

## Kerusakan DNA Pada Sel Limfosit Akibat Radiasi Sinar-X Menggunakan Biomarker $\gamma$ -H2AX

Purwantiningsih<sup>1\*</sup>, Yohana Angelina Datang<sup>2</sup>, dan Iin Kurnia<sup>3</sup>  
<sup>1,2</sup> Universitas Nasional

<sup>3</sup> Badan Tenaga Nuklir Nasional

\* E-mail: [purwantiningsih.fisika@gmail.com](mailto:purwantiningsih.fisika@gmail.com)

### Abstrak

Pengaruh radiasi sinar-X terhadap tingkat kerusakan DNA pada sel limfosit seorang pasien pada 3 pemeriksaan rutin radiologi diagnostik, yaitu pemeriksaan lumbosacral, pemeriksaan abdomen dan kepala. Pemeriksaan lumbosacral dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*, sedangkan pemeriksaan abdomen dan kepala dilakukan secara *in vitro*. Proses penandaan kerusakan DNA menggunakan biomarker  $\gamma$ H2AX dan diamati menggunakan mikroskop fluoresen. Tingkat kerusakan DNA diukur melalui persentase jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk pada sel limfosit. Hasil pengamatan jumlah foci  $\gamma$ H2AX menunjukkan belum ada kerusakan berarti pada DNA sel limfosit pasien pasca pemeriksaan secara *in vivo* dan terdapat kerusakan DNA pada sel limfosit pasien pasca pemeriksaan secara *in vitro* dengan perbandingan jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang tidak spesifik setiap pemeriksaan. Sinar-X pada pemeriksaan rutin radiologi diagnostik secara *in vitro* memiliki potensi yang lebih tinggi untuk merusak DNA pasien dibandingkan dengan pemeriksaan secara *in vivo*, serta jumlah foci  $\gamma$ H2AX pada sampel kultur lebih sedikit daripada sampel yang tidak dikultur.

**Kata kunci:** Kerusakan DNA, *in vitro*, *in vivo*.

### Abstract

*The effect of radiation X-rays on the level of DNA damage in lymphocyte cells of a patient using 3 routine diagnostic radiology examinations, named lumbosacral examination, abdominal and head examination. Lumbosacral observed through in vivo and in vitro studies, while abdominal and head examination observed through in vitro study. The DNA damage marking process used the biomarker H2AX and observed using a fluorescent microscope. The level of DNA damage was measured by the percentage of phosphorylated histone H2AX. The results of observing the number of H2AX foci in this study showed that there was no significant damage to the patient's lymphocyte DNA after in vivo examination and there was DNA damage to the patient's lymphocyte cells after in vitro examination with a non-specific comparison of the number of H2AX foci between each examination. X-rays in routine diagnostic radiology examinations have a higher potential to damage patient DNA in in vitro study compared to in vivo study, and the number of H2AX foci in cultured samples was less than that of uncultured samples.*

**Keywords:** DNA damage, *in vivo*, *in vitro*.

## PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi di bidang kesehatan sudah semakin meningkat. Pada zaman ini, fasilitas kesehatan berbasis radiasi pengion sudah banyak digunakan. Salah satu kontribusi terbesar dari radiasi pengion adalah penggunaan sinar-X dalam bidang pencitraan medik atau radiologi diagnostik. Menurut BfS (*Bundesamt für Strahlenschutz*), *The Federal Office for Radiation Protection*, di Jerman pada tahun 2016 sekitar 137 juta prosedur sinar-X dilakukan. Keberadaan

sumber radiasi sinar-X tentunya sangat membantu para dokter dalam mendiagnosis penyakit dengan lebih akurat. Namun, di samping manfaat tersebut terdapat resiko yang harus ditanggung. Di Jerman, sekitar 95% populasi paparan radiasi manusia dihasilkan dari prosedur sinar-X di bidang pencitraan medik. Menurut data yang disajikan dalam sebuah hasil penelitian di Jerman (Nekolla, et al., 2017), diketahui bahwa dosis efektif rata-rata sebagai hasil aplikasi sinar-X mengalami peningkatan yakni sekitar 1,4 mSv pada tahun 2007 naik menjadi 1,6 mSv di 2014. Oleh karena itu, perlu diadakan peningkatan proteksi radiasi terutama pada pasien.

Di Indonesia, telah dilakukan sebuah penelitian tentang dosis pasien pada pemeriksaan rutin sinar-X radiologi diagnostik oleh Hiswara dan Kartikasari pada tahun 2015. Dari hasil penelitiannya, dosis pasien untuk pemeriksaan rutin sinar-X radiologi diagnostik masih di bawah dosis maksimum yang sudah ditetapkan oleh BAPETEN. Namun, hal tersebut tidak menjamin bahwa dosis tersebut tidak menimbulkan efek buruk pada tubuh pasien. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa penggunaan sinar-X dengan dosis rendah juga dapat menginduksi kerusakan DNA. Dalam hasil penelitiannya, Vandevoorde et al. (2014) telah membuktikan bahwa pada pasien anak-anak sinar-X dapat menyebabkan kerusakan DNA meskipun dengan dosis yang sangat rendah, yakni 0,15–8,85mGy. Untuk mengetahui besarnya kerusakan tersebut, mendeteksi kerusakan DSB (*Double Strand Break*) DNA adalah salah satu jalan yang dapat dilakukan. Mendeteksi terjadinya DSB pada DNA dapat dilakukan menggunakan biomarker  $\gamma$ H2AX. Dalam penelitian tersebut, besar kerusakan DNA diprediksi dari jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk. Alipoor et al. (2018) telah melakukan sebuah penelitian untuk mengevaluasi ekspresi  $\gamma$ H2AX sebagai biomarker dari kerusakan DNA setelah prosedur sinar-X pada pasien angiografi. Dari penelitian yang mereka lakukan,  $\gamma$ -H2AX terbukti menjadi indikator sensitif untuk deteksi kerusakan DNA (*Double Strand Break*) akibat radiasi pengion.

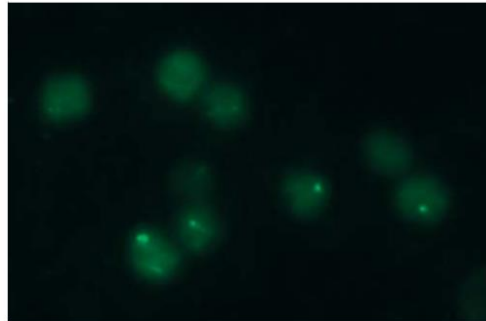
*Michael G. Stabin* (2007) mengatakan bahwa masyarakat umum percaya bahwa radiasi, sekecil apapun dosisnya, dapat menyebabkan kanker. Diketahui bahwa pemeriksaan rutin radiologi diagnostik merupakan salah satu jenis pemeriksaan berbasis radiasi yang menggunakan sumber radiasi sinar-X dengan dosis relatif rendah. Pemeriksaan dengan dosis tetinggi dari antara semua jenis pemeriksaan rutin radiologi diagnostik adalah pemeriksaan lumbosacral, diikuti oleh pemeriksaan abdomen lalu pemeriksaan kepala. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian yang berjudul, “Kerusakan DNA Pada Sel Limfosit Akibat Radiasi Sinar-X Menggunakan Biomarker  $\gamma$ -H2AX”. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi studi awal yang berguna bagi perkembangan penelitian di bidang proteksi radiasi, radiologi diagnostik. Selain itu, merujuk pada pernyataan *Michael G. Stabin* di atas, hasil studi kasus ini diharapkan dapat membantu mengurangi ketakutan berlebihan pada pasien terhadap radiasi.

Penelitian ini dilakukan dengan dua metode yaitu secara *in vivo* yaitu pengamatan sample dilakukan dalam tubuh pasien langsung dan yang kedua secara *in vitro* yaitu pengamatan dimana sample di masukkan dalam fantom. Tujuan dari penelitian ini meliputi, pertama mengidentifikasi perbandingan jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk pada sel limfosit pasien, antara sebelum dan sesudah pemeriksaan lumbosacral secara *in vivo*. Kedua, membandingkan jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk pada DNA sel limfosit pasien antara sebelum dan sesudah pemeriksaan lumbosacral, pemeriksaan abdomen, serta kepala secara *in vitro*. Ketiga, membandingkan jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk pada DNA sel limfosit pasien setelah melakukan pemeriksaan lumbosacral antara teknik *in vivo* dan *in vitro*. Keempat, mendeskripsikan perbandingan jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk pada DNA sampel yang dikultur dan sampel yang tidak dikultur.

Kerusakan DNA akibat paparan radiasi dapat diamati dengan metode biomarker  $\gamma$ H2AX. Meskipun masih banyak metode lain yang dapat digunakan untuk mendeteksi kerusakan DNA, khususnya DSB, tetapi hasil studi menyatakan bahwa  $\gamma$ H2AX merupakan yang paling akurat. Berdasarkan hasil dari sebuah studi pada 6 genotoksik yang berbeda, hasil pengujian menyatakan secara impresif bahwa  $\gamma$ H2AX memiliki sensitivitas rata-rata sebesar 91% dan spesifisitas rata-rata sebesar 89% (Geric et al., 2014).

$\gamma$ H2AX adalah merupakan salah satu histon dari H2A yang berperan mengatur respon terhadap kerusakan DNA. Histon merupakan protein yang mengikat DNA yang terdiri dari H2A, H2B, H3 dan H4 yang terikat dengan H1. Histon ini berfungsi sebagai sensor biologis akibat adanya perubahan atau stress yang bersifat endogen atau eksogen pada DNA. Protein histone H2AX ( $\gamma$ H2AX) bergantung pada perkiraan jumlah DSB. Maka, dapat diyakini bahwa  $\gamma$ H2AX dapat dijadikan penanda. Dengan

demikian, penanda ini dapat menentukan jumlah DSB dengan menggunakan antibodi yang cocok (Alipoor et al., 2018). Dalam penelitian, tingkat kerusakan DNA atau probabilitas terjadinya DSB diamati melalui jumlah foci yang terbentuk seperti tampak pada Gambar 1, dimana semakin banyak foci yang terbentuk maka probabilitas terjadinya DSB pun meningkat.



Gambar 1. Foci  $\gamma$ H2AX (Kuefner et al., 2015)

Foci ini biasanya muncul 1 menit setelah paparan radiasi pengion terhadap sel, dan akan terus bertambah di awal 10 -30 menit (Ward dan Chen, 2001). Persentase jumlah foci yang timbul pada setiap sampel dalam penelitian dinyatakan dalam indeks foci  $\gamma$ H2AX (persentase jumlah rata-rata foci  $\gamma$ H2AX). Jumlah rata-rata foci  $\gamma$ H2AX dihitung dalam 50 PBMCs atau sel limfosit per sampel dengan menggunakan persamaan berikut (Musthafa et al., 2018).

$$\text{Jumlah rata-rata foci } \gamma\text{H2AX} = \frac{\text{Jumlah Foci } \gamma\text{H2AX}}{50 \text{ sel}}$$

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan mendeteksi adanya pengaruh pemeriksaan rutin radiologi diagnostik terhadap kerusakan DSB (*Double Strand Break*) DNA sel limfosit pasien. Untuk mencapai homogenitas sampel penelitian, peneliti melakukan pengamatan secara langsung dengan darah seorang pasien berusia 22 tahun 9 bulan sebagai sampel.

Penelitian ini dilakukan di Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi (PTKMR), serta Klinik Kawasan Nuklir Pasar Jumat, dari bulan Juni sampai dengan Agustus 2021.

### Alat dan Bahan Penelitian

- Mikroskop Fluoresen, digunakan untuk mengamati foci  $\gamma$ H2AX yang diekspresikan oleh titik terang berwarna hijau pada PBMC atau sel limfosit seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Mikroskop Fluoresen (Dokumen Pribadi)

- b) Slide Kaca sebagai tempat sampel atau sel limfosit diletakan setelah dikultur. Proses pewarnaan dan pengamatan sampel dilakukan di atas slide kaca yang terdiri dari 12hole ini.



Gambar 3. Kaca Slide (Dokumen Pribadi)

- c) *Cover Glass* merupakan kaca tipis berbentuk persegi panjang yang digunakan untuk menutup slide kaca berisi sampel yang sudah diproses dan siap untuk diamati.  
d) Tabung Sentrifugasi 15 mL dan 1,5 mL beserta Rak Penyangga berfungsi untuk menyimpan sampel darah saat proses isolasi. Sedangkan, tabung sentrifugasi 1,5 mL, atau *microcentrifuge tube*, digunakan untuk menyimpan sel limfosit setelah dipisahkan dari darah.  
e) *Micropipette* untuk memindahkan sampel dengan bantuan tip berwarna kuning dan biru, seperti pada Gambar 4, yang dipasang pada ujung pipet.



Gambar 4. Micropipette (Dokumen Pribadi)

- f) Tabung Heparin merupakan tabung antikoagulan atau anti pembekuan darah. Digunakan untuk menyimpan darah pasien yang akan digunakan sebagai sampel, agar tidak membeku ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Tabung Heparin (Dokumen Pribadi)

- g) Mesin Sentrifugasi (Gambar 6) digunakan untuk sentrifugasi sampel setelah dicampur dengan bahan tertentu selama proses isolasi hingga perwarnaan sampel.



Gambar 6. Mesin Sentrifugasi(Dokumen Pribadi)

- h) Pesawat Sinar-X (Gambar 7) merupakan modalitas yang dipakai dalam setiap pemeriksaan pada penelitian ini, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Modalitas ini biasa digunakan dalam pemeriksaan rutin di unis radiografi umum. Pesawat sinar-X yang digunakan ini merupakan pesawat sinar-X *Allengers-100R* dengan kapasitas 100 kVp 80 mAs.



Gambar 7. Pesawat Sinar-X (Dokumen Pribadi)

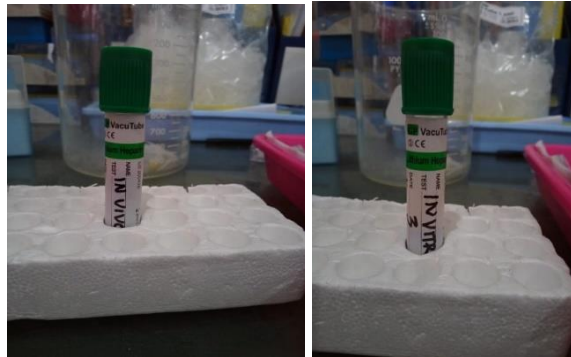
- i) Fantom yang ditunjukkan pada Gambar 8. berikut merupakan fantom pasien dewasa. Dalam penelitian ini fantom membantu dalam proses pemeriksaan secara *in vitro*.



Gambar 8. Fantom (Dokumen Pribadi)

- j) Stopwatch berfungsi sebagai penanda waktu sangat digunakan dalam tahap isolasi hingga pewarnaan sampel.  
k) Sampel Darah yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 5 varian yakni sampel darah kontrol K(-) (diambil sebelum pasien melakukan pemeriksaan), sampel darah In

Vivo (diambil setelah pasien melakukan pemeriksaan lumbosacral secara *in vivo*), sampel darah In Vitro1 (darah dipaparkan sinar-X secara *in vitro* dengan dosis pemeriksaan lumbosacral), sampel darah In Vitro2 (darah dipaparkan sinar-X secara *in vitro* dengan dosis pemeriksaan abdomen), dan sampel darah In Vitro3 (darah dipaparkan sinar-X secara *in vitro* dengan dosis pemeriksaan kepala) seperti Gambar 9.



Gambar 9. Sampel Darah (Dokumen Pribadi)

- l) *Aquabidest* merupakan air murni yang dihasilkan dari 2x proses penyulingan, sehingga rendah kandungan mineral.
- m) *Histopaque 1077* merupakan larutan polisukrosa dan natrium diatrizoate dengan kepadatan 1,077g/mL. Dalam penelitian ini, larutan ini digunakan untuk memisahkan sel limfosit dari darah.
- n) Larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) merupakan larutan garam yang digunakan dalam berbagai aplikasi kultur sel. Dalam penelitian ini PBS digunakan untuk mencuci sel sebelum dikultur dan setelah ditetaskan antibodi 2.
- o) Formaldehid 2% digunakan untuk fiksasi sel limfosit pada slide kaca setelah dikultur.
- p) Triton-X 100 0,25% (*Polyethylene glycol tert-octylphenyl ether*) merupakan surfaktan non-ionik yang memiliki rantai polietilen oksida hidrofilik dan gugus lipofilik atau hidrofobik hidrokarbon aromatic yang digunakan berkonsentrasi 0,25 % dan berfungsi untuk mengikat sel pada slide.
- q) Bovine Serum Albumine (BSA) merupakan suplemen protein dalam media kultur sel. Dalam penelitian ini BSA dengan konsentrasi 2% digunakan sebagai buffer untuk memblok situs non-spesifik pada sel.
- r) *Ethanol 75 %* (dingin) digunakan pada proses isolasi sampel. Etanol sebanyak 500 ml digunakan pada sampel, yakni sel limfosit sebanyak 75 mikron.
- s) Antibodi 1 ( $\gamma$ H2AX dan 53 BPI) dan Antibodi 2 (DAPI, 488, 494) diberikan pada proses perwarnaan sampel.
- t) *Vectashield antifade mounting medium* merupakan formula unik dan stabil untuk menjaga fluoresensi.
- u) RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) merupakan medium kultur sel membantu proses kultur sebagian dari sel limfosit pasien.
- v) Minyak Imersi (*Immersion Oil*) digunakan untuk membantu objek terlihat dengan jelas pada mikroskop. Penggunaan minyak imersi sangat efektif karena minyak imersi memiliki indeks bias yang sama dengan kaca penutup (*cover glass*) pada kaca slide.

### Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Sampel darah diambil sebelum dan setelah pemeriksaan dilakukan. Pemeriksaan dilakukan secara *in vivo* dengan jenis pemeriksaan lumbosacral. Selain itu, darah pasien diproses secara *in vitro* dengan jenis pemeriksaan lumbosacral, abdomen dan kepala. Pemeriksaan secara *in vitro* dilakukan dengan bantuan fantom dan tabung heparin.

pengambilan darah disesuaikan dengan jumlah sampel yang dibutuhkan. Dalam penelitian ini, tiap variasi sampel digunakan 3ml darah. Sebelum pasien melakukan pemeriksaan secara *in vitro*,

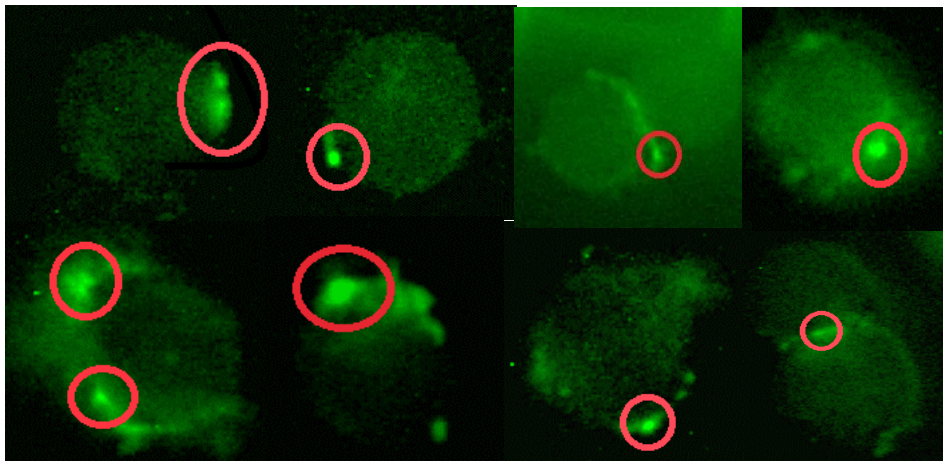
darah diambil sebanyak 12 ml, yakni 3 ml untuk kontrol, dan 9 ml untuk pemeriksaan *in vitro*, 3ml untuk tiap pemeriksaan. Darah sebanyak 9 ml tersebut dibagi ke dalam 3 tabung heparin berbeda, dan diberi perlakuan, yakni pemeriksaan lumbosacral, abdomen, dan kepala secara *in vitro*. Kemudian, pasien dilakukan pengamatan secara *in vivo*. Setelah pemeriksaan lumbosacral secara *in vivo* dilakukan, yakni 1 jam setelah pasien dipapar sinar-X, darah sebanyak 3mL diambil dari pasien. Semua sampel yang sudah diberi perlakuan dan sampel kontrol diisolasi lalu didiamkan dan sebagian dikultur selama 24 jam (*overnight*). Setelah 24 jam, proses selanjutnya adalah fiksasi sampel diikuti dengan pewarnaan sampel. Kemudian sampel diamati 24 jam setelah proses pewarnaan. Kemudian sampel diproses untuk mengamati kerusakan DNA menggunakan biomarker  $\gamma$ H2AX, dimana sampel dibagi lagi menjadi 2 kelompok yakni sampel dikultur dan sampel tidak dikultur. Kerusakan DSB DNA akan ditunjuk oleh foci  $\gamma$ H2AX, dimana semakin banyaknya foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk menandakan bahwa kerusakan yang terjadi semakin parah. Kemudian, jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk akan dibandingkan antara tiap jenis perlakuan sampel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah dilakukan dengan menggunakan sampel darah seorang pasien sebagai sampel utama yang diberi perlakuan secara *in vivo*, yakni sinar-X dipaparkan secara langsung ke tubuh pasien, dan *in vitro*, yakni darah pasien diambil dan dipaparkan di luar tubuh pasien dengan bantuan fantom. Besar kerusakan DNA akibat kedua perlakuan yang diberikan telah diamati menggunakan biomarker  $\gamma$ H2AX pada 50 sel per variasi sampel.

### Hasil Pengamatan Jumlah Foci $\gamma$ H2AX dari Setiap Sampel

Foci  $\gamma$ H2AX yang mewakili kerusakan DSB DNA pada sel limfosit pasien diekspresikan dengan titik terang berwarna hijau pada PBMC atau sel limfosit, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 10 sebagai berikut.



Berdasarkan hasil pengamatan dari masing-masing variasi sampel menggunakan mikroskop fluoresen, jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk pada masing-masing sampel ditunjukkan oleh tabel 1 dan Tabel 2 berikut.

**Tabel 1. Hasil pengamatan foci  $\gamma$ H2AX dari setiap variasi sampel Tanpa Dikultur**

Sampel Tanpa Dikultur	Jumlah Sel	Jumlah Foci $\gamma$ H2AX	Index Foci $\gamma$ H2AX
Kontrol	50	0	0%
In Vivo	50	0	0%
In Vitro 1	50	4	8%
In Vitro 2	50	6	12%
In Vitro 3	50	0	0%

**Tabel 2. Hasil pengamatan foci  $\gamma$ H2AX dari setiap variasi sampel Dikultur 24jam**

Sampel Dikultur 24jam	Jumlah Sel	Jumlah Foci $\gamma$ H2AX	Index Foci $\gamma$ H2AX
Kontrol 24	50	1	2%
In Vivo 24	50	0	0%
In Vitro 124	50	0	0%

In Vitro 224	50	0	0%
In Vitro 324	50	0	0%

### Jumlah Foci $\gamma$ H2AX antara Sampel Kontrol dan In Vivo

Hasil pengamatan jumlah foci  $\gamma$ H2AX pada sampel pada sampel kontrol dan sampel In Vivo dalam penelitian ini tidak menunjukkan terjadinya kerusakan berarti pada DNA sel limfosit seorang pasien berusia 22 tahun 9 bulan yang melakukan pemeriksaan lumbosacral. Dalam penelitian Hiswara dan Kartikasari, dosis permukaan masuk rata-rata pasien pada pemeriksaan Lumbosacral dewasa AP adalah sebesar 2,25 mGy dan lateral sebesar 8,22 mGy. Nilai dosis tersebut sudah masuk dalam rentang dosis yang mampu memicu terjadinya kerusakan DNA. Hasil penelitian Vandevoorde, dkk. menyatakan bahwa paparan sinar-X dapat menyebabkan kerusakan DNA pada pasien anak-anak yang melakukan pemeriksaan CT abdomen dan *chest* CT meskipun dengan dosis yang sangat rendah, yakni 0,15-8,85 mGy. Hasil penelitian ini belum sesuai dengan pernyataan tersebut. Hal ini dapat disebabkan karena faktor usia pasien. Usia pasien saat terpapar merupakan salah satu faktor yang penting, karena individu di usia dini memiliki radiosensitivitas yang tinggi dibandingkan dengan pasien dewasa. Tepatnya, tingkat sensitivitas manusia terhadap radiasi tinggi saat masa kanak-kanak lalu menurun secara progresif pada pasien berusia 30-40 dan kembali meningkat pada pasien yang berusia lebih dari 40 tahun. Hal ini disebabkan karena akurasi dan efisiensi organisme untuk mengidentifikasi sel yang rusak serta kapasitas untuk memperbaiki kerusakan akibat radiasi pada kromosom, menurun sampai batas tertentu (Tong & Hei, 2020). Namun, hal ini masih perlu diamati lebih lanjut karena respon DNA terhadap radiasi dari setiap individu, meskipun di usia yang relatif sama, bisa berbeda.

### Jumlah Foci $\gamma$ H2AX antara Sampel Kontrol dan In Vitro1, In Vitro2 dan In Vitro3

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan jenis pemeriksaan terhadap tingkat kerusakan DNA, sinar-X juga dipaparkan secara *in vitro* dengan bantuan fantom. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase kerusakan DNA lebih banyak terjadi pada sel limfosit sampel pemeriksaan abdomen (sampel In Vitro1) dibandingkan dengan sampel pemeriksaan lumbosacral (sampel In Vitro2), sementara nilai faktor eksposisi pemeriksaan lumbosacral lebih besar daripada pemeriksaan abdomen. Sedangkan, sampel pemeriksaan kepala (sampel In Vitro3) lebih kecil dari sampel In Vitro1 dan sampel In Vitro2. Berdasarkan data nilai dosis permukaan masuk dari ketiga jenis pemeriksaan tersebut yang disajikan oleh Hiswara dan Kartika dalam jurnal hasil penelitian mereka, pemeriksaan lumbosacral memiliki nilai dosis yang lebih besar daripada pemeriksaan abdomen dan dosis pemeriksaan kepala lebih kecil dari pemeriksaan abdomen. Menurut hasil penelitian Fukumoto et al. (2016), kenaikan jumlah foci  $\gamma$ H2AX seiring dengan kenaikan dosis. Dalam hasil penelitian Alipoor et al. (2018) juga dikatakan bahwa dosis yang lebih tinggi dapat menghasilkan kerusakan yang lebih banyak. Hal ini membuktikan bahwa seharusnya kerusakan DSB DNA, yang diekspresikan dengan jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang terbentuk, lebih banyak ditemukan pada sampel In Vitro1 daripada sampel In Vitro2 dan In Vitro3. Penyebab ketimpangan hasil tersebut belum dapat dijelaskan dengan data dalam penelitian ini. Untuk saat ini, kesalahan dalam pengambilan data penelitian dapat diasumsikan sebagai faktor yang mempengaruhi, seperti letak sampel darah pada fantom yang mungkin kurang sejajar dengan pusat sumber berkas. Kemungkinan adanya ketidakseragaman akurasi dan efektivitas antibodi dalam proses penandaan kerusakan pada DNA sel limfosit sampel selama proses pewarnaan sampel juga perlu dipertimbangkan. Performa kerja antibodi mempengaruhi kesuksesan proses penandaan kerusakan DSB pada DNA sel limfosit (Alipoor et al., 2018). Penelitian pada pasien langsung terkait persoalan ini sangat perlu dilakukan. Hal ini menyangkut ketebalan jaringan dan probabilitas interaksi radiasi sinar-X dengan pasien. Saat sinar-X dengan nilai kVp dan mAs tetap menembus organ dengan ketebalan yang berbeda-beda, maka interaksi akan meningkat seiring dengan ketebalan organ. Meningkatnya interaksi menyebabkan meningkatnya dosis yang diterima pasien. Teori ini belum dapat dikaitkan dengan studi *in vitro* dalam penelitian ini karena diketahui bahwa setiap pemeriksaan dalam studi ini menggunakan fantom dengan jenis sama dan jarak ekspos yang sama.

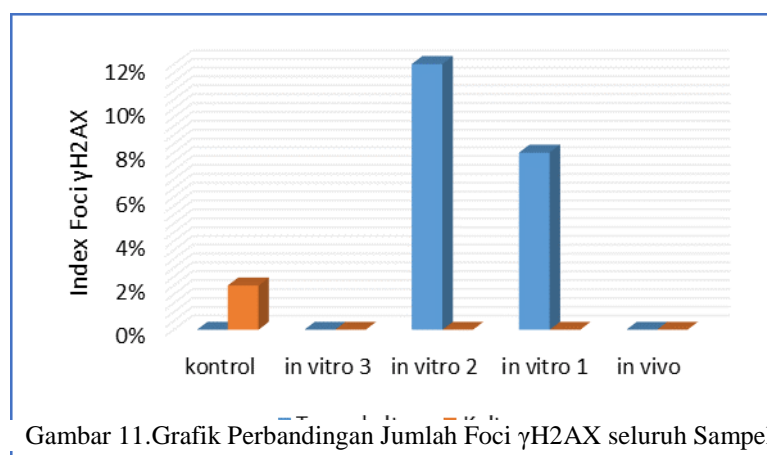


### Jumlah Foci $\gamma$ H2AX pada Sampel Pemeriksaan Lumbosacral secara *In vivo* dan *In vitro*.

Diketahui bahwa dalam penelitian ini, pemeriksaan lumbosacral dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro* (In Vitro1) dengan nilai faktor eksposisi yang sama. Tetapi, jumlah foci  $\gamma$ H2AX yang dihasilkan menunjukkan tingkat kerusakan yang berbeda. Indeks foci  $\gamma$ H2AX pada sampel In Vivo sebesar 0% dan pada sampel In Vitro1 sebesar 8%. Dari perbandingan nilai indeks foci  $\gamma$ H2AX dari sampel tersebut disimpulkan bahwa kerusakan pada sampel yang diberi perlakuan secara *in vitro* lebih besar dibandingkan dengan sampel yang diberi perlakuan secara *in vivo*. Keadaan ini dapat disebabkan karena perbedaan kemampuan memperbaiki diri dari DNA pada masing-masing sampel tersebut. Pada umumnya, setiap DNA memiliki kemampuan untuk memperbaiki dirinya sendiri melalui 2 jalur perbaikan, yakni jalur HR (*Homologous Recombination*) dan NHEJ (*Non-Homologous End-Joining*). Dalam proses perbaikan ini, enzimologi memegang peranan penting dalam mencegah mutasi, ketidakstabilan kromosom dan kanker (Tong & Hei, 2020). Dalam penelitian ini, kedua sampel (In Vivo dan In Vitro1) sama-sama berasal dari satu pasien yang sama. Tetapi, saat terpapar masing-masing sampel berada pada daerah atau sistem yang berbeda, dimana untuk sampel In Vivo darah dipapar saat masih dalam tubuh pasien, sedangkan darah untuk sampel In Vitro1 sudah keluar dari tubuh pasien. Keadaan ini memicu terjadinya perbedaan jumlah komponen-komponen yang membantu DNA dalam memperbaiki dirinya sehingga akurasi dan efisiensi DNA dalam mengidentifikasi dan memperbaiki kerusakan pun berbeda. Komponen-komponen perbaikan DNA yang dimaksud, antara lain ECM, integrin, sitoskeleton aktin dan kromatin (Nishad et al., 2021).

### Jumlah Foci $\gamma$ H2AX pada Sampel Kultur dan Tidak Kultur

Selain diberi perlakuan secara *in vivo* dan *in vitro*, sampel pada penelitian ini juga diberi perlakuan tambahan yakni, dikultur dan tidak dikultur. Berdasarkan diagram pada gambar 11 ditunjukkan bahwa antara sampel yang dikultur dengan sampel yang tidak dikultur terjadi perbedaan jumlah foci  $\gamma$ H2AX. Hampir seluruh sampel yang dikultur tidak menunjukkan adanya kerusakan DSB DNA. Berdasarkan teori, kultur sel merupakan reproduksi dan kelangsungan hidup sel dalam lingkungan buatan. Kultur sel memungkinkan sel untuk terus berkembang biak dan berproliferasi dengan menyediakan lingkungan yang sesuai dengan lingkungan asal sel (Uysal et al., 2018). Proses proliferasi sel dan perkembangbiakan sel mendukung proses regenerasi DNA yang rusak dalam sel. Hal ini dapat menjadi penyebab foci  $\gamma$ H2AX tidak terdeteksi hampir pada semua sampel yang dikultur dalam percobaan ini. Secara tidak langsung hal ini menunjukkan bahwa DNA memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan pada dirinya dengan didukung oleh lingkungan yang memadai, dalam arti hampir seluruh komponen yang dibutuhkan selama proses perbaikan terpenuhi.



Gambar 11. Grafik Perbandingan Jumlah Foci  $\gamma$ H2AX seluruh Sampel

Gambar 11 dalam grafik tersebut menunjukkan bahwa pada sampel kontrol yang dikultur terdapat 1 foci  $\gamma$ H2AX dengan index foci 2%. Tentunya foci ini tidak diinduksi oleh radiasi sinar-X pemeriksaan medis seperti pada sampel lainnya, melainkan dari radiasi spontan yang berasal dari alam (*natural background radiation*). Pada dasarnya manusia menerima radiasi setiap harinya. Menurut perkiraan UNSCEAR, dosis tahunan rata-rata global dengan sumber alami adalah sekitar 2,4 mSv, dimana 0,48 mSv dosis tersebut merupakan sumbangan dari paparan radiasi eksternal sumber terestrial.

## PENUTUP

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pertama, jumlah foci  $\gamma$ H2AX menunjukkan bahwa pemeriksaan lumbosacral secara *in vivo* belum mampu menginduksi kerusakan DNA pada sel limfosit pasien. Kedua, jumlah foci  $\gamma$ H2AX dari darah seorang pasien yang dipapar sinar-X secara *in vitro* menunjukkan bahwa tingkat kerusakan DNA yang berbeda, namun tidak linier dengan dosis yang diberikan pada pemeriksaan lumbosacral, abdomen dan kepala. Ketiga, kerusakan DNA sel limfosit pasien pada pemeriksaan lumbosacral yang diekspos secara *in vitro* lebih besar daripada saat diekspos secara *in vivo* karena perbedaan jumlah komponen perbaikan DNA saat diinduksi radiasi pengion. Keempat, kerusakan DNA dengan perlakuan kultur dan tanpa kultur pada pengamatan sel limfosit menunjukkan jumlah foci  $\gamma$ H2AX pada sampel kultur lebih sedikit daripada sampel yang tidak dikultur, hal ini terjadi karena kestabilan lingkungan sangat mendukung aktivitas sel termasuk dalam hal perbaikan kerusakan akibat radiasi.

Untuk penelitian berikutnya, perlu dilakukan penelitian yang sama dengan jumlah pasien lebih banyak, sehingga data yang diperoleh lebih bervariasi. Selanjutnya bagi pasien yang melakukan proses pemeriksaan radiodiagnostik terutama penggunaan radiasi sinar-X tidak perlu takut berlebihan karena manfaat dari pemeriksaan tersebut jauh lebih besar dan kerusakan DNA yang terjadi tidak terlalu berarti.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan pada ketua jurusan Fisika, Dekan Fakultas Teknik dan Sains, Rektor Universitas Nasional dan Kepala BATAN (Badan Tenaga Nuklir Nasional) berkat dukungan dari mereka semua, penelitian ini bisa diselesaikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alipoor A., F. R., & S., S. (2018). Evaluating Gamma-H2AX Expression as a Biomarker of DNA Damage After X-ray in Angiography Patients. *J Biomed Phys Eng*, 8(4).
- Bundesamt für Strahlenschutz. The Federal Office for Radiation. (2020, 02 13). X-ray diagnostics: Frequency and radiation exposure. 2007-2016.
- Fukumoto, W., Ishida, M., Sakai, C., Tashiro, S., Ishida, T., Nakano, Y., . . . Awai, K. (2016). DNA damage in lymphocytes induced by cardiac CT and comparison with physical exposure parameters. *Eur Radiol*.
- Gerić, M., Gajski, G., & Garaj-Vrhovac, V. (2014).  $\gamma$ -H2AX as a biomarker for DNA double-strand breaks in ecotoxicology. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 105, 13-21.
- Hiswara, E., & Kartikasari, D. (2015). Dosis Pasien pada Pemeriksaan Rutin Sinar-X Radiologi Diagnostik. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. Vol.16 No 2, 71-84.
- Musthafa, A., Djuita, F., & Kurnia, I. (2018). Expression of  $\gamma$ -H2AX Using Immunofluorescence Assay as an Adaptive Response of PBMC in Radiation Workers at Dharmais Cancer Hospital. *Indonesian Journal of Cancer*, 12(2): 47-51.
- Nekolla, E. A., Schegerer, A. A., Griebel, J., & Brix, G. (2017). Häufigkeit und Dosis diagnostischer und interventioneller Röntgenanwendungen: Trends zwischen 2007 und 2014. *Der Radiologe* 7, 57:555–562.
- Nishad, S., Chauhan, P. K., Sowdhamini, R., & AnuGhosh. (2021). Chronic exposure of humans to high level natural background radiation leads to robust expression of protective stress response proteins. *Scientific reports*, 11:1777.
- Stabin, M. G. (2007). *Radiation Protection and Dosimetry : An Introduction to Health Physics*. New York: Springer.
- Tong, J., & Hei, T. K. (2020). Aging and age-related health effects of ionizing radiation. *Radiation Medicine and Protection*,

- Uysal, O., Sevimli, T., Sevimli, M., Gunes, S., & Sariboyaci, A. E. (2018). Cell and Tissue Culture: The Base of Biotechnology. *Omics Technologies and Bio-engineering: Towards Improving Quality of Life*, 17: 391-429.
- Vandevoorde, C., Franck, C., Bacher, K., Breyssem, L., Smet, M. H., Ernst, C., . . . Thierens, H. (2014).  $\gamma$ -H2AX foci as in vivo effect biomarker in children emphasize the importance to minimize x-ray doses in paediatric CT imaging. *Eur Radiol*.
- Ward, I. M., & Chen, J. (2001). Histone H2AX Is Phosphorylated in an ATR-dependent Manner in Response to Replicational Stress. *The Journal of Biological Chemistry Vol. 276, No. 51*, 47759-47762.