

## PENGARUH PEMBERIAN DMSO DAN AMPISILIN PADA LEUKOPENIA DAN DAYA TAHAN HIDUP TIKUS PUTIH AKIBAT RADIASI TERBAGI

Abdul Wa'id, Iwiq Indrawati dan Mukh Syaifudin

Pusat Standarisasi Penelitian Keselamatan Radiasi - Badan Tenaga Atom Nasional

### ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN DMSO DAN AMPISILIN PADA LEUKOPENIA DAN DAYA TAHAN HIDUP TIKUS PUTIH AKIBAT RADIASI TERBAGI. Untuk mengetahui pengaruh dimetilsulfoksida (DMSO) dan ampisilin terhadap leukopenia dan Daya Tahan Hidup (DTH) akibat radiasi terbagi, telah dilakukan percobaan pada 144 tikus putih. DMSO diberikan sebelum tikus diiradiasi, sedangkan ampisilin diberikan sebelum tikus diiradiasi, sedangkan ampisilin diberikan sesaat setelah tikus diiradiasi dan dilanjutkan setiap 3 hari sampai minggu ke 3 pasca iradiasi. Iradiasi dilakukan pada pesawat Co-60 Gamma Cell-220 dengan dosis terbagi masing-masing 2+2; 4+4; 6+6 Gy dan kontrol. DTH dan jumlah lekosit diamati sejak hari ke 0 (pra-iradiasi) sampai hari ke 40 pasca iradiasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus yang diberi ampisilin + DMSO, sampai hari ke 11, mengalami leukopenia yang lebih berat dibanding tikus yang hanya mendapat ampisilin tanpa DMSO, tetapi mempunyai DTH yang lebih tinggi. Sampai dengan dosis 4+4 Gy baik tikus diberi ampisilin atau ampisilin + DMSO tidak mengalami bakteremia.

### ABSTRACT

THE EFFECT OF DMSO AND AMPICILLIN ON LEUCOPENIA AND THE SURVIVAL OF RATE FLOWING THE IRRADIATION FRACTIONATION. The effect of Dimethylsulphoxide (DMSO) and ampicillin on leucopenia and the survival time following fractionated radiation were observed by using 144 white rats. DMSO was given before irradiation, whereas ampicillin was given after irradiation and every 3 days during 2 weeks postirradiation. The irradiation was carried out by using Gamma Cell-220 Co-60 with whole body fractionated doses of 0,2+2, 4+4 and 6+6 Gy respectively. The number of leucocytes and the survival time were observed from the first day (before irradiation) up to 40-th day post irradiation. The results showed that leucopenia of the rats administered with DMSO + ampicillin was more severe than those with ampicillin only, but had higher survival-time. Up to the dose of 8 gy both rats protected with either ampicillin or DMSO + ampicillin have no bacteremia.

### PENDAHULUAN

Sindrom sumsum tulang pada berbagai spesies ditandai dengan terjadinya trombositopenia, leukopenia dan anemia (1). Akibat leukopenia, terjadi penurunan sistem imunitas tubuh, juga kekurangmampuan hewan mengadakan reaksi peradangan yang sempurna pada waktu infeksi. Penyebab infeksi pada penderita leukopenia yang terbanyak terutama akibat bakteri gram positif. Tindakan pengobatan terhadap infeksi yang umum adalah dengan pemberian antibiotik misalnya derivat-derivat penisilin seperti ampisilin, karbenisilin atau tikarsilin (2).

Lekopenia (penurunan jumlah lekosit) adalah salah satu gejala atau indikator biologik (sindrom hematologik) yang terjadi bila hewan atau mamalia terkena radiasi pengion baik karena iradiasi sebagian ataupun seluruh tubuh. Derajat leukopenia dapat dipergunakan sebagai

salah satu indikator beratnya efek radiasi yang mengenai sistem hemopoetik seseorang/hewan. Dengan menurunnya sel darah putih akibat radiasi, konsekuensi terjadinya infeksi akibat kuman yang masuk tak dapat ditolak. Selanjutnya dapat terjadi kematian, karena daya tahan tubuh yang sangat rendah (3).

Upaya untuk mengurangi efek radiasi eksternal terhadap tubuh telah banyak dilakukan yaitu dengan mengatur jarak dan waktu maupun dengan mempergunakan pelindung, baik dengan menggunakan perisai (shielding) maupun zat kimia tertentu yang bersifat radioprotektor. Pada prinsipnya radioprotektor adalah zat yang melindungi binatang terhadap kerusakan akibat radiasi pada waktu tersebut diperlakukan dengan radiasi. Dengan demikian radioprotektor kurang efektif untuk mengurangi

kerusakan radiasi apabila diberikan setelah iradiasi (4).

Tujuan penelitian dengan menggunakan radioprotektor kimia ini pada mulanya adalah untuk melindungi jaringan sehat atau normal terutama selama radiasi tumor ganas dan untuk mendapatkan pengetahuan yang lebih luas tentang mekanisme kerusakan akibat radiasi. Diduga bahwa zat kimia tertentu seperti DMSO dapat menangkap radikal bebas pada peristiwa radiolisis di dalam sel, namun demikian sampai saat ini mekanisme dari radioprotektor itu sendiri terhadap kerusakan akibat radiasi masih belum banyak diketahui secara pasti (4).

Pada penelitian terdahulu (5) telah diketahui bahwa pemberian DMSO 0,2 ml + 4 mg ampisilin per ekor dapat menghambat terjadinya bakteremia (adanya bakteri dalam aliran darah) pada tikus yang diiradiasi seluruh tubuh dengan dosis 8 Gy. Padahal ampisilin tersebut hanya diberikan satu kali yaitu pada hari ke 2 pasca iradiasi (5). Menurut Rossoft (6) bahwa pemberian ampisilin sesaat setelah iradiasi dan dilanjutkan secara berselang sampai minggu ke 3 pasca iradiasi, akan menaikkan daya tahan hidup tikus/hewan yang diiradiasi 5 Gy. Oleh karena itu dalam penelitian ini ingin diketahui efek DMSO dan ampisilin yang diberikan sesaat setelah iradiasi dan secara berselang sampai minggu ke 3 pasca iradiasi, dengan harapan akan memberikan perlindungan yang lebih baik, memperbesar daya tahan hidup dan menekan sindrom hematologi akibat radiasi fraksinasi seluruh tubuh (6).

## BAHAN DAN TATA KERJA

### *Pemberian radioprotektor*

Seratus empat puluh empat tikus putih jantan Strain LMR yang beratnya rata-rata  $169,4 \pm 28,6$  gram dan berumur 3 bulan, dibagi dua kelompok. Kelompok pertama 1 jam sebelum iradiasi fraksi pertama, diberi 1 kali DMSO 0,4 ml/ekor melalui mulut dengan menggunakan mikropipet, sedang kelompok kedua tidak.

### *Iradiasi*

Iradiasi dilakukan dengan pesawat Gamma Cell-220 Co-60 dengan menggunakan transmisi 30% dan laju dosis tanpa shielding 61862,44 Gy/jam. Pada iradiasi fraksi pertama, tikus dibagi empat kelompok masing-masing 36 ekor dan dosisnya berturut-turut 0, 2, 4 dan 6 Gy, serta 3 hari kemudian dilanjutkan radiasi fraksi kedua dengan dosis yang sama, sehingga total dosis masing-masing tikus yaitu 0, 2+2, 4+4 dan 6+6 Gy.

### *Pemberian ampisilin*

Antibiotik ampisilin (Penbritin) 500 mg sebelum digunakan diencerkan dengan 50 ml akuabides steril bebas pirogen. Sesaat setelah iradiasi pertama, semua tikus diinjeksi intramuskular (otot paha belakang) 0,3 ml/ekor (pagi jam 10.00) dan diulangi pada sore hari (jam 15.00). Dengan demikian tikus disuntik 0,6 ml/hari. Penyuntikan ini diulangi lagi pada hari ke 3, 6, 9, 12 dan 15 pasca iradiasi, sehingga setiap tikus yang tetap hidup (40 hari) atau yang dibunuh pada hari ke 27 pasca iradiasi mendapat dosis ampisilin 36 mg.

### *Pengamatan bakteremia dan jumlah leukosit*

Pada hari 0 (pra-iradiasi), 3, 11, 19, 27 pasca iradiasi fraksi kedua tikus dibunuh untuk diambil darahnya dari jantung dengan alat suntik sekali pakai yang steril. Darah ditampung dalam vial steril yang berisi EDTA, kemudian dikocok.

### *Pengamatan bakteremia*

Dari masing-masing vial diambil 0,5 ml darah, ditanam ke dalam 2 cawan petri yang telah berisi media Nutrien Agar (NA) setelah diinkubasi pada 37°C selama 24 jam, dilakukan pemeriksaan koloni bakteri yang tumbuh.

### *Penghitungan leukosit*

Cara penghitungan leukosit sama dengan penghitungan leukosit pada pemeriksaan darah rutin. Data hasil penghitungan leukosit selanjutnya diuji secara statistik dengan pola pengujian faktorial.

### *Pengamatan Daya Tahan Hidup (DTH):*

Selama percobaan dilakukan pula pengamatan DTH yaitu dengan mencatat saat kematian yang terjadi selama 40 hari pasca iradiasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dosis 12 Gy (terutama terhadap tikus yang diberi DMSO) pada hari ke 19 sudah menyebabkan kematian, oleh karena itu pada analisis statistik dosis 12 Gy tidak diikutsertakan.

Pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa sampai hari ke 11 tikus yang diberi DMSO + ampisilin, untuk semua dosis, cenderung mempunyai prosentase jumlah leukosit yang lebih sedikit dibanding tikus yang hanya mendapat ampisilin, tetapi pada hari-hari berikutnya mulai dapat teramati adanya proses *recovery* yang berarti pada pembentukan sel-sel leukosit (Gambar 1). (lihat halaman berikut). Diduga pula bahwa pengobatan dengan antibiotika ampisilin belum menurunkan radio-

Tabel 1. Prosentase lekosit dan DTH tikus yang diiradiasi terbagi dan diberi ampisilin dengan dan tanpa DMSO ( terhadap tikus kontrol )

Dosis (Gy)	Radio protektor	Prosentase lekosit pada hari pengamatan pasca iradiasi fraksi 2					DTH
		0	3	11	19	27	
0	amp. + DMSO	100	100	100	100	100	> 40 hari
	amp. - DMSO	100	100	100	100	100	> 40 hari
2 + 2	amp. + DMSO	100	27	26	42	81	> 40 hari
	amp. - DMSO	100	36	33	39	54	> 40 hari
4 + 4	amp. + DMSO	100	6	9	19	61	24(10-40)
	amp. - DMSO	100	7	23	14	47	23(10-40)
6 + 6	amp. + DMSO	100	5	33	66	49	13(7-22)
	amp. - DMSO	100	7	33	69*	++	11(7-19)

Keterangan : \* = hanya 1 (satu) tikus yang masih hidup dari 3 tikus.

++ = tikus telah mati pada hari tersebut

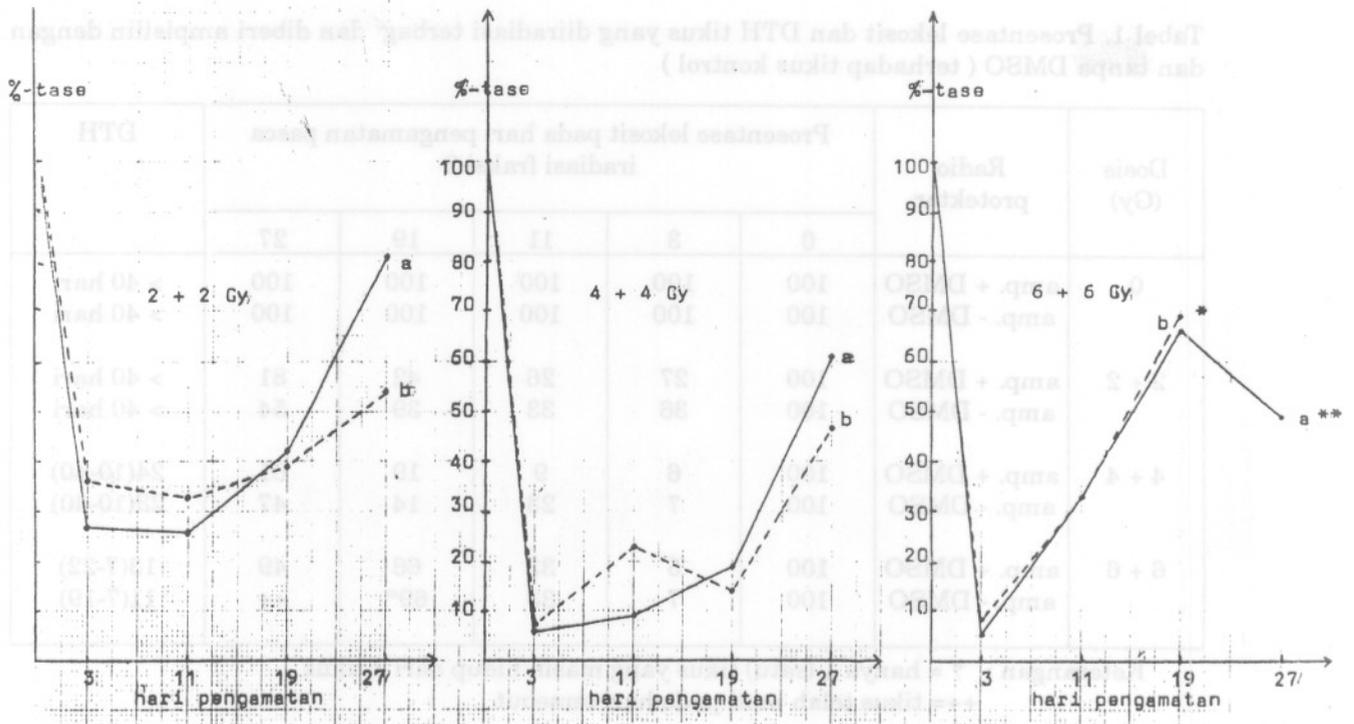
sensitifitas sel lekosit dan menurut Syndermann (7) bahwa antibiotika dapat mengurangi khemotaksis lekosit melalui 2 cara yaitu dengan membunuh langsung bakteri atau secara langsung mengurangi khemotaksis lekosit itu sendiri. Agaknya pemberian antibiotika memang tidak banyak berpengaruh langsung pada jumlah sel darah perifer melainkan berpengaruh pada daya tahan terhadap infeksi.

Pada tikus yang tidak diiradiasi tanpa atau diberi DMSO dari hari pertama sampai hari ke 27, mempunyai jumlah lekosit yang relatif tetap. Sebaliknya pada tikus yang diberi DMSO + ampisilin jumlah lekositnya lebih sedikit dan bervariasi. Hal ini terjadi pula pada tikus yang diiradiasi.

Dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai radioprotektor dapat bereaksi dengan hidrogen peroksida serta menangkap radikal-radikal bebas hasil radiolisis air, sehingga diharapkan radikal bebas dalam tubuh ternetralkan. Dengan berkurangnya reaksi radikal bebas dengan jaringan tubuh maka kerusakan akibat radiasi akan berkurang dan kemampuan untuk regenerasi menjadi besar. Proses penyembuhan yang ditandai dengan naiknya jumlah sel disebabkan oleh adanya proses perbaikan oleh sejumlah kecil sel induk yang tidak rusak. Sel-sel ini berusaha memproduksi sel-sel untuk repopulasi dan sel-sel matang untuk dilepaskan ke dalam sirkulasi darah (9).

Dilihat dari DTH-nya, ternyata pemberian ampisilin 6 mg/ekor yang diberikan sesaat setelah iradiasi fraksi pertama dan dilanjutkan setiap 3 hari sampai minggu ke 3 pasca iradiasi, dapat memperbesar DTH dibanding pemberian ampisilin yang hanya sekali Abdul Wiaid (9). Pada penelitian ini tikus yang diiradiasi terbagi dosis 12 Gy dan diberi DMSO + ampisilin mampu bertahan hidup sampai hari ke 27 pasca iradiasi, sedang pada tikus yang hanya diberi ampisilin pada dosis ini dapat bertahan hidup sampai 19 hari. Hal ini berarti bahwa DMSO mampu memperbesar DTH dan terbukti sebagai radioprotektor yang baik serta kombinasinya dengan ampisilin bersifat saling melengkapi/sinergik.

Jika pada penelitian terdahulu (9) bahwa tikus yang diberi sekali ampisilin 4 mgr/ekor + DMSO 0,2 ml/ekor dan diiradiasi terbagi mempunyai DTH lebih kecil daripada tikus yang hanya mendapat ampisilin tanpa DMSO, maka pada penelitian ini justru terjadi bahwa tikus yang diberi DMSO 0,4 ml/ekor + beberapa kali ampisilin 6 mg/ekor/ pemberian, mempunyai DTH lebih besar daripada tikus yang hanya mendapatkan ampisilin. Hal ini disebabkan karena ada pengaruh dari waktu pemberian ampisilin yaitu bahwa pada penelitian terdahulu ampisilin diberikan sekali dan sesaat setelah radiasi fraksi kedua, sedang pada penelitian ini ampisilin diberikan sesaat setelah radiasi fraksi



Gambar 1. Prosentase jumlah lekosit tikus yang diiradiasi terbagi dan diberi ampisilin dengan dan tanpa DMSO.

Keterangan : a = diberi ampisilin + DMSO

b = hanya diberi ampisilin

\* = terjadi kematian

\*\* = sampai hari ke 27 masih ada tikus yang hidup.

pertama dilanjutkan se- tiap tiga hari sampai minggu ke 3. Di samping itu juga bahwa kadarnya berbeda, pemberian dengan kadar yang lebih besar mempunyai daya protektif yang lebih besar. Penelitian ini sekaligus menjawab dan membuktikan pernyataan penelitian terdahulu (8) yaitu bahwa pemberian ampisilin sesaat setelah iradiasi akan memberi efek yang lebih baik. Hal ini karena ampisilin yang bersifat bakterisidal (efektif terhadap bakteri) mampu mencegah dan menyembuhkan infeksi dan lebih efektif jika diberikan berulang-ulang.

Dari hasil pengujian statistik dengan model anava (analisis variansi) faktorial (Tabel 2) antar dosis radiasi maupun antar DMSO (+) dan (-) terdapat perbedaan yang bermakna. Di sini pemberian dosis fraksinasi yang berbeda-beda, baik pada tikus yang diberi ampisilin + DMSO maupun ampisilin saja, berbeda sangat nyata satu dengan yang lainnya. Jadi pemberian dosis radasi akan sangat berpengaruh pada jumlah lekosit. Demikian juga pada uji beda nyata antara DMSO (=) dan (-) pada tikus yang tidak diiradiasi, yang berarti bahwa pemberian DMSO

pengaruhnya besar terhadap jumlah lekosit, sementara pada tikus yang diiradiasi perbedaannya nyata.

Data hasil pemeriksaan darah yang ditanam pada media NA (nutrien agar) menunjukkan bahwa sampai dengan dosis 8 Gy tidak didapatkan gejala bakteremia baik tikus tersebut diberi ampisilin + DMSO atau hanya diberi ampisilin saja. Dalam Tabel 3 juga dapat dilihat bahwa pengamatan bakteriologis pada dosis 12 Gy (6+6 Gy) hari ke 3 pasca iradiasi belum terjadi bakteremia, akan tetapi pada hari ke 11 sudah terjadi bakteremia dan pada hari ke 19 pasca iradiasi tikus telah mati.

Kemungkinan besar kematian ini selain karena terjadinya kerusakan sistem hemopoetik yang berat juga kemungkinan pada radiasi 12 Gy tikus mengalami kerusakan sistem pencernaan (gastrointestinal) yang sangat berat, sehingga meskipun infeksi bakteri dapat dicegah tapi keadaan dinding ususnya telah mengalami perubahan histologis yang berat, bukan hanya penurunan proses mitosis sel kripti di dalam mukosa, tetapi juga pemendekan villi, megalositosis sel mukosa dan infiltrasi sel plas-

Tabel 2. Uji beda nyata lekosit tikus yang diiradisi dosis terbagi dan diberi ampisilin dengan dan tanpa DMSO. P (0,05 dan 0,01).

Dosis (Gy)	radio protektor	rata-rata	Uji beda nyata antar perlakuan		
			antar dosis radiasi		antar DMSO (+) dan (-) dosis sama
			a	b	
0	a	24,78 ± 0,015	xx	xx	xx
	b	25,68 ± 0,019			
2 + 2	a	22,50 ± 0,020	xx	xx	x
	b	23,24 ± 0,013			
4 + 4	a	20,70 ± 0,013	xx	xx	x
	b	21,58 ± 0,023			

Keterangan : x = beda nyata (p 0,05)  
 xx = beda sangat nyata (p 0,01)  
 a = ampisilin + DMSO  
 b = ampisilin - DMSO

ma ke lamina propia, sehingga terjadi pengosongan epitel usus. Dengan terjadinya kerusakan epitel usus maka fungsi absorpsi lemak dan absorpsi asam empedu terganggu, akibatnya terjadi diare [10]. Kematian karena kerusakan sistem syaraf pusat memerlukan dosis

yang lebih besar dari sistem hemopoetik maupun gasro intestinal karena sistem syaraf termasuk tahan terhadap radiasi. Kematian akibat kerusakan sistem ini akan terjadi pada dosis puluhan Sievert [4].

Tabel 3. Data hasil pengamatan bakteri pada tikus yang diiradisi terbagi dan diberi ampisilin dengan dan tanpa DMSO

Dosis (Gy)	radio protektor	hari pengamatan pasca iradisi f2				
		0	3	11	19	27
0	DMSO+amp. ampisilin	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-
2+2	DMSO+amp. ampisilin	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-
4+4	DMSO+amp. ampisilin	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-
6+6	DMSO+amp. ampisilin	-	-	+	***	-
		-	-	+	***	-

Keterangan : - = tidak terjadi bakterimia  
 + = terjadi bakterimia  
 \*\*\* = hewan sudah mati pada hari tersebut

### KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sampai dengan dosis terbagi 4+4 Gy, tikus yang diberi 0,4 ml DMSO/ekor + ampisilin 6 mg/ekor sesaat setelah iradisi dan dilanjutkan setiap 3 hari sampai minggu ke tiga mempunyai daya tahan hidup yang lebih tinggi dibanding tikus yang hanya diberi ampisilin tanpa DMSO. Tetapi sampai hari ke 11 tikus yang mendapat ampisilin dan DMSO mengalami leukopenia yang lebih berat. Baik tikus diberi ampisilin dan DMSO maupun ampisilin saja, tidak mengalami bakteremia sampai dosis terbagi 4+4 Gy.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih sebesar-besarnya disampaikan kepada saudari Masnelly Lubis, saudara Thalib dan Tur Rahardjo atas kerjasamanya sehingga tulisan ini dapat diselesaikan.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. UNSCEAR, 1987, Early effects in man of high doses of radiation , Vienna Austria (1987) 132 + 28ap.
2. MURSITO, S., Lekopenia dan penanganannya, Medika, th VI.12 (1980) 713-718.
3. WALDY, Bahaya Radiasi Bagi Manusia: Diktat Proteksi Radiasi untuk Teknisi, PUSDIKLAT BATAN, JAKARTA 5-8.
4. PRASAD, K.N. "Acute radiation syndromes", Radiation biology, CRC Press Inc., Boca Raton Florida (1982) 218-220.
5. NURHAYATI, S. and WA'ID, A., Pengaruh pemberian ampisilin terhadap kerusakan duodenum dan bakteremia akibat radiasi gamma C0-60, Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir, Yogyakarta, (21-22 Maret 1990) 269-274.
6. ROSSOFT, C.B., The role of intestinal bacteria in the recovery from whole body radiation, J. Exp. Med. 118 (1962) 935-943.
7. JOHNS, T.D., Haematology syndrome in man modeled from mammalian lethality, Health Physics vol 41 (1981) 83.
8. BOND, V.P. "Radiobiological bases for the understanding of the haematological consequences of radiation exposure", Manual on radiation haematology, IAEA, Vienna Austria (1971) 75
9. WA'ID, A. dan NURHAJATI, S., Pengaruh DMSO dan ampisilin pada daya tahan hidup tikus putih yang diiradiasi sinar gamma seluruh tubuh, Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Kedokteran dan Biologi Nuklir, Yogyakarta (1989).
10. BERK, R.N and SEAY, D.G. "Chalereic euteropathy as a cause of diarrhea and death in radiation enteritis and its prevention with cholestyramine", Radiobiology (1972) 153-156.

KESIMPULAN  
 Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa...  
 wa sampai dengan dosis terdosi 4+4 Gx tikus...  
 yang diberi 0,4 ml DMSO/or + ampisilin 8...  
 mg/or sesuai standar radiasi dan diinjeksi...  
 setiap 8 hari sampai minggu ke tiga mempunyai...  
 daya tahan hidup yang lebih tinggi dibanding...  
 tikus yang hanya diberi ampisilin tanpa DMSO...  
 Tetapi sampai hari ke II tikus yang mendapat...  
 ampisilin dan DMSO mengalami leukopenia...  
 yang lebih berat. Baik tikus diberi ampisilin dan...  
 DMSO maupun ampisilin saja, tidak manga-...  
 jani bakteremia sampai dosis terdosi 4+4 Gx.

UCAPAN TERIMA KASIH  
 Ucapan terimakasih kepada...  
 disampingkan kepada saudara Manully Lubis...  
 saudara Thelip dan Tur Rhaberto atas kerja...  
 samanya sehingga tulisan ini dapat diselesa-...  
 kan.

Tabel 3. Data hasil pengamatan bakteri pada...  
 tikus yang diiradiasi terdosi dan diberi ampi-...  
 llin dengan dan tanpa DMSO

Dosis (Gy)	radio protektor	hari pengamatan pasca iradiasi (G)				
		0	3	11	19	27
0	DMSO+amp	-	-	-	-	-
	ampisilin	-	-	-	-	-
3+2	DMSO+amp	-	-	-	-	-
	ampisilin	-	-	-	-	-
4+4	DMSO+amp	-	-	-	-	-
	ampisilin	-	-	-	-	-
6+6	DMSO+amp	-	-	+	***	-
	ampisilin	-	-	+	***	-

Keterangan : - = tidak terjadi bakteremia  
 + = terjadi bakteremia  
 \*\*\* = hewan sudah mati pada hari tersebut