

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN EKSPRESI PROTEIN p53 DAN
Bcl-2 EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN YAKON (*Smallanthus
sonchifolius*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D**

TESIS

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat sarjana Strata-2

Program Pascasarjana Ilmu Farmasi

Minat Farmasi Sains



Oleh :

**Lidia Kurniawati
SBF141810193**

**PROGRAM STUDI S2 ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2020**

PENGESAHAN TESIS

Berjudul

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN EKSPRESI PROTEIN p53 DAN Bcl-2
EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN YAKON (*Smallanthus sonchifolius*)
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D**

Oleh :

Nama : Lidia Kurniawati

NIM : SBF141810193

Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal: 28 Januari 2020

Mengetahui,

Fakultas Farmasi Universitas setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt

Penguji:

1. Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M. Si

1 ...

2. Dr. Jason Merari P, MM, M.Si., Apt

2 ...

3. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt

3 ...

4. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt

4 ...

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian karya ilmiah/tesis orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Januari 2020



Penulis

HALAMAN PERSEMBAHAN

Yeremia 29 : 11

Sebab Aku ini mengetahui rancangan-rancangan apa yang ada pada-Ku mengenai kamu, demikianlah firman TUHAN, yaitu rancangan damai sejahtera dan bukan rancangan kecelakaan, untuk memberikan kepadamu hari depan yang penuh harapan.

Tesis ini saya persembahkan untuk :

1. Tuhan Yesus
2. Cipta Family
3. Uli, Y3PN, Luchas, indomie squad dan semua yang selalu mendukung dalam doa
4. Teman-teman S2 farmasi sains, khususnya ayu dan marin
5. Semua dosen Universitas Setia Budi

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas segala berkat, rahmat, dan tuntunan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul “UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN EKSPRESI PROTEIN P53 DAN BCL-2 EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN YAKON (*Smallanthus sonchifolius*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D” Penyusunan tesis ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Magister Farmasi Sains di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Banyak hal yang penulis dapatkan dalam proses pembuatan tesis ini baik berupa bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini dengan tulus penulis mengucapkan terimah kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi di Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc.,Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.
3. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
4. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan tesis ini. vi
5. Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M. Si dan Dr. Jason Merari P, Apt., MM, M.Si., Apt selaku tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan tesis ini.
6. Dosen, asisten dosen dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi terimakasih buat bantuan dan kerjasamanya.
7. Kedua orang tua yang tak pernah berhenti mendoakan dan memberikan dukungan.
8. Untuk sahabat-sahabat terbaikku terima kasih untuk waktu, semangat dan dukungan yang kalian berikan. Teman – teman S2 Manajemen dan S2.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih banyak kekurangan dan kelamahan karena keterbatasan penulis untuk itu kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca untuk perkembangan dunia farmasi yang lebih baik.

Surakarta, 28 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN TESIS	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
E. Keaslian Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Yakon	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Nama lain & Nama lokal.....	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Khasiat	6
5. Kandungan Kimia.....	6
B. Metode Ekstraksi dan Fraksinasi Simplisia	6
1. Simplisia.....	6
2. Ekstraksi	6
3. Fraksinasi	7
C. Kanker Payudara	8
1. Epidemiologi Kanker Payudara.....	8
2. Faktor Resiko.....	8

3. Stadium kanker payudara	8
4. Siklus Sel.....	9
5. Pengobatan	10
D. Uji Sitotoksik	11
1. Prinsip Uji sitotoksik.....	11
2. Metode Haemocytometer	12
3. Metode MTT assay	12
E. Imunositokimia	13
F. Landasan Teori.....	14
G. Hipotesis	16
H. Kerangka konsep	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Populasi dan Sampel.....	17
B. Variabel Penelitian	17
1. Identifikasi variabel utama	17
2. Klasifikasi variabel utama	17
3. Definisi operasional variabel utama	17
C. Alat dan Bahan.....	18
1. Alat.....	18
2. Bahan	18
2.1 Bahan sampel.....	18
2.2 Bahan untuk uji sitotoksik dan imunositokima	18
D. Jalannya Penelitian	19
1. Identifikasi tanaman yakon	19
2. Pengambilan sampel	19
3. Pembuatan serbuk	19
4. Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun yakon.....	19
5. Penetapan kadar air ekstrak daun yakon	19
6. Pembuatan ekstrak etanol dan fraksi ekstrak etanol daun yakon.....	20
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak berdasarkan pereaksi warna.	21
7.1 Flavonoid.....	21
7.2 Saponin.....	21
7.3 Alkaloid.....	22
7.4 Triterpen.....	22
8. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun yakon secara KLT	22
9. Uji aktivitas ekstrak dan fraksi daun yakon	22
9.1 Sterilisasi LAF.....	22
9.2 Sterilisasi alat.....	23
9.3 Pembuatan medium kultur.....	23
9.4 Pencairan sel.....	23
9.5 Pemanenan sel T47D dan sel Vero	23

9.6	Perhitungan sel T47D dan sel Vero	23
9.7	Pembuatan larutan uji.....	24
9.8	Pengujian MTT.....	24
9.9	Uji Ekspresi protein p53 dan Bcl-2 dengan Metode Imunositokimia.....	25
E.	Analisis Data.....	25
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	27
1.	Identifikasi tanaman.....	27
2.	Hasil pengeringan dan pembuatan serbuk.....	27
3.	Hasil pembuatan ekstrak dan fraksi daun yakon	27
4.	Hasil presentase rendemen ekstrak	28
5.	Karakteristik serbuk dan ekstrak daun yakon.....	28
5.1	Identifikasi.....	28
5.2	Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun yakon.....	28
5.3	Penetapan kadar air ekstrak daun yakon.....	28
6.	Identifikasi kualitatif kandungan ekstrak daun yakon	29
7.	Hasil identifikasi golongan senyawa secara KLT	29
8.	Hasil uji sitotoksik ekstrak dan fraksi daun yakon	31
9.	Hasil Uji Ekspresi p53 dan Bcl-2 dengan metode Imunositokimia.....	35
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
A.	Kesimpulan	40
B.	Saran	40
BAB VI	RINGKASAN.....	41
A.	Latar Belakang	41
B.	Metode Penelitian.....	41
C.	Hasil Dan Pembahasan	43
D.	Kesimpulan	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	50
	Fase diam : Silika Gel GF254	55
	Fase gerak : n-heksan : etil asetat (1:1).....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Yakon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	5
Gambar 2. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Mosmann, 1983).....	13
Gambar 3. Kerangka Konsep	16
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak dan fraksinasi daun yakon	21
Gambar 5. Sel T47D sebelum perlakuan (a) dan sel T47D yang hidup dan membentuk Kristal formazan.	32
Gambar 6. Grafik hubungan % viabilitas dan konsentrasi.....	32
Gambar 7. Hasil pengamatan ekspresi protein p53. (a) kelompok sel, (b) kontrol positif, (c) konsentrasi ekstrak 73,47 µg/mL, (d) konsentrasi fraksi etil asetat 56,84 µg/mL. Pengamatan di bawah mikroskop cahaya.	36
Gambar 8. Hasil pengamatan ekspresi protein Bcl-2. (a) kontrol sel, (b) Kontrol positif, (c) konsentrasi ekstrak 73,47 µg/mL, (d) konsentrasi fraksi etil asetat 56,84 µg/mL. Pengamatan di bawah mikroskop cahaya.	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun yakon	27
Tabel 2. Presentase rendemen ekstrak dan fraksi daun yakon	27
Tabel 3. Hasil uji organoleptis serbuk dan ekstrak daun yakon.....	28
Tabel 4. Hasil penetapan kadar air daun yakon	29
Tabel 5. Hasil reaksi warna ekstrak daun yakon	29
Tabel 6. Hasil identifikasi flavonoid secara KLT	30
Tabel 7. Hasil identifikasi alkaloid secara KLT.....	30
Tabel 8. Hasil identifikasi triterpenoid secara KLT	31
Tabel 9. Hasil perhitungan IC_{50} T47D.....	33
Tabel 10. Hasil perhitungan IC_{50} Sel Vero	34
Tabel 11. Hasil Indeks Selektivitas	35
Tabel 12. Hasil persen ekspresi p53	37
Tabel 13. Hasil persen penghambatan Bcl-2	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Identifikasi daun yakon	51
Lampiran 2. Hasil identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak.....	52
Lampiran 3. Hasil uji kandungan senyawa dengan metode KLT.....	53
Lampiran 4. Ethical clearance	55
Lampiran 5. Alat dan bahan	56
Lampiran 6. Pembuatan larutan stock untuk MTT assay.....	57
Lampiran 7. Pembuatan larutan stock untuk ICC.....	60
Lampiran 8. Hasil MTT assay pada sel T47D.....	61
Lampiran 9. Hasil MTT assay sel vero	69
Lampiran 10. Hasil Imunositokimia	77
Lampiran 11. Hasil SPSS	81

INTISARI

KURNIAWATI, L., 2020. UJI AKTIVITAS DAN EKSPRESI PROTEIN p53 DAN Bcl-2 EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN YAKON (*Smallanthus sonchifolius*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D, THESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun yakon merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak daun yakon, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) terhadap sel T47D dan mengetahui pengaruh ekspresi protein p53 dan Bcl-2 pada pemberian fraksi aktif daun yakon.

Ekstrak diperoleh dengan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 70%. ekstrak etanol kemudian difraksinasi dengan partisi cair-cair. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan sel kanker T47D dan sel vero dengan metode MTT *assay* dan dibaca absorbansi nya dengan ELISA *reader*. Untuk mengetahui pengaruh ekspresi protein p53 dan Bcl-2 dilakukan uji imunositokimia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi etil asetat daun yakon memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC₅₀ 73,47 µg/mL dan 56,84 µg/mL, sedangkan fraksi air dan fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai IC₅₀ >100µg/mL. Ekstrak daun yakon mampu meningkatkan ekspresi protein p53 dan Bcl-2 pada konsentrasi 36,73 µg/mL - 146,94 µg/mL dan fraksi etil asetat mampu meningkatkan ekspresi protein p53 dan Bcl-2 pada konsentrasi 28,42 µg/mL - 113,68 µg/mL.

Kata kunci : Daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*), Sitotoksik, Ekspresi p53 dan Bcl-2, Sel kanker payudara T47D.

ABSTRACT

KURNIAWATI, I., 2020, CITOTOXIC ACTIVITIES AND EXPRESSION OF GENES p53 AND Bcl-2 EXTRACT AND FRACTION OF YACON LEAF (*Smallanthus sonchifolius*) TO T47D BREAST CANCER CELLS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY.

Yacon leaves are plants that can be used as an alternative cancer treatment. The aim of this study was to determine the cytotoxic activity of extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on T47D cells and to determine the effect of expression of p53 and Bcl-2 on yacon leaf active fraction (*Smallanthus sonchifolius*).

The extract was obtained by the soxhletation method with 70% ethanol solvent. ethanol extract is then fractionated with liquid-liquid partition. Cytotoxic tests were carried out using T47D cancer cells and vero cells with the MTT assay method and read the absorbance with an ELISA reader. To determine the effect of p53 and Bcl-2 protein expression, immunocytochemical tests were performed.

The results showed that the extract and ethyl acetate fraction of yacon leaf had cytotoxic activity against T47D breast cancer cells with IC₅₀ values of 73,47 /g / mL and 56,84 /g / mL, while the water fraction and n-hexane fraction did not have cytotoxic activity with an IC₅₀ value > 100µg / mL. Yacon leaf extract is able to increase the expression of p53 and Bcl-2 protein at a concentration of 36,73 µg / mL - 146,94 µg / mL and the ethyl acetate fraction can increase the expression of p53 and Bcl-2 proteins at a concentration of 28,42 µg / mL - 113,68 µg / mL.

Keywords: Yacon leaf (*Smallanthus sonchifolius*), Cytotoxic, P53 and Bcl-2 expression, T47D breast cancer cells.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia dikenal memiliki banyak keanekaragaman hayati. Berbagai macam keanekaragaman hayati tersebut ada yang berpotensi sebagai obat. Secara empiris penggunaan tanaman sebagai obat herbal sudah digunakan cukup lama. Salah satu potensi tanaman sebagai obat yaitu sebagai antikanker. Kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia. Pada 2012 ada 8,2 juta kematian di dunia, 14,6 % dikaitkan karena kanker (*Torre et al.*, 2015). Di Indonesia kanker dengan prevalensi terbesar adalah kanker payudara. Kanker payudara termasuk ke dalam kanker yang memiliki tingkat kejadiannya 30%, mengalahkan kanker serviks yang memiliki tingkat kejadian 24% (Depkes RI, 2013).

Pengobatan kanker payudara diantaranya tindakan pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi (Kemenkes RI, 2015). Doksorubisin adalah pilihan pertama kemoterapi untuk kanker payudara (Dipiro, 2009). Pengobatan kanker dengan kemoterapi dan radioterapi memiliki efek samping yang terjadi selama masa pengobatan. Hal tersebut yang menjadi alasan untuk dikembangkannya antikanker alami dari bahan alam atau derivatnya (*Newman et al.*, 2012). Sebagai contoh bahan alam atau turunannya yang teruji klinis sebagai anti kanker adalah artemisin, dan thapsigargin yang berasal dari turunan laktone sesquiterpen (*Ghantuous et al.*, 2010).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antikanker adalah yakon (*Smallanthus sonchifolius*), tumbuhan ini berasal dari Pegunungan Andes, Peru (*Lachman et al.*, 2003). Studi fitokimia daun yakon menunjukkan adanya kandungan flavonoid, dan senyawa fenolik (*Hong et al.*, 2008). Flavonoid terbukti sebagai agen antikanker, mekanismenya yaitu dengan induksi apoptosis melalui downregulasi dari Bcl-2 (*Ren et al.*, 2003). Dari hasil penelitian sebelumnya ekstrak yakon terbukti sebagai antikanker, mekanismenya yaitu menginaktivasi sel hela melalui jalur penundaan siklus sel pada fase G2 dan M

dan menginduksi apoptosis, aktivasi caspase 3/7 (Kitai, *et al.*, 2016). Potensi yakon inilah yang mendasari untuk dikembangkan sebagai antikanker.

Sebagai wujud pengembangan tersebut dibuatlah ekstrak dan fraksi daun yakon. Pembuatan ekstrak dari suatu tanaman bertujuan untuk menarik kandungan zat aktif yang terdapat dari tanaman (Harbone, 1987). Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan kandungan zat aktif berdasarkan sifat kepolarannya (Hawkins, and Rahn, 1997). Potensi daun yakon sebagai anti kanker dapat diketahui melalui uji sel kanker menggunakan metode MTT assay untuk uji sitotoksik menggunakan sel kanker payudara T47D dan sel vero. Uji sitotoksik menunjukkan tentang konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup (Doyle *et al.*, 2000). Dari hasil MTT assay dibaca dengan ELISA reader sehingga diperoleh nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} dari sel T47D akan dibandingkan dengan sel vero, untuk mengetahui nilai indeks selektivitas larutan uji. Larutan uji dikatakan memiliki indeks selektivitas tinggi jika lebih dari 3 yang menunjukkan nilai keamanan larutan uji terhadap sel normal (Rahmawati *et al.*, 2016).

Mekanisme kerja dari tanaman sebagai antikanker dapat dilihat dari pengaruh protein yang mempengaruhi dalam terjadinya apoptosis, contohnya adalah protein p53 dan Bcl-2. Yakon mengandung flavonoid, flavonoid terbukti sebagai agen antikanker dengan mekanisme induksi apoptosis melalui downregulasi dari Bcl-2. Hal ini yang mendasari penelitian ini untuk menguji aktivitas sitotoksik dan ekspresi protein p53 dan Bcl-2 ekstrak dan fraksi daun yakon terhadap sel kanker payudara T47D.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang ada dalam penelitian ini, adalah sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D?

Kedua, Apakah ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki indeks selektivitas terhadap sel kanker payudara T47D dibanding dengan sel vero ≥ 3 ?

Ketiga, apakah ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) meningkatkan ekspresi protein p53 terhadap sel kanker payudara T47D?

Keempat, apakah ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) menurunkan ekspresi protein Bcl-2 terhadap sel kanker payudara T47D?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, menguji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) terhadap sel kanker payudara T47D.

Kedua, mengetahui ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki indeks selektivitas terhadap sel kanker payudara T47D dibanding dengan sel vero ≥ 3 .

Ketiga, mengetahui ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) meningkatkan ekspresi protein p53 terhadap sel kanker payudara T47D.

Keempat, mengetahui ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) menurunkan ekspresi protein Bcl-2 terhadap sel kanker payudara T47D.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat kepada dunia pendidikan, para peneliti, maupun masyarakat bahwa ekstrak dan fraksi daun yakon dapat digunakan sebagai antikanker yang mampu memberikan aktifitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan pengaruh ekstrak daun yakon pada protein p53 dan Bcl-2.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian tentang aktivitas ekstrak dan fraksi daun yakon dan ekspresi protein p53 dan Bcl-2 terhadap sel kanker payudara T47D belum pernah

dilakukan. Studi fitokimia daun yakon menunjukkan adanya flavonoid, dan senyawa fenolik (Hong *et al.*, 2008).

Studi efek sitotoksik yakon pada sel hela pernah dilakukan melalui jalur delay G2/M dan apoptosis. Mekanismenya yaitu adanya peningkatan presentase G2/M dari 14 % ke 22 % selama 24 jam dan 38,1 % untuk 48 jam dan menyebabkan kematian sel dari 1,9 % menjadi 5,1 % dalam 24 jam 10 % dalam 48 jam, meningkatkan aktifitas caspase (substrat yang menunjukkan enzim spesifik) diantaranya caspase 3/7, caspase 8 dan caspase 9, meningkatkan intensitas sitokrom c di sitosol yaitu dari 0,95 menjadi 1,34 yang menunjukkan translokasi dari sitokrom c di sitosol dan mempengaruhi caspase 9 dan caspase 3/7. Dari penelitian tersebut menunjukkan nilai IC_{50} 2,96 μ M dalam 24 jam dan 1.69 μ M dalam 48 jam (Kitai *et al.*, 2016).

Dalam penelitian ini diuji aktivitas ekstrak etanol daun yakon dan fraksinya. Daun yakon diekstraksi dengan pelarut etanol 70 % dengan menggunakan metode soxhletasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair, fraksinasi didasarkan pada perbedaan kepolaran dari dua pelarut yang saling tidak bercampur. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun yakon. Ekstrak dan fraksi daun yakon yang memiliki aktivitas sitotoksik dan indeks selektivitas lebih dari 3 pada sel kanker payudara T47D, maka dilanjutkan uji imunositokimia untuk melihat ekspresi protein p53 dan Bcl-2 setelah perlakuan.