

DETEKSI VIRUS JC PADA KOLON TUMOR DAN REKTUM TUMOR PENDERITA KANKER KOLOREKTAL

Zulkarnain, S.Si., M.Kes.

Prodi Pendidikan Biologi Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Alauddin Makassar.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker menjadi penyebab utama kematian di negara ekonomi maju dan penyebab utama kedua kematian di negara berkembang. Dari semua kematian di dunia, kanker menyumbang 7,6 juta atau sekitar 13% dari seluruh kematian (WHO, 2012). Kanker kolon dan rektum (kanker kolorektal) menduduki peringkat ketiga dari semua kasus kanker di dunia dan paling sering didiagnosis ketiga pada laki-laki dan keempat pada perempuan. Sekitar 9,5 persen laki-laki penderita kanker terkena kanker kolorektal, sedangkan pada wanita angkanya mencapai 9,3 persen dari total jumlah penderita kanker. Ada lebih dari 940.000 kasus kanker kolorektal baru setiap tahun (Jemal *et al.*, 2008). Insiden kanker kolorektal di Indonesia cukup tinggi, demikian juga angka kematiannya. Meskipun belum ada data yang pasti, tetapi berbagai laporan di Indonesia menunjukkan kenaikan jumlah kasus. Data dari Depkes didapatkan angka 1,8 per 100.000 penduduk (Depkes, 2006).

Kanker adalah penyakit multifaktor yang perkembangannya ditentukan oleh perubahan genetik. Demikian pula dengan kanker kolorektal yang mungkin ada beberapa faktor resiko paling berpengaruh terhadap fenotipnya seperti mutasi gen dan faktor eksogen termasuk gaya hidup seperti merokok, konsumsi daging, konsumsi alkohol yang berlebihan dan agen infeksi yang berhubungan dengan perkembangan sel menjadi kanker termasuk infeksi virus (Boland *et al.*, 2005).

JCV telah dikaitkan dengan kanker kolorektal dan mungkin berkontribusi terhadap fenotip kanker dengan beberapa mekanisme. Di antara protein yang dimiliki JCV, khususnya dua dari mereka, protein T-antigen dan agnoprotein, dapat mengganggu kontrol siklus sel dan mekanisme ketidakstabilan genom selain itu JCV mempengaruhi reaksi inflamasi. (Radhakrishnan *et al.*, 2003; Hartman *et al.*, 2008).

Belum banyak referensi yang melaporkan korelasi JCV dengan kanker kolorektal sementara peran virus ini banyak dikaitkan dengan perkembangan kanker kolorektal. Karena itu perlu diidentifikasi DNA Virus JC pada Kolon Tumor dan

Rektum Tumor Penderita Kanker Kolorektal yang ada di Makassar sebagai upaya penegakan diagnosis penyakit kanker kolorektal.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah virus JC merupakan agen penyebab infeksi pada kolon tumor dan rektum tumor penderita kanker kolorektal di Makassar?
2. Bagaimanakah DNA Virus JC pada jaringan kolon tumor dan bukan tumor atau rektum tumor dan rektum bukan tumor penderita kanker kolorektal?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui JCV sebagai agen penyebab infeksi pada kolon dan rektum penderita kanker kolorektal di Makassar.
2. Untuk mengetahui DNA JC Virus pada jaringan kolon tumor dan bukan tumor penderita kanker kolorektal.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam menambah khazanah informasi ilmiah tentang virus JC sebagai agen infeksi dan pencetus perkembangan kanker kolorektal, sebagai bahan informasi bagi tenaga klinisi dalam penegakan diagnosis penyakit kanker kolorektal dan

penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut dalam pengembangan ilmu kedokteran khususnya di bidang laboratorium mikrobiologi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker Kolorektal

Kanker adalah sel tubuh yang mengalami perubahan (transformasi) sehingga bentuk, sifat dan kinetiknya berubah, tumbuhnya menjadi autonom, liar, tidak terkendali dan terlepas dari koordinasi pertumbuhan normal dan bersifat ganas. (Maliya, 2004). Kanker kolorektal ditujukan pada tumor ganas yang ditemukan di kolon dan rektum. Kolon dan rektum adalah bagian dari usus besar pada sistem pencernaan yang disebut juga traktus gastrointestinal. Lebih jelasnya kolon berada di bagian proksimal usus besar dan rektum di bagian distal sekitar 5-7cm di atas anus. Kolon dan Rektum bersama membentuk suatu pipa panjang yang berotot yang disebut usus besar. Kolon dan rektum memiliki fungsi untuk menghasilkan energi bagi tubuh dan membuang zat-zat yang tidak berguna (Satyadeng, 2010).

B. Virus JC

Virus JC atau John Cunningham virus (JCV) adalah jenis virus manusia polyomavirus (sebelumnya dikenal sebagai

papovavirus) dan genetik mirip dengan virus BK dan SV40. JCV pertama kali diisolasi dari cairan tulang belakang pasien yang menderita *progresif multifokal leucoencephalopathy*, atau PML. JCV pertama kali diidentifikasi pada tahun 1965 dengan menggunakan mikroskop elektron dalam kasus PML, dan pertama kali diisolasi dalam sel kultur pada tahun 1971. Sejak itu, JCV telah terbukti menjadi agen etiologi oportunistik dari penyakit demielinasi (Valle *et al.*, 2008).

JCV termasuk subfamili *nonenveloped* (tanpa selubung) virus DNA dengan bentuk kapsid isosahedral dengan ukuran 40-60 nm, *double stranded*, negatif superkoil, genom DNA sirkular. Mengandung genom 5,13 kb yang melingkar, genom JCV mengkodekan hanya enam gen, dan memiliki dua daerah dengan ukuran kira-kira sama dikenal sebagai unit transkripsi awal dan akhir. Daerah coding awal dan akhir yang dipisahkan oleh daerah kontrol dua arah transkripsi (TCR). Wilayah akhir mengkodekan protein struktural kapsid VP1, VP2, dan VP3 melalui mRNA disambung bergantian, dan protein regulator kecil dikenal sebagai agnoprotein dikodekan di daerah lambat yang terlibat dalam perakitan virus. Daerah awal mengkodekan protein antigen T (T-Ag) besar dan antigen t kecil (t-Ag) (Boland *et al.*, 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian eksploratif/deskriptif. Penelitian dilakukan secara *cross sectional* dengan menggunakan analisis molekuler PCR untuk mendeteksi DNA JCV.

B. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah pasien suspek kanker kolorektal di Makassar. Sampel penelitian ini adalah jaringan kolon tumor dan jaringan kolon normal penderita kanker kolorektal.

C. Definisi Operasional Penelitian

1. Kanker kolorektal adalah jaringan kolon dan rektum penderita yang telah direseksi dan ditentukan stadium tumornya secara histopatologi dimana telah mengalami *transformasi* sehingga bentuk, sifat dan kinetiknya berubah, tumbuhnya menjadi autonom, liar, dan bersifat ganas.
2. Virus JC adalah DNA hasil amplifikasi pada jaringan kolon dan rektum penderita kanker kolorektal yang selanjutnya dinyatakan sebagai DNA JC virus dengan menggunakan mesin PCR.

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria Inklusi

- a. Penderita yang didiagnosis menderita Kanker kolorektal berdasarkan pemeriksaan dokter pada divisi *gastroenterology* atau bagian bedah *digestive*.
- b. Bersedia ikut dalam penelitian ini dengan menandatangani *informed concern*.
- c. Untuk responden yang tanpa Kanker kolorektal atau penderita yang berdasarkan kolonoskopi tidak terlihat tanda-tanda kanker kolorektal.

2. Kriteria eksklusi

- a. Sampel hilang atau rusak
- b. Bukan Penderita kanker kolorektal
- c. Penderita kanker kolorektal yang tidak bersedia ikut dalam penelitian.

E. Cara Pemilihan Sampel

Teknik pengambilan sampel dengan cara *Purposive sampling*.

F. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel penelitian ini dilakukan di bagian bedah *digestive* pada Rumah Sakit Umum Dr. Wahidin Yudohusodo Makassar, untuk selanjutnya dilakukan analisis sampel penelitian di

Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar pada bulan Agustus 2014 sampai selesai.

G. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah shaker, Alat sentrifuge, tabung reaksi, vortex, freezer, gelas kimia, mikropipet, mesin PCR, plate, PCR tube, rak tabung PCR, sisir elektroforesis, chamber hot plate, neraca analitik, power supply UV transminator, parafilm, kamera (Geldoc).

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah DNA mini kit Qiagen, Aquades, Etanol, Green Master Mix (2x Green go Taq polymerase, 3 mM MgCl₂ 400 μM d ATP, 400 μM d GTP, 400 μM d CTP, dan 400 μM d TTP), primer JCV.

H. Cara Kerja

Pengambilan sampel diambil dari penderita yang diduga kanker kolorektal yaitu jaringan normal kolon dekat tumor dan jaringan tumor pada bagian kolon yang telah direseksi, atau *biopsy* bagian kolon normal dan bagian kolon dengan tumor selanjutnya masing-masing sampel dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% dan larutan NaCl fisiologis kemudian ditentukan stadium tumornya (*TNM staging*) secara histopatologi.

1. Alokasi Subjek

Penderita yang jaringannya telah diambil dicatat nama, umur, nomor registrasi Rumah Sakit. Selanjutnya dilakukan analisis molekuler dengan PCR untuk melihat DNA JCV dan histopatologi untuk melihat perbandingan jaringan dengan atau tanpa kanker kolorektal.

2. Analisis Molekuler DNA JCV

Memasukkan dalam tabung Eppendorf Go PCR Beads yaitu bahan yang siap digunakan terdiri dari 18 μL Green Master Mix (green MM) yang mengandung 2x Green go Taq polymerase, 3 mM MgCl_2 400 μM d ATP, 400 μM d GTP, 400 μM d CTP, dan 400 μM d TTP, 1 μL (dilusi akhir 50Pmol) primer JCV forward (5'-AATAGTGGTTTACCTTAAAG), dan, 1 μL (50Pmol) primer JCV reverse (5'-TGAATAGGGAGGAATCCATG), lalu dimasukkan lagi 5 μL DNA template (sampel hasil ekstraksi DNA kolon normal dan kolon tumor). PCR diselidiki dalam volume akhir dari 25 μL . selanjutnya diamplifikasi pada mesin PCR dengan tahap awal denaturasi suhu 94°C selama 3 menit selanjutnya tahap kedua sebanyak 40 siklus, tiap siklus dilakukan denaturasi selama 30 detik dengan suhu 92°C , *annealing* selama 30 detik pada suhu 54°C dan *extension* selama 30 detik pada suhu 72°C dan *extension* akhir suhu 72°C selama 10 menit. Hasil amplifikasi dianalisis dengan menggunakan elektroforesis.

3. Elektroforesis

Masing-masing 10 μL produk amplifikasi dicampur dengan 2 μL larutan loading. Campuran kemudian dipipet ke dalam sumur gel agarosa 2% yang terendam dalam buffer TBE di dalam tanki elektroforesis. Selanjutnya elektroforesis dijalankan selama 30 menit sampai 1 jam dengan tegangan konstan 100 volt. Setelah satu jam, elektroforesis dihentikan, gel diangkat untuk diamati di bawah sinar UV.

I. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini semuanya diolah dan dianalisa dengan menggunakan teknik statistik yaitu analisis deskripsi data dasar dan analisis korelasi untuk menghubungkan hasil antara dua tes PCR.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

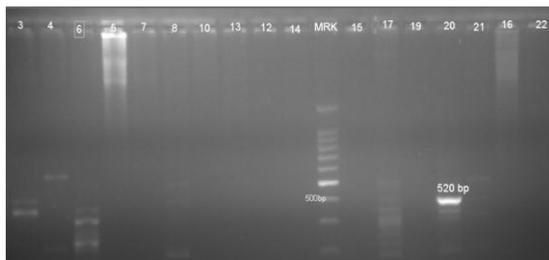
A. Hasil Penelitian

Selama pengambilan sampel didapatkan 38 subjek penelitian yang terdiri atas 23 orang (60,5 %) laki-laki dan wanita sebanyak 15 orang (39,5 %). Ditemukan persentase tertinggi umur adalah ≥ 46 tahun (73,7 %).

Dari 38 subjek penelitian diperoleh 38 sampel jaringan kolon tumor hasil reseksi yang disimpan dalam formalin 10% dan 37 sampel jaringan kolon tumor yang

disimpan dalam NaCl fisiologis, selanjutnya 38 sampel kolon tumor diperiksa secara histopatologi. Hasil pemeriksaan diperoleh 33 sampel kolon tumor termasuk kriteria sampel inklusi atau penderita kanker kolorektal dan 4 sampel termasuk kriteria sampel eksklusi atau penderita bukan kanker kolorektal

Hasil analisis molekuler PCR JCV pada sampel kolon tumor dan sampel kolon bukan tumor menunjukkan adanya pita DNA 520bp pada beberapa sampel yang diperiksa baik sampel kolon bukan tumor maupun sampel kolon tumor penderita kanker kolorektal (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR JCV pada sampel kolon tumor penderita kanker kolorektal.

Analisis molekuler PCR JCV pada sampel kolon bukan tumor pada penderita kanker kolorektal menunjukkan adanya pita DNA 520bp pada beberapa sampel yang diperiksa baik sampel kolon bukan tumor inklusi maupun sampel kolon normal eksklusi.

Tabel 1. Hasil elektroforesis produk PCR positif JCV kolon bukan tumor dan kolon tumor penderita kanker kolorektal pada sampel eksklusi dan sampel inklusi.

| No. | Kriteria Sampel | PCR positif DNA 520bp JCV | |
|--------------|-----------------|---------------------------|--------------------------|
| | | Sampel kolon tumor | Sampel kolon bukan Tumor |
| 1. | Inklusi | 12 (36,4%) | 10 (32,3%) |
| 2. | Eksklusi | 2 | 1 |
| Total | | 14 | 11 |

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan pita-pita DNA 520 bp JCV baik pada sampel kolon normal maupun sampel kolon tumor penderita kanker kolorektal. Terdapat 10 positif pita DNA 520 bp pada sampel kolon normal dari 31 sampel yang diperiksa dan 12 sampel kolon tumor dari 33 sampel yang diperiksa. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Laghi *et al* (1999), bahwa JCV ditemukan pada mukosa kolon manusia dan di kanker kolorektal.

Menurut Jung *et al.*(2008) bahwa JCV memiliki protein T-antigen yaitu protein onkogenik multifungsi yang dapat mengikat dan mengistirahat DNA, seperti helikase, α -polimerase, dan aktivitas ATPase, berinteraksi dengan protein

penekan tumor P53, PRB, P130, dan P107, dan deregulasi jalur sinyal IGF-IR dan Wnt. Selain perannya dalam menyebabkan PML pada pasien *immunocompromised*, peran T-Ag onkogenik potensial di pencernaan seperti kanker kolorektal.

Berdasarkan hasil analisis statistik SPSS pada uji Tes Chi-Square menunjukkan hubungan atau pengaruh JCV pada kolon tumor tidak signifikan karena nilai $p = 0,117$ tidak signifikan pada taraf kepercayaan $\alpha=0,05$ (nilai $p > 0,05$). Namun pada uji statistik tes Chi-Square pada kolon bukan tumor menunjukkan nilai $p = 0,034$ signifikan pada taraf kepercayaan $\alpha=0,05$ (nilai $p < 0,05$). Jadi JCV berhubungan atau berpengaruh signifikan pada kolon bukan tumor penderita kanker kolorektal. Berdasarkan hasil ini dapat dikatakan bahwa infeksi JCV pada kolon bukan tumor penderita kanker kolorektal berpengaruh di awal perkembangan tumor.

BAB VI

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ditemukan 12 positif pita DNA 520bp JCV pada kolon dan rektum tumor dan 10 positif kolon bukan tumor penderita kanker kolorektal yang ada di Makassar.

2. Ditemukan hubungan yang signifikan antara keberadaan JCV pada jaringan kolon dan rektum bukan tumor dengan kanker kolorektal

B. Saran

1. Dapat dipertimbangkan JC virus sebagai agen infeksi kanker manusia dalam diagnosis kanker kolorektal.
2. Diperlukan penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Boland, C., R., Luciani, M., G., Gasche, C., Goel. 2005. *Infection, Inflammation, And Gastrointestinal Cancer*. 10.1136/gut.2004.060079.
- Depkes. 2006. *Gaya hidup penyebab kolorektol*, (Online), (<http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=2058&Itemid=2>).
- Fahlevi, R. 2008. *Kanker Kolorektal Tinjauan Pustaka Tag:FAP, HNPCC, kanker kolorektal, polip*. [www.KankerKolorektal\(Edocfind.com\)](http://www.KankerKolorektal(Edocfind.com)). Diakses Tanggal 13 Juni 2011.
- Jemal, A., Rebecca, S., Elizabeth, W., Yongping, H., Jiaquan, X., Taylor, M., Michael, J.. Thun. 2008. *Cancer Statistics 2008*. CA Cancer J Clin 2008;58:71–96.
- Laghi, L., Ann, E., Randolph, D., P., Chauhan, Giancarlo, M., Eugene, O., Major., James, V., Neel, Boland C., R. 1999. *JC virus DNA is present in the mucosa of the human kolon and in colorectal cancers*. The National Academy of Sciences Medical Sciences.
- Maliya, Arina. 2004. *Perubahan Sel Menjadi Kanker Dari Sudut Pandang Biologi Molekuler*. Infokes Vol 8 No 1.
- Padgett, B., L., Walker, D.L., ZuRhein, G., M., Hodach, A., E., Chou, S., M. 1976. *JC Papovavirus in progressive multifocal leukoencephalopathy*. *J Infect Dis*. 133(6):686-90.
- Radhakrishnan, S., Jessica, O., Sahnla, E., Luis, D., V., Kamel K., Jennifer, G. 2003. *JC Virus-Induced Changes in Cellular Gene Expression in Primary Human Astrocytes*. American Society for Microbiology.
- Satyadeng. 2010. *Tumor Kolon Dan Rektum*; <http://kesehatanvegan.com/category/penyakit/hubungan-vegetarian-kanker/tumor-kolon-dan-rektum/>. Diakses tanggal 22 Maret 2012.
- Valle, L., D., Martyn, K., White, Kamel, K. 2008. *Potential Mechanisms of the Human Polyomavirus JCV in Neural Oncogenesis*. *J Neuropathol Exp Neurol*. 67(8): 729–740.
- WHO. 2012. *Cancer*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.