

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Yakon**

##### **1. Sistematika tanaman**

Sistematika tanaman yakon (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Asterales

Familia : Asteraceae

Genus : *Smallanthus*

Species : *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl) H. Robinson

##### **2. Nama lain & Nama lokal**

Nama lain yakon yaitu : *Polymnia sonchifolia* dan *Polymnia edulis* (Bredemam, 1948). Nama lokal yakon di indonesia yaitu : tanaman insulin.

##### **3. Morfologi tanaman**



**Gambar 1. Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)**

Tanaman yakon berasal dari pegunungan Ades, Peru. Tanaman ini termasuk tanaman dari keluarga bunga matahari, dengan ciri berdaun hijau tua dengan struktur permukaan daun yang agak kasar dan berbulu, bunganya berwarna kuning berbentuk seperti bunga matahari, dan mempunyai umbi yang berwarna coklat dengan daging berwarna putih kekuningan.

#### **4. Khasiat**

Secara empiris daun yakon digunakan untuk antidiabetes, bagian yang dimanfaatkan untuk antidiabetes adalah bagian daun. Pada penelitian sebelumnya daun yakon menunjukkan aktifitas antifungi, antiinflamasi dan antibakteri (Inoue *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 2003). Studi efek sitotoksik daun yakon pada sel hela pernah dilakukan melalui induksi G2/M dan apoptosis, dengan nilai IC<sub>50</sub> 2,96  $\mu$ M dalam 24 jam dan 1,69  $\mu$ M dalam 48 jam. (Kitai *et al.*, 2016).

#### **5. Kandungan Kimia**

Daun yakon menunjukkan adanya kandungan flavonoid, dan senyawa fenolik (Hong *et al.*, 2008). Flavonoid termasuk dalam senyawa polifenol. Flavonoid mengandung quersetin yang berkhasiat sebagai antikanker (Ravishankar *et al.*, 2013).

### **B. Metode Ekstraksi dan Fraksinasi Simplisia**

#### **1. Simplisia**

Simplisia yaitu bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan, simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Gunawan & Mulyani 2004). Simplisia dibagi menjadi 3 yaitu Simplisia nabati yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman berupa isi sel yang dengan cara dikeluarkan dari selnya atau yang secara spontan keluar dari tanaman, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni, sebagai contoh adalah getah dari tanaman (Gunawan & Mulyani 2004). Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum merupakan zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004). Simplisia mineral yaitu bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berbentuk zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

#### **2. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang sesuai agar zat aktif yang

diinginkan dapat larut dalam jumlah maksimum dan sedikit mungkin untuk unsur yang tidak diharapkan (Ansel 1989). Metode ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan tujuan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna/mendekati sempurna dari zat aktif yang diinginkan (Ansel 1989). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah *soxhletasi*.

*Soxhletasi* dilakukan dengan cara bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantung dan dimasukkan ke dalam bagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja berkelanjutan. Wadah gelas yang yang terdapat kantung tersebut diletakkan diantara labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut diisi dengan bahan pelarut dan dipanaskan sehingga menguap dan mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipet. Terjadi kondensasi di dalamnya dan menetes ke atas bahan yang diekstraksi sambil menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan ditampung di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis turun ke dalam labu sehingga zat yang terekstraksi terakumulasi melalui penguapan bahan pelarut murni berikutnya (Voigt 1994).

### 3. Fraksinasi

Fraksinasi bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Senyawa yang bersifat polar akan terlarut difraksinasi dengan pelarut polar, senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan difraksinasi dengan pelarut non polar pula. Ekstrak akan difraksinasi dengan pelarut yang berbeda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara khusus akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, pada mulanya di sari dengan pelarut non polar kemudian disari pelarut kurang polar dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (harbone, 1987). N-heksana adalah pelarut non polar yang akan melarutkan minyak atsiri, lemak, dan asam lemak tinggi, triterpenoid, steroid, dan karotenoid (Depkes, 1987). Etil asetat adalah pelarut semi polar yang akan melarutkan alkaloid, senyawa fenolik meliputi fenol, asam fenolat, fenilpropanolamin, kumarin, dan derivatnya, xanton, flavonoid, dan stilben, komponen minyak atsiri tertentu dan

asam lemak (Depkes, 1987). Air adalah pelarut polar yang molarutkan garam alkaloid, glikosida, tannin, saponin dan gula (Depkes, 1987).

### **C. Kanker Payudara**

#### **1. Epidemiologi Kanker Payudara**

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). Salah satu contoh kanker adalah kanker payudara, kanker ini menempati urutan pertama dengan frekuensi relatif sebesar 18,6% berdasarkan *Pathological Based Registration* di Indonesia. Di Indonesia tahun 2010 diperkirakan angka kejadianya di Indonesia adalah 12/100.000 wanita, sedangkan di Amerika adalah sekitar 92/100.000 wanita dengan mortalitas yang cukup tinggi yaitu 27/100.000 atau 18 % dari kematian yang dijumpai pada wanita. Stadium dalam kanker payudara menentukan cara pengobatan yang tepat (Kemenker RI, 2015).

#### **2. Faktor Resiko**

Kanker payudara biasanya terjadi pada wanita usia lebih dari 50 tahun, riwayat keluarga dan genetik (Pembawa mutasi gen BRCA1, BRCA2, ATM, atau TP53 (p53)), riwayat menstruasi dini (<12 tahun), dan faktor lingkungan. Dapat dilakukan skrining payudara untuk mendeteksi adanya kanker, diantaranya pemeriksaan payudara sendiri (SADARI), Pemeriksaan payudara klinis (SADANIS), Pemeriksaan payudara klinis oleh petugas yang terlatih, Mammografi skrining, hal ini bertujuan menemukan kemungkinan adanya kanker payudara dalam stadium dini dan diharapkan akan menurunkan mortalitas (Kemenkes RI, 2015).

#### **3. Stadium kanker payudara**

Stadium pada kanker payudara terdiri dari stadium 0 sampai IV. Pada stadium 0 kanker in situ yang belum menginvasi membrane, tak ada metastasis kelenjar getah bening regional, tak ada metastasis jauh. Pada stadium ini belum muncul sel-sel abnormal pada saluran di payudara. Pada stadium I tumor berukuran 2 cm atau kurang pada dimensi terbesar, tanpa adanya nodus limfa, tak ada metastasis jauh. Pada stadium I angka peluang kesembuhan secara sempurna

adalah 70 %. Pada stadium II tumor primer tidak terbukti, metastasis pada kelenjar getah bening aksila ipsilateral level I dan II yang masih dapat digerakkan, tak ada metastasis jauh. Pada stadium II peluang untuk sembuh hanya 30 - 40 % tergantung dari luasnya penyebaran sel kanker.

Pada stadium III tumor primer tidak terbukti, metastasis pada kelenjar getah bening aksila ipsilateral yang terfiksir atau matted, atau kelenjar getah bening mamaria interna yang terdekteksi secara klinis, jika tidak terdapat metastasis kelenjar getah bening aksila secara klinis., tak ada metastasis jauh. Pengobatan biasanya dengan radioterapi dan kemoterapi, tidak jarang dilakukan operasi untuk mengangkat bagian payudara yang sudah parah. Hal ini bertujuan untuk menghambat proses penyebaran sel kanker dalam tubuh serta untuk meringankan gejala yang dirasakan penderita (Smeltzer & Bare 2002). Pada stadium IV tumor berukuran apapun dengan ekstensi langsung ke dinding dada / kulit, metastatis pada kelenjar getah bening (KGB) infraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB aksila, atau pada KGB mamaria interna yang terdekteksi secara klinis dan jika terdapat metastasis KGB aksila secara klinis; atau metastasis pada KGB supraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB aksila atau mamaria interna, terdapat Metastasis jauh.

#### **4. Siklus Sel**

Siklus terjadi di seluruh jaringan yang memiliki pergantian sel (Junquiera *et al.*, 1998). Siklus sel terdiri dari mitosis (pembelahan sel) dan interphase. Fase mitosis terjadi pembagian nucleus dan sitoplasma sel dan terbentuk 2 sel anak (Manson *et al.*, 2006; Gartner *et al.*, 2007). Fase interphase adalah interval antara pembelahan selama sel menjalankan fungsinya dan mempersiapkan mitosis (Manson *et al*, 2006). Selain terjadi replikasi materi genetik, ukuran dan isi sel juga bertambah (Gartner *et al.*, 2007). Interphase terdiri dari 3 fase, yaitu: fase G1 (presintesis), S (sintesis DNA) dan G2 (post duplikasi DNA) (Junqueira *et al.*, 2003). Sel sel yang tidak membelah terus menerus (sel neuron dan sel otot), aktivitas sel (sementara ataupun tetap) tidak melalui siklus interfase dan tetap dalam fase istirahat, yaitu fase G0 (Junqueira *et al.*, 2003; Manson *et al.*, 2006).

Sel anak yang terbentuk selama mitosis selanjutnya akan memasuki fase G1. G1 berlangsung sangat cepat Untuk sel-sel yang cepat membelah (sel-sel embrionik) sedangkan fase G1 berlangsung sangat lama untuk sel-sel lain (fibroblast, spermatogonia prepubertal). sehingga diperkirakan berada dalam fase G0 (Henrikson *et al.*, 1997). Terjadi pembentukan makromolekul yang penting untuk dimulainya duplikasi DNA dalam fase G1. Selain itu untuk replikasi DNA, sel juga mensintesis RNA, protein regulator yang penting dan enzym untuk membawa keluar aktivitas sintesis ini, ketika mitosis volume sel yang berkurang karena pembelahan sel kembali normal. Nucleolid juga terbentuk kembali, mulai terjadi duplikasi centrioles.

Proses duplikasi centrioles ini baru sempurna pada fase G2. Beban mekanis (teregangnya otot polos), cidera pada jaringan (iskemia), dan kematian sel adalah Faktor-faktor yang memicu sel memasuki siklus sel yang mengakibatkan pelepasan ligand oleh sel-sel 5 signaling pada jaringan yang terlibat. Ligand ini adalah growth factor yang secara tidak langsung menginduksi protooncogen, yaitu suatu gen yang berperan dalam mengatur proliferasi sel (Gartner *et al.*, 2007). Ligand berikatan dengan *cell surface receptor* protein dari sel target dan mengaktifasi salah satu jalur transduksi signal. Signal terbanyak yang diterima pada permukaan sel adalah protein kinase sitoplasma, bertugas mengaktifasi serangkaian faktor transkripsi yang mengendalikan ekspresi protoonkogene dan akhirnya menghasilkan pembelahan sel (Gartner *et al.*, 2007).

## 5. Pengobatan

Pengobatan kanker payudara dipengaruhi luasnya penyakit atau stadium.Terapi pada kanker payudara selain mempunyai efek terapi, juga mempunyai beberapa efek yang tak diinginkan, dalam memberikan terapi haruslah dipertimbangkan efek yang diinginkan dan efek yang tidak. Pengobatan kanker payudara diantaranya pembedahan, kemoterapi, terapi hormonal dan radioterapi. Terapi pembedahan terdiri dari terapi atas masalah lokal dan regional (Mastektomi, breast conserving surgery, diseksi aksila dan terapi terhadap rekurensi lokal/regional), terapi pembedahan dengan tujuan terapi hormonal (ovariektomi, adrenalektomi), terapi terhadap tumor residif dan metastase. Juga

bisa dilakukan metastasektomi mempunyai angka harapan hidup yang lebih panjang bila memenuhi indikasi dan syarat tertentu. Tindakan ini dilakukan pada kanker payudara dengan metastasis kulit, paru, hati, dan payudara kontralateral. Kemoterapi yang diberikan dapat berupa obat tunggal atau berupa gabungan beberapa kombinasi obat kemoterapi. Kemoterapi diberikan secara bertahap, dengan jangka waktu sebanyak 6 – 8 siklus agar mendapatkan efek yang diharapkan dengan efek samping yang masih dapat diterima.

Terapi hormonal diberikan pada pasien dengan hormonal positif. Terapi ini bisa diberikan pada stadium I sampai IV, dengan kasus kanker dengan luminal A (ER+,PR+,Her2-) pilihan terapi ajuvan pertamanya adalah hormonal, seperti tamoxifen, pemberian tamoxifen didahului sebelum pemberian aromatase inhibitor apalagi pada pasien yang sudah menopause dan Her2-. Pemberian ajuvan hormonal selama 5-10 tahun. Tatalaksana kanker payudara memerlukan radioterapi yang diberikan sebagai terapi kuratif ajuvan dan paliatif. Radioterapi meningkatkan kontrol lokal dan mengurangi angka kematian karena kanker payudara.

## **D. Uji Sitotoksik**

### **1. Prinsip Uji sitotoksik**

Keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker dapat diprediksi dengan uji sitotoksik. Yang menjadi dasar dari percobaan uji sitotoksik yaitu, sistem penetapan aktivitas biologi akan menghasilkan kurva dosis respon dan kriteria respon yang seharusnya menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel (Burger, 1970).

Hasil dari uji sitotoksik dapat menunjukkan informasi tentang konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup (Doyle *et al.*, 2000). Uji sitotoksik dilakukan dengan uji *in vitro* menggunakan kultur sel, kultur sel berguna untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Dengan uji sitotoksik dapat ditemukan kandungan senyawa yang berpotensi sebagai anti kanker. Uji ini merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel.

Metode in vitro memiliki beberapa keuntungan, yaitu mendukung dalam pengembangan suatu obat, metode yang cepat, memerlukan sedikit senyawa untuk pengujian, mengurangi penggunaan hewan uji dan dapat digunakan untuk penggunaan kultur sel primer dari bermacam-macam organ target (hati, paru-paru, ginjal, kulit, SSP) dan memberikan informasi tentang potensi efeknya pada sel target manusia secara langsung (Doyle *et al.*, 2000).

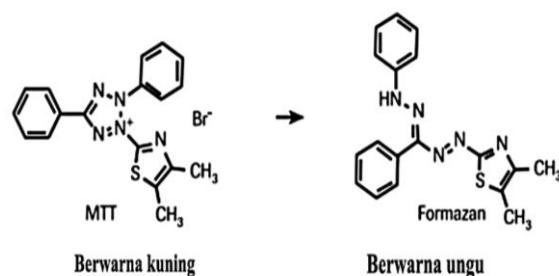
## 2. Metode Haemocytometer

Sel terlebih dahulu dihitung sebelum melakukan uji sitotoksik. Metode perhitungan sel yang banyak digunakan dalam penelitian sitotoksik adalah metode *haemocytometer*. Pada metode *Haemocytometer* terdiri dari perangkat gelas bersama *coverslip* tipis, yang terbagi dalam sembilan area dengan empat area pojok sebagai area menghitung jumlah sel. *Haemocytometer* memiliki ketebalan *chamber* 0,1 mm dengan kapasitas 10  $\mu$ l cairan berisi sel dalam area 0,9  $\text{mm}^3$  (Caprette, 2000). Dalam metode *haemocytometer* ada hal yang perlu diperhatikan diantaranya, sel harus tersuspensi rata dalam cairan untuk mencegah tumpang tindih sel, jumlah sel yang minimum yang dihitung adalah seratus agar dapat dihitung secara statistik (Caprette, 2000), sel yang melekat perlu ditripsinasi untuk mensuspensikan sel dalam larutan. Untuk membedakan sel hidup dan sel mati digunakan triptan blue. Perbedaan sel hidup tidak terwarnai, bulat dan relatif kecil sedangkan sel mati. membengkak *dan berwarna biru* (Doyle *et al.*, 2000).

## 3. Metode MTT assay

Metode *MTT assay* adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk uji sitotoksik. *MTT assay* dapat digunakan untuk mengukur proliferasi sel secara kolorimetri. Kelebihan metode MTT yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle *et al.*, 2000). Metode ini didasarkan pada perubahan garam tetrazolium (3-(4,5-dimet iltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) (MTT) menjadi formazan yang terjadi pada mitokondria yang aktif pada sel hidup, sedangkan untuk sel mati tidak terjadi perubahan MTT menjadi formazan sehingga warna sel tidak berubah.

MTT diabsorbsi ke dalam sel hidup untuk selanjutnya dipecah menjadi formazan melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu (Doyle *et al.*, 2000). Spektrofotometri visible digunakan untuk menentukan konsentrasi formazan yang berwarna ungu. Hasil berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi bisa terjadi jika enzim reduktase terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmann, 1983). Semakin besar hasil absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Dari MTT dibaca pada ELISA reader untuk dihitung % viabilitas sehingga dapat dihitung IC<sub>50</sub> dan dibandingkan dengan sel vero sehingga diperoleh nilai indeks selektivitas, dimana indeks selektivitas tinggi jika nilainya lebih dari 3 dan rendah jika kurang dari 3 (Rahmawati *et al.*, 2016). Gambar 3 menunjukkan reaksi reduksi MTT menjadi formazan.



**Gambar 2. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Mosmann, 1983)**

### E. Imunositokimia

Imunositokimia (ICC) termasuk uji laboratorium umum yang dapat mengkonfirmasi ekspresi dan lokasi peptida target atau antigen protein dalam sel dengan cara mengkombinasi spesifik antibodi dan molekul target. Antibodi yang sudah terikat ini dideteksi menggunakan beberapa metode berbeda. Imunositokimia (ICC) merupakan tujuan para peneliti untuk mengevaluasi apakah sel-sel dalam sampel tertentu mengekspresikan antigen target. Pada metode imunositokimia, antibodi akan berikatan dengan antigen atau protein spesifik di dalam sel, untuk antibodi yang tidak berikatan dipisahkan dengan pencucian, dilakukan deteksi secara langsung dengan antibodi primer berlabel, maupun

secara tidak langsung dengan antibodi sekunder berlabel enzim atau fluoresen untuk antibodi yang berikatan (Junedi, 2010).

Metode imunositokimia terdiri dari metode langsung dan metode tidak langsung. Metode langsung, antibodi yang mengikat fluoresen (zat warna) langsung berikatan dengan antigen pada sel. Sedangkan metode tidak langsung, antigen terlebih dahulu berikatan dengan antibodi primer secara langsung, selanjutnya ditambahkan antibodi sekunder yang mengikat enzim seperti peroksidase, alkali fosfatase, atau glukosa oksidase. Pada metode tidak langsung Antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer, agar terjadi pembentukan warna (pigmen) yang akan mewarnai sel ditambahkan substrat kromogen yang akan diubah oleh enzim.

Sel harus difiksasi dengan ditempelkan pada bahan pendukung padat sehingga antigen akan immobile, hal ini bertujuan untuk menjamin antibodi agar dapat mengikat antigen. Salah satu cara yaitu dengan menumbuhkan sel pada slide mikroskop, coverslip, atau bahan pendukung plastik yang sesuai. Metode fiksasi ada dua macam, yaitu pelarut organik dan reagen cross-linking. Contoh dari pelarut organik seperti alkohol dan aseton akan memindahkan lipid, mendehidrasi sel, dan mengendapkan protein. Sedangkan metode reagen cross-linking seperti paraformaldehid membentuk jembatan intermolekuler melalui gugus amino bebas. Imunositokimia berhubungan dengan inkubasi sel dan antibodi (Junedi, 2000).

## **F. Landasan Teori**

Tanaman yang berpotensi sebagai obat anti kanker salah satunya adalah yakon, tumbuhan yang berasal dari Pegunungan Andes, Peru (Lachman *et al.*, 2003). Kandungan senyawa kimia daun yakon menunjukkan adanya kandungan flavonoid, dan senyawa fenolik (Hong *et al.*, 2008).

Potensi daun yakon sebagai antikanker menjadi peluang untuk pengembangan obat kanker. Sebagai contoh penelitian tentang induksi penangkapan dari G2/M dan apoptosis melalui jalur mitokondria dalam sel HeLa, dan menunjukkan toksisitas rendah pada sel NIH / 3T3(sel normal) yaitu dengan IC<sub>50</sub> 4,81- 4,98  $\mu$ M dalam 24 jam. Salah satu mekanismenya yaitu menghentikan

siklus sel pada fase G2 / M dan kemudian menginduksi apoptosis pada HeLa. Nilai IC<sub>50</sub> dari penelitian tersebut adalah 2,96  $\mu$ M dalam 24 jam dan 1,69  $\mu$ M dalam 48 jam (Kitai, *et al.*, 2016).

Daun yakon diekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan alasan pelarut yang digunakan sedikit, waktu yang digunakan lebih cepat, sampel diekstraksi dengan lebih baik karena berulang, digunakan untuk senyawa yang tahan panas (Heinrich *et al.*, 2004). Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolaranya, sehingga zat lebih terpisah dan kandungan zat aktif lebih banyak dan menghasilkan efek yang lebih maksimal. Digunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air sehingga diperoleh tiga fraksi. Dari hasil ekstrak dan 3 fraksi tersebut dilakukan uji sitotoksik pada sel T47D dan sel vero untuk mengetahui efek sitotoksiknya.

Metode MTT assay dipilih untuk melakukan uji sitotoksik karena relatif cepat, sensitif dan akurat. Metode ini didasarkan pada perubahan garam tetrazolium (MTT) menjadi formazan yang terjadi pada mitokondria aktif pada sel hidup. Selanjutnya dibaca pada ELISA reader dan dihitung nilai IC<sub>50</sub>. Indeks selektivitas dihitung dari perbandingan nilai IC<sub>50</sub> dari sel vero dan sel T47D. Nilai Larutan uji dikatakan mempunyai Indeks selektivitas tinggi apabila nilainya lebih dari tiga, dan rendah jika kurang dari 3. Indeks selektivitas menunjukkan selektivitas suatu larutan uji pada sel normal. Pada penelitian sebelumnya kandungan seskuiterpen lakton yang terdapat dalam daun yakon menunjukkan toksisitas yang rendah pada sel normal NIH/3T3 (Kitai, *et al.*, 2016).

Setelah MTT assay selanjutnya diuji untuk melihat pengaruhnya ekspresi protein p53 dan Bcl-2. Mekanisme kerja dari tanaman sebagai antikanker salah satunya dengan mempengaruhi apoptosis yang disebabkan karena ekspresi protein, contohnya adalah ekspresi protein p53 dan Bcl-2. p53 adalah faktor transkripsi yang berikatan dengan DNA secara khusus yang menyebabkan pengaktifan gen target (Benchimol, 2001).

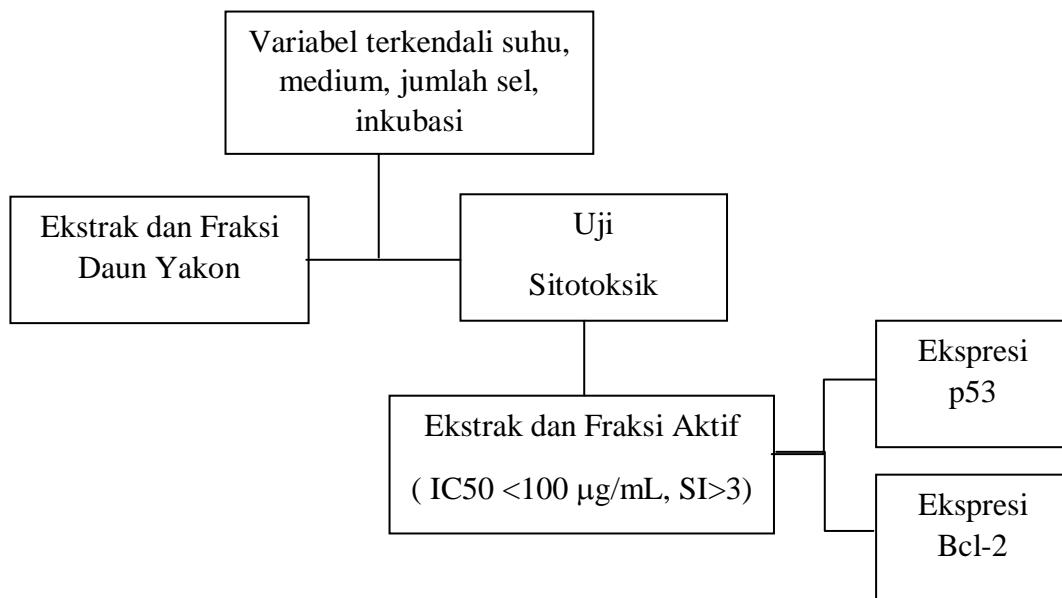
Flavonoid terbukti sebagai agen antikanker, mekanismenya yaitu induksi apoptosis melalui *downregulasi* dari Bcl-2, *downregulasi* dari Bcl-2

mengakibatkan proapoptosis menjadi meningkat. Salah satu proapoptosis adalah p53 (Ren *et al.*, 2003). Kandungan flavonoid dalam daun yakon menjadi peluang untuk dilakukan penelitian mengenai ekspresi protein p53 dan Bcl-2.

### G. Hipotesis

1. Ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki aktifitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki indeks selektivitas terhadap sel kanker payudara T47D dibanding dengan sel vero  $\geq 3$ .
3. Ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) meningkatkan ekspresi protein p53 terhadap sel kanker payudara T47D.
4. Ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) menurunkan ekspresi protein Bcl-2 terhadap sel kanker payudara T47D.

### H. Kerangka konsep



**Gambar 3. Kerangka Konsep**