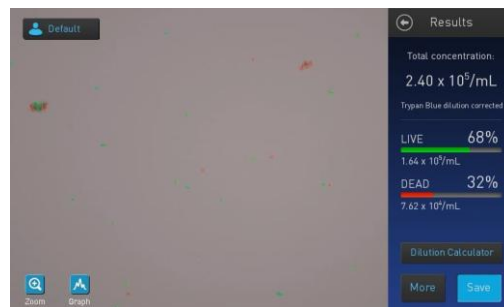
Kontrol

Kontrol + LPS



P1

P2



P3

Lampiran 2. Data Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Viabilitas Makrofag Peritoneum Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi LPS

ulangan ke-	perlakuan	viabilitas	transformasi
1	K	63%	52,5
	K+LPS	33%	35,1
	P1	35%	36,3
	P2	58%	49,6
	P3	49%	44,4
2	K	57%	49,0
	K+LPS	17%	24,4
	P1	39%	38,6
	P2	71%	57,4
	P3	68%	55,6
3	K	55%	47,9
	K+LPS	20%	26,6
	P1	45%	42,1
	P2	61%	51,4
	P3	57%	49,0

Perlakuan	Viabilitas Sel Makrofag (%) pada Ulangan Ke-			Rerata $\pm$ SD
	I	II	III	
K	63	57	55	58,3 $\pm$ 4,2
K+LPS	33	17	20	23,3 $\pm$ 8,5
P1	35	39	45	39,7 $\pm$ 5,0
P2	58	71	61	63,3 $\pm$ 6,8
P3	49	68	57	58,0 $\pm$ 9,5

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Menggunakan SPSS

1. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality							
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
viabilitas	K	.292	3	.	.923	3	.463
	K+LPS	.319	3	.	.885	3	.339
	P1	.219	3	.	.987	3	.780
	P2	.301	3	.	.912	3	.424
	P3	.208	3	.	.992	3	.826

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji Homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
viabilitas	Based on Mean	.779	4	10	.564
	Based on Median	.265	4	10	.894
	Based on Median and with adjusted df	.265	4	7.534	.892
	Based on trimmed mean	.731	4	10	.591

3. Hasil Uji *One Way* ANOVA

ANOVA					
viabilitas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3355.067	4	838.767	16.620	<.001
Within Groups	504.667	10	50.467		
Total	3859.733	14			

4. Hasil Perhitungan Koefisien Keragaman

$$KK = \left(\frac{\sqrt{KTG}}{x} \right) \times 100\%$$

$$KK = \left(\frac{\sqrt{50,467}}{48,5} \right) \times 100\% = 14,63$$

5. Hasil Uji Lanjut Duncan

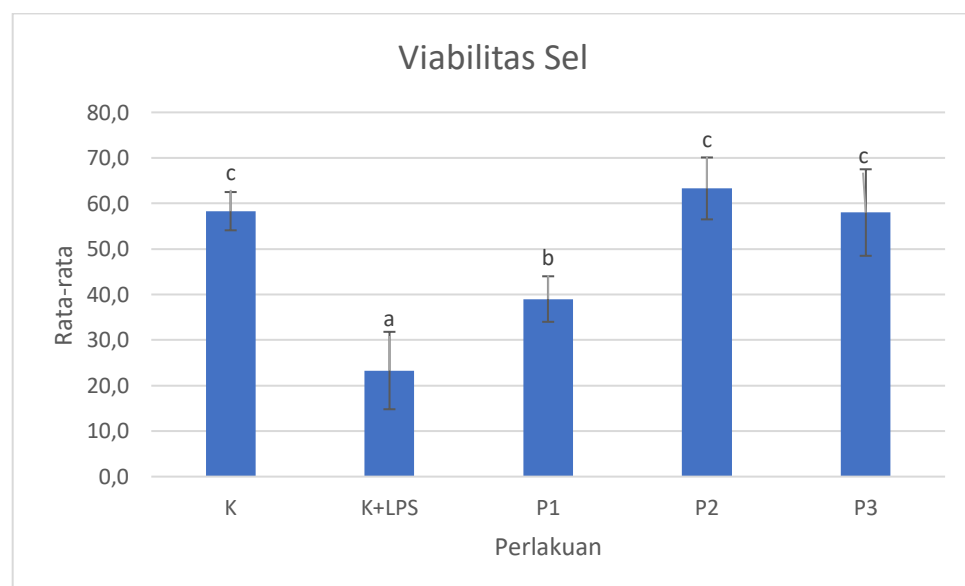
viabilitas

Duncan^{a,b}

perlakuan	N	Subset		
		1	2	3
K+LPS	3	23.333		
P1	3		39.667	
P3	3			58.000
K	3			58.333
P2	3			63.333
Sig.		1.000	1.000	.401

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 50.467.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = 0,05.

6. Diagram Hasil



Lampiran 4. Data Pengaruh Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) terhadap Abnormalitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi LPS

ulangan ke-	perlakuan	abnormalitas (%)
1	K	29
	K+LPS	68
	P1	51
	P2	34
	P3	26
2	K	21
	K+LPS	60
	P1	53
	P2	29
	P3	37
3	K	39
	K+LPS	75
	P1	60
	P2	43
	P3	23

Perlakuan	Abnormalitas Sel Makrofag (%) pada Ulangan Ke-			Rerata $\pm$ SD
	I	II	III	
K	29	21	39	29,7 $\pm$ 9,0
K+LPS	68	60	75	67,7 $\pm$ 7,5
P1	51	53	60	54,7 $\pm$ 4,7
P2	34	29	43	35,3 $\pm$ 7,1
P3	26	37	23	28,7 $\pm$ 7,4

Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik Abnormalitas Sel Makrofag Peritoneum Menggunakan SPSS

1. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality							
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
morfologi	K	.196	3	.	.996	3	.878
	K+LPS	.184	3	.	.999	3	.927
	P1	.304	3	.	.907	3	.407
	P2	.241	3	.	.974	3	.688
	P3	.308	3	.	.902	3	.391

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji Homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
morfologi	Based on Mean	.229	4	10	.916
	Based on Median	.155	4	10	.956
	Based on Median and with adjusted df	.155	4	9.156	.956
	Based on trimmed mean	.224	4	10	.919

3. Hasil Uji *One Way* ANOVA

ANOVA					
morfologi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3559.067	4	889.767	16.809	<.001
Within Groups	529.333	10	52.933		
Total	4088.400	14			

4. Hasil Perhitungan Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \left(\frac{\sqrt{KTG}}{x} \right) \times 100\%$$

$$KK = \left(\frac{\sqrt{52,933}}{43,2} \right) \times 100\% = 16,84$$

5. Hasil Uji Lanjut Duncan

morfologi

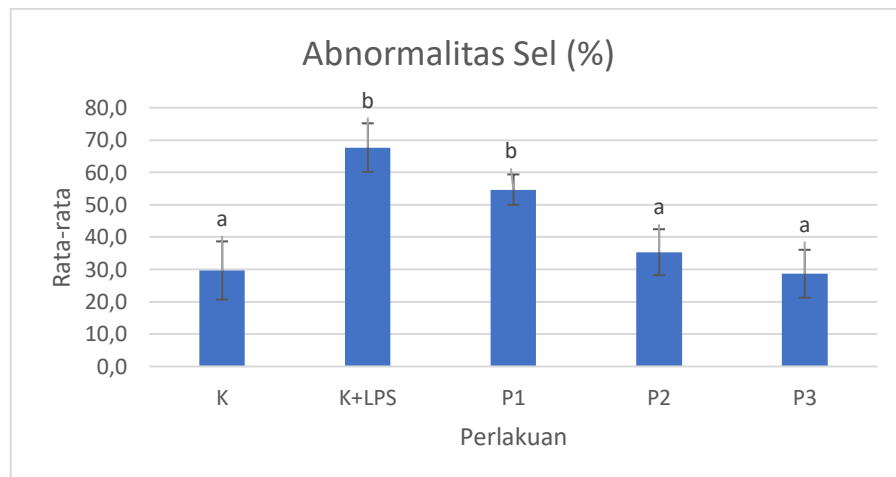
Duncan^{a,b}

perlakuan	N	Subset	
		1	2
P3	3	28.67	
K	3	29.67	
P2	3	35.33	
P1	3		54.67
K+LPS	3		67.67
Sig.		.309	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 52,933.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.
b. Alpha = 0,05.

6. Diagram Hasil



Lampiran 6. Hasil Uji Kadar Flavonoid, Fenolik dan Steroid pada Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*)

 **LABORATORIUM
CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK
KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG**
Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

Kepada
Chilya Jazilah As-saadah

Tanggal Hasil Sampel
Selasa, 7 April 2026

Jenis Dokumen
Hasil Pemeriksaan

Jenis Pemeriksaan
Histopatologi
Biomolekuler
Patologi Klinik
X **Elisa**

Pemeriksa Sampel :
drh. Dewi Mariyam

Intansi : UIN Malang

Jenis Sampel : Ekstrak Pecut Kuda

Metode Pemeriksaan : Pemeriksaan ini dimaksudkan untuk mengetahui kadar Flavonoid dll pada sampel yang dikirimkan. pemeriksaan menggunakan pemeriksaan ini menggunakan **ELISA Reader Diatek DR-200BC.**

Malang, 7 April 2026
Dokter Hewan Pemeriksa

(drh. Dewi Mariyam)

*Menggandakan, menggunakan dan menyebarkan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com



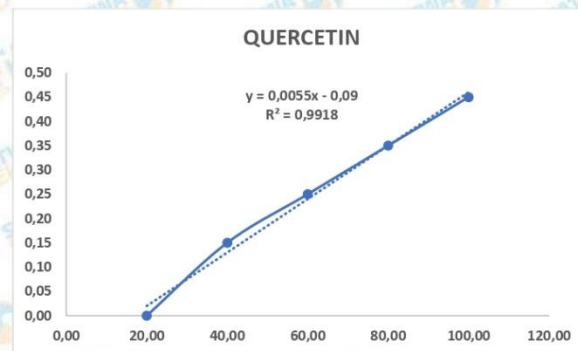
LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

I. Pengukuran Kadar Flavonoid

KURVA STANDAR

CONCENTRATION	OD
ppm	nm
100,00	0,45
80,00	0,35
60,00	0,25
40,00	0,15
20,00	0,00



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
 Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
 Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com

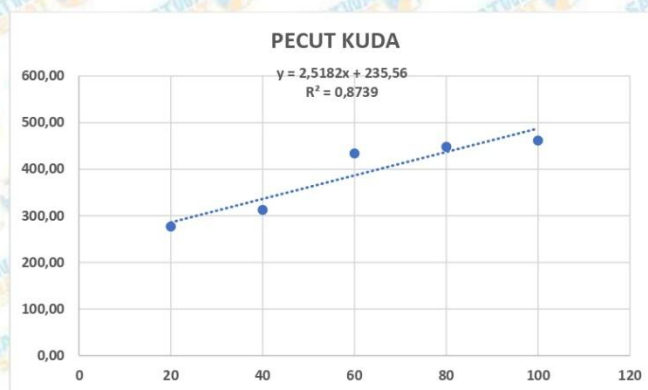


LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

II. Hasil Pengukuran Kadar

SEDIAAN	KONSENTRASI (PPM)	ABSORBANSI							
		Blanko	30 MENIT						
			U1	U2	U3	RERATA	FLAVONOID AWAL (mg/L)	FLAVONOID TOTAL (mg QE/gram)	% FLAVONOID
PECUT KUDA	20	0,15	0,347	0,410	0,420	0,392	27,72	277,18	27,72%
	40	0,15	0,343	0,478	0,415	0,412	31,28	312,78	31,28%
	60	0,15	0,434	0,477	0,525	0,479	43,38	433,83	43,38%
	80	0,15	0,441	0,485	0,534	0,487	44,82	448,19	44,82%
	100	0,15	0,447	0,492	0,542	0,494	46,13	461,30	46,13%



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melanggar hukum.

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
 Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
 Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com



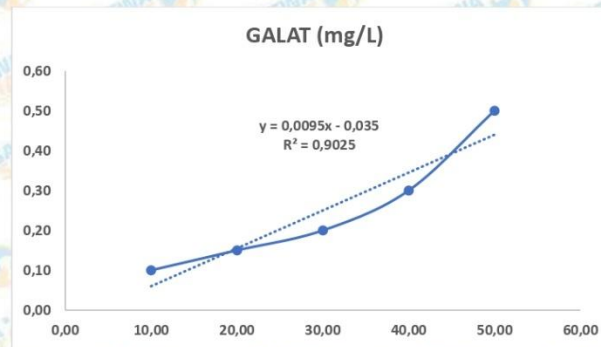
LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

KADAR FENOLITIK

KURVA STANDAR

CONCENTRATION	OD
ppm	nm
50,00	0,50
40,00	0,30
30,00	0,20
20,00	0,15
10,00	0,10



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

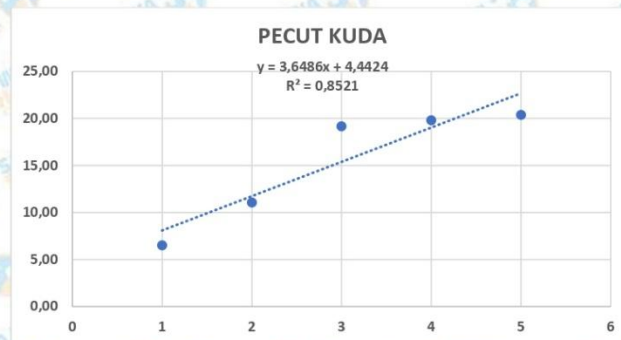
Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com



LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001
ABSORBANSI

SEDIAAN	KONSENTRASI (PPM)	Blanko	30 MENIT				FENOLIK AWAL (mg/L)	FENOLIK TOTAL (mg QE/gram)	% FENOLIK
			U1	U2	U3	RERATA			
PECUT KUDA	20	0,15	0,266	0,251	0,223	0,247	6,51	65,09	6,51%
	40	0,15	0,263	0,289	0,318	0,290	11,07	110,73	11,07%
	60	0,15	0,333	0,366	0,403	0,367	19,17	191,67	19,17%
	80	0,15	0,338	0,372	0,409	0,373	19,80	198,05	19,80%
	100	0,15	0,343	0,378	0,416	0,379	20,39	203,87	20,39%



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com



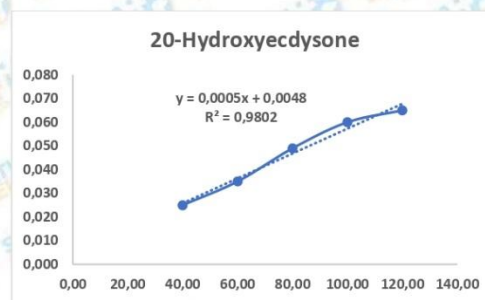
LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

PENGUKURAN KADAR STEROID

KURVA STANDAR

CONCENTRATION	OD
ppm	nm
120,00	0,065
100,00	0,060
80,00	0,049
60,00	0,035
40,00	0,025



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

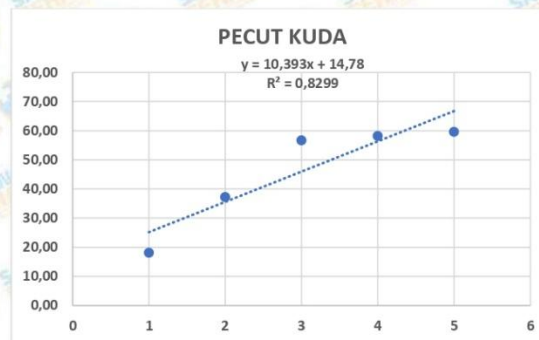
Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com



LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

SEDIAAN	KONSENTRASI (PPM)	30 MENIT				
		U1	U2	U3	RERATA	STEROID (mg/L)
PECUT KUDA	20	0,014	0,017	0,011	0,014	18,13
	40	0,023	0,027	0,020	0,023	37,20
	60	0,032	0,036	0,031	0,033	56,67
	80	0,033	0,037	0,032	0,034	58,20
	100	0,033	0,038	0,033	0,035	59,60



*Menggandakan, menggunakan dan menyebarluaskan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com

Lampiran 7. Surat Determinasi Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor Nomor 87, Pesanggrahan, Kota Batu, Jawa Timur 65313
Telepon 0341 593396, Laman materiamedica.jatimprov.go.id,
Pos el materiamedicabatu@jatimprov.go.id

Batu, 07 Oktober 2025

Nomor : 000.9.3/3670/102.20/2025
Sifat : Terbuka
Hal : Determinasi Tanaman Pecut Kuda

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : Nahdya Zahara Arrohma
NIM/NIP/NIK : 220602110043
Sekolah : Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

1. Perihal determinasi tanaman pecut kuda
 - Suku : *Verbenaceae*
 - Marga : *Stachytarpheta*
 - Jenis : *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl.
 - Nama Daerah : Pecut kuda, jarong (Sunda), biron, karomenal, sekar laru, ngadirenggo (Jawa).
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45b-48b-49a: *Verbenaceae*-1b-2b-3a-4a: *Stachytarpheta*-1b: *S. jamaicensis*.
2. Deskripsi : Batang: Terna tahunan, tegak, tinggi 20-90 cm. Daun: Tunggal, bertangkai, letak berhadapan, helaian daun berbentuk bulat telur, pangkal menyempit, ujung runcing, tepi bergerigi, permukaan jelas berlekuk-lekuk, panjang 4-8 cm, lebar 3-6 cm, berwarna hijau tua. Bunga: Majemuk tersusun dalam poros bulir yang memanjang, seperti pecut, panjangnya 4-20 cm, bunga mekar dalam waktu yang berbeda, ukurannya kecil, berwarna ungu, jarang berwarna putih. Buah: Berbentuk garis, berbiji 2. Biji: Berbentuk jarum, berwarna hitam.
3. Bagian yang digunakan : Daun.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar Pustaka
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Kepala UPT Laboratorium Herbal
Materia Medica Batu

M. M. YULIANTI, M.M.
Pembina Tingkat I
NIP 197107112000122002

Lampiran 8. Jurnal Bimbingan



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 220602110043
Nama : NAHDYA ZAHARA ARROHMA
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Kholifah Holil, M.Si
Dosen Pembimbing 2 : DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% KULIT PISANG KEPOK (*Musa acuminate* balbisiana) TERHADAP VIABILITAS DAN MORFOLOGI SEL MAKROFAG SECARA IN VITRO

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	27 Februari 2025	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi topik	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	21 Mei 2025	Kholifah Holil, M.Si	Konfirmasi jurnal acuan penelitian	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	10 Juni 2025	Kholifah Holil, M.Si	membahas parameter penelitian	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
4	04 Agustus 2025	Kholifah Holil, M.Si	Konsultasi parameter penelitian	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	06 Agustus 2025	Kholifah Holil, M.Si	Konsultasi judul skripsi	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	26 Agustus 2025	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi rumusan masalah, tujuan, manfaat, batasan masalah	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	03 September 2025	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi BAB III Metode Penelitian	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	15 September 2025	Kholifah Holil, M.Si	Konsultasi revisi BAB III dan Latar Belakang	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	19 September 2025	Kholifah Holil, M.Si	Konsultasi BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	22 September 2025	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	pengantar penulisan integrasi Al-Qur'an dan Sains	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	26 September 2025	Kholifah Holil, M.Si	Konsultasi revisi BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	29 September 2025	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Konsultasi integrasi BAB 1	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	03 Oktober 2025	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Konsultasi revisi BAB 1	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
14	03 Oktober 2025	Kholifah Holil, M.Si	Revisi proposal skripsi	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
15	08 Oktober 2025	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Revisi integrasi BAB I dan II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
16	09 Oktober 2025	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Konsultasi revisi BAB I dan II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
17	10 Oktober 2025	Kholifah Holil, M.Si	ACC Proposal	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
18	24 April 2026	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi hasil penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

19	05 Mei 2026	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi data hasil penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
20	18 Mei 2026	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Konsultasi integrasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
21	19 Mei 2026	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Revisi integrasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
22	20 Mei 2026	DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si	Konsultasi revisi integrasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
23	22 Mei 2026	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi pembahasan (BAB IV)	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
24	26 Mei 2026	Kholifah Holil, M.Si	konsultasi hasil revisi BAB IV, BAB V, dan Abstrak	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

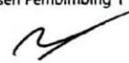


DIDIK WAHYUDI, S.Si., M.Si



Malang, _____

Dosen Pembimbing 1



Kholifah Holil, M.Si

Lampiran 9 Form Cek Plagiasi



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Nahdya Zahara Arrohma
NIM : 220602110043
Judul : Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*)
Terhadap Viabilitas dan Morfologi Kultur Sel Makrofag Peritoneum Secara *In Vitro*

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	5 %	



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi
Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001