



Terbit Online pada laman web : <http://jif.fmipa.unand.ac.id/>

Jurnal Ilmu Fisika

| ISSN (Print) 1979-4657 | ISSN (Online) 2614-7386 |



STUDI AWAL PENGARUH RADIASI TERHADAP PEKERJA RADIASI MENGGUNAKAN METODE COMET ASSAY

Amel Oktavia S^{1,*}, Dian Milvita¹, Darlina²

¹Jurusan Fisika FMIPA Universitas Andalas, Padang, 25163

²PTKMR BATAN Jalan Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta 12070

*Korespondensi ke: ameloktavia271095@gmail.com

(Diterima: 17 Januari 2019; Direvisi: 12 Februari 2019; Diterbitkan: 01 Maret 2019)

ABSTRAK

Telah dilakukan studi awal pengaruh radiasi terhadap pekerja radiasi menggunakan metode *comet assay*. Pengambilan data dosis radiasi dilakukan pada hasil pembacaan laju dosis radiasi terhadap pekerja radiasi menggunakan *film badge* di Instalasi Radiologi RS Dr. Reksodiwiryo Padang, sedangkan pemeriksaan DNA sel limfosit dilakukan di Laboratorium Biomolekuler PTKMR BATAN. Pemeriksaan DNA sel limfosit dilakukan pada 50 sel sampel darah dari tiga orang pekerja radiasi dan tiga orang normal sebagai sampel kontrol, menggunakan mikroskop *fluorescent* dan *CASP LAP comet assay software*. Hasil pembacaan dosis radiasi menunjukkan bahwa laju dosis radiasi yang diterima pekerja radiasi yaitu 1,2 mSv/tahun. Hasil ini masih berada di bawah NBD berdasarkan Perka BAPETEN No 4 Tahun 2013. Pemeriksaan DNA sel limfosit menunjukkan nilai rata-rata *tail length* (TL) sampel pekerja radiasi lebih tinggi dibandingkan dengan sampel kontrol. Berdasarkan nilai TL tersebut belum bisa diketahui tingkat keparahan suatu kerusakan DNA.

Kata kunci : laju dosis radiasi, NBD, kerusakan DNA , *comet assay*, limfosit, *tail length*

ABSTRACT

Preliminary studies of the effect of radiation on radiation workers have been carried out using the comet assay method. Data retrieval was carried out on the results of radiation dose rate readings for radiation workers using badge films in the Radiology Installation of Dr. Reksodiwiryo Padang Hospital, while examination of lymphocyte cell DNA was carried out at the PTKMR BATAN Biomolecular Laboratory. DNA testing of lymphocyte cells was carried out on 50 cells of blood samples from three radiation workers and three normal people as control samples, using fluorescent microscopy and CASP LAP comet assay software. The results of radiation dose readings indicate that the radiation dose rate received by radiation workers is 1.2 mSv / year. These results are still below the NBD based on the Regulation of BAPETEN No. 4 of 2013. Examination of lymphocyte DNA shows that the average tail length (TL) value of the sample of radiation workers is higher than the control sample., Based on the TL value, the severity of DNA damage cannot be known.

Keywords: radiation dose rate, NBD, DNA damage, comet assay, lymphocytes, tail length

1. PENDAHULUAN

Radiasi adalah suatu emisi (pancaran) dan perambatan energi melalui suatu materi atau ruang dalam bentuk gelombang elektromagnetik atau partikel. Radiasi yang banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan adalah radiasi pengion, yaitu radiasi yang dapat mengionisasi materi yang dilaluinya. Pada saat radiasi mengenai materi biologis, akan terjadi empat tahapan interaksi yaitu tahapan fisik, tahapan fisiko kimia, tahapan kimia dan biologi, dan tahapan biologis. Pada tahapan fisik, terjadi eksitasi dan ionisasi pada molekul atau atom penyusun bahan biologi, dilanjutkan dengan terbentuknya radikal bebas yang tidak stabil pada tahap fisikokimia. Radikal bebas bereaksi dengan peroksida yang mengakibatkan kerusakan molekul-molekul 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).

Pemantauan dosis radiasi dapat dilakukan secara kontinu menggunakan dosimeter personal untuk mengetahui dosis radiasi yang diterima pekerja radiasi. Utari (2014) telah melakukan penelitian tentang analisis laju dosis radiasi yang diterima radioterapis di RSUP Dr. M. Djamil Padang, dengan hasil laju dosis radiasi yang diterima radioterapis adalah sebesar 3,4 mSv/tahun. Sementara itu, efek radiasi yang diperkirakan muncul adalah efek stokastik, karena efek tersebut memungkinkan terjadi sekalipun pada dosis radiasi rendah.

Paparan radiasi dapat menyebabkan efek terhadap jaringan tubuh, baik efek secara stokastik maupun secara deterministik. Efek secara stokastik adalah efek radiasi yang menimbulkan kanker dan penyakit yang dapat diwariskan kepada keturunannya. Sedangkan efek deterministik adalah efek radiasi yang menimbulkan reaksi pada jaringan tubuh seketika atau beberapa saat setelah terjadi penyinaran (Hiswara, 2015). Salah satu efek paparan radiasi tersebut dapat mengakibatkan kerusakan pada *Deoxyribonucleic Acid* (DNA). DNA pada jaringan tubuh berfungsi untuk menyimpan informasi genetik. Kerusakan pada DNA ini dapat dilihat pada sel tubuh melalui sel limfosit. Sel limfosit merupakan sel yang secara terus menerus melakukan regenerasi dan paling sensitif terhadap radiasi. Sel limfosit rentan terhadap kerusakan DNA, bahkan pada dosis rendah (0,02 – 0,1) Gy respon sel limfosit sudah dapat terdeteksi (IAEA, 1997).

Kerusakan DNA akibat paparan radiasi dapat dilihat menggunakan beberapa metode yaitu metode aberasi kromosom, metode mikronuklei, pengamatan foci γ -H2AX dan metode *comet assay*. Metode *comet assay* merupakan teknik mikrodosimetri cepat dan sensitif yang cocok untuk biomonitoring pada manusia, terutama dalam kasus paparan radiasi. Metode *comet assay* terbagi dua yaitu metode netral dan metode alkali. Melalui metode netral dapat dianalisis kerusakan DSB pada DNA menggunakan larutan netral pada proses pelisisan sel dan elektroforesis yang memiliki nilai derajat keasaman (pH) sebesar 9,5. Sedangkan melalui metode alkali dapat dianalisis kerusakan SSB menggunakan larutan alkali dengan pH besar dari 13 (Syarifudin, 2016). Kerusakan DSB merupakan putusya kedua untai DNA pada posisi yang berhadapan, sedangkan kerusakan SSB merupakan putusya salah satu untai DNA.

Secara umum metodologi *comet assay* dimulai dengan persiapan preparat, pelisisan sel, proses elektroforesis, netralisasi preparat, pewarnaan preparat dan pengamatan preparat. Metode *comet assay* mempunyai beberapa parameter untuk mengukur respon kerusakan DNA yaitu panjang ekor komet (*tail length*), DNA ekor komet (*tail DNA*), momen ekor komet (*tail moment*), dan moment ekor *olive oil* (*olive tail moment*). Nilai parameter tersebut dihitung secara digital menggunakan *CASPLab comet assay software*. Penelitian yang dilakukan Darlina (2018) menggunakan metode *comet assay* menunjukkan bahwa semakin besar dosis paparan radiasi semakin besar nilai parameter kerusakan DNA.

Studi awal pengaruh radiasi terhadap pekerja radiasi menggunakan metode *comet assay* perlu dilakukan, karena sekecil apapun dosis radiasi yang diterima pekerja radiasi dapat berdampak terhadap tubuh terutama pada kerusakan DNA. Pada penelitian ini kerusakan DNA yang dilihat adalah kerusakan SSB akibat paparan radiasi terhadap sel limfosit. Kerusakan SSB tersebut dapat dilihat menggunakan larutan alkali pada proses pelisisan preparat dengan pH larutan besar dari 13. Pada metode *comet assay* sel limfosit dapat langsung diteliti setelah diisolasi, sedangkan pada metode lain membutuhkan waktu 48 jam sampai 72 jam untuk proses kultur limfosit.

2. METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel darah pekerja radiasi dan pengambilan data laju dosis radiasi dilakukan di Instalasi Radiologi RS Dr. Reksodiwiryo Padang, sedangkan pemeriksaan DNA sel limfosit dilakukan di Laboratorium Biomolekuler PTKMR BATAN. Sampel darah yang digunakan terdiri dari 3 sampel darah pekerja radiasi dan 3 sampel darah non pekerja radiasi dengan rentang umur yang sama yaitu antara 20-30 tahun. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung *sentrifuge*, micropipete, timbangan, *beaker glass*, pH meter, *waterbath*, tangki elektroforesis dan mikroskop *fluorescent*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel darah, cairan histopague, larutan *low melting agarose* (LMA), larutan *normal melting agarose* (NMP), aquades, larutan buffer lisis, larutan buffer netral, larutan buffer alkali, etanol 100% dan *edithium bromide*.

2.1 Pengambilan Data Dosis Radiasi Menggunakan *Film Badge*

Pengambilan data dosis radiasi dilakukan menggunakan *Film Badge* untuk dua periode pemakaian, yaitu dari bulan Februari – April 2018 dan bulan Mei – Juli 2018. Setelah pekerja radiasi menggunakan *film badge* selama 3 bulan, selanjutnya Instalasi Radiologi RS Reksodiwiryo mengirimkan *Film Badge* ke Balai Pengamanan Fasilitas Kesehatan (BPFK) Medan untuk pembacaan dosis radiasi. Hasil pembacaan tersebut digunakan oleh peneliti untuk menganalisis laju dosis radiasi berdasarkan NBD.

2.2 Pengambilan Sampel Darah

Pemeriksaan DNA sel limfosit menggunakan metode *comet assay* dimulai dengan mengambil sampel darah pada bagian darah tepi pekerja radiasi. Sampel darah yang diambil sebanyak 3 ml. Sampel darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer* yang mengandung *lithium heparin* sebagai antikoagulan.

2.3 Isolasi Sampel

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

2.4 Metode Comet Assay

Deoxyribonucleic Acid (DNA) dievaluasi dengan teknik uji komet yang dilakukan secara alkali untuk melihat kerusakan SSB pada DNA sel limfosit. Metode yang digunakan adalah metode tiga lapis (*sandwich*). Masing-masing sel limfosit yang telah diisolasi dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian 1 dan 2. Untuk lapisan pertama diteteskan larutan NMP agarose di atas kaca slide, kemudian ditutup dengan *cover glass*. Slide disimpan dalam suhu 4°C selama 24 jam. Untuk lapisan kedua *cover glass* dilepas terlebih dahulu, kemudian diteteskan 75 ml campuran 20 ml sampel limfosit dengan 150 ml LMP agarose pada kaca slide dan ditutup dengan *cover glass*. Slide disimpan dalam suhu 4°C selama 10 menit. Untuk lapisan ketiga *cover glass* dilepas terlebih dahulu, kemudian diteteskan 75 ml larutan LMP agarose pada kaca slide dan ditutupi dengan *cover glass*. Slide disimpan pada suhu 4°C selama 15 menit. Proses selanjutnya, preparat direndam dalam larutan lisis selama 1 jam pada suhu 4°C. Setelah sel lisis, kaca preparat diletakkan dengan posisi horizontal dalam tangki elektroforesis yang diisi dengan larutan buffer dan didiamkan selama 20 menit. Setelah elektroforesis, sampel dinetralkan dengan mencelupkan slide ke dalam larutan netral sebanyak 3 kali dengan jarak waktu 5 menit. Sampel difiksasi dengan mencelupkan slide kedalam etanol 100% selama 3 detik. Slide disimpan di dalam desikator selama semalam, kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan sampel.

2.5 Pengamatan dan Analisis

Sampel yang telah melalui proses elektroforesis, kemudian diwarnai dengan 25 ml larutan ethidium bromide, ditutup dengan *cover glass* dan didiamkan minimal selama 15 menit. Sampel yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop fluoresen. Komet diamati pada 50 sel dari setiap perlakuan menggunakan *digital imaging system*. Sel yang bertumpuk tidak dihitung. Citra komet dianalisis secara digital dengan menggunakan *CASP Lab comet assay software*.

3. HASIL DAN DISKUSI

3.1 Pengukuran Dosis Radiasi Menggunakan Film

Hasil pengukuran dosis radiasi menggunakan *film badge* ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil pengukuran menunjukkan nilai yang sama pada semua radiografer yaitu sebesar 0,3 mSv / periode. Nilai laju dosis radiasi diperoleh per 3 bulan berarti data tahunan ditentukan berdasarkan data 3 bulanan, sehingga data dosis tahunan adalah $0,3 \text{ mSv} \times 4 = 1,2 \text{ mSv / tahun}$.

Tabel 1 Data hasil pengukuran laju dosis radiasi menggunakan *film badge*

No	Periode	Laju Dosis Radiasi (mSv/tahun)		
		Pekerja radiasi A	Pekerja radiasi B	Pekerja radiasi C
1	Februari - April 2018	0,3	0,3	0,3
2	Mei – Juli 2018	0,3	0,3	0,3
Rata-rata / tahun		1,2	1,2	1,2

Berdasarkan hasil pengukuran laju dosis radiasi menggunakan *film badge*, laju dosis radiasi yang diterima pekerja radiasi masih berada di bawah NBD yang ditetapkan oleh Perka BAPETEN No 4 Tahun 2013 yaitu 20 mSv/tahun.

3.2 Pengamatan DNA Sel Limfosit menggunakan Metode *Comet Assay*

Pengamatan DNA sel limfosit menggunakan metode *comet assay* dilakukan pada sampel darah tiga pekerja radiasi dan sampel darah tiga kontrol sebagai pembanding. Gambar 1 merupakan perbandingan salah satu hasil citra komet sampel kontrol dan sampel pekerja radiasi.



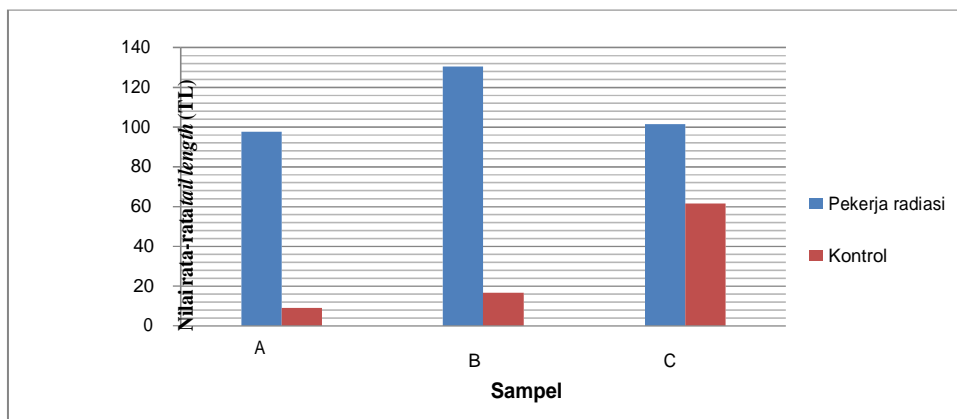
Gambar 1 (a) citra komet dari sel limfosit sampel kontrol dan (b) citra komet dari sel limfosit sampel pekerja radiasi

Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa sel limfosit telah mengalami migrasi DNA yang membentuk ekor komet, hal ini menunjukkan adanya kerusakan SSB DNA. Panjang ekor komet *tail length* (TL) diukur dari pusat kepala sampai ke ujung ekor menggunakan *CASP LAP comet assay software*. Pada penelitian ini, besarnya TL merupakan parameter yang digunakan untuk menganalisis tingkat kerusakan DNA akibat paparan radiasi. Data laju dosis radiasi dan kerusakan DNA sel limfosit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Data laju dosis radiasi per tahun terhadap kerusakan DNA sel limfosit

No	Sampel	Laju Dosis Radiasi (mSv/tahun)	Nilai rata-rata <i>tail length</i> (TL)		
			A	B	C
1	Pekerja radiasi	1,2	97,52	130,35	101,58
2	Kontrol	-	9,05	16,65	61,67

Nilai rata-rata *tail length* (TL) pada sampel pekerja radiasi lebih tinggi dibandingkan dengan nilai rata-rata TL pada sampel kontrol. Data ini menunjukkan adanya pengaruh paparan radiasi terhadap kerusakan DNA sel limfosit. Namun dari data nilai TL tersebut belum bisa diketahui tingkat keparahan suatu kerusakan DNA. Berdasarkan penelitian sebelumnya (Darlina dkk, 2018) diperoleh hasil bahwa melalui uji komet diketahui semakin besar dosis radiasi, maka semakin besar nilai parameter kerusakan DNA. Grafik perbandingan nilai rata-rata TL sampel pekerja radiasi dengan sampel kontrol dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Grafik perbandingan nilai rata-rata TL sampel pekerja radiasi dengan sampel kontrol.

Pada Gambar 2 dapat dilihat nilai rata-rata TL sampel kontrol jauh berbeda satu sama lain, yaitu nilai rata-rata TL sampel kontrol C jauh lebih tinggi dibandingkan sampel kontrol A dan B. Hal ini dapat disebabkan karena kerusakan DNA tidak hanya dipengaruhi oleh paparan radiasi, tetapi juga faktor lain seperti radikal bebas, virus, bahan- bahan kimia, serta makanan dan minuman (Ambekar dkk, 2017).

3 KESIMPULAN

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa laju dosis radiasi yang diterima pekerja radiasi berada di bawah NBD yang ditetapkan Perka BAPETEN dan nilai rata-rata *tail length* (TL) pada sampel pekerja radiasi lebih tinggi dibandingkan dengan nilai

rata-rata TL pada sampel kontrol. Namun dari data nilai TL tersebut belum bisa diketahui tingkat keparahan suatu kerusakan DNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada RS Dr. Reksodiwiryo Padang dan PTKMR-BATAN yang telah memberikan dukungan moril dan materil sekaligus memfasilitasi pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Akhadi, M., 2000, *Dasar-Dasar Proteksi Radiasi*, Rineka Cipta, Jakarta.
2. Ambekar, S.S., Hattur, S.S., dan Bule, B.P., 2017, DNA Damage and Repair Mechanisme in Humans, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*, Vol.3, No.3, Government College Of Pharmacy Maharashtra, hal 1-8.
3. Darlina, Rahardjo, T., dan Syaifudin, M., 2018, Evaluasi Hubungan Dosis Radiasi Terhadap Kerusakan DNA Sel Limfosit dengan Menggunakan Tes Comet, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, Vol.19, No.1, Pusat Sains dan Teknologi Nuklir Terapan BATAN, hal 13-20.
4. Hiswara, E., 2015, *Buku Pintar Proteksi dan Keselamatan Radiasi di Rumah Sakit*, BATAN Press, Jakarta. IAEA, 1997, *Effect of Ionizing Radiation on Blood and Blood Components*, Vienna, Austria.
5. Syaifudin, M., 2016, *Biologi Radiasi Dasar-dasar dan Aplikasi*, BATAN Press, Jakarta.
6. Utari, M., Milvita, D., Nuraeni, N., dan Yuliati, H., 2014, Analisis Dosis Radiasi terhadap Radioterapi menggunakan *Pocket Dosemeter*, TLD Badge dan TLD-100 di Instalasi Radioterapi RSUP DR. M. Djamil Padang Studi Kasus (Mei-Oktober) 2014, *Jurnal Fisika Unand*, Vol.3, No.4, Jurusan Fisika Unand, hal 262-268.