

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Paparan antigen dapat menyebabkan keseimbangan tubuh terganggu (Subowono, 1993). Antigen bisa berasal dari bakteri, virus, fungus, protozoa, dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada tubuh (Kresno, 2010). Untuk mengatasinya tubuh menggunakan mekanisme sistem imun spesifik yang lebih mampu dalam mengenali mikroorganisme patogen. Sistem pertahanan tubuh kedua yang berperan adalah sel limfosit (Andrian dan Sallusto, 2007).

Respon imun spesifik dicirikan mampu mengenali dan mengingat patogen atau antigen spesifik. Sel limfosit akan menjadi aktif ketika berinteraksi dengan antigen, sehingga menyebabkan terjadinya proliferasi sel limfosit dan mengaktifkan sel-sel efektor untuk mengeliminasi antigen yang masuk ke dalam tubuh. Jika sistem imun non spesifik dan spesifik tidak dapat melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh maka akan menyebabkan terjadinya penyakit dan menurunnya daya tahan tubuh (Andrian dan Sallusto, 2007). Keadaan demikian diperlukan agen imunomodulator untuk meningkatkan sistem imun.

Agen imunomodulator dapat berasal dari alam salah satunya daun jambu biji. Senyawa-senyawa yang dapat memodulasi sistem imun dapat diperoleh dari tanaman. Pengobatan alami merupakan bahan kajian dan sumber penting untuk mendapatkan senyawa obat baru (Wagner *et al.*, 1999). Penggunaan bahan alam sebagai obat secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat kimia,

karena dianggap mempunyai efek samping yang rendah jika digunakan secara tepat (Sari, 2006).

Daun jambu biji biasanya digunakan untuk mengobati penyakit diare (Fratiwi, 2015). Bahan aktif dari tanaman daun jambu biji diduga mempunyai kemampuan sebagai agen imunomodulator. Kandungan senyawa yang diduga sebagai agen imunomodulator adalah flavonoid dan vitamin C (Latief, 2012). Penelitian yang telah dilakukan Saifulhaq, M. (2009) bahwa flavanoid yang terkandung dalam ekstrak buah mahkota dewa terbukti sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B dan sel NK. Penelitian yang telah dilakukan Suhirman dan Winarti (2011) bahwa vitamin C dapat meningkatkan sistem imun.

Uji aktivitas imunomodulator ekstrak etanolik daun jambu biji pada penelitian ini, menggunakan metode *MTT Assay* untuk melihat efek pada sistem imun berupa peningkatan proliferasi sel limfosit. Meningkatnya proliferasi limfosit merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur status imunitas karena proses proliferasi menunjukkan kemampuan dasar dari sistem imun. Uji *MTT assay* memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat dan dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar (Mosmann, 1983).

Induksi vaksin hepatitis B merupakan suatu mitogen yang berupa virus untuk menimbulkan terjadinya respon imun humoral melalui pembentukan antibodi dan dapat merangsang respon imun seluler melalui aktivasi sel T (Radji, 2009). Suatu senyawa dikatakan sebagai imunomodulator, jika senyawa tersebut

mampu meningkatkan respon imun yang telah terbentuk sebelumnya akibat adanya paparan dari suatu antigen (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Flavonoid yang terkandung dalam tanaman dapat berupa flavonoid aglikon maupun flavonoid glikosida. Flavonoid glikosida adalah flavonoid yang mengikat gugus gula sehingga menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air (Markham, 1988). Pelarut etanol dapat digunakan untuk menyari zat yang kepolaran relatif tinggi sampai relatif rendah, karena etanol merupakan pelarut universal, etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat yang terlarut dan juga efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Ekstrak etanol daun jambu biji ini didapatkan melalui maserasi yang merupakan metode penyarian yang cocok untuk senyawa yang tidak tahan pemanasan dengan suhu tinggi dan sering dipakai untuk mengekstraksi bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus (Harborne, 1987; Voigt, 1994). Flavonoid dapat dideteksi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pereaksi penampak bercak uap amoniak dan dilihat pada panjang gelombang 254 dan 366 nm (Harborne, 1987).

Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian tentang ekstrak etanolik daun jambu biji sebagai imunomodulator terhadap proliferasi sel limfosit secara *in vitro*. Sehingga perlu dilakukan penelitian ini yang diharapkan dapat dijadikan sebagai bukti ilmiah mengenai manfaat ekstrak etanolik daun jambu biji terhadap sistem imun.

Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan diatas, maka permasalahan dalam penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanolik daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai aktivitas terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C yang diinduksi vaksin hepatitis B?
2. Apakah senyawa flavonoid terkandung dalam ekstrak etanolik daun jambu biji melalui identifikasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)?

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui aktivitas ekstrak etanolik daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C yang diinduksi vaksin hepatitis B.
2. Mengidentifikasi senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanolik tersebut dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai data ilmiah mengenai aktivitas ekstrak etanolik daun jambu biji terhadap proliferasi sel limfosit. Selain itu, juga dapat memberikan informasi tentang kandungan senyawa flavanoid dalam ekstrak etanolik tersebut.

E. Tinjauan Pustaka

1. Tumbuhan Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Jambu biji (*Psidium guajava* L.) bukan merupakan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini pertama kali ditemukan di Amerika Tengah oleh Nikolai Ivanovich Vavilov saat melakukan ekspedisi ke beberapa negara di Asia, Afrika, Eropa, Amerika Selatan, dan Uni Soviet antara tahun 1887-1942. Seiring dengan berjalannya waktu, jambu biji menyebar di beberapa negara seperti Thailand, Taiwan, Indonesia, Jepang, Malaysia, dan Australia. Di Thailand dan Taiwan, jambu biji menjadi tanaman yang dikomersilkan (Parimin, 2005).

a. Klasifikasi

Kedudukan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dalam sistematika tanaman (taksonomi) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: <i>Psidium</i>
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L. (BPOM RI, 2008)

b. Morfologi

Tanaman perdu dengan tinggi 3-10 m ini memiliki banyak cabang dan ranting. Tumbuh pada ketinggian 1-1.200 m diatas permukaan laut. Batang keras dengan permukaan kulit batang halus. Bunga kecil, berwarna putih, dan terdiri dari 1-3 bunga. Buah berbentuk bulat atau bulat telur. Jika sudah masak, buah berwarna hijau kekuningan. Daging buah mengandung banyak biji (Latief, 2012). Daun berupa daun tunggal berbentuk bulat telur dengan pertulangan menyirip. Ujung daun tumpul dan pangkalnya membulat. Tepi daun rata. Daun tumbuh saling berhadapan. Panjang daun 6-14 cm dan lebarnya 3-6 cm (BPOM RI, 2008). Daun jambu biji dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut :



Gambar 1. Daun Jambu Biji (Latief, 2012)

c. Kandungan Kimia

Daun jambu biji mengandung tanin, minyak atsiri seperti avikularin dan guajaverin. Selain itu daun jambu biji juga mengandung flavonoid, asam guayavolat, asam guavanoat, guajaverin dan vitamin C (Latief, 2012). Kuersetin, polifenolat, kuinon, saponin, alkaloid, leukosianidin, minyak atsiri, asam malat, dan asam oksalat (Oktiarni dkk, 2012; Sukardi dkk,

2012). Steroid dan hidrokuinon (Indriani, 2006). Asam Psidiolat, asam ursolat, asam katekonat, asam katekolat, isokuersetin, hiperin dan kasuarinin (Sudarsono, 2002).

a. Flavonoid

Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Istilah flavonoid dikenakan pada suatu golongan besar senyawa yang berasal dari kelompok senyawa yang paling umum yaitu senyawa flavon (Manitto, 1980; Ahmad, 1990).

Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Golongan terbesar flavonoid memiliki cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu dari cincin benzene, sistem penomoran untuk turunan flavonoid adalah (Robinson, 1995). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada gambar 2 sebagai berikut :



Gambar 2. Struktur kimia flavonoid (Robinson, 1995)

d. Khasiat

Daun Jambu biji telah diketahui memiliki banyak khasiat diantaranya sebagai antidiare (Fратиwi, 2015), antibakteri (Tampedje dkk.,

2016), antifertilitas (Ariani dkk., 2008), antiinflamasi (Anggraini, 2008), antikolesterol (Allo dkk., 2013), antioksidan (Indriani, 2006), meningkatkan trombosit (Rabbaniyah, 2015).

2. Sistem Imun

Sistem Imun adalah sistem perlawanan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan dari berbagai bahan dalam lingkungan hidup yang dapat menyebabkan infeksi. Respon imun tubuh terhadap benda asing dibagi menjadi dua yaitu respon imun alamiah (non adaptif atau non spesifik) dan respon imun adaptif (didapat atau spesifik) (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Respon imun non spesifik merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh tidak pernah terpapar zat tersebut dan telah ada sejak lahir. Sistem pertahanan tersebut merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi mikroba dan dapat memberikan respon langsung (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012; Kresno, 2010).

Respon imun spesifik merupakan respon imun didapat (*adaptiv atau acquired*) dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi jika tubuh sudah pernah terpapar sebelumnya (Kresno, 2010).

Sistem imun non spesifik dan spesifik jika tidak mampu melawan infeksi patogen yang masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan penyakit infeksi dan menurunnya sistem daya tahan tubuh (Andrian dan Sallusto, 2007). Komponen yang berperan pada sistem imun non spesifik yaitu fagosit

(makrofag), basofil, sel mast, sel darah merah dan sel NK (*Natural Killer cells*), sedangkan yang berperan dalam sistem imun spesifik yaitu sel limfosit (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

a. Sel Limfosit

Sel Limfosit merupakan sel yang berperan utama dalam sistem imun spesifik karena sel-sel ini dapat mengenal setiap jenis antigen, baik antigen yang terdapat intraseluler maupun ekstraseluler misalnya dalam cairan tubuh atau dalam darah (Kresno, 2010).

Limfosit berasal dari dua lokasi yang berbeda yaitu organ limfoid primer meliputi sumsum tulang untuk sel B dan timus untuk sel T serta organ limfoid sekunder meliputi limpa, getah bening, *Peyer's patches* pada saluran cerna dan amandel. Sistem limfatik berperan penting dalam perkembangan, diferensiasi serta fungsi limfosit (Ciesla, 2007). Untuk sel T pada imunitas selular dan sel B pada imunitas humoral (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

b. Proliferasi Sel Limfosit

Proliferasi adalah proses perbanyakan sel melalui pembelahan sel atau mitosis sebagai respon terhadap antigen atau mitogen. Pada proses tersebut dihasilkan sel-sel efektor aktif yang berperan pada respon spesifik atau non spesifik untuk eliminasi mikroorganisme patogen dan zat asing lainnya. Proliferasi merupakan dasar biologis limfosit. Proliferasi sel limfosit merupakan penanda adanya fase aktivasi dari respon imun tubuh (Abbas *et al.*, 2007).

3. Imunomodulator

Imunomodulator adalah obat yang dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan yang fungsinya berlebihan. Obat golongan imunomodulator bekerja menurut 3 cara yaitu imunorestorasi, imunostimulasi, dan imunosupresi. Imunorestorasi dan imunostimulasi disebut imunopotensiasi atau *up regulation*, sedangkan imunosupresi disebut *down regulation* (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Imunorestorasi adalah suatu cara untuk mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu dengan memberikan berbagai komponen sistem imun, seperti imunoglobulin. Imunostimulasi disebut juga imunopotensiasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem imun. Bahan yang meningkatkan respon imun disebut imunostimulator. Imunostimulator dapat berupa imunostimulan biologis meliputi hormon timus, limfokin, interferon, dan antibodi monoklonal dan imunostimulan sintesis meliputi levamisol, isoprenosin dan muramil dipeptida. Imunosupresi adalah suatu tindakan untuk menekan respon imun. Kegunaannya di klinik terutama pada transplantasi untuk mencegah reaksi penolakan dan berbagai penyakit inflamasi yang menimbulkan kerusakan atau gejala sistemik, seperti autoimun atau auto-inflamasi. Contoh imunosupresan adalah steroid dan siklosporin (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Imunomodulator yang digunakan dari bahan sintesis dapat menimbulkan efek samping pada sebagian orang, maka imunomodulator dari bahan alam dapat menjadi pilihan alternatif karena lebih aman dan terjangkau.

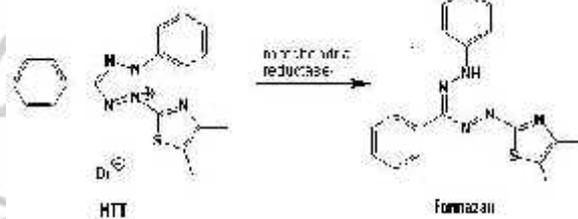
Bahan alam yang digunakan sebagai obat, sebagian besar memiliki mekanisme kerja sebagai imunostimulator (Kumar *et al.*, 2011). Bahan alam yang telah diteliti dan mempunyai efek sebagai imunomodulator adalah *Echinacea purpurea*, meniran, buah mengkudu, pegagan, sambiloto dan bunga rosella.

Senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun yaitu golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E (tokoferol) dan katekin (Suhirman dan Winarti, 2011). Vitamin C dan vitamin E yang terkandung dalam sayur dan buah dapat meningkatkan proliferasi sel limfosit (Zakaria dkk., 2000). Flavanoid yang terkandung dalam ekstrak buah mahkota dewa terbukti sebagai imunomodulator dari bahan alam (Saifulhaq, M. 2009).

4. Uji Aktivitas Imunomodulator dengan MTT *Essay*

Pengamatan jumlah sel yang mati dan tingkat proliferasi sel limfosit yang telah ditambahkan mitogen dapat diamati menggunakan pewarna MTT (*3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) atau terazole. Prinsip dari metode ini adalah konversi dari garam tetrazolium (MTT) yang berwarna kuning menjadi senyawa formazan yang berwarna biru oleh aktivitas enzim suksinat dehidrogenase oleh mitokondria sel hidup. Metode MTT ini menggunakan enzim atau substrat yang spesifik (Davis, 1994). Senyawa yang terbentuk kemudian dihitung absorbansinya menggunakan *microplate reader*. Enzim suksinat dehidrogenase merupakan enzim yang disintesis hanya pada sel hidup. Jumlah formazan yang dihasilkan proporsional dengan jumlah sel limfosit yang hidup sehingga dengan metode pewarnaan MTT dapat diketahui jumlah sel limfosit hidupnya.

Metode ini dapat digunakan untuk mengukur sitotoksitas, proliferasi atau aktivasi. Hasilnya dapat dibaca pada spektrofotometer *scanning multiwell* (ELISA reader). Keuntungan utama dari uji kolorimetri adalah kecepatan dan presisi dan kurangnya radioisotope (Mosmann, 1983). Reduksi tetrazolium MTT menjadi garam formazan MTT dapat dilihat pada Gambar 3 sebagai berikut:



Gambar 3. Reduksi garam MTT menjadi kristal MTT formazan (Mosmann, 1983)

5. Imboost

Imboost adalah terapi penunjang yang digunakan untuk stimulasi sistem imun. Setiap tablet imboost mengandung *Echinacea purpurea* 250 mg, *Zinc Picolinate* 10 mg. *Echinacea sp* yang terkandung dalam Imboost merupakan imunomodulator sehingga dapat meningkatkan respon imunitas seluler. Khasiat *Echinacea* diantaranya sebagian besar bekerja pada sistem imun non-spesifik, karena itu mungkin mengatur fungsi imun di dalam alergi dan autoimun, mempertinggi daya tahan pada infeksi, terutama pada bagian atas pernafasan, membantu dalam penyembuhan dari kemoterapi, dan anti inflamasi (Milss and Bone, 2000).

Echinacea purpurea 250 mg merupakan dosis imunomodulator pada penggunaan manusia. Pada mencit dosis yang digunakan adalah dosis manusia

yang telah dikonversikan. Pada penelitian Prastiwi *et al.* (2015), tentang aktivitas imunomodulator ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol biji jinten hitam (*Nigella sativa* L.) menggunakan imboost sebagai kontrol positifnya dengan dosis pada mencit 0,65 mg/20grBB/hari.

6. Induksi Vaksin Hepatitis B

Vaksin hepatitis B terdiri atas partikel antigen permukaan hepatitis B yang dinaktifkan (HbsAg) dan diabsorpsi dengan tawas, dimurnikan dari plasma manusia atau karier hepatitis. Vaksin dewasa ini sudah diganti dengan vaksin rekombinan. Produksi vaksin hepatitis B dari jamur dengan teknik rekombinan, merupakan cara yang lebih mudah untuk memproduksi vaksin dalam jumlah besar dan aman dibanding dengan yang diproduksi dari serum (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Vaksin hepatitis B merupakan suatu mitogen yang berasal dari virus untuk menimbulkan terjadinya respon imun terhadap sel limfosit tersebut. Suatu senyawa dikatakan sebagai imunomodulator, jika senyawa tersebut mampu meningkatkan respon imun yang telah terbentuk sebelumnya akibat adanya paparan dari suatu antigen (Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

7. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian pemindahan zat aktif yang semula berada di dalam simplisia, kemudian ditarik oleh cairan penyari tertentu sehingga terjadi pelarutan zat aktif dalam cairan penyari (Depkes, 2000). Metode ekstraksi dan pelarutnya dipilih berdasarkan sifat dari senyawa kimia yang ingin disari (Ansel, 1989).

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali pengeringan. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari suatu simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut tertentu yang cocok (Depkes, 2000).

Metode ekstraksi ada beberapa macam, salah satunya yaitu maserasi. Maserasi adalah proses pengestraksi simplisia dimana serbuk simplisia direndam dalam suatu bejana bermulut lebar dengan suatu pelarut tertentu sampai meresap ke dalam dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan diluar sel maka larutan yang terpekat didesak keluar sehingga zat aktif mudah melarut. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15°-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut akan terlarut (Ansel, 2008).

Keuntungan penyarian dengan maserasi adalah pengerjaannya dan alat yang digunakan sederhana, mudah digunakan, dan murah. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya yang memakan waktu lama dan penyarian yang kurang sempurna (Depkes, 1986).

8. Cairan Penyari

Cairan penyari merupakan pelarut yang baik (optimum) pada suatu proses ekstraksi untuk melarutkan metabolit sekunder yang terkandung dan dipilih cairan penyari yang sesuai (Anonim, 2000). Cairan penyari harus memiliki toksisitas rendah, tidak mudah terbakar dan meledak (Seidel, 2006).

Selain itu, cairan penyari harus memenuhi syarat kefarmasian (*pharmaceutical grade*). Jenis penyari yang biasa digunakan adalah air dan alkohol (etanol, metanol) (Anonim, 2000).

Keuntungan menggunakan cairan penyari etanol, antara lain lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan, membutuhkan panas untuk pemekatan sedikit (Anonim, 1986). Kerugian menggunakan cairan penyari etanol adalah harganya mahal (Anonim, 1986).

Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, lemak, malam, tanin dan saponin hanya sedikit larut (Anonim, 1986).

9. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis atau Thin Layer Chromatography adalah teknik analisis sederhana untuk memisahkan komponen secara cepat berdasarkan prinsip partisi dan adsorpsi. Kromatografi lapis tipis terbuat dari lempeng gelas atau logam yang tahan karat atau lempengan tipis yang cocok sebagai penyangga (Roth and Gottfried, 1994).

Prinsip Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah pemisahan secara fisikokimia. Fase diam terdiri dari bahan yang berbutir-butir, ditempatkan dalam penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh di dalam bejana yang ditutup rapat berisi fase gerak. Pemisahan terjadi selama pengembangan, senyawa berwarna

akan terdeteksi. Penyerap yang umum digunakan yaitu silika gel, aluminium oksida, kieselguhr, selulosa dan turunannya, poliamida, dan lain-lain. Silika gel merupakan penyerap yang banyak digunakan karena mempunyai pemisahan yang baik. Zat penyerap dilapiskan secara merata pada penyangga dengan ketebalan lapisan 0,1-1,3 mm (Stahl, 1985).

Pemisahan suatu senyawa yang dipisahkan Pemisahan suatu senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis tergantung pada jenis pelarut, zat penyerap, dan sifat daya serap masing-masing komponen. Komponen terlarut akan terbawa oleh fase diam (penyerap) dengan kecepatan Bergeraknya komponen terlarut dalam fase gerak (pelarut) merupakan dasar untuk mengidentifikasi komponen yang dipisahkan perbandingan kecepatan tersebut dinyatakan dengan R_f (*Rate of flow*), dengan persamaan (Sastrohamidjojo, 2005):

$$R_f = \frac{\text{jarak noda dari tempat penotolan}}{\text{jarak elusi}}$$

E. LANDASAN TEORI

Paparan antigen dapat menyebabkan keseimbangan tubuh terganggu. Antigen bisa berasal dari bakteri, virus, fungus, protozoa, dan parasit yang dapat menyebabkan infeksi pada tubuh. Jika sistem imun non spesifik dan spesifik tidak dapat melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh maka akan menyebabkan terjadinya penyakit dan menurunnya daya tahan tubuh. Keadaan demikian diperlukan agen imunomodulator untuk meningkatkan sistem imun. Agen imunomodulator dapat berasal dari bahan alam salah satunya daun jambu biji.

Bahan aktif dari tanaman daun jambu biji diduga mempunyai kemampuan sebagai agen imunomodulator. Kandungan senyawa dalam daun jambu biji antara lain mengandung tanin, minyak atsiri seperti avikularin dan guajaverin. Selain itu daun jambu biji juga mengandung flavonoid, asam guayavolat, asam guavanoat dan guajaverin (Latief, 2012). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak buah mahkota dewa terbukti sebagai imunomodulator dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B dan sel NK (Saifulhaq, M. 2009).

F. HIPOTESIS

1. Ekstrak etanolik daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai aktivitas terhadap proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C yang diinduksi vaksin Hepatitis B
2. Ekstrak etanolik daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung senyawa flavonoid.