

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Sebelumnya

Aktinobakteria dalam kelompok bakteri gram positif merupakan penghasil utama senyawa antimikroba, namun selain itu aktinobakteria mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan secara luas diantara lain sebagai : anti kanker, antifungal, antiparasit, enzim, nanomineral, dan lain sebagainya (Li *et al.*, 2016). Aktinobakteria mampu tumbuh di berbagai habitat, salah satunya adalah habitat laut. Pada tahun 2015 Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) melakukan isolasi aktinobakteria di Pulau Enggano, Bengkulu, Indonesia dan kemudian diperoleh 12 isolat aktinobakteria yang potensial. Dari 12 isolat potensial ini kemudian dilakukan uji kelanjutan hingga diperoleh isolat aktinobakteria DHE 6-7 yang diketahui mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai antikanker. Isolat aktinobakteria DHE 6-7 ini diketahui memiliki kekerabatan dengan strain *Streptomyces indiaensis* (99,67%) (Handayani *et al.*,2015; Nurziah *et al.*,2015). Diketahui bahwa isolat aktinobakteria DHE 6-7 memiliki kekerabatan dengan *Streptomyces indiaensis*(homology 99.67 %). Bakteri dari genus *Streptomyces* merupakan penghasil antibiotik tertinggi dari kelas aktinobakteria (de Lima Procopio *et al.*, 2012). Kemampuan bakteri ini dalam memproduksi antibiotik dikarenakan bakteri dari genus *Streptomyces* pada khususnya dan kelas aktinobakteria pada umumnya, mengekspresikan polyketides dan nonribosomal peptides gene cluster yang mengekspresikan enzim PKS (polyketide synthase) dan NRPS (non ribosomal peptide synthetase), yaitu kelompok enzim yang berperan dalam produksi antimikroba/antibiotik pada bakteri (Muller *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014). Dari hasil analisis molekuler diperoleh data bahwa isolat aktinobakteria DHE 6-7 mengekspresikan gen penyandi NRPS (homologi 47%), hasil ini menunjukkan potensi isolat aktinobakteria DHE 6-7 sebagai penghasil senyawa antibiotik. Pada penelitian sebelumnya telah

berhasil dikembangkan metode produksi senyawa metabolit sekunder yang optimum pada isolat DHE 6-7, hingga diperoleh ekstrak etil asetat (Nurzijah *et al.*, 2015). Pada rencana penelitian lanjutan akan dilakukan uji aktivitas antikanker ekstrak etil asetat isolat DHE 6-7 pada sel kanker payudara T47D.

B. Landasan Teori

1. Kanker Payudara

Kanker payudara adalah tumor ganas yang berasal dari sel kelenjar, saluran kelenjar dan jaringan penunjang payudara, tidak termasuk kulit payudara (Departemen Kesehatan, 2009). Kanker Payudara adalah tumor ganas yang menyerang jaringan payudara yang berasal dari kelenjar, saluran kelenjar dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara terjadi karena adanya kerusakan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sehingga sel ini tumbuh dan berkembang biak tanpa dapat dikendalikan (Mardiana, 2004). Kanker payudara terjadi ketika sejumlah sel di dalam payudara tumbuh dan berkembang dengan tidak terkendali. Sel-sel tersebut dapat menyerang jaringan sekitar dan menyebar ke seluruh tubuh. Kanker payudara merupakan jenis kanker penyebab kematian terbesar pada wanita diseluruh dunia. Faktor resiko yang berpengaruh pada kanker payudara antara lain lamanya paparan hormon (mentruasi pada usia dini dan terlambatnya monopause), faktor reproduksi (tidak punya anak dan kehamilan pertama pada usia lanjut), faktor diet dan kurangnya aktivitas fisik (obesitas, diet lemak), radiasi selama perkembangan payudara, terapi pengganti hormon pada pemakaian kronis, serta faktor genetik bawaan yang terkait dengan kanker payudara seperti adanya mutasi gen. Deteksi dini kanker payudara adalah kunci untuk meningkatkan harapan hidup pasien kanker payudara adalah kunci untuk meningkatkan harapan hidup pasien kanker payudara. Skrining mamografi untuk mendeteksi tumor pada payudara perlu dilakukan karena tumor membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk membesar sehingga dapat dirasakan oleh pasien, namun dapat terdeteksi oleh *mammogram* (Ruddon, 2007).

Mekanisme molekuler yang bertanggung jawab terhadap perkembangan kanker payudara belum banyak diketahui tetapi kemungkinan berhubungan dengan ekspresi onkogen seperti c-myc, ERBB2, dan Ras. Kanker payudara juga disebabkan adanya mutasi pada gen BRCA1 (*breast cancer type 1*), BRCA2 (*breast cancer type 2*) dan p53 (Ruddon, 2007). Selain terjadinya mutasi, kemungkinan mekanisme lainnya yaitu adanya inaktivasi p53 wild-type yang mengakibatkan hilangnya fungsi sebagai tumor suppressor gene (Macdonald *et al*, 1997). Secara molekuler pasien kanker payudara digolongkan menjadi sub tipe luminal yang mengekspresikan ER. Sub tipe non luminal dikelompokkan lebih lanjut menjadi 2 kelompok yaitu yang mengekspresikan human epithelial growth factor receptor 2 (HER-2) serta yang tidak mengekspresikan baik ER maupun HER-2 (Vora *et al.*, 2009).

Sel kanker terbentuk melalui perubahan genetik rangkap/ganda dalam sel induk dari suatu organ tubuh. Sebagian perubahan yang tidak dihilangkan ini akan terus menumpuk bersamaan dengan bertambahnya umur yang terkadang tidak dapat dihindari. Predisposisi genetik, faktor lingkungan dan gaya hidup adalah faktor-faktor yang penting terhadap munculnya kanker. Sebagai contoh beberapa orang sejak lahir telah membawa mutasi tertentu dalam DNA-nya yang dapat mengarah ke sel kanker (Sankaranarayan *et al*, 1995)

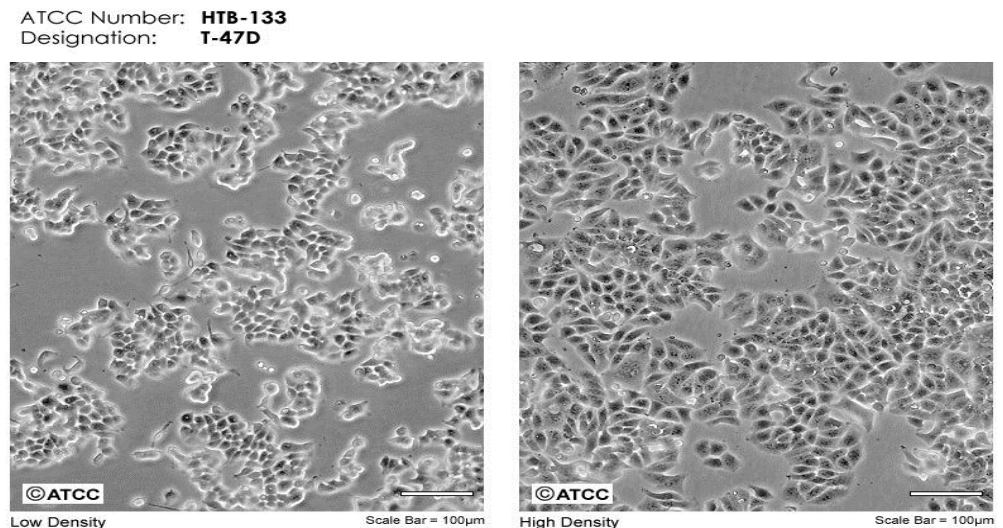
Faktor hormonal juga memiliki peran dalam perkembangan kanker payudara. Hormon yang paling berperan dalam timbulnya kanker payudara adalah estrogen. Estrogen berperan pada karsinogenesis di payudara pada metabolisme estrogen menjadi metabolit genotoksik serta stimulasi pertumbuhan. Estrogen dapat mengalami metabolisme menjadi metabolit genotoksik seperti metabolit quinon yang selanjutnya berperan dalam tahapan inisiasi kanker. Faktor resiko kanker payudara juga terjadi karena polimorfisme gen yang mengkode sintesis estrogen dan memetabolisme estrogen seperti cytochrome P450 IBI (CYP1B1) dan catechol-o-methyl transferase (COMT). Estrogen ketika berikatan dengan reseptornya akan memulai transduksi sinyal menghasilkan efek

peningkatan proliferasi sel serta penghambatan apoptosis (Yager and Davidson, 2006).

2. Sel T47D

Sel T47D (Gambar 2.1) merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (Burdall *et al.*, 2003). *Cell line* adalah sel yang disubkultur dari *primary cultures*, yaitu sel dari organ atau jaringan yang dikultur dalam media dan dikondisikan semirip dengan kondisi aslinya. Sel T47D merupakan *adherent cell line* kanker payudara manusia yang diisolasi dari jaringan payudara seorang wanita berumur 54 tahun. Morfologi sel ini seperti sel epitel (ATTC., 2009). Sel T47D yang digunakan merupakan *Continuous cell line*, ini sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah pemeliharaannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas dan cepat. Hal ini terjadi karena adanya mutasi enzim telomerase yang mengakibatkan pembelahan tiada henti (immortal) serta mudah disimpan dan diganti dengan *frozen stock* (CCRC, 2009). 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). Sel T47D merupakan sel kanker payudara ER/PR-positif yang mengekspresikan caspase-3 *wildtype*, caspase-7 *wildtype*, dan p53 mutan. *Missence mutation* terjadi pada residu 194 (dalam zinc-binding domain, 1.2) sehingga p53 tidak dapat berikatan dengan *response element* pada DNA. Hal ini mengakibatkan berkurang atau bahkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi *cell cycle*. Sel T47D ini dikulturkan dalam media DMEM + 10% FBS + 2 mM L-Glutamin, diinkubasi dalam CO₂ 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 2009). 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 dimethylaminohydrolase 2, dan prohibitin (Aka *et al.*, 2012).



Gambar 2.1. Morfologi Sel T47D (Sumber: ATCC)

3. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksitas adalah uji *in vitro* yang menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas anti neoplastatik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksitas pada suatu sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat yang sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Metode *in vitro* memberikan berbagai keuntungan, seperti: dapat digunakan pada langkah awal pengembangan obat, hanya membutuhkan sejumlah kecil bahan yang digunakan untuk kultur sel primer manusia dari berbagai organ target (ginjal, liver, kulit) serta dapat memberikan informasi secara langsung efek potensial pada sel target manusia (Doyle and Griffiths, 2000).

Penetapan jumlah sel yang bertahan hidup pada uji sitotoksitas dapat dilakukan dengan beberapa cara yang seringkali didasarkan pada parameter kerusakan membran, gangguan sintesis dan degradasi

makromolekul, modifikasi kapasitas metabolisme serta perubahan morfologi sel. Metode lain yang dapat digunakan adalah metode kolorimetrik menggunakan suatu substrat yang akan dimetabolisme oleh sel menjadi produk berwarna misal MTT {3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida} (Sladowski *et al.*, 1992).

Uji sitotoksik dapat menggunakan parameter perhitungan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin kecil harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin toksik terhadap sel kanker (Melannisa, 2004).

4. Uji Proliferasi

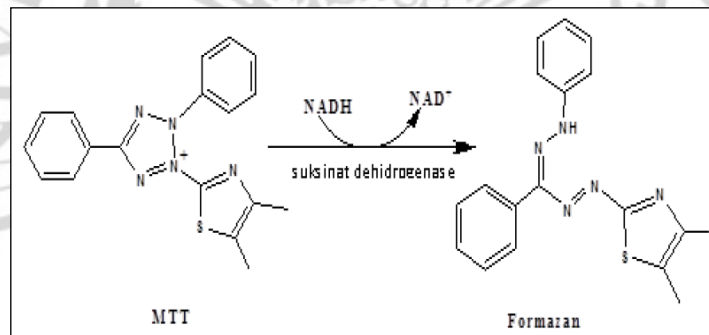
Sifat antiproliferasi ditunjukkan dengan nilai doubling time yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol sel. *Cell cycle progression* merupakan parameter utama dalam mengukur sifat proliferasi suatu sel kanker. Senyawa yang dapat menunda doubling time sel, diduga dapat menghambat gen atau protein yang mengatur daur sel. Penghambatan *cell cycle progression* dilakukan dengan uji *doubling time*. Hambatan proliferasi sel dilihat dari nilai slope pada kurva waktu inkubasi vs viabilitas sel atau dihitung dengan cara ekstrapolasi. Slope yang lebih kecil menunjukkan perpanjangan *doubling time* (Utami, 2011).

5. MTT Assay

Uji MTT adalah uji yang sensitif, kuantitatif dan terpercaya. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi sekitar oleh sistem reduktase suksinat yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium berwarna kuning yang termasuk dalam rantai respirasi mitokondria menjadi kristal berwarna biru keunguan yang bernama formazan (Basmal *et al.*, 2009).

Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim *mitokondria reduktase* pada mitokondria dalam mereduksi garam *Methylthiazol Tetrazolium* (MTT). Ketika

bermetabolisme sel-sel hidup akan menghasilkan enzim *mitokondria reduktase*. Enzim ini bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan berwarna ungu (Gambar 2.2). Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Junaedi, 2000). Kristal formazan bersifat impermeable pada membran sel dan tidak larut dalam air. Perlu suatu zat tambahan sebagai pelarut seperti isopropanol, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) atau larutan detergen *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) yang diencerkan dalam asam hidroklorida (HCL) untuk melarutkan kristal formazan ungu. *Optical Density* (OD) menunjukkan nilai absorbansi dari suatu kristal formazan yang telah dilarutkan diukur dengan menggunakan ELISA dengan panjang gelombang 595 nm. Nilai absorbansi ini menunjukkan tingkat daya proliferasi sel sebagai manifestasi tingkat kekebalan seluler (Heti, 2008).



Gambar 2.2 Reduksi MTT di dalam sel hidup oleh enzim reduktase di dalam mitokondria menghasilkan kristal formazan (Ebada *et al*, 2008)

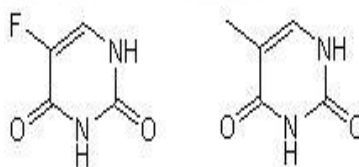
Uji MTT digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai tersebut merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Suatu ekstrak dianggap toksik sebagai sel kanker jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 1000 ppm (Lisdiawati *et al*, 2002). Menurut Amalina (2008), pengujian dengan menggunakan MTT dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel

mampu bertahan hidup. Akhir dari uji tersebut adalah memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik dengan adanya muncul kristal formazan.

Reaksi reduksi tersebut terjadi di dalam sel yang masih hidup. Garam tetrazolium (MTT) dilarutkan dalam Phosphate-Buffered Saline (PBS) 5 mg/ml dan disaring untuk menghilangkan residu yang tidak larut. MTT ditambahkan secara langsung pada plate yang berisi medium kultur sebanyak 10-100 μ l dan kemudian diinkubasi selama kurang lebih 4 jam pada 37°C (Mosmann, 1983). Menurut Doyle and Griffiths (2000), kristal formazan berwarna ungu yang terbentuk terlarut dengan adanya penambahan isopropanol asam (100 μ l 0,04 N HCl dalam isopropanol) atau dengan cara SDS 10 % dalam HCl 0,01 N. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm dengan menggunakan ELISA reader (Junaedi, 2000). Menurut Amalina (2008), Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme.

6. 5-Fluorouracil

5-fluorourasil (5-FU) (Gambar 2.3) merupakan salah satu agen kemoterapi yang digunakan sejak 1950 untuk mengobati berbagai macam kanker salah satunya adalah kanker payudara (Zhang *et al*, 2008). 5-FU adalah antimetabolit yang bekerja secara antagonis dengan timin terhadap aktivitas enzim timidilat sintetase (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 (Hoskins *et al.*, 2008).



Gambar 2.3 Struktur 5-fluorouracil (CCRC, 2009)

5-FU dikonversi menjadi tiga metabolit aktif utama yaitu: (1) *fluoro-deoxyuridine monophosphate* (FdUMP), (2) *fluorodeoxyuridine*

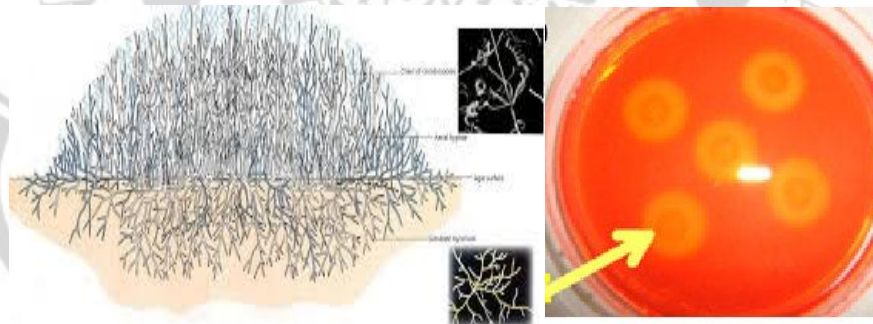
tryphosphate (FdUTP), dan (3) *fluorouridine tryphosphate* (FUTP). Mekanisme utama aktivasi 5-FU adalah konversi menjadi *fluorouridine monophosphate* (FUMP) juga secara langsung oleh *orotate phosphoribosyl transferase* (OPRT) atau secara tidak langsung via *fluorouridine* (FUR) melalui aksi berurutan 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* (DHFU) yang tidak aktif. DHFU adalah *rate limiting step* katabolisme 5-FU pada sel normal dan sel tumor, proporsi dari pengerusakan menjadi metabolit tidak aktif mencapai 80% (Longley dan Johnston, 2007). Hal ini akan mengakibatkan induksi apoptosis karena penghambatan sintesis DNA yang disebabkan sel kekurangan *deoksitimidin trifosfat* (dTTP). Peningkatan ekspresi *thymidilate synthetase* (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 *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, 2005).

7. Aktinobakteria

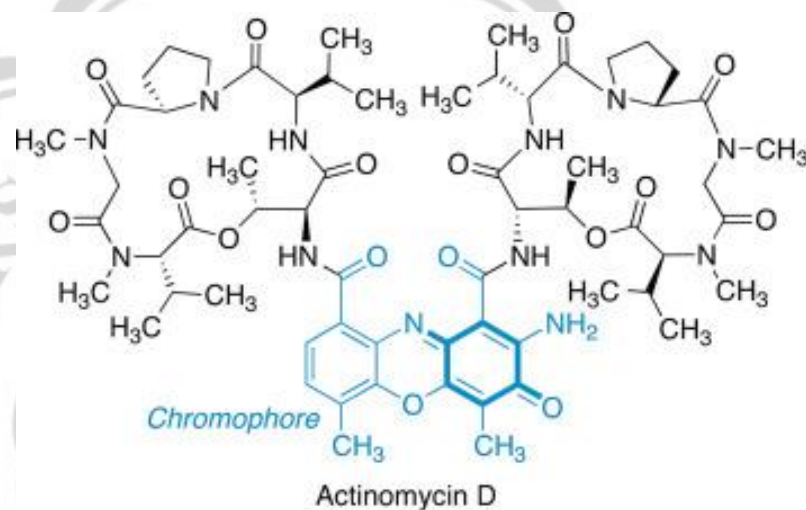
Aktinobakteria (Gambar 2.4) merupakan bakteri Gram positif yang banyak dimanfaatkan karena memiliki kemampuan melakukan biosintesis untuk menghasilkan jenis metabolit baru (*novel metabolite*). Selain itu 9% jenis mikrobial yang mampu menunjukkan aktivitas antagonistik, aktivitas degradasi, dan mineralisasi dari materi organik yang ada di laut adalah aktinobakteria (Manivasagan *et al.*, 2013). Aktinobakteri (juga dikenal sebagai aktinomiset) merupakan kelompok bakteri Gram positif berbentuk filamen, nonmotil, serta memiliki kandungan G+C tinggi (63-78%), umumnya aerob dan beberapa aerob fakultatif (Ludwig, Euzéby *et al.*, 2012). Aktinobakteri diketahui merupakan kelompok bakteri penghasil senyawa bioaktif terbesar, termasuk enzim protease (Bockle *et al.*, 1995; Bressollier *et al.*, 1999).



Gambar 2.4 Morfologi Aktinobakteria(Li *et al.*, 2016)

Secara umum aktinobakteria diklasifikasi ke dalam dua kelompok besar, yaitu kelompok *Streptomyces* dan kelompok non-*Streptomyces*. Kelompok *Streptomyces* pada klasifikasi saat ini terdiri dari genus *Streptomyces*, *Kitasatospora*, dan *Streptacidiphilus* dengan jumlah species mencapai lebih dari 400. Kelompok ini umumnya memiliki permukaan koloni berbubuk tebal seperti jamur dengan spora berantai panjang. Sedangkan Kelompok Non-*Streptomyces* terdiri dari genus *Nocardia*, *Actinoplanes*, *Actinomadura*, *Frankia*, *Micromonospora*

Mycobacteria, dan lainnya, memiliki jumlah spesies yang lebih sedikit pada setiap genus dan memiliki permukaan koloni yang keras atau halus dengan konidia tunggal atau rantai pendek atau memiliki morfologi yang mirip bakteri (Ratnakomala *et al.*, 2016). Selain menjadi penghasil utama senyawa antimikroba, aktinobakteria mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan pemanfaatan yang sangat luas diantaranya sebagai : antikanker, antifungal, antiparasit, enzim, nanomineral, dan lain sebagainya (Li *et al.*, 2016). Senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antikanker adalah aktinomisin D (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Struktur aktinomisin D (avendano *et al.*, 2015)

Aktinomisin D (dactinomycin) dapat diisolasi dari beberapa spesies aktinobakteria yaitu *Streptomyces fradiae* (Bossi *et al.*, 1958), *Streptomyces parvulus* (Williams dan Katz, 1977), *Streptomyces plicatus* (Lam *et al.*, 2002), *Streptomyces violascens* (Roos dan Loane, 2004), *Streptomyces sindenensis* (Praveen *et al.*, 2008)

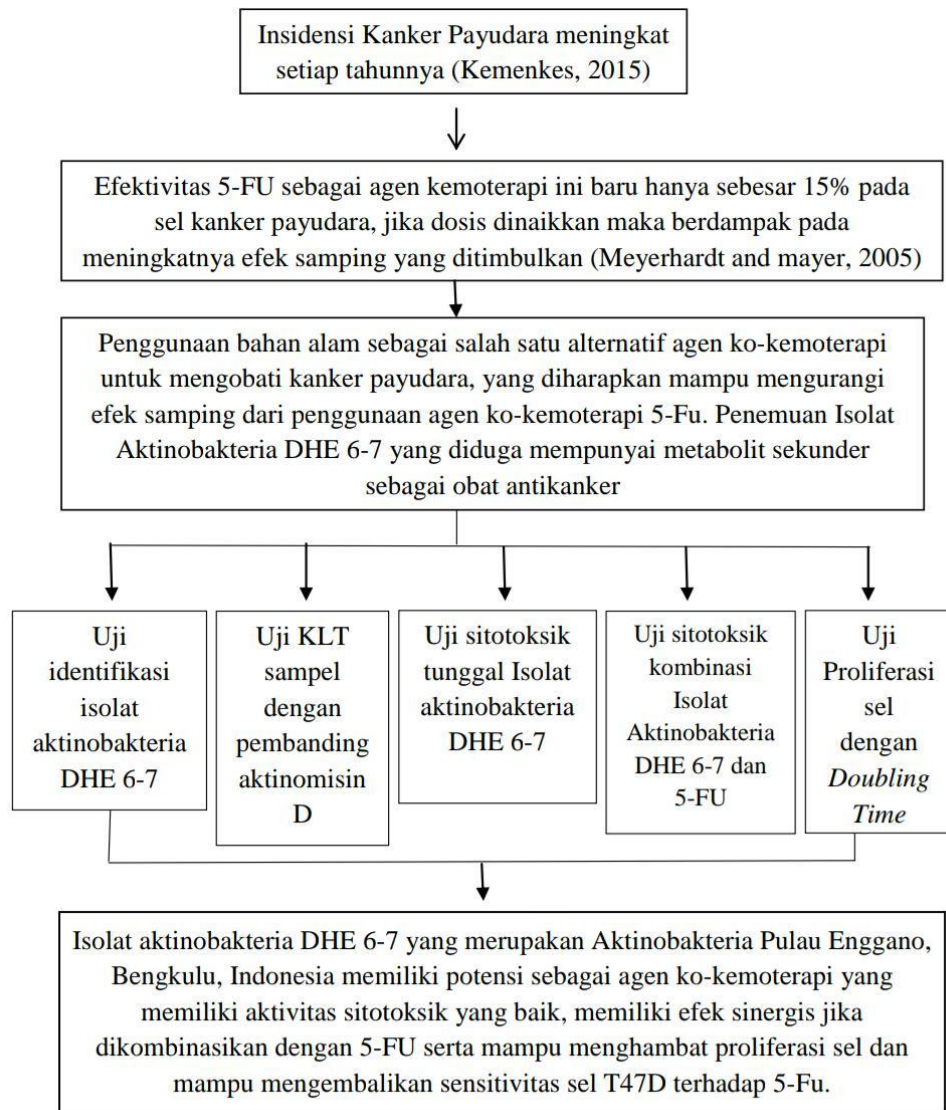
Sifat sitotoksitas aktinomisin tersebut, menyebabkan jarang dipergunakan untuk pengobatan. Aktinomisin D adalah antibiotik pertama yang mempunyai aktivitas antikanker (Murwani, 2015). Aktinomisin D merupakan antibiotika yang mengganggu fungsi DNA, sehingga inisiasi transkripsi, dan menghambat perpanjangan RNA oleh RNA polymerase. Ikatan tersebut tergantung residu guanin dan struktur sekunder heliks. Selain digunakan sebagai obat antikanker, aktinomisin D ini digunakan

sebagai obat kemoterapi untuk penyakit koriokarsinoma (Manuaba *et al*, 2003).

8. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satunya bergerak berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalam zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas yang disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan ion, sehingga masing-masing zat dapat diidentifikasi dengan metode analitik. Teknik kromatografi biasanya membutuhkan zat terlarut yang terdistribusi antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Penotolan sampel yang tidak tepat menyebabkan bercak yang melebar dan puncak ganda. Penjerap yang sering digunakan adalah silica dan serbuk selulosa. Sedangkan mekanisme yang utama dalam KLT adalah partisi dan adsorpsi. Parameter dari kromatografi lapis tipis adalah faktor retensi (R_f) merupakan perbandingan jarak yang ditempuh fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2007).

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Menurut penelitian Cibi dan Jayakumaran (2016) *Streptomyces parvulus* isolat ekosistem mangrove di Kerala, India yang diujikan terhadap sel A459 yang memiliki IC_{50} sebesar 0,52 $\mu\text{g/mL}$. Maka dari itu dalam penelitian ini dapat ditarik hipotesis berupa ekstrak etil asetat isolat aktinobakteria DHE 6-7 (*Streptomyces indiaensis*) yang diduga memiliki aktivitas antikanker yang diujikan pada sel kanker payudara T47D.