

**UJI *IN VITRO* AKTIVITAS IMUNOMODULATOR MINYAK ATSIRI
SERAI DAPUR (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP PROLIFERASI SEL
LIMFOSIT MENCIT**

**Gustria Ernis¹, Doni Notriawan², Dyah Fitriani³, Elvira Yunita⁴,
Inta Cantika⁵**
Universitas Bengkulu^{1,2,3,4,5}
gustriaernis@unib.ac.id¹

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator dari minyak atsiri serai dapur terhadap proliferasi sel limfosit mencit secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah destilasi uap untuk memperoleh minyak atsiri serai dapur. Isolasi sel limfosit diperoleh dari organ limpa Mencit Galur Swiss-Webster yang dilakukan secara aseptis. Uji proliferasi sel limfosit dilakukan dengan metode *MTT Assay* dan absorbansinya diukur menggunakan *ELISA reader* pada λ 550 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri serai dapur positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid/triterpenoid dengan rendemen minyak atsiri sebesar 0,043%. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri, nilai *Optical Density (OD)* yang diperoleh juga semakin tinggi, namun peningkatan *OD* pada konsentrasi 50 ke 100 $\mu\text{g/mL}$ tidak berbeda nyata. Simpulan, minyak atsiri serai dapur mempunyai aktivitas imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit mencit yang diuji secara *in vitro*.

Kata Kunci: Imunomodulator, Minyak Atsiri, Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*), Sistem Imun

ABSTRACT

This study aims to determine the immunomodulatory activity of lemongrass essential oil on the proliferation of mouse lymphocyte cells in vitro. The method used is steam distillation to obtain citronella essential oil. Isolation of lymphocyte cells was obtained from the spleen organ of Swiss-Webster strain mice which was carried out aseptically. The lymphocyte cell proliferation test was carried out using the MTT Assay method and the absorbance was measured using an ELISA reader at 550 nm. The results showed that the lemongrass essential oil contained positive alkaloids, flavonoids, saponins, and steroids/triterpenoids with an essential oil yield of 0.043%. The higher the volatile oil concentration, the higher the Optical Density (OD) value obtained, but the OD increase at a 50 to 100 g/mL concentration was not significantly different. In conclusion, lemongrass essential oil has immunomodulatory activity against lymphocyte cell proliferation in mice tested in vitro.

Keywords: Immunomodulator, Essential Oil, Lemongrass (*Cymbopogon citratus*), Immune System

PENDAHULUAN

Imunomodulator merupakan bagian terpenting dari proses pengobatan di tengah pandemi dan musibah yang terjadi saat ini. Imunomodulator membantu tubuh untuk mengoptimalkan fungsi sistem imun yang merupakan sistem utama yang berperan dalam pertahanan tubuh dari virus (Pembudi, 2020). Produk imunomodulator ini bisa dibuat dari bahan sintetik dan alami, yaitu dari tanaman.

Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan oleh masyarakat dalam meningkatkan sistem imun tubuh adalah serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dengan cara mengkonsumsi air rebusan serai ataupun dengan cara diseduh (Pramudita et al., 2020). Mudahnya serai untuk tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia, menjadikan serai sebagai tanaman yang mudah ditemukan di pekarangan rumah masyarakat Indonesia yang sering digunakan sebagai bumbu masakan.

Serai dapur mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, steroid, fenol, flavonoid, terpenoid, aldehid dan ester (Pradani & Nurindra, 2017). Sebelumnya telah dilaporkan bahwa serai dapur (*C. citratus*) memiliki aktivitas anti jamur (Yanti et al., 2020), antibakteri (Rita et al., 2018; Ilango et al., 2019) dan antioksidan (Jalaluddin et al., 2018). Namun, sejauh ini belum ada informasi tentang uji aktivitas imunomodulator minyak atsiri dari serai dapur (*C. citratus*) terhadap proliferasi sel limfosit secara *in vitro*. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan dengan harapan dapat menambah bukti secara ilmiah bahwa tanaman ini dapat digunakan sebagai imunomodulator untuk terapi pendamping pada penyakit infeksi yang dapat menurunkan respon imun (seperti COVID-19). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas imunomodulator dari tanaman serai dapur (*C. citratus*) terhadap proliferasi sel limfosit mencit secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Bahan Baku Serai Dapur

Tanaman serai dapur diambil dari daerah pematang said, kelurahan kandang limun, kecamatan muara bangkahulu, kota Bengkulu dengan mengambil “batang” yang berwarna putih. Pada langkah awal dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya, kemudian dilakukan pencucian.

Destilasi Minyak Atsiri Serai Dapur

Minyak atsiri serai dapur diperoleh secara destilasi uap dengan perlakuan bahan baku serai dalam bentuk utuh, tidak dirajang. Sebanyak 500 mg serai dapur segar utuh didestilasi menggunakan air hingga diperoleh minyak dan pelarut. Minyak atsiri dipisahkan dari pelarut menggunakan corong pisah dan dihitung rendemennya.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji fenol/tanin, uji saponin dan uji steroid/triterpenoid.

Uji Aktivitas Imunomodulator

Larutan uji diambil dari minyak atsiri serai dapur hasil ekstraksi dengan beberapa seri konsentrasi yaitu 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Isolasi sel limfosit diperoleh dari organ limpa Mencit Galur Swiss-Webster yang dilakukan secara aseptis. Mencit dikorbankan dengan dislokasi leher, dibaringkan terlentang, seluruh permukaan perut dan papan bedah dibasahi dengan menggunakan etanol 70%. Kulit mencit bagian abdomen dibuat irisan kecil dengan menggunakan gunting, dirobek ke arah dada dan paha dibantu dengan menggunakan pinset. Organ limpa diangkat dari selubung peritoneumnya dan diletakkan dalam petri dish berdiameter 50 mm yang berisi 10 mL medium RPMI.

Media RPMI dipompakan ke dalam limpa sehingga limfosit ikut keluar bersama media. Suspensi sel dimasukkan dalam tabung sentrifugasi 10 mL dan disentrifus pada 1200 rpm 4°C selama 5 menit. Pellet yang didapat disuspensikan dalam 5 mL buffer tris amonium klorida untuk melisiskan eritrosit. Sel dicampur hingga homogen dan didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit atau sampai warnanya berubah menjadi agak kekuningan. Sel ditambahkan RPMI ad 10 mL, disentrifugasi pada 1200 rpm 4°C selama 5 menit, supernatan dibuang. Pelet yang didapat dicuci 2 kali dengan RPMI. Sel dihitung dengan hemositometer. Selanjutnya sel limfosit siap untuk dikultur dalam inkubator pada suhu 37°C dan diuji aktivitasnya.

Sebanyak 100 μL sel limfosit (kepadatan $1.5 \times 10^6/\text{mL}$) masing-masing didistribusikan ke dalam sumuran mikroskop 96-wells dan ditambahkan vaksin hepatitis B sebanyak 10 μL /sumuran dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO_2 pada suhu 37°C . Selanjutnya ditambahkan 100 μL minyak atsiri serai dapur pada masing-masing kelompok konsentrasi (6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$). Masing-masing konsentrasi direplikasi sebanyak 3 kali. Kelompok kontrol dan perlakuan diinkubasi lagi selama 48 jam dan ditambahkan larutan 10 μL MTT 5 mg/mL. Selanjutnya diinkubasi lagi 4 jam pada suhu 37°C . Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi dengan MTT dihentikan dengan menambah reagen stopper yaitu larutan SDS 10% dalam asam klorida 0,01N sebanyak 100 μL pada tiap sumuran dan didiamkan sampai 24 jam. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan ELISA reader pada λ 550 nm.

HASIL PENELITIAN

Destilasi Minyak Atsiri Serai Dapur

Minyak atsiri serai dapur diperoleh dari destilasi uap langsung terhadap serai segar dalam bentuk utuh. Diperoleh rendemen minyak atsiri sebesar 0.043%.



Gambar 1. Hasil Minyak Atsiri Serai Dapur yang Diperoleh

Fitokimia Minyak Atsiri Serai Dapur

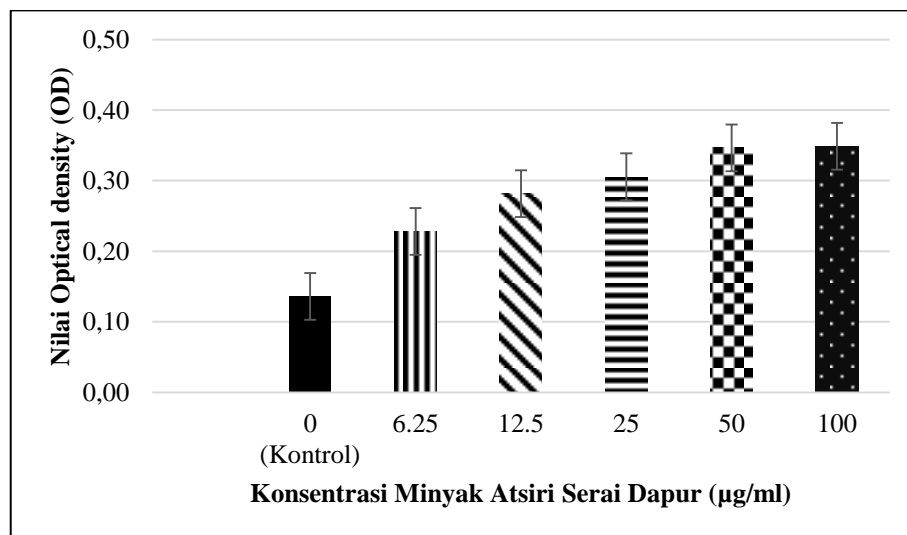
Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa minyak atsiri serai dapur positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti yang tercantum pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Minyak Atsiri Serai Dapur

Metabolit Sekunder	Minyak Atsiri Serai Dapur
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	+
Steroid/ Triterpenoid	+

Aktivitas Imunomodulator Minyak Atsiri Serai Dapur

Nilai *Optical Density* yang diperoleh dari ELISA reader dengan mode MTT Assay pada Panjang gelombang 550nm terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur swiss-webstern dengan pemberian minyak atsiri serai dapur berbagai konsentrasi dapat dilihat pada tabel berikut ini:



Gambar 2. Nilai OD Hasil ELISA Reader Proliferasi Sel Limfosit Mencit dengan Pemberian Minyak Atsiri Serai Dapur Berbagai Konsentrasi pada 550nm

PEMBAHASAN

Minyak atsiri serai dapur diperoleh setelah dilakukan pemisahan dengan air menggunakan corong pisah. Untuk memurnikan minyak atsiri dilakukan penambahan natrium sulfat anhidrat, sehingga molekul air akan terikat dan diperoleh minyak atsiri murni. Rendemen minyak atsiri yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 0.043%. Hasil rendemen ini masih jauh dari rendemen yang diharapkan. Sufyan et al., (2018) melaporkan dengan destilasi uap dapat menghasilkan rendemen minyak atsiri sebesar 0.12%, sedangkan (Rita et al., 2018) melaporkan dapat menghasilkan rendemen minyak atsiri sebesar 0.302%. Rendahnya rendemen yang dihasilkan diduga disebabkan oleh faktor penyulingan,

volume kepadatan bahan baku (sampel) saat penyulingan dan lingkungan tumbuh dari serai dapur tersebut.

Minyak atsiri serai dapur dari penelitian ini mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid, namun tidak mengandung tanin. Hal ini sedikit berbeda dengan hasil fitokimia dari ekstrak batang serai yang dilaporkan mengandung tanin, selain itu juga mengandung steroid, terpenoid, saponin, flavonoid dan fenolik (Zulfadhli et al., 2017). Perbedaan hasil ini bisa disebabkan oleh perbedaan lokasi pengambilan sampel dan juga metode isolasi sampel yang digunakan.

Pengujian aktivitas imunomodulator sampel uji (minyak atsiri serai dapur) terhadap proliferasi sel limfosit dilakukan dengan menggunakan metode MTT Assay. Pada prinsipnya, uji MTT ini berdasarkan perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide] (MTT) yang berwarna kuning menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup yang berwarna ungu. MTT dipecah melalui reaksi reduksi menjadi garam formazan oleh enzim suksinat dehidrogenase yang ada dalam mitokondria sel hidup (Ulfah et al., 2017). Garam formazan yang terbentuk inilah yang dikuantifikasi menggunakan ELISA reader pada Panjang gelombang 550 nm yang diperoleh berupa Optical Density (OD). Semakin tinggi absorbansi (OD) yang terukur, maka semakin tinggi juga jumlah sel yang hidup yang terdapat dalam kultur tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah kristal formazan yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel yang hidup.

Berdasarkan gambar 2, dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang diberikan, maka nilai OD juga semakin tinggi, yang menunjukkan jumlah sel yang hidup juga semakin banyak. Suatu senyawa dikatakan imunostimulator/imunomodulator jika suatu bahan tersebut dapat meningkatkan respon imun berupa peningkatan aktivitas proliferasi sel limfosit akibat pemberian vaksin (Ulfah et al., 2017). Hal ini dapat ditunjukkan pada konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 µg/mL. Namun pada konsentrasi 100 µg/mL, peningkatan proliferasi sel limfosit tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50 µg/mL, namun tetap mempunyai aktivitas imunomodulator karena Nilai OD lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Secara umum, mekanisme terjadinya proliferasi sel limfosit adalah ketika terjadi pengikatan antigen pada reseptor permukaan sel T bersama interleukin 1 (IL-1) dari *Antigen Presenting Cell* (APC) dapat mengaktifasi protein G yang kemudian mengaktifasi enzim fosfolipase C. Enzim fosfolipase C memecah fosfatidil inositol bifosfat (PIP2) menjadi diasilgliserol (DAG) dan trifosfat inositol (IP3) pada membran plasma. IP3 berdifusi dari membran ke sitosol dan berikatan dengan protein reseptor pada permukaan sitoplasmik *calcium-sequestering compartment*. Pengikatan ini menyebabkan peningkatan konsentrasi ion Ca^{2+} sitosol. Diasilgliserol dan peningkatan konsentrasi Ca^{2+} mengaktifasi enzim protein kinase C. Protein kinase C yang teraktifasi memfosforilasi atau memindahkan gugus fosfat ke residu serin atau treonin spesifik pada protein membran sehingga mengaktifasi pertukaran Na^+ , H^+ yang berakibat pada peningkatan pH. Peningkatan pH ini memberikan tanda pada sel untuk melakukan aktivitas proliferasi. Aktivasi protein kinase C akan menstimulasi produksi interleukin-2 (IL-2) yang mengaktifasi sel B atau sel T untuk berproliferasi (Rosyanti & Hadi, 2020). Pada penelitian ini, hasil pengujian secara in vitro

menunjukkan bahwa minyak atsiri serai dapur yang diperoleh dengan destilasi uap dapat mempengaruhi hasil proliferasi sel limfosit pada berbagai konsentrasi yang diujikan.

SIMPULAN

Minyak atsiri serai dapur (*Cymbopogon citratus*) mempunyai aktivitas imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit mencit. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri, nilai *Optical Density* (OD) yang diperoleh juga semakin tinggi. Namun peningkatan OD pada konsentrasi 50 ke 100 µg/mL menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

DAFTAR PUSTAKA

- Ilango, P., Suresh, V., Vummidi, A. V., Ravel, V., Chandran, V., Mahalingam, A., & Reddy, V. K. (2019). Evaluation of Antibacterial Activity of Lemongrass Oil Against Oral Clinical Isolates – An In vitro Study. *Pharmacognosy Journal*, 11(5), 1023–1028. <https://mail.phcogj.com/sites/default/files/PJ-11-5-127.pdf>
- Jalaluddin, J., Aji, A., & Nuriani, S. (2018). Pemanfaatan Minyak Sereh (*Cymbopogon nardus L*) sebagai Antioksidan pada Sabun Mandi Padat. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 7(1), 52–60. <https://ojs.unimal.ac.id/jtk/article/view/1170>
- Pembudi, P. A. (2020). Pandemi COVID-19: Refleksi Pentingnya Optimasi Lahan Pekarangan sebagai Penyokong Kemandirian Pangan dan Kesehatan Keluarga. *EnviroScienteeae*, 16(3), 408–423. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/es/article/download/9683/6723>
- Pradani, F. Y., & Nurindra, R. W. (2017). Daya Proteksi Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal SPIRAKEL (Sarana Penyebaran Informasi Kegiatan Litbang)*, 9(2), 60–67. <https://doi.org/10.22435/spirakel.v8i2.7648>
- Pramudita, M., Anggraini, D. D., Hidayat, N., Yuniardiningsih, E., Apriliyanti, M. D., Wangi, P., & Ma'rufi, I. (2020). Lumbung Pangan Sebagai Upaya Ketangguhan Pangan Masa Pandemi COVID-19 Desa Kabuaran Bondowoso. *Multidisciplinary Journal*, 3(1), 34–40. <http://www.proceeding.unindra.ac.id/index.php/sinasis/article/view/5332>
- Rita, W. S., Vinapriliani, N. P. E., & Gunawan, I. W. G. (2018). Formulasi Sediaan Sabun Padat Minyak Atsiri Serai Dapur (*Cymbopogon citratus DC.*) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 6(2), 152–160. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/cakra/article/download/46711/28156>
- Rosyanti, L., & Hadi, I. (2020). Respon Imunitas dan Badai Sitokin Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 Literatur Review. *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 11(02), 176–201. <https://jurnalmadanimedika.ac.id/index.php/JMM/article/download/122/82/>
- Sufyan, S., Jayuska, A., & Destiarti, L. (2018). Bioaktivitas Minyak Atsiri Serai Dapur (*Cymbopogon citratus DC.*) Stapf terhadap Rayap (*Coptotermes curvignathus sp.*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(3), 47–55. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/25254>

- Ulfah, M., Cahyani, V. S. N., & Kinasih, I. (2017). Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag dan Proliferasi Sel Limfosit Mencit Galur Balb/C yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B. *Momentum*, 13(2), 63–71. <https://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/MOMENTUM/article/download/2039/2069>
- Yanti, R., Nurdiawati, H., Cahyanto, M. N., & Pranoto, Y. (2020). Identifikasi Komponen dan Uji Potensi Anti Jamur Minyak Atsiri Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) terhadap Jamur Penghasil Aflatoksin. *AGRITEKNO (Jurnal Teknologi Pertanian)*, 9(2), 72–80. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2020.9.2.72>
- Zulfadhli, Z., Andila, I., Diana, F., & Rinawati, R. (2017). Pengaruh Ekstrak Batang Serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*. *Jurnal Akuakultura*, 1(1), 2579–4752. <http://jurnal.utu.ac.id/jakultura/article/view/511/425>