

PENGARUH IRADIASI SINAR γ TERHADAP JUMLAH RAGAM KELAINAN BENTUK KROMOSOM SEL SUMSUM TULANG BELAKANG MENCIT (*Mus musculus* L)

M. Darussalam *, S. Samuel **, Y. Sumpena *, T. Sugiyanto *

* Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

** Pusat Antar Universitas Hayati - Institut Teknologi Bandung

ABSTRAK

PENGARUH IRADIASI SINAR γ TERHADAP JUMLAH RAGAM KELAINAN BENTUK KROMOSOM SEL SUMSUM TULANG BELAKANG MENCIT (*Mus musculus* L). Iradiasi eksterna sinar γ pada mamalia dapat menimbulkan penurunan jumlah bakal sel darah akibat terjadinya kerusakan langsung atau karena adanya penundaan proses pembentukan sel-sel sumsum tulang baru. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gambaran ragam kelainan bentuk kromosom sel sumsum tulang mencit percobaan akibat iradiasi sinar γ dalam rangka menambah informasi indikator biologi untuk keselamatan radiasi. Sejumlah 20 ekor mencit betina strain Swiss Webster berumur 2 - 3 bulan dibagi ke dalam 4 kelompok. Kelompok I tanpa perlakuan (kontrol) sementara kelompok II, III dan IV mengalami perlakuan iradiasi eksterna sinar γ masing-masing sebesar 200, 400 dan 600 rad. Selanjutnya 1 hari pasca perlakuan mencit percobaan dibunuh secara dislokasi dan dilanjutkan dengan pembuatan preparat dan pengamatan tingkat mitosis sel-sel sumsum tulang serta jumlah ragam kelainan bentuk kromosom sel sumsum tulang. Hasil-hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tingkat mitosis sel dan jumlah ragam kelainan bentuk kromosom sel sumsum tulang antara kelompok mencit kontrol dan perlakuan.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF GAMMA IRRADIATION ON THE NUMBER OF ABNORMAL CHROMOSOME STRUCTURE IN THE BONE MARROW CELLS OF MICE (*Mus musculus* L). The externally gamma irradiated mammalia has shown a decreasing number of blood cell precursors due to the direct damage of bone marrow cells as well the delayed formation of new bone marrow cells. The experiment was carried out in order to obtain the abnormal chromosome structure patterns in bone marrow cells of mice postto externally gamma irradiation related to the biological indicator information for the radiation protection. Twenty of 2 - 3 month old female Swiss Webster mice were divided into 4 groups e.g. Group I represents the untreated animals (control) while the next other group II, group III and group IV of animals were treated externally with gamma irradiation of 200, 400 and 600 rads respectively. By means of dislocation technique all mice were killed one day after irradiation followed by preparing samples (preparat) for mitotic cell observation as well as the formation of abnormal chromosome structure of bone marrow cells. The results of experiments have pointed out that there is a distinguished difference in mitotic cell number as well as in varieties of abnormal chromosome structure in bone marrow cells of the control and experimental animals.

PENDAHULUAN

Iradiasi eksterna seluruh tubuh hewan mamalia dan manusia dapat memberikan efek langsung pada sel-sel darah dan jaringan pembentuk sel-sel darah (precursor) seperti halnya sumsum tulang. Kejadian ini diawali oleh perubahan dan kerusakan struktur kromosom (aberasi kromosom) dan disusul oleh penghambatan pada proses pembelahan sel (Casarett, 1973; Sackheim dkk, 1985)

Dalam keselamatan radiasi, indikator biologi masih terus dipelajari secara intensif seperti halnya dosimetri fisika dan kimia. Sementara

dalam peristiwa kecelakaan akibat paparan radiasi berlebihan (overdose), Lloyd dkk (1981) menyatakan bahwa dosimetri kromosom merupakan suatu metode dosimetri yang cukup mantap di samping dosimetri fisika dan kimia. Sedangkan penggunaan aberasi kromosom limfosit sebagai dosimetri biologi telah dilaporkan sebelumnya (Sasaki, 1983; Indrawati, dkk, 1993). Dalam penelitian ini, telah diperoleh perbedaan dalam jumlah tingkat mitosis sel dan ragam kelainan bentuk kromosom sel sumsum tulang antara kelompok mencit kontrol dan

kelompok mencit perlakuan dengan sinar γ 200, 400 dan 600 rad.

Diharapkan hasil pengamatan akan dapat menunjang penelitian-penelitian yang berkaitan dengan dosimetri biologi khususnya yang dilakukan dengan teknik kultur jaringan (in vitro) baik akibat sinar γ maupun sinar neutron.

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan dan alat

Sebagai hewan percobaan digunakan mencit (*Mus musculus*) betina dewasa galur Swiss Webster sejumlah 20 ekor. Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah kolkisin 0,05 %; KCl 0,56 %; fiksatif Carnoy; alkohol 70 %; asam pikrat; bahan *staining* Giemsa; makanan hewan; film cetak warna dan film *slide*.

Alat yang digunakan adalah mikroskop cahaya + kamera; handtally counter; peralatan gelas; syringe dan alat bedah hewan mencit. Sumber radiasi γ digunakan Alat Kobal Unit-60 yang ada di PAIR/BATAN Jakarta.

Tata kerja

Perlakuan iradiasi

Terhadap 4 kelompok mencit percobaan (kelompok I, II, III dan IV) dilakukan iradiasi eksterna sinar γ , dengan dosis radiasi berturut-turut 0, 200, 400 dan 600 rad.

Pengambilan cuplikan sumsum tulang mencit

Pada hari ke-1 pasca iradiasi mencit percobaan dibunuh secara dislokasi 30 menit setelah disuntik secara intraperitoneal dengan larutan kolkisin (konsentrasi 0,05 % sejumlah 0,01 ml/g berat badan). Sumsum tulang diambil dari 2 buah tulang femur setiap ekor mencit yang sebelumnya telah dibersihkan dari otot dan dipotong kedua ujungnya.

Sumsum tulang dikeluarkan dengan jalan menyempotkan larutan isotonis KCl (0,56 %) melalui salah satu lubang ujung tulang. Cuplikan sumsum tulang diinkubasikan selama 20 menit pada suhu 37 °C.

Pembuatan preparat kromosom

Larutan cuplikan sumsum tulang dipusing beberapa kali secara bertahap selama 10 menit dengan putaran 1000 rpm.

Terakhir cuplikan difiksasi dengan larutan Carnoy (etanol absolut : asam asetat glasial = 3 : 1). Cuplikan larutan sumsum tulang kemudian ditetaskan pada kaca objek dan dikering-

kan secara pelan-pelan di atas nyala api. Setelah itu dilakukan pewarnaan (*staining*) dengan larutan pewarna Giemsa (2,5 %) selama 14 menit. Akhirnya gelas objek dibilas dengan air kran mengalir dan dikeringkan.

Pengamatan mikroskopik

Perhitungan tingkat mitosis

Pengamatan tingkat mitosis sel sumsum dilakukan dengan menghitung jumlah sel yang berada pada tahap metafase (sel yang aktif) dan jumlah sel lain yang tidak berada pada tahap metafase (sel yang tidak aktif).

Perhitungan dilakukan pada suatu area tertentu berbentuk persegi panjang yang terdapat pada lensa okuler. daerah pengamatan berukuran panjang 662,03 μ m dan lebar 448,114 μ m. Pembesaran lensa objektif 10 x dengan menggunakan mikroskop cahaya. Setiap perhitungan dilakukan secara acak sampai sejumlah 5 x ulangan per preparat individu mencit percobaan.

Pemeriksaan kelainan kromosom

Pemeriksaan preparat kromosom dilakukan pada setiap individu mencit percobaan. Pengamatan preparat kromosom dilakukan dengan mencatat setiap kelainan bentuk kromosom yang terjadi seperti antara lain : fragmen, celah, kromosom asentrik, patahan, fragmen hilang, cincin, tri-radial, kromosom berpasangan, titik dan titik ganda.

Pemeriksaan dilakukan pada setiap preparat kromosom individu dengan mengamati 10 buah metafase. Kemudian dihitung banyaknya setiap jenis kelainan kromosom untuk setiap metafase.

Berdasarkan bentuk ragam kelainan kromosom yang telah dibicarakan di atas, maka gambaran kariotip somatik seperti sel sumsum tulang pasca iradiasi dapat disusun.

Pengamatan kromosom normal dan abnormal

Perhitungan jumlah kromosom normal dan abnormal dilakukan pada setiap preparat kromosom individu mencit percobaan yaitu sebanyak 20 buah metafase.

HASIL PERCOBAAN DAN DISKUSI

Hasil-hasil pengamatan baik pada tingkat jumlah mitosis sel maupun pada kelainan bentuk kromosom dan pada perhitungan metafase

normal dan abnormal dapat terlihat pada Tabel 1, 2, 3 dan Gambar 1 sampai dengan 4.

Tabel-1. Jumlah sel sumsum tulang pada tahap metafase dan non- metafase pada mencit percobaan yang dilakukan per luas pandang mikroskop dengan lensa objektif 10 %.

Kelompok mencit	Sel-sel metafase	Sel-sel non metafase
0 rads	1,76 ± 0,24 (1,20 - 2,60)	59,76 ± 7,20 (33,0 - 72,2)
200 rads	1,12 ± 0,08 (1,00 - 1,40)	19,04 ± 1,55 (15,4 - 24,6)
400 rads	1,12 ± 0,05 (1,00 - 1,20)	16,84 ± 1,87 (2,4 - 22,0)
600 rads	1,12 ± 0,12 (1,00 - 1,60)	19,88 ± 3,52 (14,4 - 33,6)

Keterangan :

Jumlah sel rata-rata ±SEM (Standard Errors of the Means) perluas pandang berikut angka kisaran di bawahnya.

Dari Tabel 1 dapat terlihat bahwa iradiasi sinar γ yang diberikan secara eksterna pada mencit percobaan dapat menurunkan jumlah sel sumsum tulang, seperti yang tercermin pada

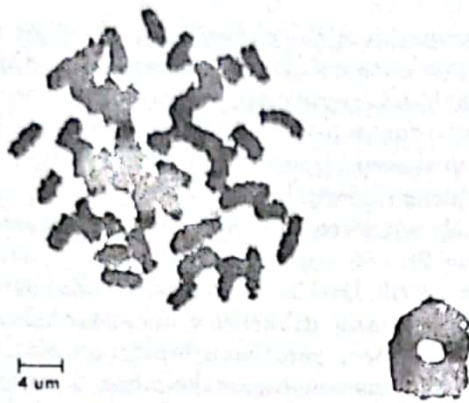
penurunan jumlah sel yang non metafase dan sel yang metafase. Hal ini dapat terjadi akibat kerusakan langsung pada sel sumsum ataupun akibat pengaruh radiasi terhadap proses pembelahan sel; antara lain kerusakan pada benang gelendong (Errera dkk, 1961).

Mencit dikenal memiliki jumlah kromosom normal $2n = 40$ dan semua kromosom berbentuk selonsentrik. Dari Tabel 2 dapat terlihat bahwa sinar γ yang diberikan secara eksterna terhadap mencit percobaan dapat menimbulkan bermacam-macam ragam kelainan kromosom (Gambar 1 sampai dengan 4) baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan telah terjadi kelainan bentuk kromosom dari jenis patahan dan kromosom asentrik. Dibandingkan dengan kontrol jumlah kromosom asentrik menunjukkan peningkatan pada kelompok mencit dengan perlakuan 200, 400 dan 600 rads.

Sementara jenis bentuk patahan terlihat pula pada kelompok perlakuan 200 rad yang cenderung menurun jumlahnya pada kelompok mencit perlakuan 400 dan 600 rad. Jenis bentuk kelainan kromosom yang lain seperti : fragmen, celah fragmen hilang, cincin, tri-radial, kromosom berpasangan, titik ganda hanya teramati pada kelompok perlakuan 200 rad ke atas (Tabel-2).

Tabel-2. Jumlah kelainan rata-rata + SEM per kelompok kontrol dan kelompok mencit perlakuan dengan angka kisaran di bawahnya.

No.	Bentuk kelainan	Kontrol	200 rad	400 rad	600 rad
1	Fragmen	0	0,94 ± 0,17 (0,6 - 1,5)	3,14 ± 0,90 (1,5 - 6,6)	6,94 ± 1,65 (2,5 - 10,7)
2	Celah	0	0,22 ± 0,07 (0,1 - 0,5)	0,38 ± 0,18 (0 - 1,0)	0,36 ± 0,05 (0,2 - 0,5)
3	Kr. asentrik	0,08 ± 0,04 (0 - 0,2)	0,98 ± 0,16 (0,5 - 1,5)	1,68 ± 0,21 (1,1 - 2,0)	1,56 ± 0,19 (1,0 - 2,2)
4	Patahan	0,50 ± 0,19 (0,1 - 1,2)	1,10 ± 0,21 (0,4 - 1,5)	0,98 ± 0,23 (0,3 - 1,5)	0,84 ± 0,19 (0,4 - 1,9)
5	Fragmen hilang	0	0,08 ± 0,04 (0 - 0,2)	0,22 ± 0,13 (0 - 0,7)	1,08 ± 0,32 (0,4 - 1,3)
6	Cincin	0	0,60 ± 0,11 (0,3 - 0,9)	0,86 ± 0,09 (0,7 - 1,2)	0,82 ± 0,13 (0,5 - 1,3)
7	Tri-radial	0	0	0	0,14 ± 0,04 (0 - 0,3)
8	Kr. berpasangan	0	0	0,02 ± 0,02 (0 - 0,1)	0,06 ± 0,06 (0 - 0,3)
9	Titik ganda	0	0,22 ± 0,13 (0 - 0,7)	0,32 ± 0,16 (0 - 0,7)	1,00 ± 0,16 (0,5 - 1,5)



Gambar 1. Kromosom menciit normal yang diperoleh dari kelompok kontrol. Kromosom menciit normal adalah $2n = 40$.



Gambar 2. Kromosom menciit dari kelompok perlakuan 200 rad.

Keterangan : a. fragmen
b. cincin

Jumlah kelainan kromosom ini tampak semakin meningkat dengan kenaikan dosis radiasi. Yang menarik sekali yaitu bahwa bentuk kelainan kromosom jenis tri-radial hanya terdapat pada kelompok perlakuan 600 rad semata; sedangkan jenis kromosom berpasangan terjadi hanya pada kelompok perlakuan 400 rad dan 600 rad. Mengapa dapat terjadi demikian, belum dapat diungkapkan di sini.

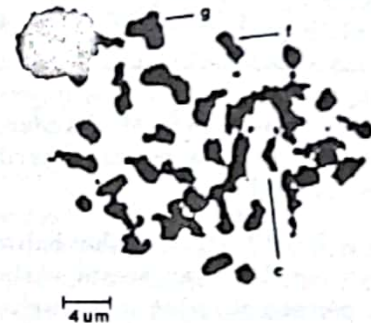
Hasil penelitian di sini tentang kelainan kromosom sel sumsum tulang menciit yang timbul akibat radiasi adalah sesuai dengan pernyataan beberapa peneliti sebelumnya bahwa sel sumsum tulang memang merupakan indikator biologi (TIJO, 1965; KOTELES dkk, 1993).

Dari berbagai ragam dan jenis kelainan kromosom pada gambar di atas, dapat disusun kembali gambar kariotip somatik sel sumsum tulang pasca iradiasi.



Gambar 3. Kromosom menciit dari kelompok perlakuan 400 rad.

Keterangan : c. fragmen hilang
d. kromosom berpasangan



Gambar 4. Kromosom menciit dari kelompok perlakuan 600 rad.

Keterangan : e. patahan
f. celah
g. tri-radial
h. titik ganda
i. kromosom asentrik

Pada Tabel-3 dapat terlihat bahwa penurunan jumlah sel metafase normal berbanding terbalik dengan peningkatan dosis radiasi yang diberikan; sebaliknya peningkatan jumlah sel

Tabel 3. Jumlah sel metafase normal dan abnormal dari sel sumsum tulang mencit pada berbagai kelompok percobaan dengan angka kisaran di bawahnya.

Kelompok mencit	Metafase	
	Normal	Abnormal
Kontrol	15,8 ± 0,8 (14 - 18)	4,2 ± 0,8 (2 - 6)
200 rad	2,6 ± 0,9 (0 - 5)	17,4 ± 0,9 (15 - 20)
400 rad	1,2 ± 0,5 (0 - 3)	18,8 ± 0,5 (17 - 20)
600 rad	0	20,0

metafase abnormal berjalan paralel dengan peningkatan dosis radiasi.

Adalah suatu hal yang sangat menarik bahwa pada kelompok mencit perlakuan dengan 600 rad tidak ditemukan adanya metafase normal.

KESIMPULAN

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

1. Perlakuan iradiasi eksterna sinar γ terhadap mencit percobaan telah menyebabkan perubahan jumlah sel sumsum tulang dan kelainan bentuk kromosom.
2. Peningkatan dosis radiasi eksterna sinar γ terhadap mencit perlakuan dapat menurunkan

DAFTAR PUSTAKA

1. Casarett, A., Radiation Biology, Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey (1979).
2. Errera, M. and Forssberg, A., Mechanism in Radiobiology Academic Press, New York and London (1960).
3. Indrawati, I., Lusiyanti, Y. dan Lubis, M., Aberasi kromosom limfosit oleh sinar gamma Co-60, Presentasi Ilmiah Keselamatan Radiasi & Lingkungan, PSPKR/BATAN, Jakarta (1993).
4. Kotoles, G.J. 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).
5. Lloyd, D.C. and Purrott, R. J., Chromosome Aberattion Analysis in Radiological Protection Dosimetry, Radiation Protection Dosimetry, Nucl. Technology Publish. (1981) 1: 19 - 28.
6. Sackheim, G.I. and Lehman, D. D., Chemistry for the Health Sciences, Macmilan Publ. Co, New York (1985).
7. Sasaki, M.S., Radiation Induced Chromosome Damage in Man, Alan R. Liss. Inc., New York, NY. 10011 (1983) 585 - 604.
8. Tijo, J.H. and Whang, J., Direct Chromosome Preparations for Bone Marrow Cells, in Human Chromosome Methodology, 51-56, Academic Press. Inc. (1965).

kan jumlah sel metafase normal dan bahkan tidak terdapat lagi sel metafase normal pada sel sumsum tulang kelompok mencit perlakuan 600 rad.

Sebaliknya kenaikan dosis radiasi sinar γ telah meningkatkan jumlah sel-sel metafase abnormal.

3. Bentuk kelainan kromosom jenis patahan dan kromosom asentrik terdapat baik pada kelompok mencit kontrol maupun perlakuan, di mana jumlahnya cenderung meningkat dengan kenaikan dosis radiasi.
4. Bentuk kelainan kromosom jenis yang lain seperti fragmen, celah, fragmen hilang, cincin, tri-radial, kromosom berpasangan, dan titik ganda hanya terjadi pada kelompok perlakuan dengan radiasi. Sementara kelainan kromosom jenis tri-radial hanya terdapat pada kelompok radiasi 600 rad.
5. Peningkatan jumlah dan ragam kelainan bentuk kromosom serta kenaikan jumlah sel metafase abnormal sumsum tulang mencit pasca iradiasi eksterna sinar γ pada pengamatan ini telah memperkuat peran sumsum tulang sebagai indikator biologi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para teknisi dari Sub Bidang Kedokteran Nuklir - Bidang K-3/PPTN dan para teknisi/operator Kobal-Unit-60-PAIR/BATAN atas segala bantuan dan kerjasamanya.