

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Hasil Penelitian Terdahulu**

Asam oleanoat dari *Lantana camara* dapat menimbulkan efek sitotoksitas terhadap sel kanker kulit ganas A375 (Ghosh, 2010). Hasil uji MTT pada sel Vero, terbukti ekstrak methanol daun tembelean pada konsentrasi 500 µg/ml memiliki aktivitas sitotoksitas dengan menghambat pertumbuhan dari sel 2 hingga 2,5 kali lebih rendah dibandingkan Triton 100 x 1% (sebagai kontrol positif) dan menurun aktivitas sitotoksiknya jika konsentrasi ekstrak dinaikkan (Pour *et al*, 2011).

Ekstrak metanol daun tembelean memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker laring HEp-2 dan sel kanker paru-paru NCI-H292 terbukti dari hasil uji MTT dengan % sel yang hidup yaitu  $25,8 \pm 0,19$  pada sel NCI-H292 (de Melo *et al*, 2010). Ekstrak daun dan akar dari tumbuhan tembelean memiliki aktivitas anti kanker terhadap sel leukemia dibuktikan dengan hasil uji MTT. Ekstrak daun dan akar tembelean juga menyebabkan induksi apoptosis terhadap sel jurkat (Pour *et al*, 2011).

Studi *in vitro* terhadap aktivitas sitotoksitas dari *Lantana camara*, ekstrak daun *Lantana camara* memiliki efek sitotoksik dan dapat memiliki aktivitas antitumor hal ini dikarenakan kandungan toksik dari lantanoid dan alkaloid. Efek racun dari *Lantana camara* dilaporkan terdapat di beberapa negara, seperti Australia, India, Selandia Baru, Afrika Selatan dan Amerika (Pass, 1986; Seawright, 1977; Sharma, 1988).

Pengujian ekstrak metanol *Lantana camara* terhadap *Artemia salina* secara *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak akar dari tumbuhan tembelean merupakan bagian yang paling toksik dan memiliki potensi sebagai agen antikanker dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 940,7 µg/mL. Ekstrak daun tembelean memiliki profil menimbulkan kematian pada *Artemia salina* dengan nilai  $LC_{50}$  lebih dari 2000 µg/mL (dengan interval 2.142,1 – 4.361,5 µg/mL) lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C yaitu kurang dari 300 µg/mL dan

kloramfenikol yaitu kurang dari sama dengan 1.000 µg/mL. Selain berpotensi sebagai agen antikanker, daun tembelekan juga memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Pour *et al*, 2011).

Ekstrak *Lantana camara* memiliki efek sitotoksitas sedang pada sel kanker hati manusia (Huh-7) yang menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> 169,0 µg/mL pada fraksi metanol bunga/ buah, 44,1 µg/mL pada fraksi etil asetat bunga/ buah, 150,0 µg/mL pada fraksi n-butanol bunga/ buah, 1000 µg/mL pada fraksi air bunga/ buah, 161,0 µg/mL fraksi metanol dari bunga *Lantana camara* (Johnson, 2011).

## **B. Kanker**

Kanker adalah suatu penyakit yang terjadi karena ketidaknormalan pertumbuhan sel yang dapat menginvasi ke jaringan di sekitarnya. Sel kanker juga dapat menyebar ke bagian lain dari tubuh melalui pembuluh darah dan sistem limfa.

Kanker adalah istilah umum yang dipakai untuk menunjukkan neoplasma ganas, dan ada banyak tumor atau neoplasma lain yang tidak bersifat kanker (Price *et al.*, 2006). Penyakit ini merupakan suatu kondisi sel telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normalnya sehingga sel tersebut mengalami pertumbuhan yang tidak normal, cepat, dan tidak terkendali (Diananda, 2009). Pertumbuhan sel yang tidak terkendali menjadikan suatu kondisi penyakit berat (Maharani, 2009).

Kerusakan deoxy nucleic acid (DNA) menyebabkan mutasi gen vital yang mengontrol pembelahan sel yang dapat mengubah sel normal menjadi sel kanker, terjadinya mutasi gen ini diakibatkan agen kimia maupun fisik yang disebut dengan karsinogen, proses mutasi dapat terjadi secara spontan maupun diwariskan (Sunaryati, 2009).

Pertumbuhan kanker dapat dibagi dalam tiga fase utama yaitu fase inisiasi, promosi dan progresi (Kartawiguna, 2001). Fase inisiasi merupakan fase awal dan berlangsung secara cepat, sel normal berubah menjadi premaligna, pada akhir fase inisiasi belum terlihat perubahan histologis dan

biokimiawi hanya terlihat nekrosis sel dengan meningkatnya proliferasi. Fase promosi adalah lanjutan dari fase inisiasi, sel yang telah terinisiasi akan diaktifkan oleh adanya promotor mengakibatkan sel berproliferasi menjadi preneoplasma. Fase progresi berlangsung selama berbulan-bulan, terjadi aktivasi, mutasi, dan hilangnya gen. Pada awal fase ini sel preneoplasma dalam stadium metaplasia berkembang progresif menjadi stadium displasia sebelum menjadi neoplasma. Terjadi ekspansi populasi sel-sel ini secara spontan dan ireversibel. Sel-sel menjadi kurang responsif terhadap sistem imunitas tubuh dan regulasi sel.

Pada umumnya kanker timbul akibat paparan dari karsinogen pada dosis tertentu dan pada jangka waktu tertentu. Karsinogen adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menimbulkan kanker. Karsinogenesis merupakan proses terbentuknya sel kanker yang patogenesisnya secara molekuler merupakan penyakit genetik.

Berdasarkan asalnya, karsinogen dapat dibedakan menjadi:

1. Karsinogen kimiawi
2. Karsinogen virus
3. Karsinogen fisik
4. Karsinogen endogen, seperti hormone sex

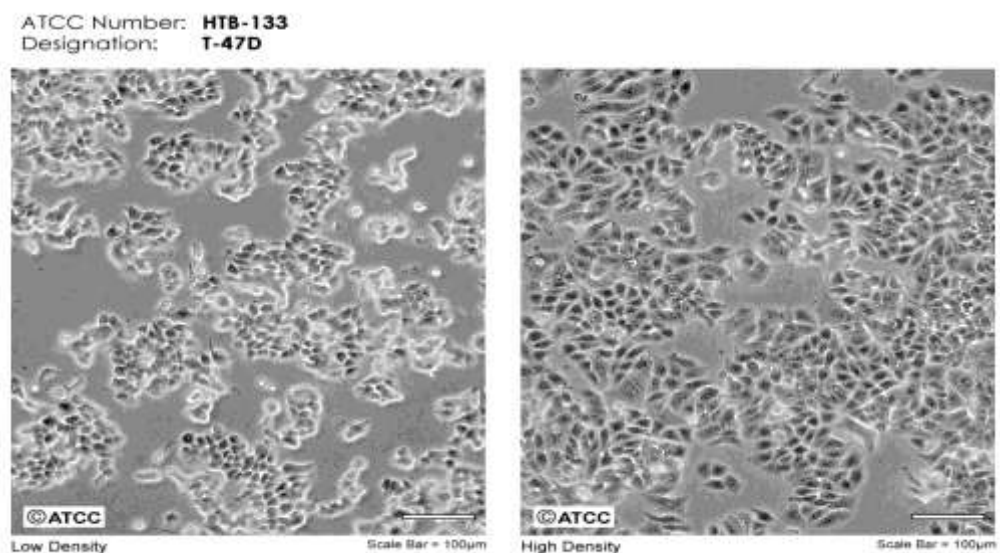
Karsinogen dapat pula berupa diet, umur, keturunan, rangsang menahan dan trauma sebagai perangsang terbentuknya sel kanker (Yusni, 2008).

### C. T47D

Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (Suko, 2011). *Cell line* adalah sel yang disubkultur dari *primary cultures*, yaitu sel dari organ atau jaringan yang dikultur dalam media dan kondisi yang sesuai (www.biologyonline.net). Sel T47D merupakan sel kanker yang

mengekspresikan reseptor estrogen atau yang biasa disebut ER positif serta mengekspresikan p53 yang telah termutasi sehingga resisten terhadap mekanisme apoptosis (Ruddon, 2007; Junedi, et al., 2010). Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel. Sel ini dikulturkan dalam media DMEM + 10% FBS + 2 mM L-Glutamin, diinkubasi dalam CO<sub>2</sub> inkubator 5% dan suhu 37°C (Abcam, 2007).

Sel T47D sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas atau cepat pertumbuhannya, memiliki homogenitas yang tinggi dan mudah diganti sel baru yang telah dibekukan jika terjadi kontaminasi (Abcam, 2007; CCRC Farmasi UGM, 2015). Sel T47D memiliki mekanisme antiapoptosis dan karsinogenesis lebih kuat daripada sel MCF-7. Beberapa protein yang terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel ini termasuk caspase-3 subunit p12, protein nuklir Hcc-1, G1/S-specific cyclin-D3, cathepsin B, protein CDV3 homolog, N (G), N(G)-dimethylarginine dimethylamino-hydrolase 2, dan prohibitin (Aka *et al.*, 2012).



**Gambar 2.1. Morfologi sel T47D (Sumber: ATCC)**

#### **D. Onkogen**

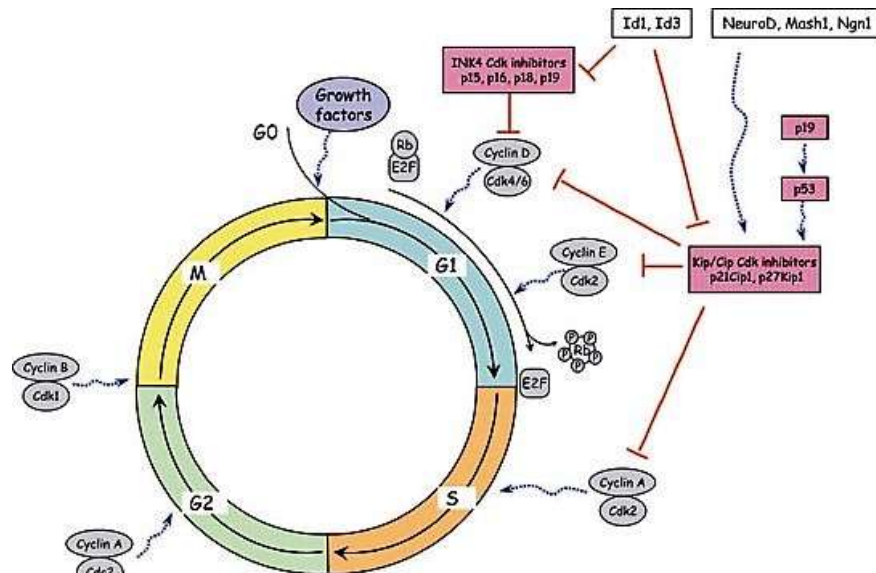
Di dalam sel terdapat gen, dan masing-masing gen memiliki fungsi khusus. Gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel diperkirakan ada banyak gen, yang merupakan golongan protoonkogen dan supresor gen atau anti onkogen yang kerjanya berlawanan. Protoonkogen mengkode pembentukan protein untuk merangsang pertumbuhan sedang antionkogen mengkode protein untuk menghambat pertumbuhan. Protoonkogen yang telah mengalami perubahan sehingga dapat menimbulkan kanker disebut onkogen. Kerusakan itu dapat terjadi pada saat fertilisasi, tetapi umumnya setelah embriogenesis, setelah sel itu mengadakan diferensiasi atau setelah dewasa. Onkogen biasanya diberi nama dengan 3 huruf, seperti gen *myc*, gen *erb*, dan sebagainya (Sukardja, 2000).

Onkogen merupakan gen yang meningkatkan pertumbuhan sel secara otonom pada sel-sel kanker. Kanker merupakan penyakit dimana sekelompok sel tumbuh tidak terkendali karena adanya mutasi dan sebagian jenis kanker dapat menyebar (metastatis) ke berbagai bagian tubuh melalui cairan limfa. Protoonkogen merupakan gen seluler normal yang mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Protoonkogen dapat diubah menjadi onkogen melalui tiga mekanisme yaitu: mutasi titik, penyusunan kembali kromosom, amplikasi gen. Produk onkogen *myc*, *jun*, *fos*, *myb* merupakan protein nukleus (Mitchell, 2006).

#### **E. Siklus Sel**

Siklus sel merupakan proses vital dalam kehidupan setiap organisme. Secara normal, siklus sel menghasilkan pembelahan sel. Pembelahan sel terdiri dari 2 proses utama, yaitu replikasi DNA dan pembelahan kromosom yang telah digandakan ke 2 sel anak. Secara umum, pembelahan sel terbagi menjadi 2 tahap, yaitu mitosis (M) (pembelahan 1 sel menjadi 2 sel) dan

interfase (proses di antara 2 mitosis). Interfase terdiri dari fase gap 1 (G1), sintesis DNA (S), gap 2 (G2).



Gambar 2.2. Siklus Sel (Sumber: Abrous *et al.*, 2005)

Fase G1 terjadi penggandaan konten (materi) yang ada dalam sel kecuali kromosom. Fase S terjadi replikasi (sintesis) DNA yang membutuhkan waktu sekitar 8 jam. Fase G2 terjadi pengecekan ulang dari kromosom yang telah digandakan untuk menghindari dari kesalahan replikasi dan memperbaiki kesalahan tersebut. Fase M (Mitosis) terjadi pembelahan sel menjadi 2 bagian dengan masing-masing materi genetik yang sama. Fase G0 terjadi ketika sel sedang beristirahat dan mempersiapkan proses memasuki fase G1.

## F. Kematian Sel

Mekanisme kematian sel terbagi menjadi lima yaitu autofagi, apoptosis, nekrosis, *senescence*, dan *mytotic catastrophe*.

Autofagi adalah proses penghancuran organel yang rusak pada sel. Organel yang rusak diantar oleh vesikel transpor ke lisosom yang mengandung enzim hidrolitik, vesikel dan lisosom itu bergabung kemudian enzim hidrolitik mencerna organel yang rusak, organel yang telah dicerna dikeluarkan dar sel dengan vesikel transpor dengan cara eksositosis.

*Senescence* (penuaan) merupakan respon tekanan / stress di mana sel menarik diri dari siklus sel dan kehilangan kemampuan untuk berkembang biak sebagai respons terhadap faktor pertumbuhan atau mitogens (Sherwood, 1988; Kuilman, 2010).

*Mytotic catastrophe* adalah hasil dari sel yang terlalu dini atau tidak tepat ketika memasuki fase mitosis, biasanya terjadi karena tekanan kimia atau fisika. *Mytotic catastrophe* ditandai oleh perubahan morfologi nuklear dan pada akhirnya muncul sel poliploidi pada populasi sel yang terkena, kejadian ini ditandai dengan meningkatnya secara nyata pada sel yang kekurangan fungsi p53, dan merupakan hasil dari akumulasi yang terlalu banyak dari *cyclin B1* yang mengalami penundaan pada siklus sel oleh induksi agen. *Mytotic catastrophe* dianggap sebagai mekanisme utama yang mendasari kematian sel diakibatkan mitosis.

Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram. Apoptosis memiliki peranan penting dalam fenomena biologis, proses apoptosis yang tidak sempurna dapat menyebabkan timbulnya penyakit yang sangat bervariasi. Terlalu banyak apoptosis menyebabkan sel mengalami kekacauan, sebagaimana terlalu sedikit apoptosis juga menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol (kanker). Apoptosis berfungsi pada sel yang rusak atau terinfeksi agar tidak berkembang terus-menerus, respon terhadap stres atau kerusakan DNA, dan berperan pada sistem homeostasis (CCRC UGM). Pada apoptosis membran inti tidak ruptur dan inti mengalami fragmentasi yang kemudian mengirimkan sel di dekatnya untuk difagosit.

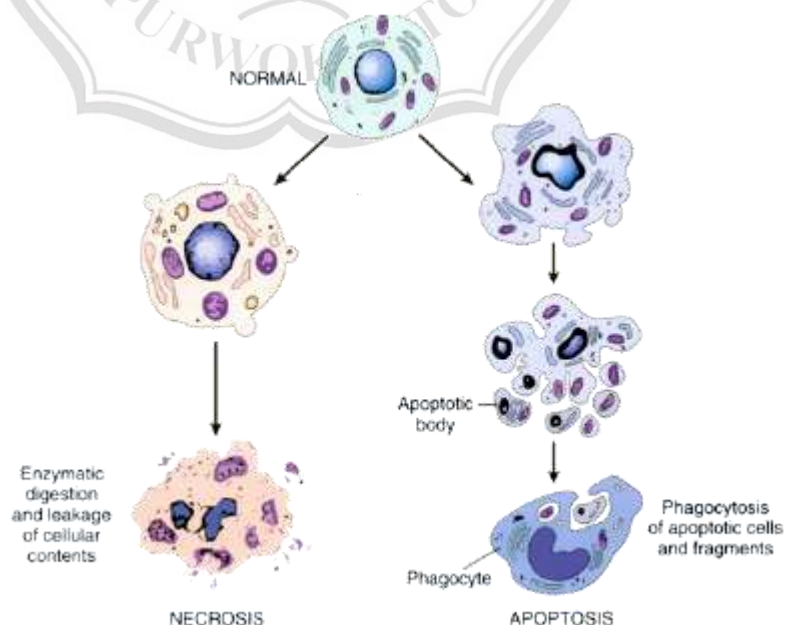
Terdapat dua metode untuk mekanisme kematian apoptosis yaitu melalui jalur intrinsik (jalur mitokondrial) dan ekstrinsik (jalur kematian reseptor). Jalur intrinsik (jalur mitokondrial) terjadi karena adanya permeabilitas mitokondria dan pelepasan molekul pro-apoptosis ke dalam sitoplasma, tanpa memerlukan reseptor kematian. Faktor pertumbuhan dan sinyal lainnya dapat merangsang pembentukan protein antiapoptosis Bcl2, yang berfungsi sebagai regulasi apoptosis. Protein anti apoptosis yang utama

adalah: Bcl-2 dan Bcl-x yang pada keadaan normal terdapat pada membran mitokondria dan sitoplasma. Jalur ekstrinsik (diinisiasi oleh kematian reseptor) terjadi karena adanya inisiasi oleh pengikatan reseptor kematian pada permukaan sel pada berbagai sel. Reseptor kematian merupakan bagian dari reseptor tumor nekrosis faktor yang terdiri dari *cytoplasmic domain*, berfungsi untuk mengirim sinyal apoptotic.

Nekrosis merupakan kematian sel akibat terluka akut. Kematian ini dipicu karena kegagalan mitokondria mensintesis ATP. Pada nekrosis terjadi perubahan pada inti yang pada akhirnya dapat menyebabkan inti menjadi lisis dan membran plasma menjadi ruptur.

**Tabel 2.1 Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis**

Ciri-ciri	Nekrosis	Apoptosis
Ukuran sel	Membesar (swelling)	Mengecil (shrinkage)
Nukleus	Pyknosis→karyorrhexis→karyolisis	Fragmentasi ke dalam nukleosom
Membran plasma	Terganggu (rusak)	Utuh (lengkap)
Isi sel	Pencernaan enzimatik, terjadi kebocoran ke luar sel	Utuh, melepaskan badan apoptosis
Inflamasi	Sering terjadi	Tidak terjadi
Peran fisiologi atau patologi		



**Gambar 2.3** Gambaran kematian sel secara nekrosis dan apoptosis (Walker NI *et al*, 1988)



## G. 5-Fluorouracil (5-FU)

5-Fluorouracil merupakan salah satu obat kemoterapi tertua yang telah digunakan beberapa dekade. Obat ini digunakan untuk beberapa jenis kanker seperti kolon, payudara, lambung, pankreas, dan kulit. 5-FU berupa cairan jernih dan tidak berwarna dan diberikan secara intravena, dapat juga berupa krim yang digunakan pada kanker kulit (Yusni, 2008).

5-Fluorouracil adalah antimetabolit yang bekerja secara antagonis dengan timin terhadap aktivitas enzim *thymidylate sintase* (TS). 5-FU merupakan prodrug, metabolisme 5-FU menghasilkan fluoridin-5'-trifosfat (FUTP) yang bergabung ke dalam RNA dan mempengaruhi fungsinya dan fluorodeoksiuridilat (FdUMP) yang menghambat replikasi DNA (Longley and Johnston, 2007).

5-FU dikonversi menjadi tiga metabolit aktif utama yaitu: (1) fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP), (2) fluorodeoxyuridine tryphosphate (FdUTP), dan (3) fluorouridine tryphosphate (FUTP). Mekanisme utama aktivasi 5-FU adalah konversi menjadi fluorouridine monophosphate (FUMP) juga secara langsung oleh orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) atau secara tidak langsung via fluorouridine (FUR) melalui aksi berurutan dari uridine phosphorylase (UP) dan uridine kinase (UK). FUMP kemudian difosforilasi menjadi fluorouridine diphosphate (FUDP) yang dapat difosforilasi lebih lanjut menjadi metabolit aktif fluorouridine tryphosphate (FUTP) atau dikonversi menjadi fluorodeoxyuridine diphosphate (FdUDP) oleh ribonucleotide reductase (RR). Di sisi lain, FdUDP dapat pula difosforilasi atau didefosforilasi menjadi metabolit aktif masing-masing FdUTP dan FdUMP.

Jalur aktivasi alternatif lainnya melibatkan thymidine phosphorylase yang mengkatalisis konversi 5-FU menjadi fluorodeoxyuridine (FUDR), kemudian difosforilasi oleh thymidine kinase (TK), dan menjadi thymidylate synthase (TS) inhibitor. Ada pula enzim dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) yang mengkonversi 5-FU menjadi dihydrofluorouracil yang tidak aktif. DHFU adalah rate limiting step katabolisme 5-FU pada sel normal dan sel

tumor, proporsi dari pengrusakan menjadi metabolit tidak aktif mencapai 80% (Longley dan Johnaton, 2007). Hal ini akan mengakibatkan induksi apoptosis karena penghambatan sintesis DNA yang disebabkan sel kekurangan deoksitimidin trifosfat (dTTP). Peningkatan ekspresi TS pada sel kanker merupakan respon sel yang dapat mengakibatkan resistensi terhadap 5-FU (Giovanetti *et al.*, 2007). Pada kaitannya dengan daur sel 5-FU tidak dapat bekerja pada sel yang berada di luar daur sel (G0). 5-FU hanya bekerja pada sel yang aktif menjalankan daur sel dimana diperlukan aktivitas TS untuk sintesis basa penyusun DNA. TS diekspresikan tinggi pada fase G1 melalui perantara aktivitas transkripsi dari E2F. Setelah diekspresikan, TS sendiri langsung mensintesis prekursor dUMP yang diperlukan dalam fase sintesis. Perlakuan dengan 5-FU pada sel kanker dapat menyebabkan akumulasi sel pada G1 dan awal fase sintesis (G1/S *arrest*) (Liu *et al.*, 2006).

Efek samping dari 5-FU yang ditemukan pada pasien antara lain neutropenia, stomatitis, diare, dan *hand-food syndrome*. Masing-masing efek ini terkait dengan metode pemberian yang diterapkan pada pasien (Meyerhardt dan Mayer, 2005).

#### **H. Tembelekan (*Lantana camara*)**

Taksonomi tembelekan adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Lamiales
- Family : Verbenaceae
- Genus : *Lantana*
- Spesies : *Lantana camara* Linn.



**Gambar 2.4. Tumbuhan Tembelekan (Dokumen Pribadi)**

Tumbuhan tembelekan (*L. camara* Linn) secara morfologi merupakan herba menahun, batang semak, berkayu, tegak, bercabang, batang berduri. Tinggi batang mencapai 4 m, daun berhadapan, warna hijau, bundar telur, permukaan atas daun berambut banyak dan permukaan bawah berambut jarang. Pinggir daun bergerigi dan berbulu kasar dengan panjang 5-8 cm dan lebar 3-5 cm. Perbungaan mengelompok, tersusun dalam bulir yang padat pada ketiak daun. Warna bunga beragam, seperti putih, kuning, merah, merah muda, dan jingga. Buah bergerombol di ujung tangkai, kecil, bulat, warna hijau ketika mentah, hitam kebiruan dan mengkilap ketika matang. Di dalam satu buah terdapat satu biji. Tumbuhan ini berkembang biak dengan biji. Tumbuhan ini ditemukan di daerah tropis pada lahan terbuka sebagai tanaman liar atau tanaman untuk pagar. Tumbuhan dari dataran rendah sampai ketinggian 1700 m di atas permukaan laut (Djauhariya, 2004).

Dalam beberapa dekade terakhir, *L. camara* telah diteliti mengandung minyak esensial, senyawa fenolik, protein, alkaloid, glikosida, glikosida iridoid, fenil etanoid, oligosakarida, kina, saponin, steroid, triterpen, sesquiterpenoid, dan tannin sebagai golongan fitokimia utama (Venkatachalam *et al.*, 2011; Kensa 2011; Kalita *et al.*, 2011; Bhakta D dan Ganjewala D, 2009).

*L. camara* merupakan tanaman obat yang penting dari famili *verbenaceae*. Tanaman ini telah dilaporkan untuk berbagai efek farmakologi diantaranya adalah efek hepatoprotektif, penyembuh luka, aktivitas antioksidan, larvasida, antidiabetes, antimotilitas, anti-inflamasi, antiurolitik, antifungi, antifertilitas, sitotoksik, dan antibakteri (Kalita *et al.*, 2012). Asam oleanoat yang diisolasi dari *L. camara* diduga untuk aktivitas antikanker terhadap tumor murine (Ehrlich ascites karsinoma), dan tiga *cell line* kanker manusia, yaitu A375 (melanoma kulit ganas), Hep2 (epidermoid karsinoma laring) dan U937 (limfoma). Asam oleanoat menunjukkan sitotoksitas yang menjanjikan terhadap sel A375 (Ghosh dan Das Sarma, 2010).

Daun *L. camara* dilaporkan menunjukkan efek sitotoksitas pada sel Vero. Uji sitotoksitas dilakukan secara *in vitro* dengan MTT assay. Ekstrak metanol (500 µg/ml) dapat menghambat pertumbuhan sel 2,5 kali lebih rendah dari perlakuan Triton 100×1% (Pour *et al.*, 2011). Uji aktivitas antiproliferatif daun *L. camara* dilakukan terhadap *cell line* Hep-2 (kanker laring) dan NCI-H292 (kanker paru) secara *in vitro* dengan metode MTT assay. Ekstrak metanol daun *L. camara* menunjukkan aktivitas antiproliferatif terhadap NCI-H292 sel (% sel hidup =  $25,8 \pm 0,19$ ) (de Melo *et al.*, 2010).

Ghangale, *et al.*, telah meneliti aktivitas anti-mitosis dari bunga *L. camara* dengan metode assay menggunakan ujung akar. Hasil dari penelitiannya mengungkapkan aktivitas anti-mitosis yang signifikan dalam semua ekstrak (ekstrak petroleum eter, kloroform, etanol dan aqueous). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa bunga *L. camara* memiliki aktivitas antikanker yang signifikan (Ghangale *et al.*, 2011).

## I. Ekstraksi

### 1. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir seluruh pelarut diuapkan dan massa

atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995).

## 2. Ekstraksi

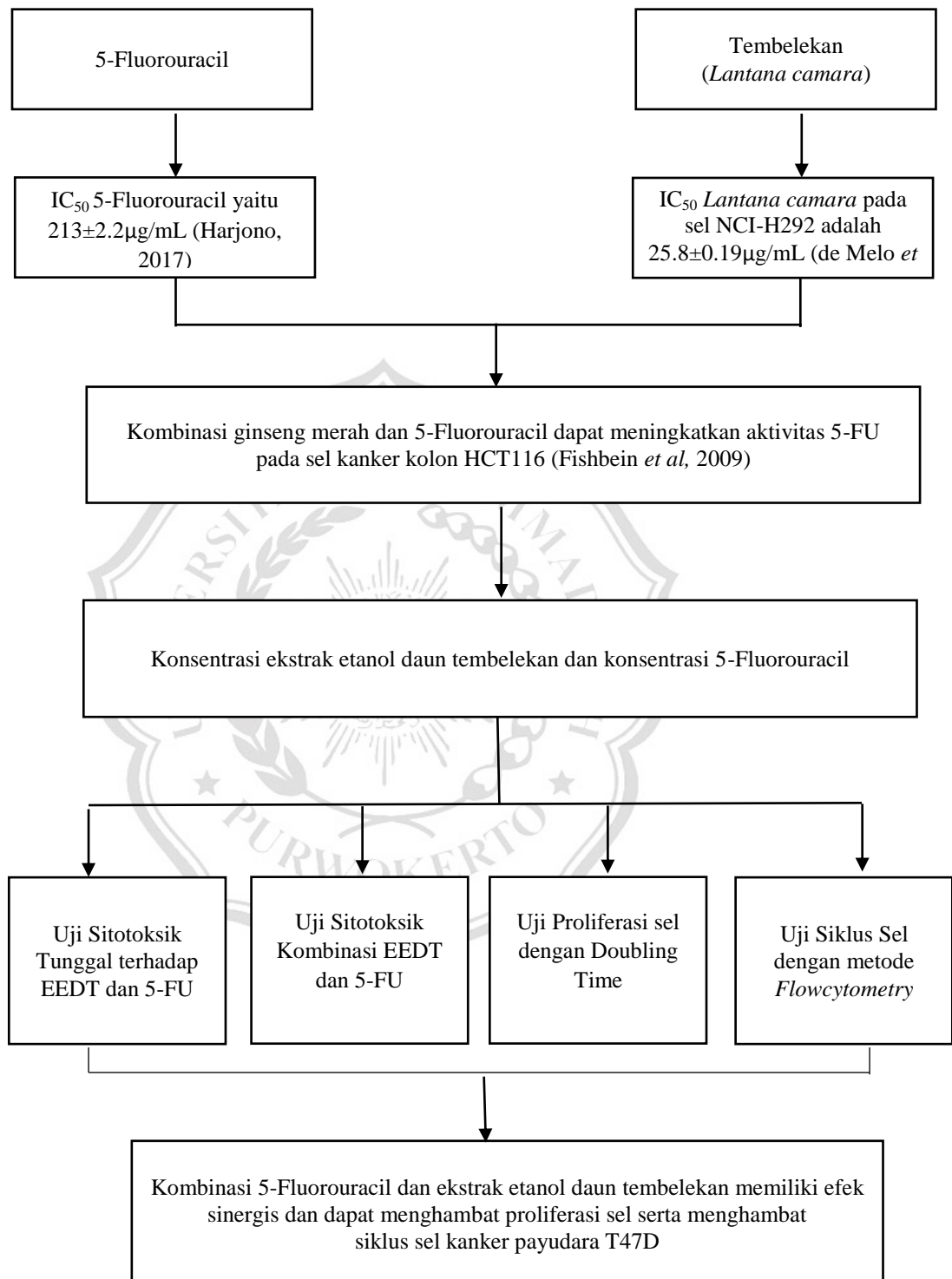
Ekstraksi merupakan suatu istilah yang digunakan secara farmasi yang melibatkan pemisahan bagian senyawa aktif dari tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut yang selektif dalam standar prosedur ekstraksi (Handa *et al*, 2008).

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral (Anonim, 1985).

Maserasi adalah suatu proses ekstraksi di mana serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan selama lebih kurang 3 hari dengan sering melakukan pengadukan hingga seluruh zat aktif terambil (Handa *et al*, 2008).

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam tersebut (Darwis, 2000).

## K. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

## L. Hipotesis

1. Kombinasi ekstrak etanol daun tembelean dapat meningkatkan efek sitotoksik 5-Fluorouracil pada sel kanker payudara T47D.
2. Kombinasi ekstrak etanol daun tembelean dan 5-Fluorouracil dapat menghambat siklus sel kanker payudara T47D.
3. Ekstrak etanol daun tembelean dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara T47D.

