

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/277599102>

BIODOSIMETRI PAPARAN RADIASI DOSIS TINGGI DENGAN TEKNIK PREMATURE CHROMOSOME CONDENSATION

Conference Paper · July 2012

CITATIONS

0

READS

247

3 authors, including:



Dwi Ramadhani

Badan Tenaga Nuklir Nasional

26 PUBLICATIONS 7 CITATIONS

SEE PROFILE



Sofiati Purnami

Badan Tenaga Nuklir Nasional

15 PUBLICATIONS 11 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Telomere Length in Mamuju, A High Background Radiation Area in Indonesia [View project](#)



Cytogenetic and molecular study in lymphocyte blood of community living in high natural radiation area in Mamuju, West Sulawesi [View project](#)

BIODOSIMETRI PAPARAN RADIASI DOSIS TINGGI DENGAN TEKNIK *PREMATURE CHROMOSOME CONDENSATION*

Dwi Ramadhani, Viria Agesti S, dan Sofiati Purnami

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi - BATAN

E-mail : dhani02@batan.go.id

ABSTRAK

BIODOSIMETRI PAPARAN RADIASI DOSIS TINGGI DENGAN TEKNIK *PREMATURE CHROMOSOME CONDENSATION*. Paparan radiasi pengion pada tubuh dapat menyebabkan perubahan struktur kromosom (aberasi kromosom) pada limfosit darah tepi. Aberasi kromosom yang spesifik akibat paparan radiasi pengion adalah kromosom disentrik. Analisis kromosom disentrik dapat digunakan untuk memprediksi besarnya nilai paparan radiasi pengion yang diterima tubuh. Khusus untuk paparan radiasi pengion dosis tinggi, prediksi nilai dosis menggunakan analisis kromosom disentrik memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, jumlah sel limfosit darah tepi menurun secara drastis sebagai akibat respon fisiologik terhadap radiasi pengion dosis tinggi. Kedua, sel limfosit darah tepi dapat mengalami kematian sel (apoptosis) sehingga menyebabkan pendeteksian kromosom disentrik sulit dilakukan. Untuk mengatasi permasalahan tersebut diperlukan teknik yang mudah dan cepat. Salah satu teknik yang dapat digunakan adalah *Premature Chromosome Condensation* (PCC). Beberapa penelitian membuktikan bahwa teknik PCC dapat digunakan untuk memprediksi tingkat paparan radiasi pengion dosis tinggi, salah satunya adalah prediksi tingkat dosis pada korban kecelakaan radiasi di Tokaimura, Jepang. Dengan demikian prediksi tingkat dosis pada korban kecelakaan akibat paparan radiasi pengion dosis tinggi dapat dilakukan dengan menggunakan teknik PCC karena memberikan hasil yang lebih cepat, sehingga penentuan tindakan medis paling tepat dapat dilakukan untuk menangani korban.

Kata Kunci : Aberasi Kromosom, Biodosimetri, PCC, Prediksi Dosis, Radiasi Pengion

ABSTRACT

BIODOSIMETRY OF HIGH DOSE RADIATION EXPOSURE USING PREMATURE CHROMOSOME CONDENSATION TECHNIQUE. Radiation exposure can cause chromosome aberrations in the human peripheral blood lymphocytes cells. Dicentric is a specific chromosome aberrations that caused by ionizing radiation. Dicentric analysis can be used to predict the radiation doses value. Unfortunately for high dose ionizing radiation exposure, the predicted using dicentric analysis has several limitations. First total numbers of peripheral blood lymphocyte cells are decrease drastically as a result of physiological response to high dose of ionizing radiation. Secondly the peripheral blood lymphocyte cells can undergo to cell death program (apoptosis) that makes the dicentric analysis difficult to do. To overcome these problems another technique that easy to doing and provide a quick results is required. *Premature Chromosome Condensation* (PCC) technique can be used to solve these problems. Several studies have been shown that PCC technique can be used to predict the value of high dose ionizing radiation exposure for example predict the dose of ionizing radiation on the victims of high doses radiation accidents at Tokaimura, Japan. Thus it can be concluded that the prediction of high dose radiation exposure victims should be done using the PCC technique because it gives a faster result, so determining the most appropriate medical treatment can be done to save the victims.

Keywords: Chromosome Aberration, Biodosimetry, PCC, Dose Prediction, Ionizing Radiation

I. PENDAHULUAN

Perubahan struktur kromosom pada sel limfosit darah tepi (aberasi kromosom) dapat digunakan untuk memprediksi besarnya dosis radiasi pengion yang diterima oleh tubuh (dosimeter biologis). Perubahan struktur kromosom akibat paparan radiasi dapat dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu aberasi kromosom stabil dan tidak stabil. Aberasi kromosom stabil dalam sel tidak akan hilang setelah proses pembelahan mitosis berikutnya, contohnya adalah translokasi (terjadi perpindahan fragmen antar satu atau lebih kromosom). Sedangkan aberasi kromosom tidak stabil akan hilang setelah proses pembelahan mitosis berikutnya, contohnya adalah kromosom disentrik (kromosom dengan dua sentromer), fragmen asentrik (fragmen kromosom yang tidak mengandung sentromer) dan kromosom cincin. Perubahan struktur kromosom yang spesifik akibat paparan radiasi pada tubuh ialah kromosom disentrik [1,2].

Analisis aberasi kromosom tak stabil, khususnya disentrik dalam sel limfosit darah tepi telah digunakan sebagai dosimeter biologis pada kasus kecelakaan radiasi selama lebih dari tiga dekade [1]. Dalam banyak kasus kecelakaan radiasi seringkali pekerja radiasi tidak menggunakan dosimeter fisik sehingga pengukuran dosis radiasi yang di terima oleh pekerja tidak dapat dilakukan. Pada kondisi tersebut maka teknik yang dapat diandalkan untuk mengukur dosis serap pada individu yang dicurigai terkena paparan

radiasi berlebih adalah analisis aberasi kromosom disentrik sebagai biodosimetri. Teknik biodosimetri berdasarkan analisis aberasi kromosom telah berhasil digunakan untuk penilaian dosis serap pada korban kecelakaan radiasi di Chernobyl, Goiania dan Tokaimura yang paparan dosisnya cukup tinggi [1,2].

Prediksi dosis serap pada korban kecelakaan radiasi harus dilakukan sesegera mungkin. Prediksi dosis hingga 5 Gy dapat dilakukan dengan analisis aberasi kromosom tak stabil. Pada paparan radiasi dosis tinggi (6 hingga 40 Gy) terdapat tiga permasalahan utama yang muncul. Pertama jumlah sel limfosit secara drastis akan menurun dalam darah sebagai akibat respon fisiologik terhadap radiasi dosis tinggi. Kedua terjadi keterlambatan dalam menstimulasi sel limfosit untuk membelah dikarenakan keterlambatan pengiriman sampel darah korban kecelakaan radiasi menuju laboratorium rujukan untuk dilakukan analisis aberasi kromosom [3].

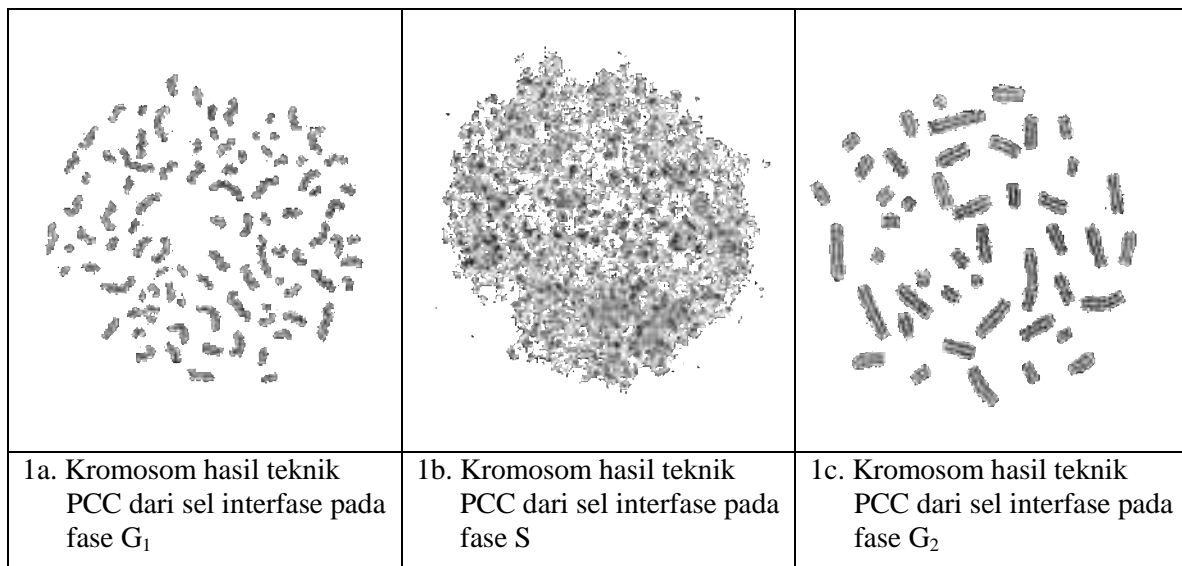
Masalah terakhir dan yang terpenting adalah sel limfosit pada darah tepi korban selain tertahan (*arrest*) pada fase G₂ atau G₁ dan dapat mengalami kematian sel (apoptosis). Ketiga permasalahan tersebut dapat membatasi penggunaan teknik analisis aberasi kromosom tak stabil untuk memprediksi dosis serap korban yang terpapar radiasi dosis tinggi [3-5]. Untuk mengatasi keterbatasan teknik analisis aberasi kromosom tak stabil sebagai biodosimetri

dosis tinggi diperlukan teknik yang mudah, cepat dan dapat diandalkan. Makalah ini membahas mengenai teknik *Premature Chromosome Condensation* (PCC) sebagai biosimetri radiasi dosis tinggi dan aplikasinya untuk mengetahui kerusakan sitogenetik akibat mutagen kimiawi.

II. TEKNIK *PREMATURE CHROMOSOME CONDENSATION* (PCC)

Teknik PCC pertama kali diperkenalkan oleh Johnson dan Rao pada tahun 1970 [6]. Johnson dan Rao melakukan percobaan dengan menggabungkan sel pada tahap interfase dengan sel pada tahap mitosis menggunakan virus Sendai. Hasil percobaan

Johnson dan Rao menunjukkan bahwa bentuk struktur kromatin yang terkondensasi pada sel interfase saat dilakukan penggabungan berbeda-beda tergantung pada fase dari sel interfase tersebut berada. Sel interfase pada fase G_1 saat penggabungan akan menghasilkan kromosom yang terdiri dari satu kromatid tunggal (*univalent*), sedangkan sel interfase pada fase G_2 akan menghasilkan kromosom yang terdiri dari dua kromatid (*bivalent*) dan mirip dengan bentuk kromosom saat berada pada tahap mitosis. Terakhir yaitu sel interfase pada fase S akan menghasilkan bentuk kromosom yang tampak hancur seperti serpihan (*pulverized*) (Gambar 1) [6,7].



Gambar 1. Bentuk kromosom sebagai hasil penggabungan pada teknik PCC dari tiga fase yang berbeda (G_1, S, S_2) [6,7].

Teknik PCC secara konvensional dilakukan dengan menggabungkan antara sel darah tepi pada tahap interfase dengan sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) yang berada pada tahap mitosis dengan bantuan polietilen-glikol (PEG) atau virus Sendai sehingga menyebabkan terjadinya percepatan (*premature*) kondensasi kromosom pada sel interfase [2,5,7]. PEG atau virus yang berfungsi untuk merubah permeabilitas membran sehingga memudahkan terjadinya penggabungan memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, keberhasilan penggabungan sangat bergantung pada strain virus dan aktivitas viral dari virus tersebut. Kedua, penggunaan virus dan manipulasi virus untuk proses penggabungan hanya bisa dilakukan oleh laboratorium tertentu yang memiliki fasilitas lengkap untuk penanganan virus. Terakhir, khusus untuk PEG, persentase keberhasilan penggabungan umumnya lebih rendah dibandingkan menggunakan virus [7].

Beberapa percobaan kemudian dilakukan untuk menemukan senyawa kimia lain yang lebih mudah diperoleh serta menghasilkan persentase penggabungan sel yang cukup tinggi. Percobaan pertama yang berhasil adalah menggunakan kafein dan asam okadaik, akan tetapi sel harus terlebih dahulu disinkronisasi pada fase S dengan menggunakan inhibitor sintesis DNA seperti hidroksiurea atau timidin. Konsekuensinya adalah bentuk kromosom yang terlihat pada sel interfase setelah dilakukan penggabungan

terlihat hancur seperti serpihan (*pulverized*) [7].

Percobaan pertama yang berhasil melakukan penggabungan dengan menggunakan sel interfase sel somatik yang berada fase apapun tanpa terlebih dahulu menghentikan sel interfase pada fase S adalah percobaan yang dilakukan Gotoh *dkk* yang menggunakan *calyculin A* atau asam okadaik [8]. *Calyculin A* atau asam okadaik adalah inhibitor spesifik protein fosfatase tipe 1 dan 2A. *Calyculin A* dapat menyebabkan terjadinya percepatan kondensasi kromosom pada berbagai macam tipe sel baik ditambahkan secara langsung maupun dalam bentuk suspensi. Penggunaan *calyculin A* untuk menginduksi terjadinya percepatan kondensasi kromosom juga dianggap lebih mudah bila dibandingkan dengan menggunakan virus karena cukup menggantikan penggunaan *colcemid* atau *colchisin* dengan *calyculin A* pada proses kultur limfosit untuk analisis kromosom [7,8].

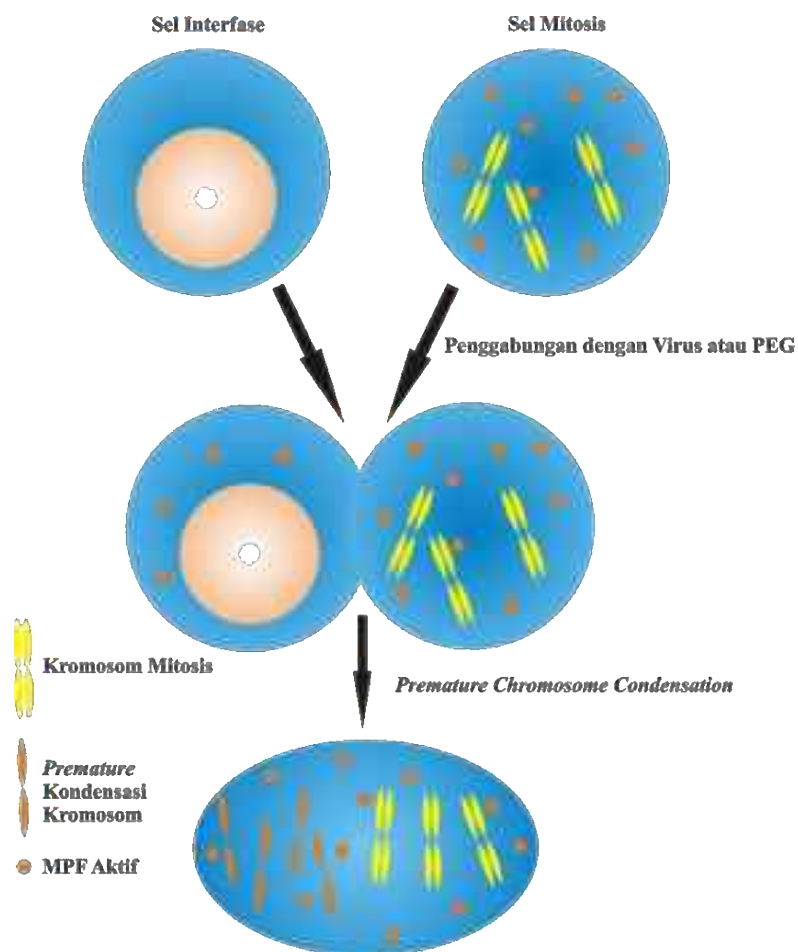
III. MEKANISME MOLEKULAR PCC

Mekanisme secara detail proses kondensasi kromosom pada proses pembelahan sel hingga saat ini masih belum jelas. Pemahaman terhadap proses percepatan kondensasi kromosom pada teknik PCC diharapkan dapat memberikan gambaran lebih mendalam mengenai proses kondensasi kromosom pada pembelahan sel secara mitosis. *Incunabula* adalah molekul yang pertama kali di duga dapat menyebabkan

terjadinya bentuk kromosom *pulverization* (tampak hancur seperti serpihan) dan disebabkan oleh virus pada saat penggabungan sel menggunakan virus pada teknik PCC [9].

Pemahaman tersebut kemudian berubah dengan penelitian yang dilakukan oleh Johnson dan Rao pada tahun 1970 [6]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan disimpulkan beberapa hal. Pertama adalah terdapat molekul tertentu yang dapat menyebabkan terjadinya percepatan

kondensasi kromosom dan terakumulasi di dalam nukleus sel pada tahap metafase. Kedua, molekul tersebut menginduksi nukleus pada sel yang berada pada tahap interfase setelah terjadi proses penggabungan antara sel interfase dengan sel metafase. Terakhir, molekul tersebut bermigrasi dari sel metafase ke sel interfase untuk kemudian menyebabkan terjadinya percepatan proses kondensasi kromosom. Proses percepatan kondensasi kromosom membutuhkan waktu kurang lebih selama 1 jam (Gambar 2) [6].



Gambar 2. Proses penggabungan antara sel tahap interfase dengan sel metafase pada teknik PCC [6]

Germinal Vesicle Breakdown (GVBD) merupakan fenomena yang serupa, karena terjadi percepatan kondensasi kromosom sel telur (oosit) pada tahap metafase saat terjadi proses pembelahan meiosis sel telur. *Maturation Promoting Factor* (MPF) merupakan molekul yang menginduksi terjadinya GVBD. Beberapa penelitian kemudian menunjukkan bahwa MPF tidak hanya meregulasikan terjadinya percepatan kondensasi kromosom pada pembelahan meiosis, namun juga pada pembelahan mitosis sel sehingga kepanjangan MPF kemudian dirubah menjadi *Maturation/Mitosis promoting Factor* [6].

Penelitian Sunkara *dkk* [10] memperlihatkan bahwa aktivitas MPF di dalam ekstrak sitoplasma sel HeLa mammalia dapat menginduksi terjadinya proses GVBD dan menyebabkan proses percepatan kondensasi kromosom pada oosit amfibi. Hal tersebut menunjukkan bahwa perbedaan spesies tidak menjadi hambatan untuk MPF dapat menginduksi terjadinya percepatan kondensasi kromosom. MPF tersusun dari protein yang jumlahnya tidak tetap dan cenderung konstan selama siklus sel. Protein yang jumlahnya tidak tetap di sebut *cyclin* sedangkan yang jumlahnya cenderung tetap adalah enzim Cdc2p. Enzim Cdc2p di kontrol oleh gen *cdc2* (*cdc* merupakan singkatan dari *cell division cycle*). Cdc2p adalah tirosin kinase yaitu suatu enzim yang dapat mentransfer gugus fosfat dari ATP (adenosin

trifosfat) ke asam amino suatu protein [11]. Kompleks Cdc2p serta *cyclinB* dan memegang peranan penting dalam regulasi pembelahan sel dan pertumbuhan sel [6,12].

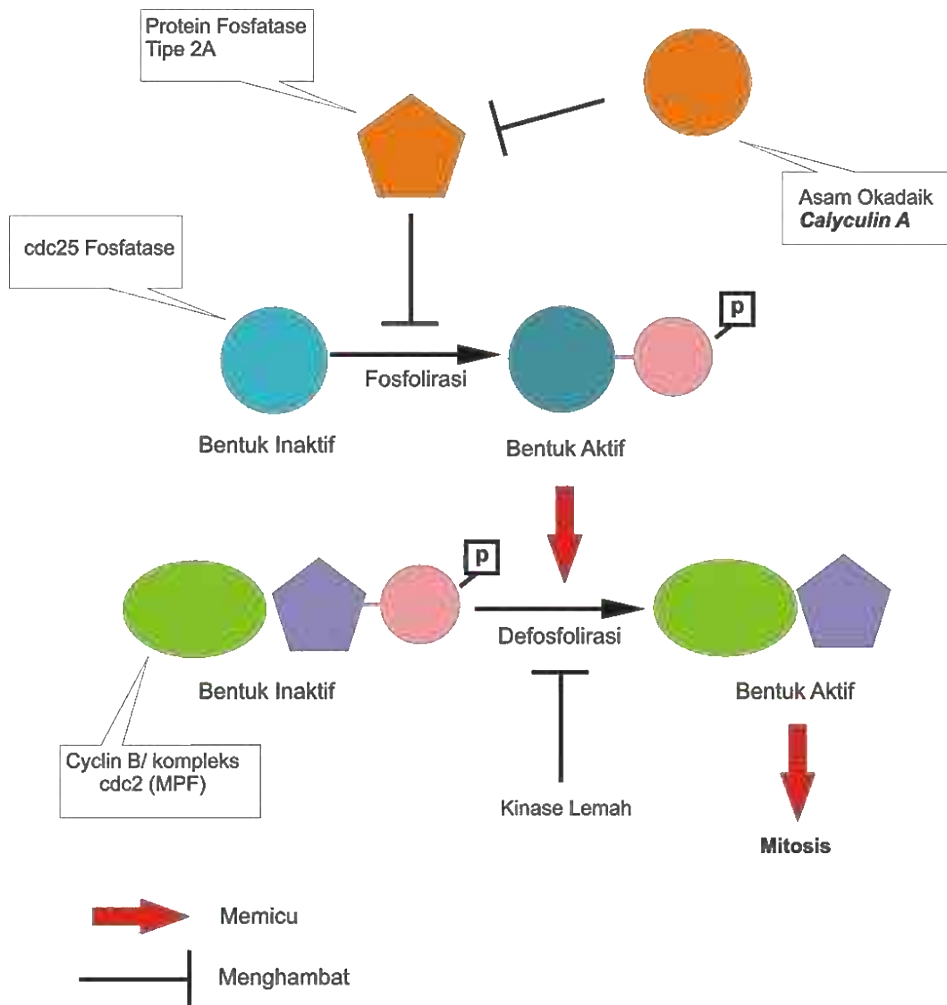
Proses defosfolirasi (pengurangan gugus fosfat) pada kompleks Cdc2p serta *cyclinB* (MPF aktif) akan menginduksi terjadinya proses percepatan kondensasi kromosom. Oleh karena itu ketika terjadi penggabungan sel baik melalui virus maupun PEG, nukleus pada sel yang berada dalam tahap interfase terpapar MPF aktif yang terdapat pada nukleus pada sel dalam tahap fase mitosis sehingga menyebabkan percepatan kondensasi kromosom dalam nukleus sel interfase [6,12].

Aktivitas kompleks Cdc2p dan *cyclinB* dipengaruhi oleh Cdc25 yang merupakan tirosin fosfatase yang mengaktifkan kompleks Cdc2p/*cyclinB* dengan defosfolirasi. Aktivitas Cdc25 juga dilakukan dengan fosfolirasi maupun defosfolirasi dan sensitif terhadap protein fosfatase tipe 1 dan 2A (PP1 dan PP2A). *Calyculin A* merupakan molekul yang dapat menghambat aktivitas PP1 dan PP2A sehingga memengaruhi aktivitas Cdc25 dan kompleks Cdc2p/*cyclinB* sehingga pada akhirnya akan memicu percepatan kondensasi kromosom pada sel dalam tahap interfase (Gambar 3). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa *Calyculin A* tidak secara langsung dapat menyebabkan terjadinya peristiwa kondensasi kromosom. *Calyculin A* terlebih dahulu menghambat aktivitas PP1

dan PP2A sehingga menyebabkan terjadinya percepatan kondensasi kromosom. Percepatan kondensasi kromosom hanya dapat terjadi bila terdapat protein MPF di dalam sel dan aktivitas MPF bergantung pada konsentrasi *cyclinB* [6].

Konsentrasi *cyclinB* berubah-ubah dalam tiap tahapan pada siklus sel. Konsentrasi *cyclinB* paling rendah terdapat saat fase G₁, kemudian meningkat secara bertahap pada fase S dan mencapai puncaknya pada fase G₂. Berdasarkan hal

tersebut maka dapat disimpulkan bahwa *calyculin A* akan paling banyak menyebabkan terjadinya percepatan kondensasi kromosom pada sel interfase yang berada di fase G₂ diikuti dengan sel pada fase G₁ dan sedikit pada sel G₁. Proses percepatan kondensasi kromosom pada sel interfase yang berada di fase G₂ oleh *calyculin A* hanya membutuhkan waktu kurang lebih selama lima menit, serta lebih cepat dibandingkan bila menggunakan penggabungan sel (20 menit) [6].



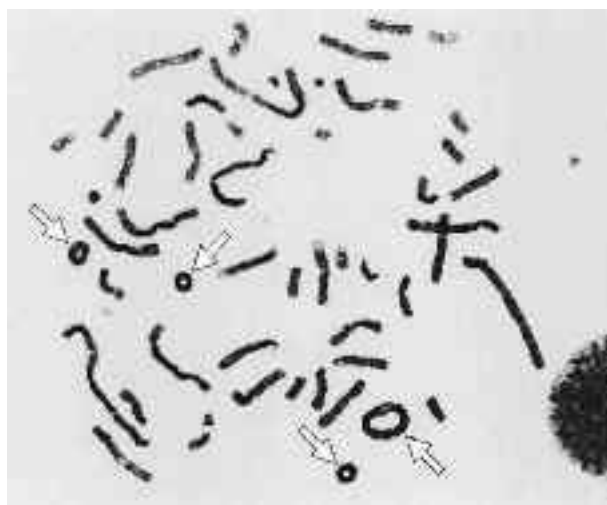
Gambar 3. Skema terjadinya percepatan kondensasi kromosom pada teknik PCC [6].

IV. APLIKASI TEKNIK PCC SEBAGAI BIODOSIMETRI DOSIS TINGGI

Penerapan teknik PCC sebagai biodosimetri dosis tinggi berhasil dilakukan pada tiga korban kecelakaan radiasi di Tokaimura Jepang pada tanggal 30 September 1999 [13]. Hayata *dkk* menggunakan teknik PCC berdasarkan menurunnya jumlah sel limfosit secara drastis yang mengindikasikan bahwa paparan radiasi seluruh tubuh pada korban kecelakaan tersebut cukup tinggi. Analisis menggunakan teknik PCC memberikan hasil yang tidak terlalu akurat bila dibandingkan dengan teknik konvensional berdasarkan jumlah disentrik dan kromosom cincin, namun teknik PCC memberikan hasil yang lebih cepat karena tidak memerlukan keahlian dalam menganalisis hasil teknik PCC.

Hayata *dkk* menggunakan dua metode analisis kromosom untuk memprediksi besarnya dosis yang memapar ketiga korban

kecelakaan radiasi tersebut. Pertama berdasarkan jumlah terbentuknya kromosom bentuk cincin (*ring*) pada teknik PCC. Hal tersebut berdasarkan penelitian Kanda *dkk* yang menyatakan bahwa kromosom cincin yang terbentuk akibat paparan radiasi pada teknik PCC (Gambar 4) berbanding lurus dengan dosis radiasi hingga 20 Gy [14]. Kedua berdasarkan menggunakan metode konvensional yang berdasarkan jumlah kromosom disentrik dengan pewarnaan giemsa. Penelitian Hayata *dkk* memperlihatkan bahwa prediksi dosis terhadap ketiga korban kecelakaan radiasi tersebut menggunakan jumlah kromosom cincin yang terbentuk pada teknik PCC dapat dilakukan setelah 53,5 jam sesudah pengambilan sampel darah tepi pertama terhadap ketiga korban tersebut. Pengambilan sampel darah tepi pertama dilakukan 9 jam setibanya ketiga korban kecelakaan tersebut sampai pada laboratorium [13].



Gambar 4. Kromosom cincin yang terbentuk akibat paparan radiasi pada teknik PCC [13].

Gotoh *dkk* pada tahun 2005a mengajukan metode berdasarkan rasio panjang kromosom antara kromosom terpanjang dan kromosom terpendek pada hasil teknik PCC. Gotoh *dkk* menyatakan bahwa rasio panjang kromosom antara kromosom terpanjang dan kromosom terpendek akan meningkat seiring meningkatnya dosis paparan radiasi. Gotoh *dkk* melakukan penelitian dengan mengiradiasi sel limfosit darah tepi menggunakan sinar gamma pada dosis 0, 2, 5, 10, 20, 30 dan 40 Gy. Pada setiap dosis diamati sebanyak 50 sel interfase pada fase G₂ yang telah mengalami percepatan kondensasi kromosom (G₂-PCC) dan dilakukan pengambilan citra digital dari seluruh sel, kemudian panjang kromosom terpanjang dan terpendek diukur menggunakan perangkat lunak pengolahan citra Image J versi 1.30 (Gambar 5).

Hasil penelitian Gotoh *dkk* memperlihatkan bahwa pada kelompok kontrol nilai rasio panjang kromosom antara kromosom terpanjang dan terpendek cenderung konstan pada nilai 5 karena panjang kromosom terpanjang (kromosom nomor 1) dan panjang kromosom terpendek (kromosom nomor 22) pada kelompok kontrol cenderung tetap antara individu [3]. Berbeda dengan kelompok kontrol pada darah yang diiradiasi dengan dosis yang semakin tinggi terlihat bahwa panjang kromosom terpanjang semakin meningkat, sementara panjang kromosom terpendek akan

semakin menurun dan sebagai konsekuensi nilai rasio panjang kromosom antara kromosom terpanjang dan terpendek akan semakin meningkat (Gambar 5 dan 6). Gotoh *dkk* membuat persamaan matematis yang menggambarkan hubungan antara nilai dosis radiasi dan nilai rasio panjang kromosom antara kromosom terpanjang dan terpendek sebagai berikut.

$$LR = 4.90 \times D^{0.5} + 2.14 \quad [3]$$

Keterangan :

LR : *Length Ratio* (Nilai Rasio)

D : Dosis (Gy)

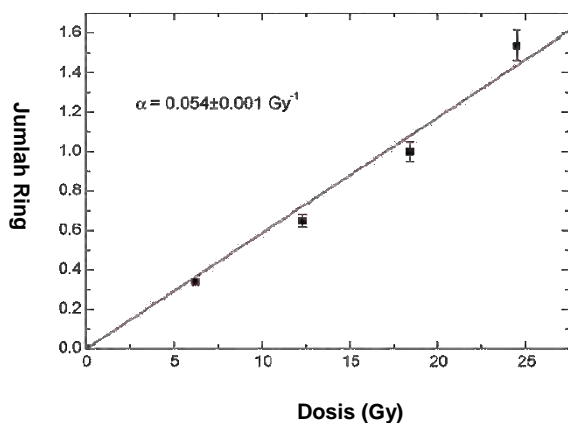


Gambar 5. Kromosom terpanjang dan terpendek pada kelompok kontrol (0 Gy) [3].



Gambar 6. Kromosom terpanjang dan terpendek pada kelompok perlakuan dengan radiasi sebesar (40 Gy) [3].

Penelitian Balakrishnan *dkk* berhasil menggunakan teknik PCC untuk biodosimetri dosis tinggi secara *in vitro*. Balakrishnan *dkk* melakukan penelitian dengan mengiradiasi sel limfosit darah tepi menggunakan sinar gamma pada dosis 0; 6,2; 12,5; 18,4; 24,5 Gy. Pada setiap dosis dilakukan pengamatan terhadap 100 PCC *ring* menggunakan mikroskop cahaya. Penelitian Balakrishnan *dkk* memperlihatkan bahwa peningkatan frekuensi PCC *ring* meningkat secara linier seiring dengan peningkatan dosis dan nilai kemiringan (*slope*) kurva linier yang menggambarkan hubungan antara frekuensi PCC *ring* persel dengan besarnya nilai dosis adalah $0,054 \pm 0,001 \text{ Gy}^{-1}$ (Gambar 7) [1].



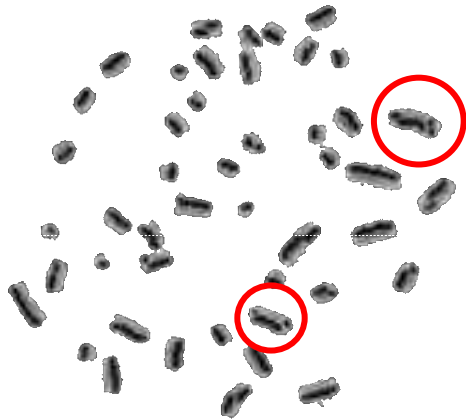
Gambar 7. Kurva linier yang menggambarkan hubungan antara frekuensi PCC *ring* dengan dosis radiasi [1].

Selain digunakan sebagai biodosimetri dosis tinggi, teknik PCC dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh faktor lingkungan terhadap materi genetik manusia pada sel interfase. Terzoudi *dkk* [15] melakukan penelitian dengan

menggabungkan teknik *Sister Chromatid Exchange* (SCE) dengan teknik PCC untuk mengetahui pengaruh empat jenis mutagen kimia terhadap sel limfosit darah tepi. Analisis SCE pada umumnya digunakan untuk memantau kerusakan sitogenetik yang diinduksi oleh mutagen kimia [16]. Teknik SCE secara konvensional memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, frekuensi SCE setelah terjadi paparan senyawa kimia yang bersifat genotoksik (dapat mengakibatkan perubahan materi genetik pada sel) diperoleh dengan menganalisis sel dalam tahap metafase setelah kultur limfosit untuk analisis kromosom. Hal tersebut berarti sel yang rusak akibat mutagen kimia dan tertahan pada fase G₂ tidak dapat dianalisis, sehingga hasil analisis SCE secara konvensional lebih rendah (*underestimate*) dari nilai sebenarnya [15]. Pada proses siklus sel terdapat mekanisme *checkpoint* yang berfungsi untuk mendeteksi kerusakan DNA di dalam inti sel. Apabila terdapat kerusakan DNA, mekanisme *checkpoint* akan memacu penghentian siklus sel sementara waktu (*cell cycle arrest*) untuk perbaikan DNA. *Checkpoint* pada G₂ mencegah inisiasi mitosis sebelum replikasi DNA selesai dilakukan [11].

Metode yang digunakan oleh Terzoudi *dkk* [15] adalah melakukan teknik PCC terlebih dahulu dengan menambahkan *calyculin A* pada tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 10, 50 dan 100 nM pada tiga waktu yang berbeda yaitu (0,5), 1 dan 3 jam sebelum kultur limfosit darah tepi selama 72

jam selesai dilakukan. Setelah proses kultur selesai dilakukan, preparat yang telah di buat diwarnai dengan metode *Fluorescence Plus Giemsa* (FPG) untuk mengetahui ada atau tidaknya SCE (Gambar 8).



Gambar 8. Contoh SCE (dalam lingkaran merah) yang tervisualisasikan pada G₂ PCC pada sel limfosit tepi yang terpapar mutagen kimiawi [15].

Berbeda dengan Terzoudi *dkk* yang menggabungkan teknik PCC dengan SCE, Kowalska *dkk* [17] mencoba menggabungkan teknik PCC dengan teknik *banding* pada kromosom. Teknik *banding* adalah teknik pembentukan pita-pita (*bands*) melintang pada kromosom. Beberapa daerah di kromosom akan memiliki pita terang sedangkan yang lainnya tampak gelap. Pita terang dan gelap akan berselang-seling pada kromosom. Masing-masing kromosom memiliki distribusi pita terang dan gelap yang berbeda-beda, sehingga memudahkan pengklasifikasian kromosom dan mendeteksi terjadinya kerusakan pada kromosom [18]. Penelitian Kowalska *dkk* [17] bertujuan untuk

mengetahui bahwa penggunaan *calyculin A* tidak menyebabkan kelainan pada jumlah kromosom serta perubahan pada pola pita (*bands*) yang terbentuk dengan teknik *G-banding*.

Penelitian Kowalska *dkk* membuktikan bahwa penambahan *calyculin A* tidak menyebabkan kelainan pada jumlah kromosom serta perubahan pada pola pita (*bands*) kromosom. Penelitian Kowalska *dkk* juga membuktikan bahwa indeks mitosis yang diperoleh dengan penambahan *calyculin A* lebih tinggi 4 sampai 10 kali dibandingkan dengan indeks mitosis pada proses kultur limfosit konvensional untuk analisis kromosom. Dengan demikian penambahan *calyculin A* dapat dilakukan pada teknik *banding* yang digunakan untuk mengetahui kerusakan kromosom pada individu yang memiliki indeks mitosis rendah seperti pada pasien yang sudah lanjut usia, pasien yang telah mengalami terapi radiasi dan kemoterapi, dan korban kecelakaan radiasi dosis tinggi [17].

V. PENUTUP

Prediksi dosis serap pada korban kecelakaan radiasi harus dilakukan sesegera mungkin untuk menentukan tindakan medis paling tepat dalam menangani korban. Pada paparan radiasi dosis tinggi yaitu diatas 5 Gy, teknik PCC telah terbukti efektif dalam penentuan dosis korban karena memberikan hasil yang lebih cepat dan mudah dilakukan. Beberapa penelitian membuktikan bahwa

teknik PCC dapat digunakan untuk memprediksi tingkat paparan radiasi pengion dosis tinggi. Dengan demikian prediksi tingkat dosis pada korban kecelakaan akibat paparan radiasi pengion dosis tinggi dapat dilakukan dengan menggunakan teknik PCC karena memberikan hasil yang lebih cepat, sehingga penentuan tindakan medis paling tepat dapat dilakukan untuk menangani korban.

DAFTAR PUSTAKA

1. BALAKRISHNAN, S., SHIRSATH, K.S., BHAT, N., and ANJARIA, K. Biodosimetry for high dose accidental exposures by drug induced premature chromosome condensation (PCC) assay. *Mutation Research* 699:11?16, 2010.
2. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY., Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies, IAEA, Vienna. 2011.
3. GOTOH, E., and TANNO, Y. Simple biodosimetry method for cases of high-dose radiation exposure using the ratio of the longest/shortest length of Giemsa-stained drug induced prematurely condensed chromosomes (PCC). *Int. J. Radiat. Biol.*, 81(5): 379 ? 385, 2005a.
4. GOTOH, E., TANNO, Y., and TAKAKURA, K. Simple biodosimetry method for use in cases of high-dose radiation exposure that scores the chromosome number of Giemsa-stained drug induced prematurely condensed chromosomes (PCC). *Int. J. Radiat. Biol.*, 81(1): 33 ? 40, 2005b.
5. SYAIFUDIN, M. Pemanfaatan Teknik *Premature Chromosome Condensation* dan Uji Mikronuklei dalam Dosimetri Biologi. *Prosiding Seminar Nasional Keselamatan, Kesehatan dan Lingkungan IV dan International Seminar on Occupational Health and Safety I*. Depok, 27 Agustus, 2008.
6. JOHNSON, R.T., and RAO, P.N. Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei. *Nature* 226: 717 ? 722, 1970.
7. GOTOH, E., and DURANTE, M. Chromosome Condensation Outside of Mitosis: Mechanism and New Tools. *Journal of Cellular Physiology* 209: 297-304, 2006.
8. GOTOH, E., ASAKAWA, Y., and KOSAKA, H. Inhibition of protein serine/threonine phosphatases directly induces premature chromosome condensation in mammalian somatic cells. *Biomed Res* 16: 63-68, 1995.
9. KATO, H., and SANDBERG, A. 1967. Chromosome pulverization in human binucleated cells following colcemid treatment. *J Cell Biol* 34:35-46, 1967.
10. SUNKARA, P.S., WRIGHT, D.A., and RAO, P.N. Mitotic factors from mammalian cells induce germinal vesicle breakdown and chromosome condensation in amphibian oocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 76, No. 6, pp. 2799-2802, 1979.
11. TAMARIN, R.H. Principles of Genetics (7th) edition. xvi + 609 hlm, McGrawHill, New York, 2002.
12. TROUNSON, A., ANDERIESZ, C., and JONES, G. Maturation of human oocytes in vitro and their developmental competence. *Reproduction* 121, 51?75, 2001.
13. HAYATA, I., KANDA, R., MINAMIHISAMATSU, M., FURUKAWA, A., and SASAKI, M.S. Cytogenetical Dose Estimation for 3 Severely Exposed Patients in the JCO Criticality Accident in Tokai-mura. *J. Radiat. Res* 42: SUPPL., S149?S155, 2001.
14. KANDA, R., HAYATA, I., and LLOYD D.C. Easy biodosimetry for high-dose radiation exposures using drug-induced,

- prematurely condensed chromosomes. *Int J Radiat Biol.* 75(4):441-6, 1999.
15. TERZOUDI, G.I., MALIK, S.I., PANTELIAS, G.E., MARGARITIS, K., MANOLA, K., and MAKROPOULOS, W. A new cytogenetic approach for the evaluation of mutagenic potential of chemicals that induce cell cycle arrest in the G2. *Mutagenesis* 18(6); 539±543, 2003.
 16. JMRDANOVIC, J., BOGDANOVIC, G., CVETKOVIC, D., VELICANSKI, A., and CETOJEVIC-SIMIN, D. The frequency of sister chromatid exchange and micronuclei in evaluation of cytogenetic activity of Kombucha on human peripheral blood lymphocytes. *Arch Oncol* 15(3-4):85-8, 2007.
 17. KOWALSKA, A., SREBNIAK, M., WAWRZKIEWICZ, A., and KAMIŃSKI, K. The influence of calyculin A on lymphocytes in vitro. *J. Appl. Genet.* 44(3);413-418, 2003.
 18. SURYO. *Genetika Manusia*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1994..
- Sampai saat ini belum tetapi karena teknik PCC hampir sama dengan teknik analisis disentrik hanya mengganti pemberian colchisin dengan calyculin maka untuk melakukan teknik PCC tentu tidak sulit dilakukan.

TANYA JAWAB

1. Penanya : Darlina

Pertanyaan :

- Apakah PTKMR sudah mengantisipasi penghitungan biodosimetri jika terjadi kecelakaan radiasi?
- Apakah PTKMR sudah menguasai teknik PCC ?

Jawaban :

- Bila prediksi dosis berdasarkan analisis disentrik maka PTKMR sudah siap untuk memprediksi nilai dosis pada korban kecelakaan radiasi sebab saat ini telah dibuat kurva standar untuk prediksi dosis berdasarkan analisis disentrik