

## BAB 6

## PEMBAHASAN

## 6.1 Supernatan Yogurt LBA–ST terhadap Ekspresi Hsp27 Sel Kanker

## Serviks

Pengujian ekspresi Hsp27 dilakukan menggunakan metode imunositokimia. Metode imunositokimia menggunakan antibodi untuk mendeteksi antigen selular pada sampel. Sebagian besar antibodi yang digunakan adalah antibodi monoklonal. Antibodi akan berikatan dengan antigen atau protein spesifik di dalam sel. Antibodi yang tidak berikatan dipisahkan dengan pencucian, sedangkan antibodi yang berikatan dideteksi secara langsung dengan antibodi primer berlabel, maupun secara tidak langsung dengan antibodi sekunder berlabel enzim atau fluoresen (Cristine dkk,2013).

Hsp27 muncul sebagai respon terhadap *heat shock* dan kondisi stres seluler sebagai protein yang akan memicu kerusakan protein (Vidyasagar *et al.*, 2012). Hsp27 secara konstitutif terekspresi dalam sel dan jaringan dalam jumlah yang rendah namun Hsp27 terekspresi berlebihan pada kanker ovarium, kepala dan leher (Chen *et al.*, 2012). Dalam serviks Hsp27 merupakan penanda diferensiasi sel, dan terakumulasi tinggi selama proses metaplasia skuamosa (El-Ghobashy dan Herrington, 2009; Liu *et al.*, 2011). Selain itu, ekspresi Hsp27 berfungsi melindungi sel dari apoptosis selama inflamasi (Acunzo *et al.*, 2012). Lo Muzio *et al.* (2000) melaporkan bahwa ekspresi Hsp27 dikaitkan dengan karsinoma sel skuamosa yang agresif berdiferensiasi buruk . Ekspresi Hsp27 yang berlebihan tersebut dapat disebabkan oleh terjadinya mutasi pada HSF-1 akibat kondisi stres. Selain berperan dalam jalur apoptosis HSF-1 juga

memastikan aktivasi transkripsi berjalan cepat dan berperan dalam migrasi sel yaitu proses yang diperlukan untuk metastase. . HSF-1 mensekresi sel-sel kanker ovarium dan menimbulkan metastase dengan spontan melalui ikatan yang tinggi dengan focal adhesi kinase (FAK) yaitu protein yang terlibat dalam adhesi dan migrasi sel. Sehingga peningkatan ekspresi HSP27 meningkatkan metastasis sel kanker melalui jalur invasi migrasi dan adhesi sel (Bausero et al 2004, 2006; Kato et al 2000; Gibert et al 2012).

HSP27 dapat meningkatkan adhesi sel dan memodulasi invasi serta migrasi sel melalui ikatan yang tinggi dengan focal adhesi kinase dan ekspresi dari MMP-2 (Lee JW dkk,2008). Menurut Daniel et al (2012) Hsp27 (HspB1) dalam meningkatkan metastasis adalah (1) Hsp27 berinteraksi dengan sitoplasma b-catenin yang menghasilkan modulasi berikutnya yaitu cadherin-protein adhesi sel catenin. Kemudian (2) fosforilasi HspB1 yang di mediasi oleh aktivasi matriks metaloproteinase tipe 2 (MMP-2), yaitu enzim yang mencerna komponen matriks ekstraselular dari massa tumor di sekitarnya dan kemudian merangsang sel-sel tumor untuk invasi. Saat terfosforilasi HSP27 menginduksi pembentukan peningkatan F-aktin dan meningkatkan migrasi sel kemudian invasi sel meningkat. Ekspresi MMP-2 yang tinggi akan menyebabkan HSP27 semakin terpicu untuk terfosforilasi. Sehingga peningkatan ekspresi HSP27 meningkatkan metastasis sel kanker. Komunikasi sel (invasi migrasi adhesi) tersebut berjalan ditandai dengan tingginya proliferasi dan rendahnya apoptosis sel kanker dengan mempengaruhi molekuler yang terlibat yaitu peningkatan ekspresi *cyclin* dan kehilangan ekspresi CDK (Cristine dkk,2013).

Data hasil pengujian dilakukan uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk (Hasil uji menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai  $p =$

0.121 ( $p > 0.05$ ) Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas dan dihasilkan nilai  $p = 0.110$  ( $p > 0.05$ ) menunjukkan bahwa data homogen. Hasil analisis statistik uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan indeks ekspresi Hsp27 yang signifikan antara kelompok perlakuan kontrol dan kelompok perlakuan dosis supernatan yogurt ( $p = 0.001$ ) (**Lampiran 5**). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan indeks ekspresi Hsp27 pada dosis 10, 20, dan 40% bila dibandingkan dengan kontrol. Ekspresi HSP-27 pada dosis 20% (v/v) didapatkan penurunan ekspresi tertinggi. Sehingga supernatan yogurt dapat menghambat proliferasi, migrasi, dan invasi sel kanker selain memicu apoptosis dan menghambat proliferasi. (**Gambar 5.4**).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa supernatan yogurt LBA–ST mampu menurunkan ekspresi Hsp27 sel kanker serviks dibandingkan dengan kelompok kontrol. Supernatant yoghurt *Lactobacillus bulgaricus* 191R dan *Streptococcus thermophilus* F4 mengandung *Short-Chain Fatty Acids* (SCFAs) berupa butirate, asetat, dan propionate dapat menghambat ekspresi Hsp27 sehingga dapat menekan pertumbuhan kanker (Wei *et al.*, 2011). Fermentasi bakteri karbohidrat dicerna menghasilkan rantai pendek asam lemak SCFA (terutama asetat,propionat dan butirat) merupakan nutrisi dan sinyal untuk pertumbuhan mukosa usus memiliki peran dalam pencegahan kanker dan mempengaruhi perubahan ekspresi gen pada sel tumor (Min Tze Liong, 2008). Penelitian terdahulu oleh Mario (2012) menunjukkan bahwa kadar butirat yang tinggi dapat mengurangi proliferasi dan menghasilkan peningkatan regulasi apoptosis sehingga merupakan inhibitor yang poten terhadap ekspresi Hsp27. Butirate, asetat, dan propionate sangat berpotensi dikembangkan sebagai agen terapi kanker serviks dengan menghambat invasi, migrasi, dan adhesi melalui

penurunan ekspresi Hsp27 dengan memodulasi molekuler terkait kanker yaitu menstabilkan elektron tidak stabil dalam kanker menggunakan gugus karbonil yang ada dalam kandungan metabolite SCFA (sergediene *et al*, 1999; carey, 2000).

Metabolit probiotik tersebut memberikan efek antimutagenik, antioxidative, antikarsinogenik (Wollowaaki *et al*, 2001) dan memodulasi respon imun IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, dan IL-10 yang berperan penting pada mekanisme apoptosis dan aktivitas antiproliferasi kanker. Mekanisme yang terlibat yaitu immunomodulation pemulihan flora normal vagina melalui penurunan metabolite berbahaya yang dihasilkan oleh bakteri usus, peningkatan aktivitas NK-sel, dan peningkatan CD1a dalam mengembangkan sel dendritik sebagai mekanisme antikanker (Spurbeck dan Arvidson, 2011).

Berkaitan dengan hasil penelitian mengenai uji ekspresi Hsp27 dan peran Hsp27 sebagai penghambat apoptosis, maka supernatant yoghurt *Lactobacillus bulgaricus* 191R dan *Streptococcus thermophilus* F4 dapat menurunkan ekspresi Hsp27 signifikan yang ditunjukkan dengan penurunan ekspresi Hsp27 pada dosis 20 % (200 $\mu$ L supernatan + 800 $\mu$ L media kultur)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ini, terdapat keterbatasan penelitian, yaitu tidak dilakukan uji kuantitatif jumlah kandungan *Short-Chain Fatty Acids* (SCFAs) berupa butirate, asetat, dan propionate. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan karena aktivitas *Short-Chain Fatty Acids* (SCFAs) memiliki potensi besar untuk dikembangkan.