

TINGKAT FREKUENSI ABERASI KROMOSOM SEL SUMSUM TULANG MENCIT PASCA PERLAKUAN DENGAN PEMANCAR RADIASI INTERNA ^{131}I

M. Darussalam*), K. Laras**), A.A. Baradjanegara*), Y. Sumpena*)

*) Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

**) Pusat Antar Universitas-ITB

ABSTRAK

TINGKAT FREKUENSI ABERASI KROMOSOM SEL SUMSUM TULANG MENCIT PASCA PERLAKUAN DENGAN PEMANCAR RADIASI INTERNA ^{131}I . Dalam menentukan paparan radiasi terhadap tubuh manusia sel sumsum tulang dapat dijadikan indikator biologi karena memiliki derajat mitosis yang tinggi disamping sel darah. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gambaran kerusakan (aberasi) kromosom sel sumsum tulang mencit pasca perlakuan dengan pemancar radiasi interna ^{131}I . Untuk pengamatan aberasi kromosom sel sumsum tulang dan tingkat mitosis sel, telah diaplikasikan per oral larutan ^{131}I kepada 12 ekor mencit betina galur Australia sebesar 1 mCi per ekor, sementara 4 ekor mencit tanpa perlakuan dipakai sebagai kontrol. Mencit perlakuan terbagi kedalam 3 kelompok sesuai dengan interval waktu pengamatan 1,2 dan 3 hari pasca perlakuan. Semua mencit percobaan dibunuh secara dislokasi disusul dengan pembuatan preparat dan pengamatan-pengamatan seperti frekuensi aberasi kromosom, tingkat mitosis sel dan jumlah sel sumsum tulang yang bermetafase. Sebagai hasil pengamatan menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan frekuensi aberasi kromosom sel sumsum tulang mencit pasca perlakuan dengan pemancar radiasi interna ^{131}I . Dalam waktu bersamaan telah terjadi penurunan jumlah sel yang bermetafase secara normal dan abnormal sejalan dengan meningkatnya waktu pengamatan; keadaan yang kontroversial terjadi pada jumlah sel metafase normal dan abnormal yang masing-masing cenderung menurun dan meningkat sejalan dengan meningkatnya masa inkubasi.

ABSTRACT

THE CHROMOSOME ABERRATION LEVEL IN THE BONE MARROW CELLS OF MICE AFTER ADMINISTRATION OF ^{131}I INTERNAL RADIATION EMITTER. The bone marrow cells as well as blood cells may be implemented as biological indicator for radiation exposure determination in the human body due to their high mitotic cell division capacity. The experiment was carried out to obtain the chromosome aberration patterns in the bone marrow cells of mice after administration of ^{131}I internal radiation emitter. In order to observe the chromosome aberration in the bone marrow cells as well as their cellular mitotic level, 1 mCi of ^{131}I solution has been individually and orally applied to twelve female mice of the Australian strain while four of the untreated ones were used as control. The experimental mice were divided into 3 groups in accordance with the observation number e.g. 1,2 and 3 days after injection. All the experimental mice were sacrificed by means of dislocation technique followed by sample preparation as well as other observations e.g. the chromosome aberration frequency, the mitotic cell division level and the number of bone marrow cells during metaphase. The results of the experiments have pointed out that there is a distinguished increase in the frequency number of chromosome aberration in the bone marrow cells of mice after the administration of ^{131}I internal radiation emitter. In the meantime there is a decrease in the number of bone marrow cells during normal and abnormal metaphase in accordance with the increased duration of observation time; on the contrary the longer the incubation period the lower the number of normal metaphase cells and the higher the number of abnormal metaphase ones.

PENDAHULUAN

Baik radiasi eksternal maupun internal dapat menginduksi setiap perubahan atau kerusakan struktur kromosom (aberasi kromosom) khususnya pada sel-sel yang secara potensial

memiliki derajat mitosis tinggi seperti antara lain: sel limfosit, sel sumsum tulang, sel gonad, sel akar rambut dan sel kulit. Diantara semua sel dan jaringan di atas ternyata aberasi

kromosom yang terjadi pada sel limfosit akibat radiasi yang paling menonjol sehingga dapat merupakan "indeks paparan radiasi" (Lloyd dkk, 1980; Indrawati, dkk, 1993; Sasaki, 1983). Sekalipun demikian kejadian aberasi kromosom pada sel-sel sumsum tulang akibat radiasi dapat dipakai sebagai salah satu indikator biologi (Tjo, 1965; Koteles, dkk, 1993; Darussalam, dkk, 1994). Seperti diketahui sel-sel darah dan jaringan pembentuk sel-sel darah (precursor) atau sel sumsum tulang mudah terkena efek langsung oleh penyinaran eksterna radiasi mengion. Awal mulai kejadian terlihat pada perubahan atau kerusakan struktur (aberasi) kromosom yang disusul oleh penghambatan proses pembelahan sel (Casaret, 1979; Sackheim dkk, 1985).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gambaran perubahan dan kerusakan struktur kromosom atau "aberasi kromosom" pada sel sumsum tulang mencit galur Australia akibat radiasi interna dari radionuklida ^{131}I .

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan

Hewan percobaan

Sebagai hewan percobaan digunakan mencit betina putih dewasa (mus musculus) galur Australia "Quacker Bush" (CSL) asal peternakan mencit di BIOFARMA/Bandung. Mencit percobaan berjumlah 16 ekor dengan usia antara 2 - 3 bulan.

Bahan kimia

Radionuklida Iodium-131 (^{131}I) dalam senyawa Na^{131}I dengan keradioaktifan beberapa mCi. Bahan kimia lain, antara lain kolchisin, bufer fosfat Sorenson (pH = 7), KCl 0,075 Mol/l, larutan fiksasi, giemsa 7% (pH = 6,8), HCl 1 N, alkohol (70%), asam pikrik, chloroform, akua-des, tenol dan sebagainya.

Bahan lain

Antara lain film-film hitam putih, berwarna dan slide objek + dekglas. Sarung tangan, syringe plastik, dsb.

Peralatan

Antara lain alat deteksi, Mikroskop cahaya + camera.

TATA KERJA

Rancangan percobaan

Setiap perlakuan dilakukan dengan 4 x ulangan untuk setiap kelompok pengamatan.

Perlakuan radiointerna ^{131}I

Sebagai sumber pemancar radiasi interna digunakan radionuklida ^{131}I dalam bentuk Na^{131}I . Kecuali kelompok mencit tanpa perlakuan (kelompok I = kontrol), kepada setiap ekor mencit kelompok perlakuan (kelompok II, III dan IV) diberikan larutan Na^{131}I secara oral, sebesar 1 mCi. Pengamatan pengaruh perlakuan terhadap mencit dilakukan secara bertahap yaitu 1 hari pasca perlakuan (kelompok II), 2 hari pasca perlakuan (kelompok III) dan 3 hari pasca perlakuan (kelompok IV).

Pengambilan sampel (cuplikan) sumsum tulang dan pembuatan preparat.

- Tahap 1: Dilakukan injeksi larutan kolchisin 0,1 $\mu\text{g}/\text{BB}$ kepada mencit percobaan sesaat sebelum dibunuh secara disklokasi.
- Tahap 2: Dilakukan penambahan larutan hipotonis KCL 5% (3 ml) kepada cuplikan sumsum tulang femur mencit percobaan.
- Tahap 3: Dilakukan inkubasi (20° , 37°C) secara bertahap. Kemudian disusul dengan pelarutan ke dalam larutan fiksatif dan dilakukan pemusingan beberapa kali s.d. suspensi terakhir yang siap untuk diteteskan pada gelas objek. Akhirnya dilakukan pewarnaan dengan larutan Giemsa (2,5% pada 14°C)

Pemeriksaan/pengamatan atau preparat kromosom

- Pengamatan perubahan/kerusakan (aberasi) kromosom sel sumsum tulang mencit kontrol (Klp.I) dan perlakuan dengan radiasi interna pada interval waktu 1 hari pasca perlakuan (kelompok-II), 2 hari pasca perlakuan (kelompok-III) dan 3 hari pasca perlakuan (kelompok-IV).
- Dilakukan perhitungan tingkat dan jumlah mitosis pada sel sumsum tulang mencit, disamping perhitungan jumlah metafase normal dan abnormal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan per oral pemancar radiasi interna ^{131}I terhadap mencit percobaan sebesar 1 mCi per ekor, telah menunjukkan beberapa pengaruhnya setelah masa inkubasi tertentu seperti antara lain terjadinya kelainan atau perubahan struktur kromosom (aberasi kromosom)

sel sumsum tulang, tingkat mitosis dan bentuk metafase, sel sumsum tulang.

Pengamatan kelainan (aberasi) kromosom.

Hasil pengamatan terhadap aberasi kromosom sel sumsum tulang mencit pasca perlakuan dapat disaksikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Jumlah ragam rata-rata $\pm$ SEM aberasi kromosom sel sumsum tulang mencit kontrol dan perlakuan dengan angka kisaran dibawahnya.

No.	Ragam aberasi kromosom	Kontrol	Perlakuan I (1 hari pp)	Perlakuan II (2 hari pp)	Perlakuan III (3 hari pp)
1.	Celah	$0,05 \pm 0,03$ (0,00 - 0,16)	$0,16 \pm 0,02$ (0,12 - 0,20)	$0,09 \pm 0,04$ (0,04 - 0,20)	$0,38 \pm 0,09$ (0,12 - 0,52)
2.	Patahan	$0,01 \pm 0,01$ (0,00 - 0,04)	$0,33 \pm 0,18$ (0,04 - 0,84)	$0,34 \pm 0,12$ (0,12 - 0,68)	$0,25 \pm 0,12$ (0,04 - 0,52)
3.	Fragmen	-	$0,08 \pm 0,03$ (0,00 - 0,12)	$0,09 \pm 0,03$ (0,04 - 0,16)	$0,09 \pm 0,02$ (0,04 - 0,16)
4.	Fragmen hilang	-	$0,14 \pm 0,03$ (0,08 - 0,20)	$0,26 \pm 0,07$ (0,12 - 0,44)	$0,22 \pm 0,07$ (0,04 - 0,40)
5.	Kromosom asen- trik	-	-	$0,02 \pm 0,02$ (0,02 - 0,08)	$0,07 \pm 0,02$ (0,00 - 0,16)
6.	Titik ganda	-	$0,01 \pm 0,01$ (0,00 - 0,04)	-	-

Keterangan : Data di atas merupakan jumlah ragam rata-rata SEM per luas pandang (SEM=Standard Error of the Means ; pp = pasca perlakuan).

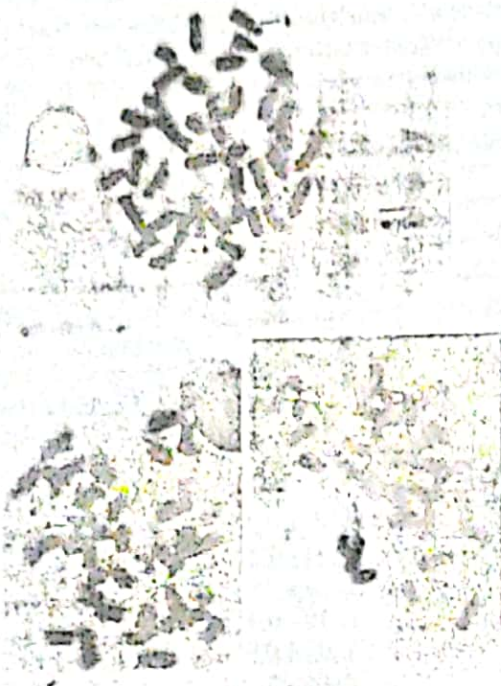


Gambar 1. Kromosom mencit Albino normal (2n=40) dari kelompok kontrol.

Dibandingkan dengan kelompok mencit kontrol yang hanya memiliki aberasi kromo-

som tipe "celah dan patahan" maka kelompok mencit perlakuan menunjukkan peningkatan ragam kelainan dan frekuensi aberasi tipe lain seperti antara lain: fragmen, fragmen hilang, kromosom asentrik dan titik ganda (Tabel 1). Semua jenis kromosom di atas terbentuk juga pada perlakuan dengan radiasi eksternal sinar

γ asal sumber ^{60}Co terhadap mencit pada penelitian sebelumnya (Darussalam, dkk, 1994). Sebagai perbedaan dengan penelitian perlakuan dengan radiasi eksternal sinar γ , di sini tidak ditemukan aberasi kromosom tipe cincin, tri-radial dan kromosom berpasangan. Sejalan dengan meningkatnya masa inkubasi yaitu 1, 2 dan 3 hari pasca perlakuan, tampak jumlah rata-rata aberasi kromosom tipe celah dan patahan pada kelompok perlakuan cenderung meningkat. Berbeda dengan jumlah rata-rata aberasi kromosom tipe fragmen yang hampir tidak terpengaruh oleh meningkatnya masa inkubasi, maka jumlah rata-rata aberasi kromosom tipe fragmen hilang dan kromosom asentrik kembali cenderung menunjukkan peningkatan sementara itu aberasi kromosom titik ganda, hanya muncul pada masa inkubasi 1 hari yaitu kelompok II (Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, Gambar 5 dan Gambar 6). Terbentuknya banyak ragam kelainan struktur kromosom (aberasi kromosom) sel sumsum tulang pasca radiasi di sini, didukung oleh hasil penelitian sebelumnya bahwa sel sumsum memang merupakan indikator biologi (Tijo, 1965, Koteles dkk, 1993).



Keterangan :

- A : Celah
B : Patahan
C : Fragmen
D : Fragmen hilang
E : Titik ganda

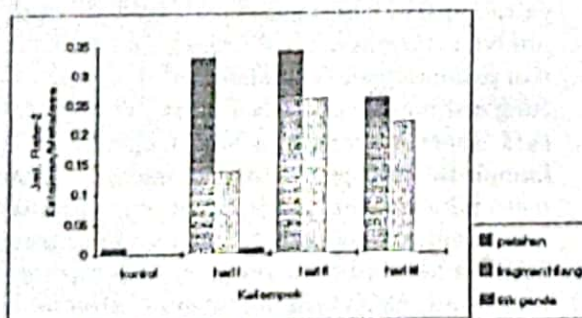
Gambar 2. Kromosom mencit Albino dari kelompok perlakuan I (didiamkan satu hari).



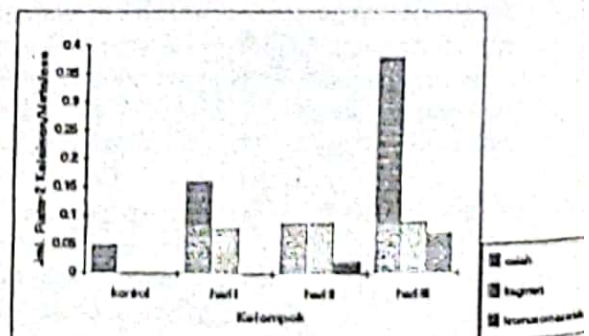
Keterangan :

- A : Celah
B : Patahan
C : Fragmen
D : Fragmen hilang
E : Kromosom asentrik

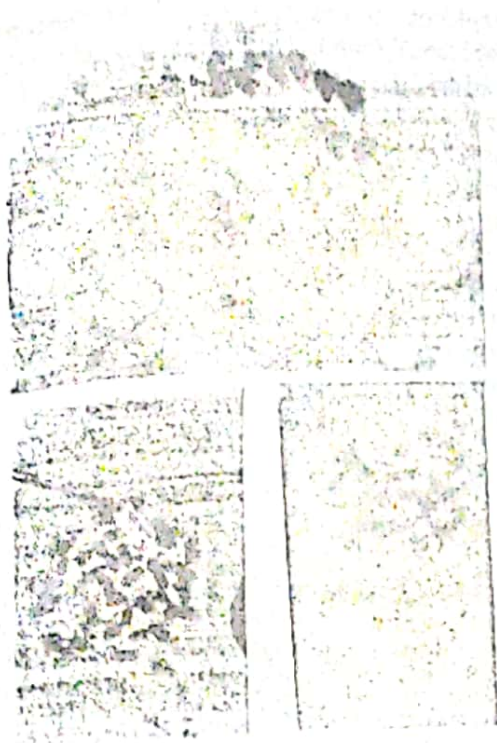
Gambar 3. Kromosom mencit Albino dari kelompok perlakuan II (didiamkan dua hari).



Gambar 5. Peningkatan jumlah rata-rata kelainan kromosom pada kelompok kontrol dan perlakuan yang cenderung menurun pada pengamatan hari ke tiga.



Gambar 6. Jumlah rata-rata kelainan kromosom pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang cenderung meningkat pada pengamatan hari ke tiga.



Keterangan :
A : Celah
B : Patahan
C : Fragmen
D : Fragmen hilang
E : Kromosom asentrik

Gambar 4. Kromosom mencit Albino dari kelompok perlakuan III (didiadakan tiga hari).

Pengamatan tingkat mitosis sel

Sejauh mana pengaruh radiasi interna terhadap tingkat mitosis sel sumsum tulang mencit, dapat disaksikan pada Tabel 2.

Dibandingkan dengan kelompok mencit kontrol jumlah rata-rata sel sumsum tulang baik yang sedang bermetafase (aktif) maupun yang sedang non-metafase (tidak aktif) tampak cenderung menurun sejalan dengan kenaikan masa inkubasi (Tabel 2). Gejala ini menunjukkan adanya kerusakan langsung pada sel-sel sumsum tulang akibat radiasi, yang berkaitan erat dengan kerusakan yang terjadi pada benang kromosom (Errera dkk, 1961)

Pengamatan terhadap jenis metafase

Dalam percobaan ini, dilakukan pula pengamatan terhadap jenis atau macam metafase yang terbentuk pada sel sumsum tulang mencit pasca perlakuan seperti yang terlihat dalam Tabel 3.

Tabel 2. Jumlah sel sumsum tulang mencit kontrol dan perlakuan pada tahap metafase dan non-metafase dengan angka kisaran di bawahnya.

Kelompok	Metafase	Non metafase
Kontrol	$1,15 \pm 0,09$ (0,92 - 1,32)	$41,28 \pm 3,94$ (33,56 - 51,68)
Perlakuan I (1 hari pp)	$0,92 \pm 0,14$ (0,72 - 1,32)	$39,73 \pm 1,890$ (35,16 - 44,44)
Perlakuan II (2 hari pp)	$0,69 \pm 0,12$ (0,40 - 1,00)	$11,00 \pm 0,820$ (33,48 - 39,48)
Perlakuan III (3 hari pp)	$0,70 \pm 0,25$ (0,36 - 1,44)	$35,25 \pm 2,180$ (30,56 - 39,56)

Keterangan : Data di atas merupakan jumlah rata-rata sel $\pm$ SEM per luas pandang (SEM = Standard Error of the Means ;
pp = pasca perlakuan)

Tabel 3. Jumlah sel sumsum tulang mencit dengan metafase normal dan metafase abnormal pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan angka kisaran dibawahnya.

Kelompok	Metafase	Non metafase
Kontrol	$23,75 \pm 0,09$ (23,00 - 25,0)	$1,25 \pm 0,95$ (0,00 - 2,00)
Perlakuan I (1 hari pp)	$14,50 \pm 0,58$ (14,00 - 15,0)	$10,50 \pm 0,58$ (10,0 - 11,0)
Perlakuan II (2 hari pp)	$14,00 \pm 0,82$ (13,00 - 15,0)	$11,00 \pm 0,82$ (10,00 - 12,0)
Perlakuan III (3 hari pp)	$11,75 \pm 3,59$ (9,00 - 17,0)	$13,25 \pm 3,59$ (8,00 - 16,0)

Keterangan : Data di atas merupakan jumlah metafase rata-rata $\pm$ SD
(SD = Standard Deviation)

Untuk penghitungan jenis metafase sel sumsum tulang yang terbentuk, telah digunakan 25 buah metafase per individu mencit yang dibeda-bedakan ke dalam jenis metafase normal dan metafase abnormal.

Dibandingkan dengan kelompok mencit kontrol, jumlah rata-rata sel dengan metafase normal pada kelompok perlakuan cenderung menurun sejalan dengan meningkatnya masa inkubasi 1, 2 dan 3 hari pasca perlakuan. Sebaliknya jumlah rata-rata sel dengan metafase

abnormal pada kelompok perlakuan semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya masa inkubasi 1, 2 dan 3 hari pasca perlakuan (Tabel 3).

Hasil pengamatan di sini memiliki persamaan dengan percobaan perlakuan dengan radiasi eksternal sinar γ terhadap mencit sebelumnya (Darussalam dkk, 1994). Seperti halnya pengaruh radiasi eksternal sinar γ terhadap jaringan haemopoietik mamalia, radiasi internal asal radionuklida ^{131}I telah menimbulkan kerusakan terhadap benang kromosom yang mengarah ke timbulnya bentuk metafase abnormal sel sumsum tulang mencit

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian di atas dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut :

- Perlakuan per oral pemancar radiasi internal ^{131}I sebesar 1 mCi per individu mencit percobaan, telah meningkatkan frekuensi kerusakan (aberasi) kromosom sel sumsum tulang

sejalan dengan masa inkubasi, 1, 2 dan 3 hari pasca perlakuan.

- Sejalan dengan lama masa inkubasi 1,2 dan 3 hari pasca perlakuan, pada kelompok mencit perlakuan ditemukan tambahan ragam aberasi kromosom sel sumsum tulang seperti tipe fragmen, fragmen hilang, kromosom asentrik dan titik ganda, di samping tipe celah dan patahan yang tercatat pula pada kelompok kontrol.
- Tingkat masa inkubasi pasca perlakuan dengan radiointerna ^{131}I , dapat mempengaruhi frekuensi jumlah rata-rata berbagai jenis tipe aberasi kromosom tulang sumsum mencit yang terbentuk.
- Perlakuan per oral pemancar radiasi internal ^{131}I sebesar 1 mCi per individu mencit percobaan dapat meningkatkan jumlah rata-rata metafase abnormal dan menurunkan jumlah rata-rata metafase normal sel sumsum tulang sejalan dengan meningkatnya masa inkubasi, 1, 2 dan 3 hari pasca perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Casarett, A. Radiation Biology, Prentice-Hall. Inc. Englewood Cliffs, New Jersey (1979).
2. Darussalam, M., Samuel, S., Sumpena, Y. dan Sugiyanto, T., Pengaruh iradiasi sinar γ terhadap jumlah ragam kelainan bentuk kromosom sel sumsum tulang belakang mencit (*Mus musculus*), Seminar Sains dan Teknologi Nuklir, PPTN/BATAN, Bandung (7-9 Feb. 1994).
3. Errera, M. and Forssberg, A., Mechanism in Radiobiology, Academic Press, New York and London (1960).
4. Indrawati, Lusiyaniti, I. Y. dan Lubis, M., Aberasi kromosom limfosit oleh sinar γ ^{60}Co , Presentasi Ilmiah, Keselamatan Radiasi & Lingkungan, PSPKR/BATAN, Jakarta (1993).
5. Koteles, G.I. dkk, Availability and problems of biological indicator for radiation injury, XI Regional Congress of IRPA- Austrian-Hungarian Yugoslavian Radiation Protection Meeting Proceeding Vol.I, Vienna, Austria (1983).
6. Lloyd, D.C., and Purpott, R. J., Chromosom aberration analysis in radiological protection dosimetry, Rad.Protect Dosimetry, Nucl. Technology Publish., 1 (1981) 19 - 28.
7. Sackheim, G.I. and Lehman, D. D., Chemistry for the health, Sciences, Mc Milan Publ. New York (1985).
8. Sasaki, M.S. Radiation induced chromosome damage in man, Alan R. Liss, Inc., New York, NY. 10011 (1983) 585-604.
9. Tijo, J.H. and Whang, J., Direct chromosom preparations for bone marrow cells, in human chromosome methodology, Academic Press. Inc. (1965) 51-56.

DISKUSI

Rosmiarty :

1. Radioaktivitas yang diberikan dalam penelitian ini, 1 mCi/mencit. Apakah bisa dipakai sebagai pembanding dosis ^{131}I dalam diagnosis dan terapi yang dipakai dalam kedokteran ?
2. Pengamatan aberasi kromosom yang diamati pada penelitian ini pada proses metafase. Apakah bisa dilakukan *banding chromosom* pada fase ini ?

M. Darussalam :

1. Besar keradioaktifan ^{131}I , 1 mCi/individu mencit yang diberikan di sini, memang diasumsikan kepada besar paparan radiasi interna untuk terapi ^{131}I pada manusia. Untuk ini, dapat membandingkan antara kuat badan mencit dan manusia.
2. Dalam penelitian ini, memang belum melakukan *banding chromosom*. Tetapi untuk dilakukan hal itu tidak tertutup kemungkinannya.

Zubaidah A. :

Mengingat organ target dari ^{131}I adalah kelenjar tiroid, kira-kira berapa % dari aktivitas ^{131}I (1 mCi) yang diberikan mengenai/merusak sel-sel sumsum tulang untuk menghasilkan frekuensi aberasi kromosom yang dilaporkan ?

M. Darussalam :

Persentase akumulasi terbesar ^{131}I memang terdapat pada kelenjar tiroid mencit sebagai organ kritik. Sekalipun jaringan sumsum tulang bukan organ kritik, tetapi tentu terdapat pengambilan ^{131}I oleh sel sumsum tulang sekalipun relatif kecil dan mampu menimbulkan aberasi kromosom. Memang terdapat hubungan antara tingkat biodistribusi sesuatu radionuklida dan besar paparan radiasi interna yang ditimbulkan; dalam penelitian ini tidak dilakukan perhitungan % biodistribusi pada jaringan sumsum tulang.

Poppy Intan Tjahaya :

Pengamatan aberasi kromosom pada sumsum tulang dapat dijadikan indikator biologi, tentunya sebagai dosimeter biologi. Apakah pernah dilakukan penelitian dengan mengamati aberasi kromosom sumsum tulang akibat ^{131}I dengan konsentrasi/aktivitas yang bervariasi sehingga dapat diketahui dosis yang diterima seseorang dengan mengamati aberasi kromosomnya mengingat ^{131}I dapat terlepas ke lingkungan akibat beroperasinya suatu instalasi nuklir ataupun dalam kasus kecelakaan.

M. Darussalam :

Penelitian tentang pengaruh radionuklida ^{131}I sebagai sumber radiasi interna dengan banyak variasi tingkat keradioaktifan terhadap frekuensi aberasi kromosom sumsum tulang mencit, memang telah direncanakan dalam penelitian selanjutnya.

Iwiq Indrawati :

Apa perbedaan dari aberasi kromosom bentuk celah dan patahan dari pengamatan dalam penelitian ini ?

M. Darussalam :

Bentuk celah pada aberasi kromosom sebenarnya tidak sampai patah strukturnya, sementara aberasi kromosom tipe patahan jelas-jelas terjadi patahan pada strukturnya.