

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolorektal merupakan salah satu penyakit keganasan penyebab kematian tertinggi di dunia, terutama di negara maju. *World Health Organization* memperkirakan sekitar 1.931.590 kasus baru terjadi pada tahun 2020 di seluruh dunia dan angka kematian sebanyak 935.173 tanpa membedakan jenis kelamin dan umur. Negara berkembang, termasuk Indonesia juga mengalami peningkatan kejadian kanker kolorektal seiring dengan peningkatan ekonomi, industrialisasi serta pola hidup yang tidak sehat (GLOBOCAN, 2020).

Kanker kolorektal di Indonesia menempati urutan ketiga keganasan terbanyak. Jumlah penderita kanker kolorektal di Indonesia menurut Kemenkes RI (2018) yaitu sebanyak 15.985 kasus pada laki – laki dan sebanyak 11.787 kasus pada perempuan. Peningkatan kasus kanker kolorektal juga terjadi di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr. M. Djamil Padang. Data rekam medis untuk pasien kanker kolorektal yang sebagian besar merupakan etnis Minangkabau di RS Dr. M. Djamil Padang menunjukkan peningkatan dari tahun 2016-2018; tahun 2016 ada 636 orang, tahun 2017 ada 762 orang dan tahun 2018 tercatat 816 orang. Pada tahun 2019 tercatat 903 orang dan tahun 2020 tercatat 986 orang. (Pangribowo, 2019; Dwijayanthi, 2020; Hasan, 2022).

Kanker kolorektal disebabkan oleh berbagai macam faktor, antara lain faktor genetik (riwayat penyakit yang diderita sebelumnya dan riwayat penyakit keluarga), gaya hidup dan adanya infeksi mikroorganisme pada saluran cerna. Mikroorganisme infeksius seperti bakteri, virus dan parasit seringkali memiliki

potensi onkogenik. *The International Agency on Research of Cancer (IARC)* memperkirakan bahwa 16% - 20% keganasan di seluruh dunia disebabkan oleh infeksi patogen, termasuk parasit (J. Sun, 2022) .

Mikroorganisme di saluran cerna dapat bersifat onkogenik yang memicu perubahan sel menuju keganasan (inisiasi) dan meningkatkan pertumbuhan dan progresi kanker melalui beberapa mekanisme. Mekanisme tersebut antara lain *infection-mediated inflammation*, terjadinya kerusakan oksidatif akibat produksi *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan penekanan mekanisme *repair*. Produksi ROS seperti *Nitric oxide*, *hydrogen peroxide* dan *superoxide* terjadi akibat aktivitas fagositosis (Jahani-Sherafat, 2018). Kerusakan oksidatif ini nantinya menyebabkan terjadinya kerusakan DNA yang menimbulkan perubahan regulasi gen dalam sel, yang berlanjut hingga terjadi perubahan pertumbuhan sel, diferensiasi, apoptosis dan migrasi sel. Beberapa bakteri yang berperan dalam menimbulkan *infection-mediated inflammation* antara lain *Helicobacter pylori*, *Fusobacterium nucleatum*, *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile*, and *Enterococcus faecalis*. Bakteri tersebut dapat menyebabkan terjadinya kanker gaster, kolon dan kanker ekstraintestinal melalui inflamasi yang diaktivasi oleh NF- κ B, kerusakan oksidatif DNA/RNA, induksi proliferasi sel dan penekanan *tumor suppressor protein P53* (I. M. Sayed & Das, 2025).

Respon inflamasi yang persisten dan kronis dapat mengakibatkan kerusakan dengan melepaskan berbagai sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi yang kemudian menyebabkan mutagenesis, karsinogenesis, gangguan neurodegeneratif, sindrom inflamasi usus dan aterosklerosis. Beberapa penelitian telah menunjukkan korelasi antara peradangan yang disebabkan oleh agen infeksi seperti parasit

dengan perkembangan penyakit keganasan pada manusia. Sebagian besar penelitian merupakan penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian lainnya merupakan penelitian eksperimental secara *in vivo* dengan menggunakan hewan coba. (Fahmy MA 2019; Kumarasamy *et al.* 2022).

Penelitian terdahulu telah menunjukkan adanya hubungan antara peradangan yang disebabkan oleh agen infeksi seperti parasit dengan proses inisiasi dan perkembangan keganasan pada manusia, salah satunya adalah *Blastocystis sp.* *Blastocystis sp* merupakan parasit protozoa uniseluler yang sering ditemukan pada saluran pencernaan manusia. Prevalensi infeksi *Blastocystis sp.* di negara maju dan berkembang masih sangat tinggi dan sering ditemukan pada sebagian besar kultur feses. Secara morfologi, parasit ini dapat dibedakan atas beberapa bentuk, yaitu bentuk vakuolar, granular, amuboid dan kista (Zanetti *et al.*, 2020).

Penelitian mengenai isolat *Blastocystis sp.* yang diambil dari manusia dan hewan mendapatkan bahwa parasit ini mempunyai heterogenitas dan kariotipe yang berbeda – beda. Meskipun banyak peneliti telah mencoba untuk mengidentifikasi patogenesis *Blastocystis sp.* pada manusia, namun potensi patogeniknya tetap masih kontroversial karena parasit ini terdapat pada individu bergejala maupun tidak bergejala (Mohamed *et al.*, 2017).

Prevalensi blastocystosis sangat bervariasi yaitu 0,5%-23,1% di negara maju dan 22,1%-100% di negara berkembang (Kumarasamy *et al.*, 2022). Prevalensi blastocystosis di Indonesia cukup tinggi yaitu berkisar 35-50%. Penelitian yang dilakukan pada murid Sekolah Dasar di Desa Dukuh Karangasem Bali didapatkan prevalensi infeksi *Blastocystis sp* sebanyak 34% (infeksi tunggal), 17,1% (infeksi campuran dengan parasit lain seperti cacing tambang, *Entamoeba*

histolytica, *Entamoeba coli* dan *Giardia lamblia*). Prevalensi pada anak ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan dewasa. Nofita (2015) mendapatkan prevalensi *Blastocystis sp* di Kota Padang sebanyak 32,8 %. Skrining yang dilakukan pada penelitian pendahuluan didapatkan bahwa infeksi *Blastocystis sp*. pada penderita kanker kolorektal di RS Dr. M.Djamil terbanyak disebabkan oleh *Blastocystis sp. mixed subtype 1 dan 3* (Nofita *et al.*, 2015; Carolina, 2019).

Blastocystis sp. merupakan parasit usus yang sering ditemukan dalam sampel feses pasien kanker kolorektal. Beberapa penelitian epidemiologi di Polandia dan Emirat Arab mendapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kejadian infeksi *Blastocystis sp* antara kelompok kontrol dengan kelompok penderita kanker kolorektal (Labania *et al.*, 2023; Sulzyc-Bielicka *et al.*, 2021). Sebuah laporan kasus di Denmark menemukan bahwa infeksi berat *Blastocystis sp.* terjadi pada penderita kanker kolorektal stadium lanjut (Padukone *et al.*, 2017). Penelitian eksperimental menggunakan hewan coba mendapatkan bahwa infeksi *Blastocystis sp* dapat menyebabkan eksaserbasi karsinogenesis pada tikus yang diinduksi azoxymethane (AOM) yang ditandai dengan pembentukan focus kript abnormal dan adenoma. Penelitian lain secara *in vitro* yang menggunakan antigen yang diisolasi dari *Blastocystis sp* mendapatkan bahwa parasit ini dapat memicu sel kanker melalui penekanan respon imun seluler (Hawash *et al.*, 2021; Kumarasamy *et al.*, 2022)

Penelitian secara *in vivo* pada tikus yang diinokulasi dengan *Blastocystis sp.* mendapatkan bahwa infeksi parasit ini dapat menimbulkan stres oksidatif yang mengakibatkan *oxidative damage*. *Oxidative damage* ini meliputi kerusakan biomolekul seperti polipeptida, protein, lipid dan gula. Kerusakan ini akan berujung

pada gangguan fungsi dan kematian sel. Stres oksidatif terjadi akibat over produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan mekanisme pertahanan tubuh dalam melawan infeksi mikroorganisme termasuk protozoa *Blastocystis sp* (Elkhazragy, 2019; Fujikawa *et al.*, 2019; Basak *et al.*, 2020)

Peroksidasi lipid adalah salah satu indikator tingkat ROS terbaik yang menyebabkan kerusakan biologis sistemik dari infeksi parasit. *Malondialdehid*(MDA) adalah produk akhir dari proses ini. Hal ini digunakan sebagai penanda peroksidasi lipid dan adanya stres oksidatif (Fujikawa *et al.*, 2019).

Infeksi *Blastocystis sp* menghasilkan *cysteine protease* yang dapat mendegradasi imunoglobulin A saluran cerna dan *Antimicrobial Peptide* (AMP). Parasit berupa protozoa ini akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif yang mengakibatkan peningkatan ekspresi gen *nuclear factor kappa B* (NFkB) yang mengakibatkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti Interleukin-1(IL-1), Interleukin-6 (IL-6), *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) dan *Tumor Growth Factor beta* (TGF- β). Proses peningkatan ekspresi gen sitokin proinflamasi oleh *Blastocystis sp.* juga terjadi karena keberadaan *Blastocystis sp.* yang mempengaruhi aktivitas *MAPK* (*Mitogen-activated protein kinase*) pathway (Deng *et al.*, 2021).

Sitokin proinflamasi akan mengaktifasi *Epithelial Mesenchymal Transition inducing transcription factor* yang ditandai dengan terjadinya peningkatan ekspresi *mesenchymal cell marker* (N-cadherin, Fibronectin dan Vimentin) dan inhibisi *epithelial cell marker* (E-cadherin, Claudin-1, Occludin, β -catenin). Aktivasi *Epithelial Mesenchymal Transition inducing transcription factor* ini mengaktifkan *Signal transducer and activator of transcription-3* (STAT3) dan *Nuclear factor kappa B* (NFkB). Aktivasi STAT3 dan NFkB ini menyebabkan terjadinya

peningkatan N-cadherin dan penekanan E-cadherin yang merupakan marker *Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)*. Peristiwa ini juga disertai dengan peningkatan ekspresi survivin oleh sel kanker yang berakibat pada peningkatan progresivitas pertumbuhan, invasi dan metastasis sel kanker, rekurensi dan resistensi terhadap kemoterapi (Song et al., 2019).

N-cadherin dan E-cadherin merupakan marker vital EMT. Kerja N-cadherin berlawanan dengan E-cadherin. Proses timbal balik *downregulating* E-cadherin dan *upregulating* N-cadherin dikenal sebagai *cadherin switching* yang menjadi ciri utama dari EMT, sehingga kedua marker tersebut menjadi alternatif *EMT marker*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa N-cadherin bekerja meningkatkan kombinasi *Fibroblast Growth Factor (FGF)* dengan reseptornya untuk memulai transduksi sinyal *Fibroblast Growth Factor – Receptor (FGFR)*, sehingga menginduksi *signalling cascade* untuk meningkatkan kemampuan migrasi dan invasi sel kanker (Luo et al., 2018).

Sel HT-29 merupakan *epithelial cell line* yang diisolasi dari tumor primer pada seorang wanita kaukasia usia 44 tahun penderita adenokarsinoma kolorektal. Sel-sel ini mengekspresikan karakteristik sel usus dewasa dan membentuk lapisan tunggal yang rapat dengan *apical brush border* yang menunjukkan kemiripan dengan enterosit, sehingga sering menjadi pilihan dalam penelitian kanker kolorektal terutama mengenai respon sel terhadap infeksi, adhesi dan invasi (Martínez-Maqueda et al., 2015).

Berdasarkan latar belakang di atas dan belum ada penelitian yang dilakukan untuk mengetahui hubungan langsung infeksi *Blastocystis sp* stres terhadap oksidatif dan *Epithelial Mesenchymal Transition (EMT)* pada kanker kolorektal,

maka penulis tertarik untuk meneliti pengaruh paparan *Blastocystis sp* terhadap kadar malondialdehid, ekspresi N-cadherin, E-cadherin, viabilitas dan migrasi sel kanker kolorektal HT-29.

1.2 Rumusan Masalah:

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas, terdapat rumusan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Apakah terdapat pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp* terhadap kadar *Malondialdehyde (MDA)* pada sel HT-29 secara *in vitro*?
- 1.2.2 Apakah terdapat pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap ekspresi N-cadherin pada sel kanker kolorektal secara *in vitro*?
- 1.2.3 Apakah terdapat pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap ekspresi E-cadherin pada sel kanker kolorektal secara *in vitro*?
- 1.2.4 Apakah terdapat pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap viabilitas sel HT-29 secara *in vitro*?
- 1.2.5 Apakah terdapat pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap migrasi sel HT-29 secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum:

Untuk menganalisis pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp* terhadap terhadap kadar malondialdehid, ekspresi N-cadherin, E-cadherin, viabilitas dan migrasi sel kanker kolorektal HT-29 secara *in vitro*

1.3.2 Tujuan Khusus:

1. Menganalisis pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp* terhadap ekspresi *Malondialdehyde (MDA)* pada sel HT-29 secara *in vitro*

2. Menganalisis pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap ekspresi N-cadherin pada sel HT-29 secara in vitro
3. Menganalisis pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap ekspresi E-cadherin pada sel HT-29 secara in vitro
4. Menganalisis pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap viabilitas sel HT-29 secara in vitro
5. Menganalisis pengaruh paparan antigen *Blastocystis sp.* terhadap kemampuan migrasi sel HT-29 secara in vitro

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Akademis

Penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan bahwa infeksi oleh *Blastocystis sp.* dapat meningkatkan progresivitas pertumbuhan sel keganasan kolorektal

1.4.2 Klinisi

Jika hipotesis penelitian ini terbukti diharapkan dapat membantu klinisi untuk mencegah dan menghambat progresivitas sel kanker kolorektal, sehingga prognosis pasien menjadi lebih baik yang dilakukan dengan cara memberi terapi terhadap blastocystosis.