

Uji Aktivitas Ekstrak Daun Opu-Opu (*Crinum asiaticum* L.) terhadap Proliferasi Limfosit sebagai Agen Immunostimulator

Immunostimulatory Activity of Opu-Opu (Crinum asiaticum L.) Leaf Extract on Lymphocyte Proliferation

Romauli Anna Teresia Marbun^{1*}, Ratih Anggraeni², Desy Lustiyani Rajagukguk³, Nisa Elhasanah⁴

^{1,2}Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Sumatera Utara, Indonesia

^{3,4}Fakultas Kedokteran, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Sumatera Utara, Indonesia

Email: romauliannateresia@medistra.ac.id

Abstrak

Latar Belakang: Daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) merupakan tanaman obat yang mengandung berbagai metabolit sekunder dan berpotensi memiliki aktivitas imunomodulator. Aktivitas imunostimulator dapat dievaluasi melalui respons proliferasi limfosit yang berperan penting dalam sistem imun adaptif. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas ekstrak etanol daun opu-opu terhadap proliferasi limfosit sebagai agen imunostimulator. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan ekstraksi daun opu-opu melalui maserasi menggunakan etanol 96%. Skrining fitokimia dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), sedangkan aktivitas proliferasi limfosit dievaluasi menggunakan metode MTT assay. Ekstrak diuji pada konsentrasi 3,125; 6,25; 12,5; dan 25 µg/mL dengan Imboost® sebagai kontrol positif. Aktivitas sel dinilai berdasarkan absorbansi dan nilai Effective Concentration (EC50). **Hasil:** Ekstraksi 500 g simplisia menghasilkan 12,25 g ekstrak dengan rendemen 2,45%. Nilai EC50 ekstrak daun opu-opu dilaporkan sebesar 4,446 µg/mL, sedangkan Imboost® sebesar 4,282 µg/mL. Nilai absorbansi ekstrak meningkat seiring peningkatan konsentrasi, yaitu $0,234 \pm 0,05$; $0,261 \pm 0,05$; $0,341 \pm 0,04$; dan $0,432 \pm 0,01$. Absorbansi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 25 µg/mL, dibandingkan kontrol negatif sebesar $0,234 \pm 0,01$. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun opu-opu menunjukkan potensi aktivitas imunostimulator berdasarkan peningkatan aktivitas metabolik limfosit yang terukur melalui metode MTT assay. Namun, konfirmasi proliferasi sel secara langsung dan evaluasi keamanan masih diperlukan untuk mendukung pengembangannya sebagai agen imunostimulator.

Kata kunci: *Crinum asiaticum*; Daun opu-opu; Proliferasi limfosit; MTT assay; Immunostimulator

Abstract

Background: Opu-opu leaves (*Crinum asiaticum* L.) are medicinal plant materials containing various secondary metabolites with potential immunomodulatory activities. Immunostimulatory activity can be evaluated by examining lymphocyte responses, which play an essential role in adaptive immunity. **Objective:** This study aimed to evaluate the activity of ethanolic extract of opu-opu leaves (*Crinum asiaticum* L.) on lymphocyte proliferation as a potential immunostimulatory agent. **Methods:** This experimental study involved extracting opu-opu leaves by maceration using 96% ethanol. Phytochemical screening was performed using thin-layer chromatography (TLC), while lymphocyte proliferation-related activity was evaluated using the MTT assay. The extract was tested at concentrations of 3.125, 6.25, 12.5, and 25 µg/mL, with Imboost® serving as the positive control. Cellular activity was assessed based on absorbance measurements and the Effective Concentration (EC50) value. **Results:** Extraction of 500 g of dried plant material yielded 12.25 g of extract, corresponding to a yield of 2.45%. The reported EC50 values were 4.446 µg/mL for the opu-opu leaf extract and 4.282 µg/mL for Imboost®. Extract absorbance increased with concentration, reaching 0.234 ± 0.05 , 0.261 ± 0.05 , 0.341 ± 0.04 , and 0.432 ± 0.01 , respectively. The highest absorbance was observed at 25 µg/mL, compared with 0.234 ± 0.01 in the negative control. **Conclusion:** The ethanolic extract of opu-opu leaves demonstrated potential immunostimulatory activity, as indicated by increased lymphocyte metabolic activity measured using the MTT assay. However, direct confirmation of lymphocyte proliferation and further safety evaluation are required to support its development as an immunostimulatory agent.

Keywords: *Crinum asiaticum*; Opu-opu leaf; Lymphocyte proliferation; MTT assay; Immunostimulant

*Corresponding author: Romauli Anna Teresia Marbun, Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Sumatera Utara, Indonesia.

E-mail : romauliannateresia@medistra.ac.id

Doi : 10.35451/jfm.v9i1.4076

Received : October 15, 2026, Accepted: October 24, 2026, Published: October 30, 2026

Copyright: © 2026 Romauli Anna Teresia Marbun (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu permasalahan kesehatan masyarakat yang memerlukan perhatian, terutama karena berkaitan dengan kemampuan sistem imun dalam mempertahankan tubuh terhadap mikroorganisme patogen. Sistem imun memiliki mekanisme pertahanan bawaan dan adaptif yang bekerja secara terkoordinasi untuk mengenali serta mengeliminasi agen penyebab penyakit (1). Salah satu komponen penting dalam sistem imun adaptif adalah limfosit yang berperan dalam pengenalan antigen, pengaturan respons imun, dan pembentukan memori imunologis. Proliferasi limfosit merupakan proses penting yang mencerminkan aktivasi dan perkembangan sel imun setelah mendapatkan rangsangan tertentu. Oleh karena itu, pengujian proliferasi limfosit dapat digunakan sebagai salah satu pendekatan awal untuk mengevaluasi potensi imunomodulator suatu bahan alam (1).

Pemanfaatan tanaman obat sebagai sumber senyawa bioaktif terus dikembangkan dalam bidang farmasi, khususnya untuk menemukan kandidat agen imunostimulator alami (2). Tanaman obat diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi memengaruhi aktivitas biologis sel imun. Senyawa seperti flavonoid, alkaloid, dan kelompok metabolit sekunder lainnya telah banyak diteliti berkaitan dengan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan imunomodulator. Namun, aktivitas biologis suatu ekstrak sangat bergantung pada jenis tanaman, kandungan senyawa, konsentrasi, serta metode pengujian yang digunakan (3).

Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai bahan penelitian farmasi adalah daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dari famili Amaryllidaceae. Tanaman ini dikenal dalam pengobatan tradisional masyarakat dan dimanfaatkan untuk berbagai keluhan, terutama yang berkaitan dengan gangguan muskuloskeletal. Secara empiris, tanaman opu-opu digunakan sebagai bahan ramuan tradisional yang dikenal dengan istilah totopis, yaitu ramuan yang diracik untuk pemakaian luar dalam penanganan keseleo, terkilir, dan patah tulang tertutup. Pemanfaatan tersebut menunjukkan adanya pengetahuan etnofarmakologi masyarakat mengenai tanaman opu-opu, meskipun efektivitas dan keamanannya masih memerlukan pembuktian ilmiah (4).

Tanaman *Crinum asiaticum* diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder, terutama alkaloid khas famili Amaryllidaceae, yang menjadi salah satu kelompok senyawa penting dalam kajian aktivitas farmakologinya. Sejumlah penelitian fitokimia dan farmakologi terhadap tanaman ini telah mengkaji potensi aktivitas biologisnya, termasuk aktivitas antiinflamasi (5). Meskipun demikian, adanya aktivitas antiinflamasi tidak secara langsung membuktikan kemampuan suatu tanaman dalam meningkatkan proliferasi limfosit. Oleh sebab itu, pengujian secara khusus diperlukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun opu-opu memiliki aktivitas yang mendukung pengembangan kandidat imunostimulator (6).

Selain memiliki potensi farmakologis, tanaman opu-opu juga memerlukan perhatian dari aspek keamanan. Beberapa bagian tanaman *Crinum asiaticum*, terutama umbi dan getahnya, dilaporkan memiliki potensi toksik apabila tertelan. Oleh karena itu, penggunaan tradisional sebagai ramuan luar tidak dapat dijadikan dasar untuk menyatakan bahwa ekstrak tanaman aman dikonsumsi secara oral. Evaluasi aktivitas biologis perlu disertai pertimbangan toksisitas, penetapan konsentrasi uji yang aman, serta karakterisasi kandungan metabolit sekundernya.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai aktivitas ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) terhadap proliferasi limfosit perlu dilakukan untuk memperoleh bukti ilmiah mengenai potensi imunomodulatornya. Penelitian ini diarahkan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder ekstrak serta mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak terhadap aktivitas proliferasi limfosit menggunakan metode MTT assay. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai potensi daun opu-opu sebagai kandidat agen imunostimulator berbahan alam sekaligus menjadi dasar bagi penelitian lanjutan mengenai mekanisme kerja dan keamanannya.

2. METODE

Jenis penelitian.

Rancangan berupa penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Farmakologi, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam.

Bahan.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) yang telah diidentifikasi secara botani. Bahan kimia yang digunakan, kecuali dinyatakan lain, memiliki kualitas pro analisis, meliputi etanol 96% (Merck), CMC-Na, HCl 2 N, kloroform pro analisis, metanol, serta pereaksi skrining fitokimia. Bahan untuk pengujian proliferasi limfosit meliputi medium RPMI-1640, fetal bovine serum (FBS), tripsin-EDTA 0,25% (Gibco) apabila diperlukan, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] (Sigma), buffer tris-amonium klorida, phosphate-buffered saline (PBS), natrium dodesil sulfat (SDS) dalam HCl 0,1 N, serta mitogen sebagai kontrol stimulasi proliferasi limfosit. Bahan lain yang digunakan meliputi ketamin, Imboost® sebagai pembanding imunostimulator apabila sesuai dengan rancangan penelitian, hewan uji tikus, pakan tikus, dan sekam.

Alat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi silika gel 60 F254 (Merck, Germany), mikropipet (Eppendorf), neraca analitik (Vibra AJ), waterbath (Memmert), sentrifugator (Thermo Fisher), rotary evaporator (Heidolph), autoklaf (Hirayama), blender (Philips), chamber kromatografi (Camag), hot plate, microtube, micropipette tips, neraca hewan (Precisa Geniweigher GW-1500), sonde oral, oven (Memmert), disposable syringe, vortex (Shimadzu), freeze dryer, 96-well microplate, microplate reader untuk pengujian MTT, wadah kaca, hemocytometer, mikroskop, serta peralatan gelas laboratorium lainnya.

Pengumpulan Sampel

Daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) diperoleh dari Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara, menggunakan metode purposive sampling, yaitu pengambilan sampel berdasarkan kriteria tertentu. Sampel yang dipilih berupa daun yang telah berkembang sempurna, berwarna hijau, segar, tidak mengalami kerusakan fisik, serta bebas dari serangan hama dan penyakit. Sampel selanjutnya dilakukan identifikasi botani untuk memastikan kebenaran spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Pembuatan Ekstrak Daun Opu-Opu (*Crinum asiaticum* L.)

Pembuatan ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Daun yang telah dikumpulkan disortasi, dicuci menggunakan air mengalir, dirajang, kemudian dikeringkan dan dihaluskan hingga diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian dilakukan penyarian sebanyak tiga kali menggunakan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Seluruh maserat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya, ekstrak dikeringkan menggunakan freeze dryer apabila sesuai dengan karakteristik ekstrak dan prosedur pengeringan yang digunakan (4).

Skrining fitokimia.

Skrining fitokimia ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Fase diam yang digunakan berupa pelat silika gel 60 F254 berukuran 10 × 5 cm. Sampel ekstrak ditotolkan pada pelat, kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan uap fase gerak yang sesuai. Setelah proses pengembangan selesai, pelat dikeluarkan dan dikeringkan. Bercak diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi penampak bercak yang sesuai dan dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 5 menit apabila diperlukan. Identifikasi golongan senyawa dilakukan berdasarkan perubahan warna bercak dan nilai retardation factor (Rf), terutama untuk mendeteksi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, serta steroid atau triterpenoid (7).

Penyiapan hewan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus berusia sekitar 3 bulan dengan jumlah lima ekor pada setiap kelompok perlakuan. Sebelum penelitian, hewan diaklimatisasi selama tujuh hari dalam kondisi lingkungan laboratorium yang terkontrol dengan pemberian pakan dan air minum secara *ad libitum*. Hewan uji dibagi secara acak menjadi lima kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dilakukan secara oral selama 14 hari berturut-turut. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut: Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu Kelompok I sebagai kontrol negatif yang diberikan suspensi CMC-Na 0,5%, Kelompok II sebagai kontrol positif yang diberikan suspensi Imboost® dosis 25 mg/kg BB, Kelompok III diberikan ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dosis 50 mg/kg BB, Kelompok IV diberikan ekstrak daun opu-opu dosis 100 mg/kg BB, dan Kelompok V diberikan ekstrak daun opu-opu dosis 200 mg/kg BB. Setelah periode perlakuan, dilakukan pengambilan sampel biologis sesuai prosedur etik penelitian untuk isolasi limfosit. Sel limfosit yang diperoleh selanjutnya digunakan dalam pengujian proliferasi limfosit menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Aktivitas proliferasi limfosit dinilai berdasarkan absorbansi yang diukur menggunakan microplate reader, kemudian dibandingkan antar kelompok perlakuan untuk mengevaluasi potensi imunostimulator ekstrak daun opu-opu.

Uji Proliferasi Limfosit

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dibuat dalam beberapa seri konsentrasi sesuai perlakuan. Larutan pembanding Imboost® dibuat dari larutan stok 1 mg/mL yang diencerkan menggunakan larutan buffer hingga diperoleh konsentrasi 10 µg/mL (8).

Isolasi Sel Limfosit

Sel limfosit diisolasi dari organ limpa hewan uji setelah perlakuan selama 14 hari. Jaringan limpa diambil secara aseptis dan ditempatkan dalam medium RPMI, kemudian dibuat suspensi sel. Suspensi disentrifugasi untuk memperoleh pelet sel, selanjutnya eritrosit dilisiskan menggunakan buffer tris-amonium klorida. Sel limfosit yang diperoleh dihitung menggunakan hemocytometer untuk menentukan jumlah sel yang digunakan dalam pengujian (8).

Uji Proliferasi Sel Limfosit dengan Metode MTT Assay

Suspensi limfosit sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam setiap sumuran 96-well microplate, kemudian diberikan perlakuan ekstrak daun opu-opu sesuai konsentrasi uji dan kontrol pembanding. Sel diinkubasi pada suhu 37°C dalam atmosfer 5% CO₂ selama 24 jam. Selanjutnya, ditambahkan reagen MTT untuk mengukur aktivitas metabolik sel hidup yang menghasilkan kristal formazan berwarna ungu. Kristal dilarutkan menggunakan larutan pelarut yang sesuai, kemudian absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 550 nm. Hasil absorbansi digunakan sebagai indikator tidak langsung proliferasi limfosit untuk mengevaluasi potensi imunostimulator ekstrak daun opu-opu (8).

3. HASIL

Hasil Pemeriksaan Makroskopik dan Karakterisasi Simplisia

Hasil karakterisasi simplisia daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) menunjukkan kadar air sebesar 7,31%, kadar sari larut air 14%, dan kadar sari larut etanol 8,63%. Kadar air memenuhi persyaratan umum simplisia, yaitu tidak lebih dari 10%. Ekstraksi 500 g serbuk simplisia menggunakan etanol 96% menghasilkan 12,25 g ekstrak kental dengan rendemen sebesar 2,45%.

Uji Proliferasi Limfosit dengan Metode MTT Assay

Uji proliferasi limfosit dilakukan menggunakan metode MTT assay untuk mengetahui aktivitas imunostimulator ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.). Aktivitas proliferasi ditentukan berdasarkan kemampuan sel hidup

mereduksi MTT menjadi formazan yang diukur melalui absorbansi. Parameter yang digunakan adalah Effective Concentration (EC50), yaitu konsentrasi yang menghasilkan 50% respons proliferasi maksimum. Hasil pengujian ekstrak daun opu-opu dan Imboost® disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Nilai EC50 Ekstrak Daun Opu-Opu dan Imboost® terhadap Proliferasi Limfosit

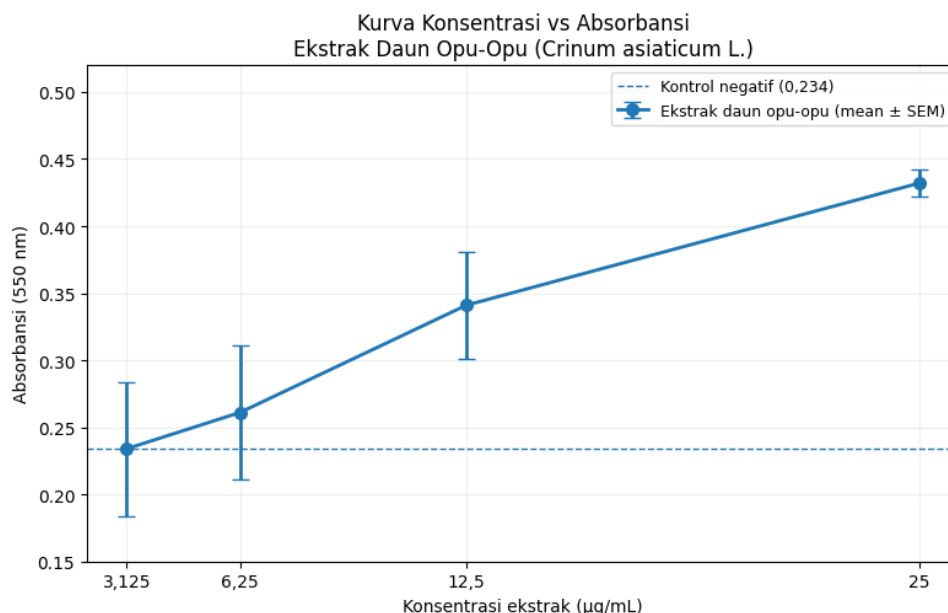
No	Kelompok	Nilai EC50 ($\mu\text{g/mL}$)
1	Ekstrak daun opu-opu (<i>Crinum asiaticum</i> L.)	4,446
2	Imboost® (kontrol positif)	4,282

Berdasarkan hasil uji viabilitas sel, pengujian proliferasi limfosit dilakukan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) yang dimulai dari konsentrasi aman tertinggi hingga terendah. Pengaruh ekstrak daun opu-opu dan Imboost® terhadap proliferasi limfosit disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Absorbansi Ekstrak Daun Opu-Opu (*Crinum asiaticum* L.) dan Imboost® terhadap Proliferasi Limfosit

No. Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) Kelompok Perlakuan Mean Absorbansi $\pm$ SEM (n = 5)

1	—	Kontrol negatif	0,234 $\pm$ 0,01
2	3,125	Ekstrak daun opu-opu	0,234 $\pm$ 0,05
	6,25	Ekstrak daun opu-opu	0,261 $\pm$ 0,05
	12,5	Ekstrak daun opu-opu	0,341 $\pm$ 0,04
	25	Ekstrak daun opu-opu	0,432 $\pm$ 0,01
3	0,312	Imboost®	0,381 $\pm$ 0,005



Gambar 1. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak daun opu-opu terhadap nilai absorbansi pada uji MTT.

Berdasarkan kurva, nilai absorbansi meningkat dari 0,234 pada konsentrasi 3,125 $\mu\text{g/mL}$ menjadi 0,432 pada konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$. Hasil ini menunjukkan kecenderungan peningkatan aktivitas metabolik limfosit seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak.

4. PEMBAHASAN

Identifikasi Metabolit Sekunder

Skrining fitokimia ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder, meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, serta steroid/triterpenoid. Metode KLT digunakan karena mampu memisahkan komponen senyawa berdasarkan perbedaan polaritas dan afinitas terhadap fase diam serta fase gerak. Identifikasi dilakukan melalui pengamatan bercak di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, perubahan warna setelah penyemprotan pereaksi spesifik, serta perhitungan nilai retardation factor (Rf) (8).

Daun opu-opu diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, terutama golongan alkaloid Amaryllidaceae yang memiliki beragam aktivitas biologis. Senyawa alkaloid dan fenolik berpotensi berperan dalam aktivitas imunomodulator melalui pengaruhnya terhadap aktivitas sel imun, pengaturan stres oksidatif, dan jalur pensinyalan seluler. Senyawa flavonoid juga diketahui dapat memodulasi respons imun melalui pengaturan produksi sitokin dan aktivitas limfosit. Namun, efek tersebut bergantung pada jenis senyawa, konsentrasi, serta kondisi pengujian (9).

Keberadaan metabolit sekunder dalam ekstrak daun opu-opu dapat menjadi dasar untuk mengeksplorasi potensinya sebagai agen imunostimulator. Aktivitas biologis ekstrak diduga berkaitan dengan interaksi berbagai senyawa aktif yang memengaruhi respons sel limfosit [15]. Hal ini relevan dengan pengujian proliferasi limfosit menggunakan metode MTT assay, yang menunjukkan kecenderungan peningkatan absorbansi seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak. Meskipun demikian, hubungan antara kandungan fitokimia dan aktivitas proliferasi limfosit masih memerlukan pembuktian lebih lanjut melalui isolasi senyawa aktif dan pengujian mekanisme imunomodulasi (9).

Uji Proliferasi Limfosit dengan Metode MTT Assay

Hasil pengujian aktivitas imunostimulator ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) menggunakan metode MTT assay menunjukkan nilai EC₅₀ sebesar 4,446 µg/mL, sedangkan Imboost® sebagai kontrol positif memiliki nilai EC₅₀ sebesar 4,282 µg/mL (Tabel 1). Nilai EC₅₀ ekstrak yang mendekati Imboost® mengindikasikan potensi aktivitas biologis ekstrak daun opu-opu dalam memengaruhi respons limfosit. Nilai EC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan konsentrasi yang lebih kecil untuk menghasilkan 50% respons maksimum pada masing-masing kelompok. Namun, perbandingan potensi kedua bahan perlu mempertimbangkan respons maksimum dan karakteristik kurva konsentrasi-respons.

Berdasarkan Tabel 2, pemberian ekstrak daun opu-opu pada konsentrasi 3,125; 6,25; 12,5; dan 25 µg/mL menghasilkan nilai absorbansi masing-masing sebesar $0,234 \pm 0,05$; $0,261 \pm 0,05$; $0,341 \pm 0,04$; dan $0,432 \pm 0,01$. Nilai absorbansi menunjukkan kecenderungan peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak, dengan respons tertinggi pada konsentrasi 25 µg/mL. Pada konsentrasi tersebut, absorbansi meningkat sekitar 84,62% dibandingkan kontrol negatif sebesar $0,234 \pm 0,01$. Sementara itu, Imboost® pada konsentrasi 0,312 µg/mL menghasilkan absorbansi sebesar $0,381 \pm 0,005$. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun opu-opu memiliki potensi meningkatkan aktivitas metabolik limfosit, terutama pada konsentrasi tertinggi yang diuji.

Peningkatan nilai absorbansi pada pengujian MTT berkaitan dengan aktivitas metabolik sel hidup dalam mereduksi garam tetrazolium menjadi kristal formazan. Aktivitas tersebut dapat mencerminkan peningkatan jumlah atau aktivitas sel limfosit, tetapi tidak secara langsung membuktikan terjadinya proliferasi (10). Pada konsentrasi 3,125 µg/mL, nilai absorbansi ekstrak sama dengan kontrol negatif, sedangkan peningkatan mulai terlihat pada konsentrasi 6,25 µg/mL dan semakin tinggi pada konsentrasi berikutnya. Pola tersebut mengindikasikan adanya kecenderungan respons yang bergantung pada konsentrasi (*concentration-dependent response*) (11).

Potensi imunostimulator ekstrak daun opu-opu diduga berkaitan dengan kandungan metabolit sekundernya, terutama alkaloid dan senyawa fenolik yang berpotensi memiliki aktivitas imunomodulator (12). Secara umum, senyawa bioaktif tumbuhan dapat memengaruhi respons imun melalui pengaturan aktivitas sel limfosit, jalur pensinyalan intraseluler, serta produksi sitokin. Proliferasi limfosit T berkaitan dengan aktivitas interleukin-2 (IL-2), sedangkan IL-4 berperan dalam pengaturan respons limfosit B (13). Meskipun demikian, mekanisme tersebut belum dapat dipastikan pada ekstrak daun opu-opu karena penelitian ini tidak melakukan pengukuran kadar sitokin maupun ekspresi penanda aktivasi limfosit (12)(14).

Secara keseluruhan, data menunjukkan bahwa ekstrak daun opu-opu (*Crinum asiaticum* L.) memiliki potensi sebagai agen imunostimulator berdasarkan peningkatan absorbansi MTT seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak. Konsentrasi 25 µg/mL menghasilkan nilai absorbansi tertinggi sebesar $0,432 \pm 0,01$, lebih tinggi dibandingkan kontrol positif Imboost® sebesar $0,381 \pm 0,005$ pada konsentrasi 0,312 µg/mL. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengonfirmasi aktivitas proliferasi limfosit serta mengidentifikasi senyawa aktif yang berperan dalam efek imunomodulator ekstrak (15).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan data pengujian yang disajikan, ekstrak etanol daun opu-opu menunjukkan potensi sebagai agen imunostimulator melalui peningkatan aktivitas metabolik limfosit pada metode MTT assay. Nilai EC₅₀ ekstrak dilaporkan sebesar 4,446 µg/mL, mendekati Imboost® sebagai kontrol positif sebesar 4,282 µg/mL. Konsentrasi ekstrak 25 µg/mL menghasilkan absorbansi tertinggi sebesar $0,432 \pm 0,01$, dibandingkan kontrol negatif sebesar $0,234 \pm 0,01$. Peningkatan absorbansi menunjukkan respons yang cenderung bergantung pada konsentrasi. Namun, aktivitas proliferasi limfosit secara langsung dan signifikansi statistiknya masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut. Dengan demikian, ekstrak daun opu-opu berpotensi dikembangkan sebagai bahan alam imunomodulator melalui penelitian lanjutan mengenai senyawa aktif, mekanisme kerja, dan keamanannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam atas dukungan dan fasilitas laboratorium yang diberikan selama pelaksanaan penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan kontribusi dalam pelaksanaan penelitian hingga penyusunan artikel ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Marbun R, Suwarso E, Yuandani. Immunomodulatory effects of ethanol extract of *Artemisia vulgaris* L. in male rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018;11(Special Issue 1):245–7.
2. Chaichompoo W, Rojsitthisak P, Supaweera N, Poldorn P, Pabuprapap W, Chunglok W, et al. Amaryllidaceae alkaloids with nitric oxide inhibitory activity from the leaves of *Crinum asiaticum* L. var. *asiaticum*. *Phytochemistry* [Internet]. 2025;233(January):114383. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2025.114383>
3. Akram M, Hamid A, Khalil A, Ghaffar A, Tayyaba N, Saeed A, et al. Review on medicinal uses, pharmacological, phytochemistry and immunomodulatory activity of plants. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2014;27(3):313–9.
4. Kongkwamcharoen C, Itharat A, Pipatrattanaseree W, Ooraikul B. Effects of Various Preextraction Treatments of *Crinum asiaticum* Leaf on Its Anti-Inflammatory Activity and Chemical Properties. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2021;2021.
5. Hosseinzade A, Sadeghi O, Biregani AN, Soukhtehzari S, Brandt GS, Esmailzadeh A. Immunomodulatory effects of flavonoids: Possible induction of T CD4⁺ regulatory cells through suppression of mTOR pathway signaling activity. *Front Immunol*. 2019;10(JAN):1–12.
6. Ribeiro D, Proenca C, Rocha S, Lima JLFC, Carvalho F, Fernandes E, et al. Immunomodulatory Effects of Flavonoids in the Prophylaxis and Treatment of Inflammatory Bowel Diseases: A Comprehensive Review. *Curr Med Chem*. 2018;25(28):3374–412.
7. Mahomoodally MF, Sadeer NB, Suroowan S, Jugreet S, Lobine D, Rengasamy KRR. Ethnomedicinal, phytochemistry, toxicity and pharmacological benefits of poison bulb – *Crinum asiaticum* L. *South African J Bot* [Internet]. 2021;136:16–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.06.004>
8. Sihombing YR, Fitri Siska. Activity Test of Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) on Lymphocyte Proliferation and Immunoglobulin G Expression as an Immunostimulatory Agent. *J Farm*. 2025;8(1):220–7.
9. Situmorang NB, Andy Febriady. Optimization of the Preventive Potential of Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) as a Natural Biofilter Against Cigarette Smoke Exposure Through TNF- α Expression. *J Farm*. 2025;8(1):228–35.

10. Anna R, Marbun T, Anggraeni R, Sihombing YR. Sosialisasi dan Edukasi Pemanfaatan Hydrogel Nanokitosan Ekstrak Belut Sawah (*Monopterus albus*) sebagai Kandidat Anti-Aging Masa Depan Berbasis Inovasi Bahan Alam Lokal Socialization and Education on Hydrogel Nanokitosan from Belut Sawah (*Monopterus al.* J PENGMAS KESTRA. 2025;5(December):225–30.
11. Chattaraj S, Das Mohapatra PK. Immunostimulatory and antagonistic potential of the methanolic extract of *Oedogonium intermedium* SCB in *Cirrhinus reba* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquac Int* [Internet]. 2024;32(3):2523–48. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01283-5>
12. Anna R, Marbun T, Rotua Sihombing Y, Anggraeni R. Anti-Aging Activity Test and Physical Stability Evaluation of NanoCream Containing Ethanolic Extract of Binara Herb (*Artemisia vulgaris* L.). *J Farm* [Internet]. 2026;8(2):1165–73. Available from: <https://ejournal.medistra.ac.id/index.php/JFM/article/view/3440>
13. Anna R, Marbun T, Sitorus P. Immunomodulatory effect of *Artemisia vulgaris* L. ethanol extract and its marker compound on antibody and cytokine release in non-immunosuppressed and immunosuppressed rats. *Trop J Nat Prod Res*. 2025;9(March):1228–31.
14. Chikkamath V, Kulkarni V, Habbu P, Nagappa AN. In vitro and In vivo Immunomodulatory Activity of Hydro Ethanolic Extract of *Grewia hirsuta* Vahl. *Int J Pharm Investig*. 2024;14(2):539–46.
15. Roszczyk A, Turło J, Zagożdżon R, Kaleta B. Immunomodulatory Properties of Polysaccharides from *Lentinula edodes*. *Int J Mol Sci*. 2022;23(16).