



## ABSTRAK

### **Potensi Supernatan *Lactobacillus rhamnosus* sebagai terapi alternatif infeksi HPV, Uji in vitro**

**Latar Belakang :** Human papilloma virus (HPV) tipe 16 dan HPV 18 merupakan tipe yang paling karsinogenik dan penyebab sekitar 73% kasus kanker serviks didunia. Gen HPV *E6* dan *E7* mengkodekan onkoprotein virus yang menargetkan protein supresor tumor (p53) dan retinoblastoma (pRB). Inaktivasi p53 oleh *E6* menghambat jalur apoptosis dan ikatan *E7* dengan pRb menyebabkan pelepasan faktor transkripsi E2F sehingga menyebabkan proliferasi sel tidak terkontrol. Galur sel HeLa (HPV-18) dan CaSki (HPV-16) sering digunakan sebagai model in vitro untuk meneliti mekanisme kanker serviks. Terapi HPV menggunakan 5-Flourouracil (5-FU) sebagai agen kemoterapi memiliki keterbatasan dan efek samping. Sehingga, diperlukan terapi alternatif yang aman dan efektif. Saat ini berbagai penelitian sedang dikembangkan untuk mengetahui efektivitas dan mekanisme *Lactobacillus sp* dalam menghambat HPV, salah satunya *L.rhamnosus* yang merupakan mikrobiom manusia normal.

**Tujuan :** Mengevaluasi efek sitotoksik supernatan *L.rhamnosus* (S.LCR), 5-FU dan kombinasi keduanya terhadap viabilitas sel, serta ekspresi gen *E6/E7*, protein p53, dan E2F sel HeLa dan sel CaSki.

**Metode Penelitian :** Penelitian eksperimental in vitro ini menggunakan uji MTT untuk menilai sitotoksisitas, RT-PCR untuk menilai ekspresi *E6/E7*, dan *immunocytochemistry* untuk menilai ekspresi protein p53 dan E2F.

**Hasil Penelitian :** Jika dibandingkan kontrol, S.LCR 60% v/v dapat menurunkan viabilitas sel HeLa dan CaSki secara signifikan (p 0.005; p 0.00). Begitu juga 5-FU 10 µg/mL, yang menurunkan viabilitas sel HeLa dan CaSki secara signifikan (p 0.00 ; p 0.00). Pada sel HeLa dan CaSki, kombinasi S.LCR dan 5-FU tidak menunjukkan efektivitas lebih baik dibandingkan dengan dosis tunggal (p>0.05). Pada sel HeLa, S.LCR 60% v/v secara signifikan menurunkan ekspresi gen *E6* (p 0.035), *E7* (p 0.002), dan protein E2F bebas (p 0.014), serta meningkatkan ekspresi p53 (p 0.00). Hal ini juga ditemukan pada perlakuan dengan 5-FU 10 µg/mL (p<0.05). Pada sel CaSki, S.LCR 60% v/v secara signifikan meningkatkan ekspresi p53 (p 0.00) dan menurunkan ekspresi E2F (p 0.001), akan tetapi ekspresi *E6* dan *E7* mengalami peningkatan meskipun tidak signifikan (p 0.321 ; p 0.591). Hal ini juga ditemukan pada perlakuan dengan 5-FU 10 µg/mL.

**Kesimpulan :** Berdasarkan penelitian in vitro S.LCR berpotensi sebagai terapi alternatif HPV. Pada sel HeLa penurunan viabilitas oleh S.LCR dan 5-FU melalui mekanisme *E7-E2F* dan *E6-p53* yang dapat mempengaruhi proses apoptosis dan siklus sel. Pada sel CaSki, penghambatan penurunan ekspresi p53 dan penurunan E2F dalam bentuk bebas terjadi independen terhadap *E6* dan *E7*.

**Kata kunci:** *Lactobacillus rhamnosus*, 5-Flourouracils, *Human Papillomavirus*, *E6*, *E7*, p53, E2F



## ABSTRACT

# The Potential of *Lactobacillus rhamnosus* Supernatant as an Alternative Therapeutic Strategy against HPV Infection, An In Vitro Study

**Background:** Human papillomavirus (HPV) types 16 and 18 are the most carcinogenic viruses and cause approximately 73% of cervical cancer cases worldwide. The HPV E6 and E7 genes encode viral oncoproteins that target the tumor suppressor proteins p53 and retinoblastoma (pRB). Inactivation of p53 by E6 inhibits the apoptosis pathway, and E7 binding to pRB leads to the release of the E2F transcription factor, causing an uncontrolled cell proliferation. The HeLa (HPV-18) and CaSki (HPV-16) cell lines are often used as in vitro models to study the mechanisms of cervical cancer. HPV therapy using 5-Fluorouracil (5-FU) as a chemotherapeutic agent has limitations and side effects; hence, safe and effective alternative therapies are needed. Currently, various studies are being conducted to determine the effectiveness and mechanism of *Lactobacillus sp.* in inhibiting HPV, one of which is *L. rhamnosus*, which is part of the normal human microbiome.

**Objective:** To evaluate the cytotoxic effects of *L. rhamnosus* (S.LCR) supernatant, 5-FU, and their combination on cell viability, as well as the expression of E6/E7 genes, p53, and E2F proteins in HeLa and CaSki cells.

**Research Methods:** This in vitro experimental study employed the MTT assay to assess cytotoxicity, RT-PCR to assess E6/E7 expression, and immunocytochemistry to assess p53 and E2F protein expression.

**Research Results:** Compared to the control, S.LCR 60% v/v significantly reduced HeLa and CaSki cell viability (p 0.005; p 0.00), and similarly, 5-FU 10 µg/mL significantly reduced HeLa and CaSki cell viability (p 0.00; p 0.00). In HeLa and CaSki cells, the combination of S.LCR and 5-FU did not exhibit superior efficacy compared to a single dose (p>0.05). In HeLa cells, S.LCR 60% v/v significantly decreased the expression of E6 (p 0.035), E7 (p 0.002), and E2F protein (p 0.014), and increased p53 expression (p 0.00). The same result was also found in treatment with 5-FU 10 µg/mL (p <0.05). In CaSki cells, S.LCR 60% v/v significantly increased p53 expression (p 0.00) and decreased E2F expression (p 0.001), while E6 and E7 expression increased but not significantly (p 0.321; p 0.591). The same result was also found in treatment with 5-FU.

**Conclusion:** Based on in vitro studies, S.LCR has potential as an alternative therapy for HPV. In HeLa cells, the reduction in viability caused by S.LCR and 5-FU is mediated through the E7-E2F and E6-p53 mechanisms, which can impact apoptosis and the cell cycle. In CaSki cells, inhibition of the decrease in p53 expression and inhibition of phosphorylated E2F occur independently of E6 and E7.

**Keywords:** *Lactobacillus rhamnosus*, 5-Fluorouracils, Human Papillomavirus, E6, E7, p53, E2F