

Pengamatan Efek Radiasi Melalui Pembentukan Foci γ H2AX pada Sel Limfosit Radiografer

Harli Handa Hidayat¹, Dian Milvita¹, Iin Kurnia²

¹Jurusan Fisika FMIPA Universitas Andalas, Padang 25163
²PTKMR BATAN Jalan Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440

Info Artikel	ABSTRAK
<p>Histori Artikel:</p> <p>Diterima: 17 Januari, 2019 Direvisi: 4 Mei, 2019 Diterbitkan: 1 Maret, 2020</p>	<p>Telah dilakukan pengamatan efek radiasi melalui pembentukan foci γH2AX pada tiga sampel darah radiografer di Instalasi Radiologi Rumah Sakit dr. Reksodiwiryo Padang dan tiga orang non radiografer sebagai kontrol pembandingan. Penelitian dilakukan melalui pengamatan pembentukan foci γH2AX pada sel limfosit sebagai biomarker terjadinya kerusakan <i>double strand break</i> (DSB) pada <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i> (DNA). Hasil pengamatan menunjukkan adanya pembentukan foci γH2AX sebanyak 0,04 pada radiografer dan 0,02 pada kontrol. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa radiografer berisiko dua kali lebih besar mengalami kerusakan DSB sebagai tahapan awal terbentuknya kanker. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan menambah jumlah sampel untuk memperoleh hasil yang lebih baik.</p>
<p>Kata kunci:</p> <p><i>double strand break</i> (DSB) efek radiasi foci γH2AX kanker radiografer</p>	
<p>Keywords:</p> <p><i>double strand break</i> (DSB) radiation effect γH2AX foci cancer radiographer</p>	
<p>Penulis Korespondensi:</p> <p>Dian Milvita Email: dianmilvita@sci.unand.ac.id</p>	<p><i>Radiation effects have been observed through the formation of γH2AX foci on three radiographer's blood samples at the Reksodiwiryo Hospital Radiology Installation and three non-radiographers as comparative controls. The research was carried out by observing the formation of γH2AX foci on lymphocyte cells as biomarkers of double strand break (DSB) damage on Deoxyribose Nucleic Acid (DNA). The observations showed that the formation of foci γH2AX was 0.04 in radiographers and 0.02 in controls. From these results, it can be concluded that radiographers are twice as likely to experience DSB damage as the initial stage of cancer formation. The research needs to be continued by increasing the number of samples to obtain better results.</i></p>

Copyright © 2020 Author(s)

1. PENDAHULUAN

Radiasi pengion merupakan jenis radiasi yang mampu mengakibatkan ionisasi pada materi yang dilalui. Pada saat radiasi pengion mengenai materi biologis, akan terjadi interaksi antara radiasi dengan materi biologis. Interaksi radiasi dan materi biologi mempunyai empat tahapan yaitu tahapan fisik, tahapan fisikokimia, tahapan kimia dan biologi, dan tahapan biologis. Pada tahapan fisik terjadi eksitasi dan ionisasi pada bahan biologi, dilanjutkan dengan terbentuknya radikal bebas pada tahap fisikokimia. Radikal bebas akan berinteraksi dengan molekul sel yang mengakibatkan kerusakan terhadap molekul-molekul dalam sel pada tahapan kimia dan biologi. Pada tahapan biologis terjadi tanggapan biologis berupa kematian sel yang dapat meluas ke skala jaringan, organ hingga mengakibatkan kematian (Akhadi, 2000).

Salah satu bentuk kerusakan molekul sel oleh paparan radiasi adalah kerusakan pada *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) sel limfosit. Sel limfosit merupakan komponen selular darah putih yang memiliki tingkat sensitivitas tinggi terhadap paparan radiasi. Salah satu bentuk kerusakan DNA akibat paparan radiasi pengion adalah putusannya kedua untai DNA pada posisi yang berhadapan, yang disebut *double strand breaks* (DSB). DSB merupakan tahapan awal terjadinya pembentukan kanker (Lassmann dkk, 2010). Kerusakan DNA akibat paparan radiasi dapat diamati dengan metode pengamatan pembentukan foci γ H2AX. H2AX merupakan salah satu dari histon dari kelompok H2A yang berperan mengatur respon terhadap kerusakan DNA. Histon merupakan protein yang mengikat DNA yang terdiri dari kelompok H2A, H2B, H3, dan H4 yang terikat dengan H1. Histon ini berfungsi sebagai sensor biologis akibat adanya perubahan atau stress yang bersifat endogen maupun eksogen pada DNA. Stress atau gangguan ini akan menyebabkan adanya modifikasi pasca translasi pada histon (PTM). Foci γ H2AX terbentuk dari fosforilasi γ H2AX pada proses PTM. PTM dapat disebabkan oleh sejumlah stress yang juga berhubungan dengan sejumlah penyakit seperti kanker, maka deteksi ekspresi histon ini dapat juga menjadi penanda atau biomarker yang dapat menjadi informasi klinik. Peningkatan ekspresi PTM menandakan adanya aktifitas kromatin yang terkait dengan replika DNA, transkripsi, perbaikan kerusakan DNA, dan siklus sel (Kurnia dan Lusiyanti, 2015).

Penelitian tentang pengamatan pembentukan foci γ H2AX sebagai respon adaptif sel limfosit telah dilakukan oleh Kurnia, dkk (2016). Pengamatan ini dilakukan dengan sampel darah penduduk desa Takandeang, Mamuju provinsi Sulawesi Barat yang merupakan daerah dengan tingkat radiasi alam tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya peningkatan secara statistik jumlah foci γ H2AX limfosit setelah iradiasi 2 Gy. Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi 2 Gy secara langsung dapat menimbulkan kerusakan DSB sebagai bagian dari respon adaptif secara *in vitro* yang dapat diamati dengan biomarker γ H2AX. Penelitian lain tentang ekspresi γ H2AX juga dilakukan oleh Kurnia, dkk (2018) di salah satu rumah sakit di Jakarta. Pengamatan dilakukan menggunakan 33 sampel darah pekerja radiasi yang terdiri dari 24 pekerja radiasi di laboratorium, karyawan kedokteran nuklir dan 9 staf administrasi sebagai kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kerusakan DNA DSB pada pekerja radiasi dalam kedokteran nuklir lebih tinggi dibandingkan dengan pekerja radiasi di laboratorium, dokter, dan operator radiografer.

Penelitian tentang kerusakan DNA akibat paparan radiasi pada radiografer perlu dilakukan karena radiografer memiliki tingkat interaksi yang lebih tinggi dengan sumber radiasi dibandingkan dengan pasien maupun masyarakat umum. Penelitian ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan DNA yang lebih serius akibat paparan radiasi yang diterima oleh radiografer selama masa kerja menggunakan sumber radiasi.

2. METODE

Penelitian dilakukan di Instalasi radiologi Rumah Sakit dr. Reksodiwiryono Padang untuk pengambilan sampel darah radiografer dan di Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional (PTKMR BATAN) untuk pengamatan kerusakan DNA sel limfosit. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain slide kaca, Mikroskop Fluoresen, tabung *sentrifuge*, micropipette, rak penyangga, dan tabung *vacuumtainer*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel darah, aquades, histopague, larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), formaldehid, Triton-X, larutan BSA, anti bodi pertama (H2AX dan 53BPI) dan anti bodi kedua (*DiamidinoPhenylindole*). Tahapan penelitian secara umum antara lain pengambilan sampel darah, isolasi sampel, dan pengamatan jumlah foci γ H2AX.

2.1 Pengambilan Sampel Darah

Pemeriksaan kerusakan DNA sel limfosit dengan pengamatan jumlah foci γ H2AX dimulai dengan mengambil sampel darah pada bagian darah tepi radiografer dan pada kontrol. Sampel darah diperoleh dari tiga orang radiografer dengan rentang umur 20-35 tahun yang masih aktif bekerja. Sampel darah yang digunakan sebagai kontrol diperoleh dari tiga orang bukan pekerja radiasi dengan rentang umur dan jenis kelamin yang sama dengan radiografer. Pemilihan radiografer dan kontrol dilakukan secara acak tanpa memperhatikan kondisi khusus pada radiografer dan kontrol. Sampel

darah yang diambil sebanyak 3 ml, karena jumlah tersebut telah dapat menghasilkan sel limfosit murni setelah proses isolasi. Sampel darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung vacumtainer yang mengandung *lithium heparin* sebagai antikoagulan.

2.2 Isolasi Sampel

Sel limfosit diisolasi dengan metode sentrifugasi gradien menggunakan histopague 1077. Darah diencerkan dengan PBS bebas Ca dan Mg (dPBS) sebanyak 3 ml, histopague diletakkan diatas permukaan darah, kemudian disentrifugasi pada 1500 rpm selama 30 menit. Lapisan limfosit yang berada di lapisan tengah diambil kemudian dicuci dengan PBS dan disentrifugasi pada 1000 rpm selama 15 menit, pencucian diulang sebanyak 2 kali. Pelet diresuspensi dengan menambahkan 75 ml RMPI ke dalam tabung.

2.3 Pengamatan Jumlah Foci γ H2AX

Pengamatan jumlah foci γ H2AX dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Limfosit yang telah diisolasi ditambah medium kultur ditempatkan di atas slide kaca yang dilengkapi *hole*. Dibiarkan selama 15 menit untuk membiarkan pengendapan sel limfosit pada slide kaca.
2. Medium kultur pada slide kaca dibuang dan diganti dengan formal dehid dingin 2% dan dibiarkan selama 5 menit.
3. Formal dehid diganti dengan triton-X 0,25% dan dibiarkan selama 5 menit.
4. Triton-X dibuang diganti dengan BSA 1% atau FBA dan dibiarkan selama 15 menit. Proses ini dilakukan selama 3 x 15 menit.
5. Teteskan anti bodi pertama (H2AX dan 53BPI) diletakkan pada ruang gelap selama 45-60 menit.
6. Anti bodi pertama dibuang dan dicuci dengan BSA 1% selama 3 x 15.
7. Teteskan anti bodi kedua (DAPI) dan dibiarkan di ruang gelap selama 45-60 menit.
8. Anti bodi kedua dibuang dan dicuci dengan PBS selama 3 x 15 menit.
9. Slide dikeringkan, ditutup dengan cover glass dan dibiarkan selama 24 jam. Selanjutnya siap untuk diamati.

Pengamatan jumlah foci γ H2AX dilakukan menggunakan mikroskop flouresen dengan perbesaran 100 kali. Perhitungan foci γ H2AX dilakukan dengan cara mencari rata-rata jumlah atau kelompok foci γ H2AX dalam 100 sel. Apabila jumlah foci γ H2AX yang dijumpai stabil sampai jumlah 100 sel maka cukup dihitung 50 sel (Cholpon dkk., 2013).

2.4 Perhitungan Jumlah Foci γ H2AX

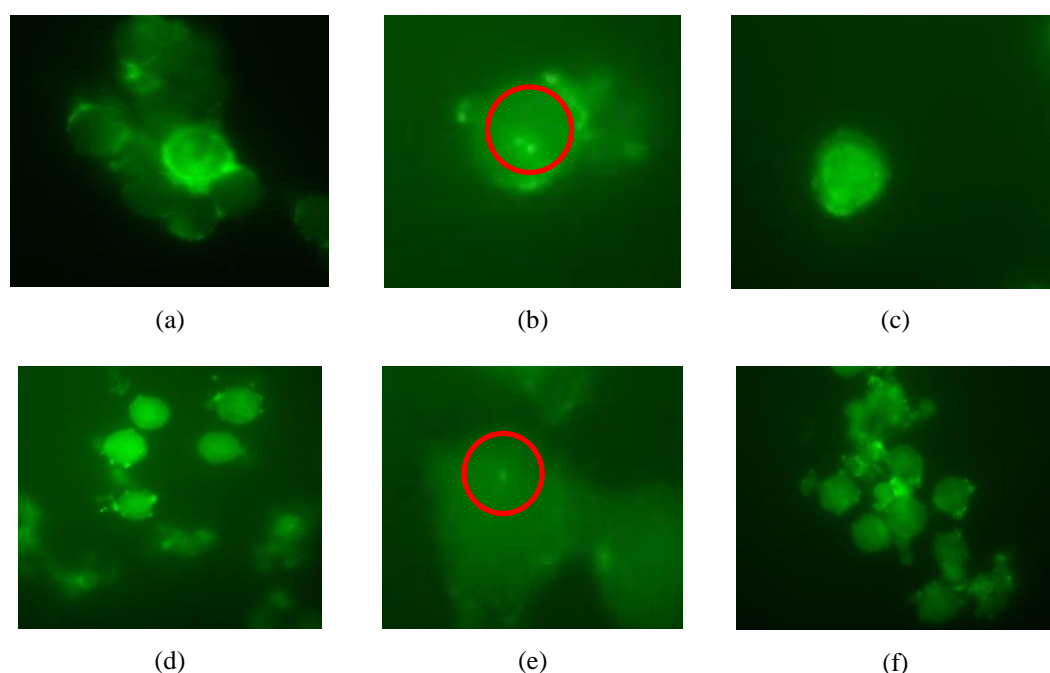
Hasil pengamatan pembentukan foci γ H2AX digunakan untuk perhitungan jumlah rata-rata masing-masing sampel. Perhitungan jumlah rata-rata foci γ H2AX dilakukan dengan Persamaan 1

$$\text{Jumlah rata – rata foci } \gamma\text{H2AX} = \frac{\text{Jumlah foci } \gamma\text{H2AX}}{50 \text{ sel}}. \quad (1)$$

3. HASIL DAN DISKUSI

3.1 Pembentukan Foci γ H2AX

Hasil pengamatan menunjukkan adanya pembentukan foci γ H2AX pada radiografer dan kontrol. Pembentukan foci γ H2AX ditandai dengan adanya titik berwarna hijau terang pada sel limfosit. Hasil pengamatan terhadap sel limfosit radiografer dan kontrol dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Pembentukan foci γ H2AX pada radiografer dan kontrol (a) Radiografer A; (b) Radiografer B; (c) Radiografer C; (d) Kontrol A; (e) Kontrol B ; (f) Kontrol C

Gambar 1 menunjukkan adanya pembentukan foci γ H2AX pada sel limfosit yang ditandai dalam lingkaran merah. Dari hasil pengamatan tersebut dapat dilihat bahwa pembentukan foci γ H2AX hanya terjadi pada radiografer B dan kontrol B. Tidak ditemukannya pembentukan foci γ H2AX pada radiografer dan pada kontrol lainnya dapat disebabkan oleh aktivitas perbaikan sel dalam sistem kekebalan tubuh yang terjadi secara terus menerus. Hasil pengamatan menunjukkan adanya pembentukan foci γ H2AX pada radiografer B sebanyak 2 foci dan pada kontrol B sebanyak 1 foci. Adanya pembentukan foci γ H2AX pada radiografer B yang lebih tinggi dibandingkan pada kontrol B menunjukkan bahwa adanya pengaruh radiasi terhadap kerusakan DNA sel limfosit khususnya kerusakan DSB.

Proses metabolisme yang dipengaruhi oleh gaya hidup dan kesehatan lingkungan diduga terkait dengan potensi terbentuknya radikal bebas dalam darah yang juga dapat memicu terjadinya kerusakan DNA. Adanya pembentukan foci γ H2AX pada kontrol B yang merupakan non radiografer terjadi secara spontan ataupun insidental sebagai bagian dari proses metabolisme (Sedelnikova dkk, 2003).

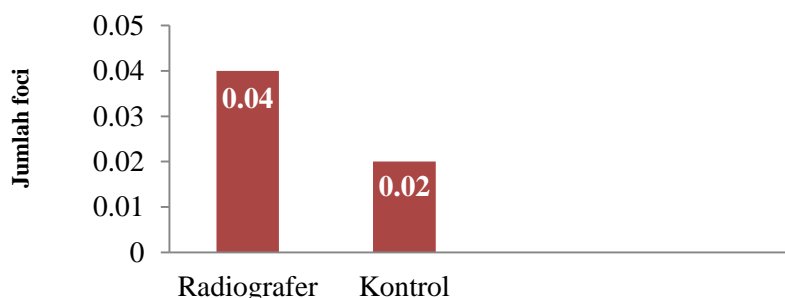
Jumlah foci γ H2AX yang teramati pada radiografer dan kontrol digunakan untuk mencari rata-rata foci γ H2AX yang terbentuk dalam 50 sel pengamatan. Akumulasi jumlah rata-rata pembentukan foci γ H2AX pada radiografer dan kontrol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Jumlah foci γ H2AX pada radiografer dan kontrol

Jumlah rata-rata Foci γ H2AX / 50 sel			
Radiografer		Kontrol	
A	0	A	0
B	0,04	B	0,02
C	0	C	0

Tabel 1 menunjukkan bahwa jumlah rata-rata foci γ H2AX pada radiografer B adalah sebesar 0,04. Jumlah ini lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah rata-rata foci γ H2AX pada kontrol B yaitu

sebesar 0,02. Nilai ini menunjukkan bahwa pembentukan foci γ H2AX maksimum terjadi pada radiografer B, sedangkan pada radiografer dan kontrol lainnya bernilai nol karena tidak adanya pembentukan foci γ H2AX yang terjadi. Perbandingan jumlah foci γ H2AX yang terbentuk pada radiografer dan kontrol dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Grafik perbandingan jumlah foci pada radiografer dan kontrol

Gambar 2 menunjukkan perbandingan antara jumlah foci γ H2AX pada radiografer dan kontrol. Dari data tersebut diketahui bahwa radiografer mengalami pembentukan foci γ H2AX dua kali lebih tinggi dibandingkan kontrol. Data juga menginformasikan bahwa radiasi memiliki potensi menimbulkan kerusakan DSB pada DNA.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa radiografer berisiko dua kali lebih besar mengalami kerusakan *double strand break* (DSB) pada DNA dibandingkan kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada pihak Rumah Sakit dr. Reksodiwiryono Padang dan PTKMR BATAN yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhadi, M., *Dasar-dasar Proteksi Radiasi* (Rineka Cipta, Jakarta, 2000), hal 136-137.
- Cholpon, S., Ines, E., Astrid, K., Eike, W., Luitpold, V., Michael, F., dan Bülent, P., (2013). Radiosensitivity in breast cancer assessed by the histone γ -H2AX and 53BP1 foci. *Radiation Oncology*, **8**:98, 1-12.
- Lassmann, M., Hanscheid, H., Gassen, D., Biko, J., Meineke, V., Reiners, C., dan Schertian, H., (2010). In Vivo Formation of gamma-H2AX and 53BP1 DNA Repair Foci in Blood Cells After Radioiodine Therapy of Differentiated Thyroid Cancer. *J Nucl Med*, **51**, 1318–1325.
- Kurnia, I., dan Lusiyanti, Y. “ γ -H2AX dan Potensinya untuk Biomarker Prediksi Toksisitas Radiasi pada Radioterapi”, *Prosiding Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan Lingkungan dan Pengembangan Tenaga Nuklir*, (PTKMR-BATAN, KEMENKES-RI, Departemen Fisika FMIPA-ITB dan FKM-Universitas Indonesia, Jakarta, 2015), hal 188-194.
- Kurnia, I., Kisananto, T., dan Lusiyanti, Y. “Eksresi γ -H2AX Sebagai Respon Adaptif Sel Limfosit Penduduk Desa Takandean Daerah dengan Radiasi Alam Tinggi”, *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah*, (FMIPA UNS, Surakarta, 2016), hal 92-96.
- Kurnia, I., Lusiyanti, Y., dan Rahajeng, N. “Expression of γ -H2AX in Nuclear Medicine and Cath Lab as Medical Radiation Workers”, *The Proceedings Books of The 8th Annual Basic Science International Conference*, (Universitas Brawijaya, Malang, 2018), hal 357-362.
- Sedelnikova, O., Pilch, D., Redon, C., dan Bonner, W., *Histone H2AX in DNA Damage and Repair. Cancer Biology and Therapy*, **2**:3, 233-235 (2003)