

YLS-THERAPY: POTENSI SUPERNATAN YOGURT LBA-ST SEBAGAI ANTIKANKER SERVIKS BERBASIS BIOMOLEKULER

Desie Suci Permata Sari¹, Wildan Mochamad Ridho¹, Lizziyannida¹, Zurniatu Sholihah¹, Satya Hanggara Putra Pratama², Erita Rahmani¹, dan Wibi Riawan^{1,3}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

email: desiesucips@hotmail.com;

thebrandalz5@gmail.com;

lizzyasmakasih@gmail.com;

zurniatu@gmail.com; etalog_23@yahoo.co.id

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Email: satyahpp2@gmail.com

³Departemen Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Email: wibiriawan@yahoo.co.id

Abstract

Cervical cancer is the third most diagnosed cancer and the fourth leading cause of cancer death in females in the world. Zebrafish have been used as experimental animals in human tumors because of similar gene expression (70%) than other experimental animals. Yogurt LBA-ST produces SCFA metabolites (acetate, lactate, and butyrate) that can provide anticarcinogenic effects. There has been a vast growth of related research focusing on proliferation and apoptosis without clear mechanism. However, Important concern need to considered in the development of tumors is protein-coding invasion, migration, and adhesion (IMA) of tumor cells. This study aims at investigating (1) Antiproliferation activities of supernatan yogurt LBA-ST (SY LBA-ST) on zebrafish embryos and HeLa cells, and (2) anti-IMA's pathway on HeLa cells. The anti-cancer property of SY LBA-ST was evaluated by MTT assay for viability and imunositochimistry of MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, and TGF-β for anti-IMA mechanism. The data is collected and analyzed using One-Way ANOVA. This study could be concluded that (1) SY LBA-ST increase mortality rate and decreased the hatching rate in zebrafish embryos, LC50 ≈ 20% (v/v), (2) supernatant, pellet, and whole yogurt shows antiproliferation activity on HeLa cells, (3) IC50 SY LBA-ST ≈ 30% (v/v) and the

ED = 10% (v/v), and (4) the anti-IMA's pathway was via decrease MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, and TGF-β expression ($p < 0.05 \pm 0.005$).

Keywords: *lactobacillus bulgaricus-acidophilus, streptococcus thermophilus, cancer, HeLa, zebrafish*

1. PENDAHULUAN

Kanker serviks adalah pertumbuhan sel abnormal yang pada jaringan servik yaitu pada mukosa *exocervix* atau pada mukosa *endocervix* (American cancer society, 2012). Kanker serviks merupakan kanker kedua tertinggi didunia yang menyerang wanita setelah kanker payudara. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) mengemukakan bahwa angka kejadian kanker serviks pada tahun 2008 terdapat 530.232 kasus dan 275.000 diantaranya meninggal dikarenakan penyakitnya tersebut.

Lebih dari 85% kejadian kanker serviks di dunia terjadi di negara berkembang (Castellsagué, 2012). Studi epidemiologi secara jelas menetapkan bahwa infeksi *Human papilloma virus* (HPV) merupakan penyebab utama pada kanker serviks. Berdasarkan penelitian *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada 22 negara, 99,7% kanker serviks disebabkan oleh HPV. Pada wanita, kanker serviks dapat dicegah dengan mengikuti program skrining sitologi seperti tes Pap Smear, tes HPV DNA, dan tes molekular (Sari, 2014).

Terapi umum penderita kanker serviks meliputi vaksinasi, operasi, radioterapi, dan kemoterapi. Namun obat-obatan tersebut mempunyai efek samping yang tidak diinginkan dan belum menyelesaikan masalah yang ada, sementara vaksinasi tidak dapat diterapkan diseluruh negara karena mahal dan terbatas (Goldie *et al*, 2005). Produk fermentasi sangat direkomendasikan sebagai agen terapi alternatif (Rahman, 2013), karena memiliki *multiple mechanisms of action*, tingkat keamanan yang tinggi, dan mudah diproduksi secara terus menerus (McFarldan, 2009).

Zebrafish telah digunakan sebagai hewan coba pada laboratorium selama beberapa dekade, dan telah terbukti menjadi sistem model vertebrata yang dipercaya dalam analisis genetik dari perkembangan *pathway* dan mulai dimanfaatkan sebagai model dalam penelitian

klinis. Zebrafish juga telah ditemukan dapat mengembangkan hampir semua jenis tumor manusia dengan struktur morfologi yang mirip dan berdasarkan penelitian ekspresi gen *signaling pathway* yang sebanding. Penggunaan zebrafish sebagai model kanker melengkapi model yang sudah ada dengan sifat dan keuntungan yang spesifik dalam penelitian (Feitsma *et al*, 2008).

Zebrafish mempunyai larva transparan. Embrio yang transparan memungkinkan pengamatan seluruh sel, jaringan, dan organ secara *in vivo* dan *real time* sampai pada tahap perkembangan awal larva. Embriogenesis yang cepat dan tingginya fekuiditas menyebabkan jumlah embrio yang dihasilkan sangat besar. Dalam kondisi optimum zebrafish betina dapat menghasilkan 300 telur/minggu sehingga sangat menguntungkan pada kajian meiosis dan kloning.

Disamping itu rendahnya biaya perawatan yang sangat signifikan jika dibandingkan perawatan binatang model mamalia. Keseluruhan sekuensing genom ikan zebrafish telah selesai diidentifikasi pada akhir tahun 2010 sehingga kajian molekuler dan genetik sangat memungkinkan untuk penentuan ekspresi gen, fungsi gen melalui pengembangan transgenik, antisense gen *knockdown*, dan mutagenesis dalam skala besar. Zebrafish memiliki sistem kardiovaskuler, syaraf, sistem imun, dan sistem pencernaan yang mirip dengan manusia. Zebrafish tergolong vertebrata yang memiliki berbagai macam organ dan tipe sel yang serupa dengan mamalia. Proses organogenesis terjadi relative cepat yaitu organ utama terbentuk setelah 5-6hari paska fertilisasi. Tingkat konservasi yang tinggi antara genom zebrafish dengan manusia (persamaannya sekitar 75%) (Khotimah, 2014). Embrio zebrafish mengekspresikan gen yang berperan pada fase invasi, migrasi, dan adhesi sel tumor sangat tinggi pada fase awal proliferasi 24-96hpf (Pirila *et al*, 2003).

Yogurt merupakan produk yang diperoleh dari fermentasi susu menggunakan bakteri asam laktat. *Short-Chain Fatty Acids* (SCFAs) seperti butirate, asetat, dan laktat merupakan hasil metabolit terbesar pada yogurt *Lactobacillus bulgaricus*, *acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* (LBA-ST). Metabolit tersebut dapat memberikan efek antimutagenik, antioxidative, antikarsinogenik, dan memodulasi sistem imun (Wollowaaki *et*

al, 2001). El-Ghany *et al* (2009) mengemukakan metabolit hasil fermentasi bakteri lactobacilli dan streptococci dapat menghambat peroksidasi lipid, scavenger ROS, mencegah mutasi DNA, dan meningkatkan kadar GSH. Didukung oleh Perdigo *et al* (2002) metabolit probiotik tersebut dapat memodulasi respon imun IFN- γ , TNF- α , NF- κ B, dan IL-10 yang berperan penting pada mekanisme apoptosis dan aktivitas antiproliferasi kanker (Hara dan Fergus, 2007).

Perhatian penting yang perlu diperhatikan pada perkembangan tumor adalah protein pengkode invasi, migrasi, dan adhesi sel tumor, namun hampir semua penelitian terkait hanya berfokus pada keseimbangan proliferasi dan apoptosis tanpa mekanisme yang jelas terhadap penghambatan metastasis sel kanker. Dalam mengidentifikasi marker perkembangan sel kanker terhadap peningkatan invasi, migrasi dan adhesi akan terjadi peningkatan MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, dan TGF- β sebagai *critical role* (Patel *et al*, 2002; Rerole *et al*, 2010; Ingrosso *et al*, 2012).

Berdasarkan beberapa permasalahan yang ada maka peneliti mencoba mengembangkan suatu strategi agen terapi kanker serviks menggunakan supernatan yogurt LBA-ST dalam menghambatan invasi, migrasi, dan adhesi melalui penurunan ekspresi MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, dan TGF- β pada embrio zebrafish dan aplikasinya pada sel line leher rahim (HeLa).

2. METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengujian dan Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Farmakologi FKUB, Laboratorium Patologi dan Anatomi FKUB, dan Laboratorium Biokimia FKUB Malang.

Penelitian ini dilakukan dengan studi empiris dengan pendekatan kuantitatif secara eksperimental murni menggunakan desain *true experimental in vitro, post-test only, control group design* untuk mengetahui pengaruh supernatan yogurt LBA-ST terhadap efektifitas terapi.

Sampel penelitian yang digunakan adalah embrio zebrafish dan sel HeLa (sel line kanker serviks). Sampel penelitian yang digunakan adalah embrio zebrafish dan sel HeLa (sel line kanker serviks).

Fermentasi Yogurt LBA – ST (Yogourmet, 2014)

Panaskan satu liter susu pada suhu 82-100° C. Dinginkan susu yang telah dipanaskan sampai suhunya turun menjadi 42-44° C. Larutkan 5 gram starter yogurt (*yogourmet t.m*) yang berisi bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* (LBA-ST) pada secangkir susu yang masih hangat, aduk merata kemudian campurkan pada satu liter susu, aduk secara homogen. Inkubasi pada suhu 4° C selama empat setengah jam atau sampai pH nya 4 -5. Fermentasi dihentikan dengan menyimpannya pada refrigerator sampai yogurt akan digunakan.

Preparasi Supernatan, Yogurt, dan Bakteri

Yogurt LBA-ST dimasukkan kedalam Falcon 50mL sebanyak 4 falcon, disentrifuge selama 15 menit 4000rpm, supernatan dipisahkan dengan pelet (bakteri), disaring menggunakan kertas saring whatman dan disimpan pada suhu 4° C sampai digunakan untuk perlakuan.

Pembuatan Medium Embrio Zebrafish (Khotimah, 2014)

500mL Embrio medium dibuat dengan kandungan kalsium kloride dihidrat (0,2 gram), potasium kloride (0,15 gram), sodium kloride 5 gram, dan magnesium sulfat 8 gram dilarutkan dalam aqua destilata. Untuk konsentrasi akhir, dilakukan pengenceran sampai 10x sehingga didapat embriomedium dengan konsentrasi 1x.

Pembuatan bahan paparan supernatan yogurt LBA-ST dan benzo(a)piren

Benzo(a)piren (Sigma) dilarutkan pada DMF pada 100µM (stock solutions) dan dilarutkan dengan medium kultur pada konsentrasi 0,1mM. Embrio dipapar menggunakan supernatan yogurt LBA – ST (5, 10, 20, dan 40 % (v/v)) dan benzo(a)piren 0,1mM pada 24hpf, 48 hpf, 72 hpf dan 96 hpf dengan 30 embrio persumuran dan dengan 3 kali.

Penyiapan dan pemeliharaan hewan model Zebrafish (Khotimah, 2014)

Zebrafish galur murni diperoleh dari *pet shop*. Disiapkan akuarium dengan ukuran

panjang 60 cm dan lebar 40 cm serta tinggi 40 cm, dengan $\frac{3}{4}$ bagian diisi dengan air dua hari sebelumnya dengan memberikan kristal klorin. Ditempatkan kedalamnya, alat pengatur suhu pada 28°C, alat pengukur temperatur untuk memantau suhu dalam akuarium serta aeraor, untuk mengatur aerasi udara, membuat gelombang serta menurunkan tegangan permukaan air. Zebrafish galur murni usia tiga minggu sebanyak 30 ekor, diperoleh dari *pet shop*, diaklimatisasi selama tiga minggu. Zebrafish dipindahkan kedalam akuarium dengan air baru dua hari sekali dan air disipkan dua hari sebelumnya. Untuk pemberian pakan, dilakukan dua kali dalam sehari, jam 10:15 pagi saat dibuka dan jam 6 sore. Untuk pengaturan pencahayaan, akuarium dilengkapi dengan lampu yang akan mati secara otomatis, dengan 14 jam penyinaran dan 10 kondisi gelap (dibantu dengan penutupan akuarium menggunakan kotak karton).

Pengambilan dan Pembersihan Telur (Khotimah, 2014)

Zebrafish siap bertelur jika sudah berusia 1 bulan, dan untuk pengambilan telur dilakukan pagi hari dengan menyiapkan kotak perangkat telur. Telur dibersihkan dengan cara mengganti air dengan medium kultur berulang-ulang sampai terpisah dengan kotoran ikan. Telur dipindahkan kedalam cawan bersih yang sudah diisi dengan medium kultur. Lakukan pengantian medium kembali selama 3 kali. Pisahkan telur secara random/acak ke plate kultur 6 sumuran, dengan masing-masing sumuran berisi 30 telur. inkubasi pada incubator dengan suhu 28°C, selama 30 menit.

Pemaparan supernatan yogurt LBA-ST dan benzo(a)piren

Ganti medium kultur dengan medium kultur yang sudah mengandung supernatan yogurt LBA – ST dan benzo(a)piren sesuai dengan perlakuan masing-masing dan inkubasi pada incubator suhu 28°C, selama 24, 48, 72 dan 96 hpf.

Kultur Sel HeLa (Sari, 2014)

Sel HeLa dikultur pada media RPMI 1640 yang telah tersuplementasi 10% (v/v) dengan FBS dan asam amino non esensial. Sel dihitung menggunakan standart hemasitometer. Untuk pengujian, sel HeLa dipanen dengan Trypsin-EDTA, disentrifuge 1500 rpm selama

8 menit, supernatan dibuang, kemudian pelet diresuspensi dengan medium kultur yang sudah ditambahkan. Sel ditanam pada sumuran yang telah dijelaskan sebelumnya dan diinkubasi 37°C, 95% udara, 5% CO₂, 100% kelembaban.

Uji Proliferasi Sel HeLa (Sari, 2014)

Suspensi sel HeLa sebanyak 100 µL dengan kepadatan 1,5 x 10⁴sel/100 µL media didistribusikan ke dalam 96-well plate dan diinkubasikan selama 24 jam. Setelah diinkubasi, ke dalam sumuran dimasukkan larutan supernatan, yogurt, dan bakteri pada berbagai seri konsentrasi. Sebagai kontrol sel ditambahkan 100 µL medium kultur ke dalam sumuran sel HeLa tanpa supernatan, yogurt, maupun bakteri, dan kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO₂ dan 95% O₂.

Pada akhir inkubasi, media kultur dibuang lalu ditambahkan 10 µL larutan MTT (5 mg/mL PBS) dan medium diganti dengan 190 µL medium RPMI 1640 komplet. Kemudian sel diinkubasi selama 3-4 jam. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan reagen stopper SDS (100 µL). Microplate kemudian dibungkus dengan tisu dan diinkubasi selama 1 malam pada suhu ruang dan ruangan gelap. Sel yang hidup bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Hasil pengujian dibaca dengan Mikroplate reader pada panjang gelombang 570 nm.

Imunositokimia MMP-2, Laminin5-y2, HSP27, dan TGF-β (Sari, 2014)

Suspensi sel HeLa sebanyak 1000 µL dengan kepadatan 5 x 10⁴sel/1000 µL media RPMI 1640 didistribusikan ke dalam 24-well plate dan diinkubasikan selama 24 jam. Setelah konfluen diberikan supernatan yogurt LBA-ST dengan dosis 10, 20, dan 40% (v/v), sebagai kontrol sel ditambahkan 1000 µL medium kultur ke dalam sumuran sel HeLa tanpa supernatan kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO₂ dan 95% O₂.

Sel HeLa dikultur pada cover slip dan dilakukan pencucian 2 kali dengan PBS dingin dan difiksasi menggunakan metanol dingin selama 15 menit dan dicuci kembali dengan PBS 1 kali. Selanjutnya meneteskan larutan hidrogen peroksida (*blocking solution*), diinkubasi selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan Imunositokimia MMP-2, Laminin5-

y2, HSP27, dan TGF-β dengan antibodi monoklonal MMP-2, Laminin5-y2, HSP27, dan TGF-β dengan pengenceran 1:200 sebesar 400 µL dengan inkubasi 1 jam kemudian dicuci dengan PBS.

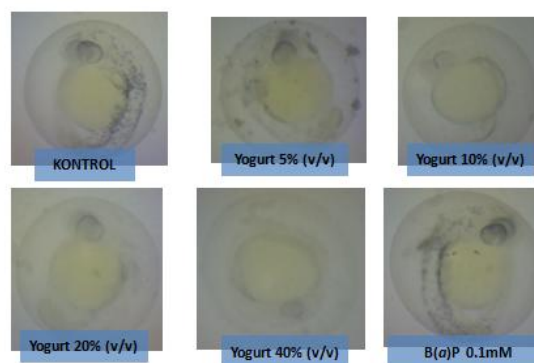
Selanjutnya ditetesi antibodi sekunder biotin (*biotinylated universal secondary antibody*). Dilanjutkan dengan pencucian PBS, inkubasi enzim streptavidin peroksidase diinkubasi selama 10 menit dan dicuci dengan PBS. Selanjutnya meneteskan larutan substrat kromogen diaminobenzidine diinkubasi selama 10 menit, lalu dicuci dengan aquades. Dilakukan counterstain dengan meyer hematoxylen inkubasi selama 3 menit, lalu dicuci dengan aquades. Coverslip diangkat lalu dikeringkan dengan xylol dan alkohol dan dikeringkan. Setelah itu dimounting dengan entelan. Pengamatan dan perhitungan ekspresi MMP-2, Laminin5-y2, HSP27, dan TGF-β dilakukan dengan mikroskop cahaya.

Analisis Data

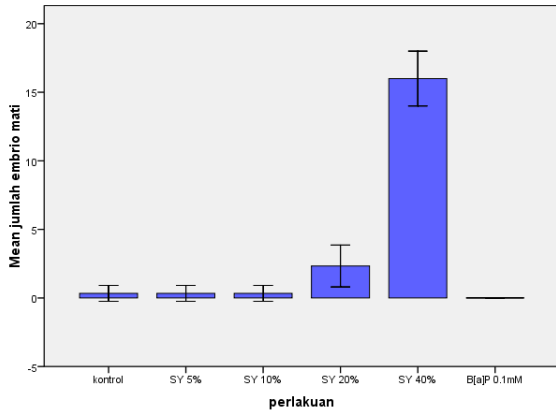
Hasil pengukuran dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16 for Windows 7. Dilakukan uji normalitas dan homogenitas data. Uji statistik data menggunakan one way ANOVA. Untuk mengetahui pengaruh dosis supernatan yogurt LBA-ST terhadap aktivitas antiproliferasi dan ekspresi MMP-2, Laminin5-y2, HSP27, dan TGF-β. Dengan tingkat kebermaknaan 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila diperoleh $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan/pengaruh yang signifikan, sebaliknya bila $p < 0,05$ menunjukkan ada perbedaan/pengaruh yang signifikan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

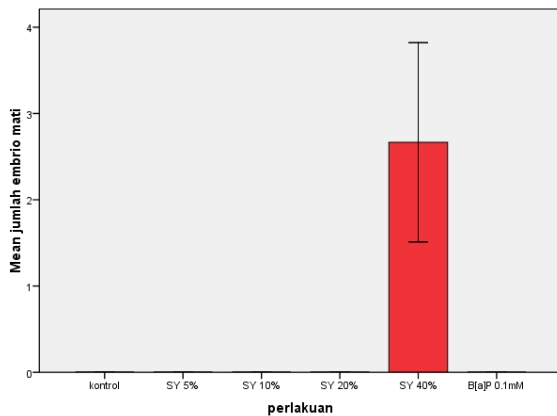
Evaluasi Aktivitas Antiproliferasi Pada Embrio Zebrafish



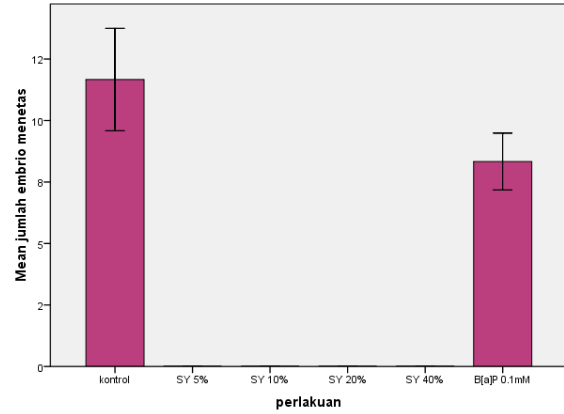
Gambar 1. Efek supernatan yogurt LBA-ST dan benzo(a)piren dibandingkan dengan kontrol terhadap morfologi emrio zebrafish (perbesaran 40x).



Gambar 2. Efek supernatan yogurt LBA-ST dan benzo(a)piren dibandingkan dengan kontrol terhadap laju mortalitas embrio zebrafish 24hpf



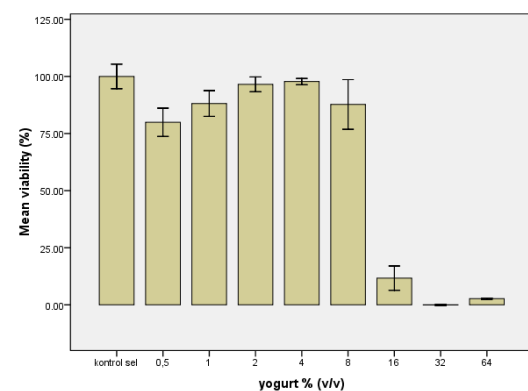
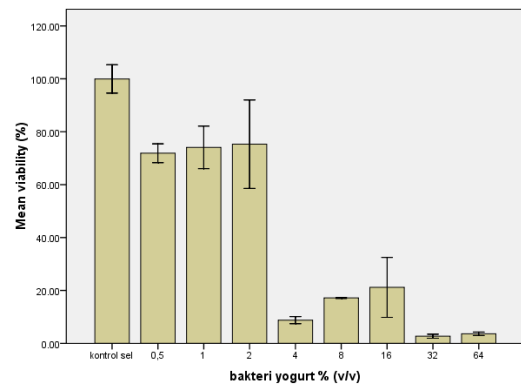
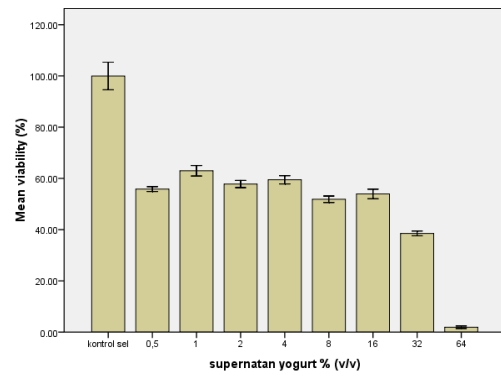
Gambar 3. Efek supernatan yogurt LBA-ST dan benzo(a)piren dibandingkan dengan kontrol terhadap laju mortalitas embrio zebrafish 48hpf.



Gambar 4. Efek supernatan yogurt LBA-ST dan benzo(a)piren dibandingkan dengan kontrol terhadap laju penetasan embrio zebrafish 48hpf.

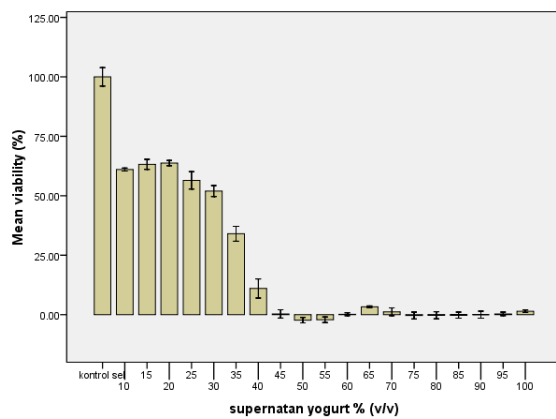
Evaluasi Efektivitas Antikanker pada Sel HeLa (*cell line* kanker serviks)

Optimalisasi Dosis dan Pemilihan Agen Terapi Kanker Serviks Tahap I



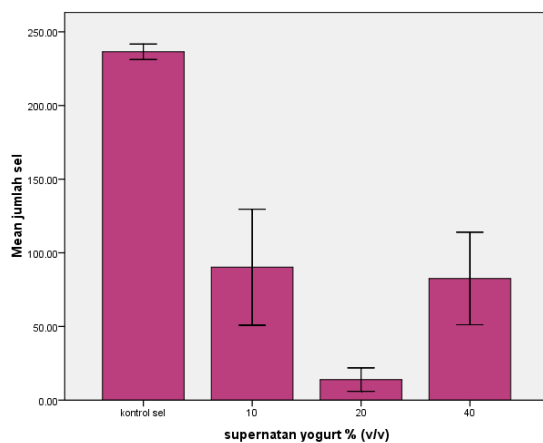
Gambar 5. Efek pemberian supernatan yogurt, bakteri yogurt, dan *whole* yogurt LBA-ST terhadap proliferasi sel HeLa.

Optimalisasi Dosis Supernatan Yogurt LBA-ST Tahap 2



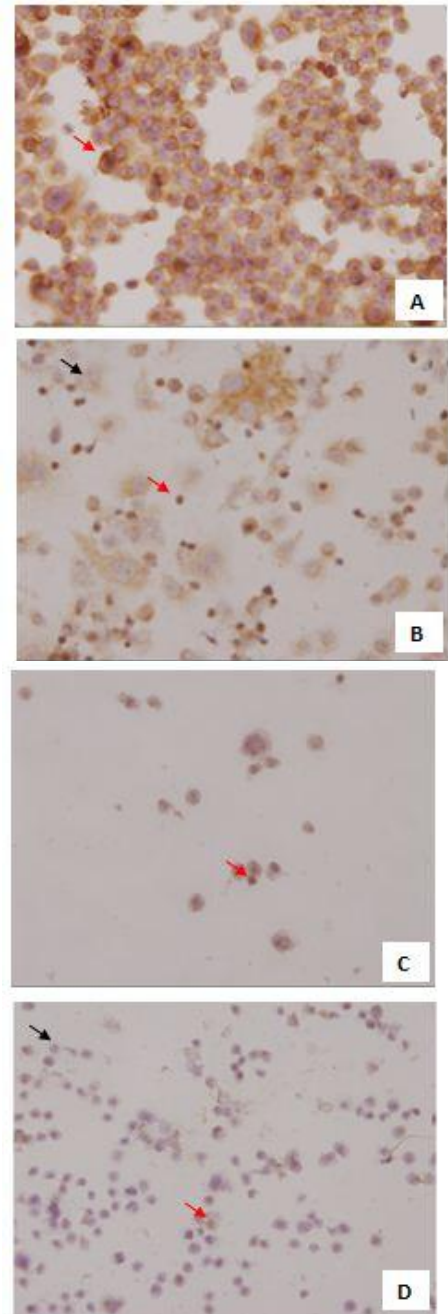
Gambar 6. Efek pemberian variasi dosis supernatan yogurt LBA-ST terhadap proliferasi sel HeLa.

Jumlah Sel HeLa

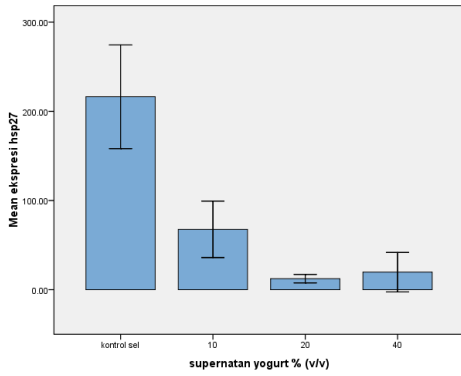


Gambar 7. Efek pemberian supernatan yogurt LBA-ST 10, 20, dan 40% v/v terhadap jumlah sel HeLa dibandingkan dengan kontrol.

Evaluasi Mekanisme Antikanker melalui modulasi HSP-27

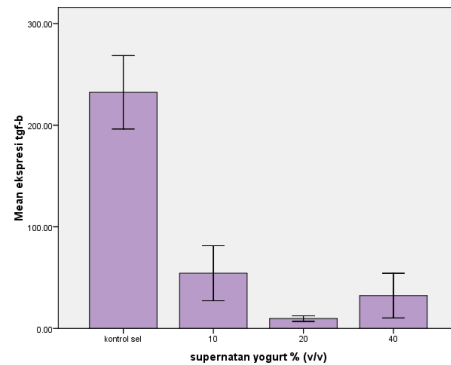


Gambar 8. Perbandingan ekspresi HSP 27 kontrol sel (a) dengan perlakuan pemberian supernatan yogurt LBA-ST 10% (v/v), (b) 20% (v/v), dan (c) 40% (v/v) inkubasi 24 jam. Ekspresi HSP 27 pada sel menyebabkan meningkatkan kuantitas warna dan perubahan morfologi sel HeLa (perbesaran 400x). Sel normal panah hitam (→), sel ter-over ekspresi HSP 27 panah merah (→).



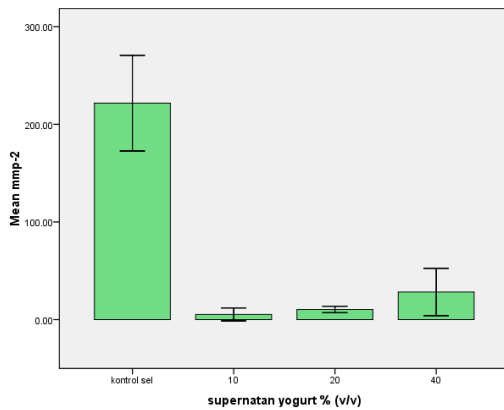
Gambar 9. Indeks ekspresi HSP 27 dengan pemberian supernatan yogurt LBA – ST 10%, 20%, dan 40% (v/v) dibandingkan kontrol.

Evaluasi Mekanisme Antikanker melalui modulasi TGF-β



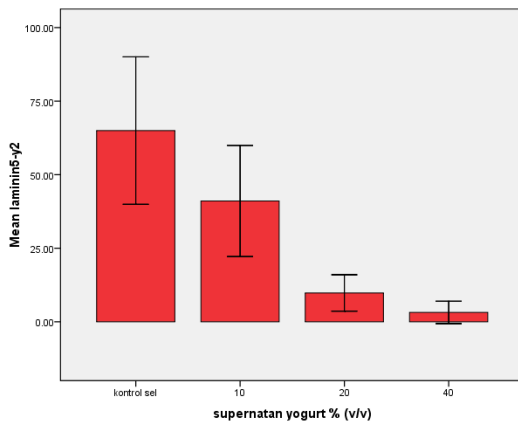
Gambar 12. Indeks ekspresi TGF-β dengan pemberian supernatan yogurt LBA – ST 10%, 20%, dan 40% (v/v) dibandingkan kontrol.

Evaluasi Mekanisme Antikanker melalui modulasi MMP-2



Gambar 10. Indeks ekspresi MMP-2 dengan pemberian supernatan yogurt LBA – ST 10%, 20%, dan 40% (v/v) dibandingkan kontrol.

Evaluasi Mekanisme Antikanker melalui modulasi Laminin 5-y2



Gambar 11. Indeks ekspresi Laminin 5-y2 dengan pemberian supernatan yogurt LBA – ST 10%, 20%, dan 40% (v/v) dibandingkan kontrol.

Pada penelitian ini pemberian supernatan yogurt dapat menghambat proliferasi pertumbuhan embrio zebrafish pada semua dosis (10, 20, dan 40% (v/v), sementara benzo(a)piren 0.1mM tidak memberikan efek yang berarti dibandingkan dengan kontrol. Hasil ini berpotensi untuk sebagai modal antikanker pada penelitian aplikasi menggunakan sel HeLa karena ekspresi genetik pada zebrafish 70% mirip manusia.

Hasil pada penelitian aplikasi, proliferasi sel HeLa diidentifikasi menggunakan MTT dan jumlah sel HeLa. Supernatan Yogurt, Bakteri Yogurt, serta Yogurt menunjukkan potensi digunakan sebagai antikanker setelah dievaluasi menggunakan MTT, namun pada optimalisasi dosis kedua hanya digunakan supernatan yogurt karena dapat dikembangkan sebagai sediaan antikanker steril dimasa depan yang produksinya dapat dikontrol.

Supernatan yogurt pada dosis 20% (v/v) menunjukkan ekspresi anti-proliferasi yang lebih baik dibandingkan dengan supernatan yogurt pada dosis 10 dan 40% (v/v), hasil yang sama didapatkan pada perhitungan jumlah sel. Pada penelitian ini ditemukan dosis supernatan yogurt yang mendekati IC₅₀ yaitu 30% (v/v) karena dapat menghambat proliferasi 51% sel HeLa.

Sementara, pada pengujian jalur antikanker digunakan parameter MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, dan TGF-β. Hasil uji statistik ekspresi MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, dan TGF-β menunjukkan adanya pengaruh pemberian supernatan yogurt pada kelompok perlakuan.

Hal ini ditunjukkan dengan adanya rata-rata ekspresi MMP-2, Laminin5-y2, Hsp27, dan TGF- β pada sel HeLa yang cenderung menurun pada supernatan yogurt ($p < 0,001$) secara signifikan dibandingkan dengan kontrol.

Pada ekspresi HSP-27 dan TGF- β pada dosis 20% (v/v) didapatkan penurunan ekspresi tertinggi, sementara pada ekspresi MMP-2 ada pada dosis 10% (v/v), dan pada ekspresi laminin5-y2 ada pada dosis 40% (v/v). Sehingga supernatan yogurt dapat menghambat proliferasi, migrasi, dan invasi sel kanker selain memicu apoptosis dan menghambat proliferasi.

4. KESIMPULAN

Pemberian supernatan yogurt LBA-ST dapat meningkatkan laju mortalitas serta penurunan *hatching rate* pada embrio zebrafish, sementara pemberian karsinogen benzo(a)piren pada dosis 0,1mM tidak memberikan efek yang berarti dibandingkan dengan kontrol. Baik Supernatan, Bakteri, maupun *whole* Yogurt LBA-ST dapat digunakan sebagai kandidat agen terapi kanker serviks. Supernatan Yogurt LBA-ST lebih direkomendasikan oleh peneliti karena dapat dikembangkan sebagai agen terapi kanker serviks yang lebih steril dan aplikatif. Dosis yang mendekati IC_{50} supernatan Yogurt LBA-ST pada sel HeLa adalah sebesar 30% (v/v), sementara ED 20% (v/v). ekspresi protein yang berperan pada invasi, adhesi, dan migrasi (HSP27, Laminin5-y2, TGF- β , dan MMP-2) dapat diturunkan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada DIRJEN DIKTI, seluruh academia PKM Universitas Brawijaya, Bapak Wibi Riawan S.Si, Ibu Husnul Khotimah S.Si, M.Kes, dan seluruh pihak terkait.

5. REFERENSI

- American Cancer Society. 2012. *Cervical Cancer Detailed Guide*. American Cancer Society.
- Castellsagué, X., Laia B., Laia A., Mireia D., Silvia S., Xavier F. 2012. *The Epidemiology of Cervical cancer*. HPV and Cervical Cancer, pp 63-83.
- El-Ghany, Abd M. A., Motawee, and El-Kewawy, H.E.M. 2009. Biological effects of yoghurt with rosemary on injured liver rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 6(3): 525-532.
- Feitsma, H., Cuppen E. 2008. Zebrafish as a Cancer Model. Hubrecht Institute for Developmental Biology and Stem Cell Research, Utrecht, the Netherlands. *Mol Cancer Res*. 6(5).
- Goldie, S.J., Kuhn, L., Denny, L., et al. 2005. *Policy Analysis of Cervical Cancer Screening Strategies in Low Resource Settings: Clinical Benefits and Cost Effectiveness*. 285: 3107-115.
- Hara, A. M and Fergus Shanahan. 2007. Mechanisms of Action of Probiotics in Intestinal Diseases. *The Scientific World journal*. Vol 7: 31-46.
- Khotimah, Husnul. 2013. Neuroprotective Effect of Centella Asiatica Throught the Increasing BDNF and Decreasing Apoptotic Neuronal Cells. Brawijaya University.
- McFarlan. 2009. *Regulation of short-chain fatty acid production*. Proceed the Nutr Soc. 62: 67-72.
- Patel, Vyomesh., Kay Aldridge., John F.Ensley., Edward Odell., Andrea Boyd., Judith Jones., J.Silvio Gutkind., and W.Andrew Yeudall. 2002. Laminin-y2 Overexpression in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Int. J Cancer*. 99: 583-588.
- Perdigo, G., A de Moreno de LeBlanc., J Valdez., and M Rachid. 2002. Role of yoghurt in the prevention of colon cancer. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56 (3): S65-S6.
- Rahman, Mahbuba. 2013. Medical Application of Fermentation Technology. *Advanced Materials Research*. 8(10): 127-157.
- Rerole, Anne Laure., Anne Laure Joly., Dominique Thuringer., and Carmen Garrido. 2010. Hsp70 and Hsp27: Emerging Targets in Cancer Therapy. *Apoptosome*. pp 169 -202.
- Sari, Desie Suci Permata. 2014. Pemberian Ekstrak Maserasi Dan Sokletasi Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Atau Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Serta Kombinasinya Sebagai Antikanker Pada Sel Hela Via Modulasi NF- κ B. Universitas Brawijaya.
- Wollowski, Ingrid, Gerhard Rechkemmer., Beatrice L Pool-Zobel. 2001. Protective role of probiotics and prebiotics in colon

cancer. *Am J Clin Nutr* 2001. 73(suppl):
451S-5S.