

IDENTIFIKASI BAKTERI KOLOREKTAL SEBAGAI FAKTOR RISIKO TERJADINYA KANKER KOLOREKTAL

HIJRAL ASWAD

ABSTRACT

This study aims to determine the type of bacteria isolated in colorectal tissues and to investigate the KRAS gene mutation in patients with colorectal cancer. The study design was analytical Cross Sectional. The number of samples used 20 stool, 34 tissues in addition to CRC, 42 CRC tissues, 16 normal tissues other than CRC rinsing, rinsing 17 CRC tissues. The method used is cultur, Rapid TM^{STR} Test Panel and PCR. Based on the results of research that has been done can be concluded that the highest prevalence of the bacteria present in the colon tumor tissues than normal colon tissues, there are *E. coli*, *K. pneumonia*, *K. aerogenes*, *P. vulgaris*, *E. agglomerans*, *Prov. Stuarii*, *A. faecalis*, *P. aerogenes*, *S. epidermidis*, *S. intermedius*, *E. faecalis*, *Staph. Aureus*, *Staph. Epidermidis* dan *S. tiphy*. Although statistically the influence of bacteria are not significant to the development of colorectal cancer that showed the value of chi square is $p = 0,217$.

Key Words: Colorectal, Colorectal cancer

PENDAHULUAN

Kanker Kolorektal (CRC) merupakan penyakit kanker yang menempati urutan ke empat di seluruh dunia. Jumlah kasus CRC semakin meningkat sejak tahun 1975 (Abdul Amir, 2009). Penelitian terdahulu melaporkan keterkaitan infeksi dengan karsinogenesis (Burnett-Hartman, 2008). Infeksi tersebut meliputi *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, Human Papilloma virus dan JC virus. Insiden CRC berkorelasi 18-62% dengan kejadian infeksi *Streptococcus bovis* yang sekarang disebut sebagai *Streptococcus gallolyticus* (Leport, 2007, Zarkin 1990). Biotipe I dari *Streptococcus bovis* diidentifikasi sebagai penyebab infeksi endocarditis maupun lesi prakeganasan (Ellmerich, 2000, Ruoff, 1989). *Streptococcus bovis* pernah dilaporkan diisolasi dari spesimen feses atau darah (Schlegel, 2003).

Kanker kolorektal adalah salah satu penyakit ganas yang paling umum dengan angka kejadian tahunan sebanyak 945 000 kasus di seluruh dunia dan kematian setiap tahunnya sekitar 500 000 kasus (Weitz J, Koch M, *et al.* 2005). Kanker kolorektal adalah kanker epitel yang berkembang

sebagai akibat dari proliferasi sel yang tidak terkontrol dan disregulasi mekanisme apoptosis sel (Labianna R, Beretta GD, Kildani B, *et al.* 2010), dan patogenesis yang tidak diragukan lagi terkait dengan interaksi yang kompleks terhadap imunologi mukosa dengan ekologi mikrobiologi (Salzman NH, Hung K, *et al.* 2010). Pasien dengan penyakit inflamasi kronis seperti colitis ulseratif dan penyakit *Crohn* memiliki risiko mengalami kanker kolon, hal ini menunjukkan bahwa peradangan kronis dan kanker berhubungan erat pada saluran pencernaan (Balkwill F, Coussens LM. 2004; Clevers H. 2004; Hahm KB, Im YH, *et al.* 2001).

Perhatian terhadap angka kejadian kanker kolorektal semakin meningkat, dimana data statistik menunjukkan bahwa angka kejadian kanker kolorektal di dunia meningkat tajam sejak tahun 1975 (Boyle P, Langman JS. 2000). Sedangkan *Indonesian Cancer* mencatat, bahwa pada tahun 2002 ditemukan sebanyak 3.572 kasus baru kanker kolorektal di Indonesia (Abdullah M, 2004). Di Indonesia, kanker kolorektal merupakan jenis keganasan saluran cerna kedua terbanyak setelah keganasan hepatoseluler (Pusponegoro AD, 2004).

ALAT DAN BAHAN

Penelitian ini merupakan suatu penelitian cross sectional untuk menilai karakterisasi jaringan dengan atau tanpa CRC dan mengetahui bakteri-bakteri yang berkolerasi pada penderita CRC. Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2015 sampai Juli 2016. Lokasi penelitian dilakukan di Rumah Sakit Pendidikan UNHAS Lt.6.

Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel adalah: pisau scapel, penjepit, botol sampel, pinset, swab dan Ice Box. Alat yang digunakan dalam perlakuan spesimen adalah cawan petri, freezer 4^o C, rak tabung reaksi, vortex shaker, water bath, sentrifuge, inkubator, laminary air flow, rotary shaker, sarung tangan, bunsen, botol plastik ukuran 100 mL, botol plastik ukuran 10 mL, tabung eppendorf, pompa vacum, rak tabung eppendorf, stopwatch, mikropipet + tip filter, mesin PCR, botol reagen, perangkat UV light+ kamera polaroid, elektroforesis + tip supply, sendok tanduk, kaca mata anti UV, freezer 4^o C, neraca analitik, mikrotube, rak tabung reaksi kecil, sarung tangan dan masker.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Nutrien Agar Mc conkey, Medium MSA, Medium tes biokimia (TSIA, SIM (sulfur indol multiliti), MRVP, Sitrat Urea, Peragian Karbohidrat (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Manitol) untuk bakteri basil Gram negatif (enterobacteriaceae), BHIB agar, Blood Agar, Colombia Agar, dan RapiDTMSTR Panel untuk *Streptococcus spp.*,

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi Bakteri Kolorektal

Adapun pengelompokan kategori sampel yang dikerjakan dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Sampel Kultur Dari Spesimen Jaringan Berdasarkan Pemeriksaan Kultur Yang Dilakukan

No	Kriteria sampel	Posisi	Cairan Bilasan Jaringan		Jaringan Setelah Pembilasan		Jumlah Pemeriksaan kultur bakteri
			A	M.A	A	M.A	
1	Sampel jaringan reseksi	Jaringan Kolon tumor	16	9	27	21	73
		Jaringan kolon normal	9	13	17	17	56
2	Sampel endoskopi	Jaringan kolon tumor	2	3	14	15	34
		Jaringan kolon normal	4	2	11	6	23
3	Feses		18	18			36
Total							222

Sumber : Data Primer, 2016

Ket : A = Aerob

M.A = Mikroaerofilik

Setelah dilakukan pengelompokan sampel, selanjutnya sampel pasien dikultur dalam media BHIB untuk semua kategori sampel. Kemudian sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^oC. Setelah ada pertumbuhan bakteri, dilanjutkan dengan penanaman pada media Nutrien Agar, Mac Conkey agar, Blood Agar, Columbia Agar, dan MSA. Bakteri yang ditemukan diidentifikasi hingga tingkat spesies dengan menggunakan uji biokimia dengan media TSIA, Urea, Citrat, SIM, MRPV dan test RapiDTMSTR Panel. Perlakuan terhadap kultur di berikan dua kondisi yang berbeda yaitu aerob dan kondisi mikroaerofilik sehingga pemeriksaan kultur bakteri yang dilakukan sejumlah 222 pemeriksaan meliputi semua kategori sampel.

Tabel 2. Pertumbuhan Bakteri Yang Telah Dikultur

a) Kultur Bakteri Dari Cairan Bilasan Jaringan

No.	Spesies Bakteri yang ditemukan	Jumlah	
		Cairan bilasan Jaringan Kolon tumor (CTBil, n=16)	Cairan Bilasan Jaringan Kolon Normal dekat tumor (CNBil, n=17)
1.	<i>Escherichia coli</i>	9	12
2.	<i>Klebsiella pneumonia</i>	-	-

3.	<i>Klebsiella aerogenes</i>	1	1
4.	<i>Proteus vulgaris</i>	4	6
6.	<i>Enterobacter aglumerans</i>	6	3
7.	<i>Providencia stuarti</i>	1	-
8.	<i>Alkaligenes faecalia</i>	-	1
9.	<i>Streptococcus anginosus</i>	1	-
10.	<i>Streptococcus intermedius</i>	3	1
11.	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1
12.	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2
13.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	-

Sumber : Data Primer 2016

b) Kultur Bakteri Pada Jaringan Setelah pembilasan

No.	Spesies Bakteri yang ditemukan	Jumlah	
		Jaringan Kolon tumor (CTj, n=42)	Jaringan Kolon Normal dekat tumor (CNj, n=32)
1.	<i>Escherichia coli</i>	18 (42,8%)	12 (37,5%)
2.	<i>Klebsiella pneumonia</i>	4 (9,5%)	-
3.	<i>Klebsiella aerogenes</i>	1 (2,4%)	-
4.	<i>Proteus vulgaris</i>	11 (26,2%)	11 (34,4%)
5.	<i>Enterobacter aglumerans</i>	15 (35,7%)	10 (31,1%)
6.	<i>Providencia stuarti</i>	1 (2,4%)	-
7.	<i>Alkaligenes faecalia</i>	1 (2,4%)	1 (3,1%)
8.	<i>Pseudomonas aerogenes</i>	1 (2,4%)	-
9.	<i>Streptococcus epidermidis</i>	1 (2,4%)	-
10.	<i>Streptococcus anginosus</i>	-	1 (3,1%)
11.	<i>Streptococcus intermedius</i>	1 (2,4%)	2 (6,2%)
12.	<i>Enterococcus faecalis</i>	1 (2,4%)	-
13.	<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (16,7%)	3 (9,4%)
14.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	1 (3,1%)
15.	<i>Salmonella typhi</i>	1 (2,4%)	-

Sumber : Data Primer 2016

a) Kultur Bakteri Pada Sampel Feses

No.	Jenis Bakteri	Feses (n=20)
1.	<i>Proteus vulgaris</i>	10
2.	<i>Proteus mirabilis</i>	2
3.	<i>Enterobacter aglumerans</i>	7
4.	<i>K. pneumonia</i>	1

Sumber : Data Primer 2016

PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui berbagai jenis bakteri yang berkolonisasi pada jaringan kolorektal. Dalam penelitian ini ditemukan 15 spesies bakteri yang tergolong dalam golongan *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* sp., dan *Staphylococcus* sp.

Bakteri *E. coli*, *Enterobacter aglumerans*, *Klebsiella* dan *Proteus* merupakan bakteri golongan enterobacter. Bakteri ini kebanyakan menjadi flora normal pada saluran pencernaan manusia. Golongan enterobacter secara spesifik bersifat patogen dan menyebabkan infeksi oportunistik nosokomial yang menjadi salah satu penyebab utama infeksi ekstraintestinal. seperti *E.coli*, dimana strain ini dapat menghasilkan haemolysin menyerupai α -haemolysin. *Klebsiella* memiliki sifat patogen karena memiliki fimbriae tipe 1 dan 3. Beberapa strain enterobacter juga mampu mengekspresikan aerobactin-dimediasi penyerapan zat besi, yang umumnya terkait patogenesis bakteri ekstraintestinal pada manusia (Greenwood, David; Richard C.B. Slack; John F. Peuthere, 2002).

Bakteri *Klebsiella pneumonia* berada dalam tinja kurang lebih 5% pada individu normal (Nuryasni, 2009). Sedangkan *Pseudomonas aeroginenes* bersifat saprofit pada orang sehat tetapi dapat menimbulkan penyakit apabila ketahanan tidak normal seperti akibat kerusakan jaringan. Selanjutnya, Melalui penambahan CO₂ 5 % dalam penelitian ini telah membuktikan peningkatan pertumbuhan bakteri streptococcus khususnya *streptococcus anginosus*. *Streptococcus anginosus* merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia akan tetapi bakteri ini dapat memiliki kecenderungan menyebabkan abses, infeksi piogenik invasif, termasuk abses otak, intra-toraks dan infeksi intra-abdomen.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa prevalensi bakteri tertinggi terdapat pada jaringan kolon tumor daripada jaringan kolon normal yaitu *E. coli*, *K. pneumonia*, *K. aerogenes*, *P. vulgaris*, *E. agglomerans*, *Prev. stuarti*, *A. faecalis*, *P. aerogenes*, *S. epidermidis*, *S. intermedius*, *E. faecalis*, *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis* dan *S. tiphy*.

Sebaiknya penelitian ini dilanjutkan hingga sampel yang terkumpul semakin banyak sehingga dapat diperoleh data yang lebih signifikan.

DAFTAR RUJUKAN

- Abdul Amir, Hafidh RR., Mahdi LK, et al, 2009. Investigation into the controversial association of *Streptococcus gallolyticus* with colorectal cancer and adenoma, BMC, 9:403.
- Anonim, 2012. Anatomi dan fisiologi usus besar. <http://id.shvoong.com/medicine-and-health/2125659-anatomi-dan-fisiologi-usus-besar/#ixzz1pO8VTeh7>. (diakses pada tanggal 18 Maret 2012).
- Anonim, 2012. Konstipasi. <http://nursingbegin.com/konstipasi-dan-patofisiologinya>. (diakses pada tanggal 18 maret 2012).
- Anonim, 2011. Anatomi dan Fisiologi Usus Besar. <http://www.utakatik.info/406/anatomi-dan-fisiologi-usus-besar.html>. (diakses pada tanggal 18 maret 2012).
- Balkwill F, Coussens LM., 2004. Cancer: an inflammatory link. Nature. 2004;431:405-406.
- Becker WM, Kleinsmith LJ, Hardin J. 2000. *The World of The Cell*. Edisi keempat. The Benjamin Publishing Company.
- Brink M., Anton F.P.M.de G., Matty p.W., Guido M.J.M.R., et al., 2003. K-ras Onkogen Mutations in Sporadic Colorectal Cancer in The Netherlands Cohort Study. Carcinogenesis vol.24 no.4 pp.703-710.
- Bunnett-Hartman A., N., Polly A. N., and John D. P., 2008. Infectious Agen and Colorectal Cancer: A Review of *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, JC Virus and Human papillomavirus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.2008 Nov.; 17 (11):2970-2979.
- Camp JG, Kanther M, Semova I, Rawls JF. 2009. Patterns and scales in gastrointestinal microbial ecology. Gastroenterology. 136:1989-2002
- Campieri M, Gionchetti P., 2001. Bacteria as the cause of ulcerative colitis. Gut. 48:132-135
- Clevers H., 2004. At the crossroads of inflammation and cancer. Cell. 118:671-674.
- Edmiston CE, Jr, Avant GR, Wilson FA.1982. Anaerobic bacterial populations on normal and diseased human biopsy tissue obtained at colonoscopy. Appl Environ Microbiol. 43:1173-1181
- Ellmerich S, Scholler M, Duranton B, 2000, Promotion of Intestinal Carcinogenesis by *Streptococcus bovis* Carcinogenesis, vol 21 no4, 753-756.
- Ellmerich S, Djouder N, Scholler M, 2000., Production of cytokines by monocytes, epithelial and endothelial cells activated by *Streptococcus bovis*, Cytokine 12, 26-31.
- Greenwood, David; Richard C.B. Slack; John F. Peuthere. Medical Microbiology, a Guide to Microbial Infections: Pathogens, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002 .
- Guarner F, Malagelada JR. 2003. Role of bacteria in experimental

- colitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 17:793-804
- Hahm KB, Im YH, Parks TW, Park SH, Markowitz S, Jung HY, Green J, Kim SJ. 2001. Loss of transforming growth factor beta signalling in the intestine contributes to tissue injury in inflammatory bowel disease. *Gut.* 49:190-198.
- Hal Nash R. 1999. Chronic Diseases With Possible Infectious Etiologies. 1999 [http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no3/reiman.htm].
- Killeen SD, Wang JH, Andrews EJ, 2009. Redmond HP: Bacterial endotoxin enhances colorectal cancer cell adhesion and invasion through TLR-4 and NF-kappaB-dependent activation of the urokinase plasminogen activator system. *Br J Cancer* .100:1589-1602.
- Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. 2002. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med.* 248:171-183.
- Labianca R, Beretta GD, Kildani B, et al. 2010. Colon cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 74:106-133
- Lancaster LE, Wintermeyer W, Rodnina MV. 2007. Colicins and their potential in cancer treatment. *Blood Cells Mol Dis.* 38:15-18
- Lax AJ, Thomas W. 2002. How bacteria could cause cancer: one step at a time. *Trends Microbiol.* 10:293-299.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. 2006. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 444:1022-1023.
- Lewin B. 1983. *Genes.* Canada : John Wiley and Sons, Inc.
- Mager DL. 2006. Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. *J Transl Med.* 4:14.
- Murinello, Mendonca P., Ho, 2006. *Streptococcus gallolyticus* bacteremia associated with colonic adenomatous polyps, *GE - J Port Gastroenterol* 2006, 13: 152-156.
- Mutch DM, Simmering R, Donnicola D, Fotopoulos G, Holzwarth JA, Williamson G, et al. 2004. Impact of commensal microbiota on murine gastrointestinal tract gene ontologies. *Physiol Genomics.* 19:22-31.
- Nagasaka T., Hiromi S., Kenji N., Harry M.C., et al. 2004. Colorectal Cancer With Mutation in BRAF, KRAS and Wild-Type With Respect to Both Oncogenes Showing Different Patterns of DNA Methylation. *Journal of Clinical Oncology.* Volume 22 No.22- November 15 2004.
- Parsonnet J. 1995. Bacterial infection as a cause of cancer. *Environ Health Perspect* 103(Suppl 8):263-268.
- Saiki, RK; Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Erlich HA, Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230 (4732): 1350-1354.
- Salzman NH, Hung K, Haribhai D, et al. 2010. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nature Immunology.* 11(1):76-83
- Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, et al. 2007. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am College Cardiol.* 50:1561-1569.

- Savage DC. 1977 Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann Rev Microbiol.* 31:107-133.
- Scanlan PD, Shanahan F, Clune Y, Collins JK, O'Sullivan GC, O'Riordan M, et al. 2008. Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. *Environmental microbiology.* 2008;10:789-798.
- Schlegel, Francine G, Elisabeth A, Patrick AD 2003. Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov. and *S. gallolyticus* subsp. *Pasteurianus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003, 53:631-645.
- Shanahan F. 2002. Gut flora in gastrointestinal disease. *Eur J Surg.* 47-52.
- Van Citters GW, Lin HC. 2005. Management of small intestinal bacterial overgrowth. *Curr Gastroenterol Rep.* 7:317-320.
- Weitz J, Koch M, Debus J, Hohler T, Galle PR, et al. 2005. Colorectal cancer. *Lancet.* 365:153-165.