

# PERKEMBANGAN TEKNIK *FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION* (FISH) DI BATAN SEBAGAI BIODOSIMETRI DAN PREDIKSI RISIKO AKIBAT PAPARAN RADIASI

**Sofiati Purnami**

- Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN  
Jalan Lebak Bulus Raya 49, Jakarta – 12440  
PO Box 7043 JKSKL, Jakarta – 12070
- [ipungsp@batan.go.id](mailto:ipungsp@batan.go.id)

## PENDAHULUAN

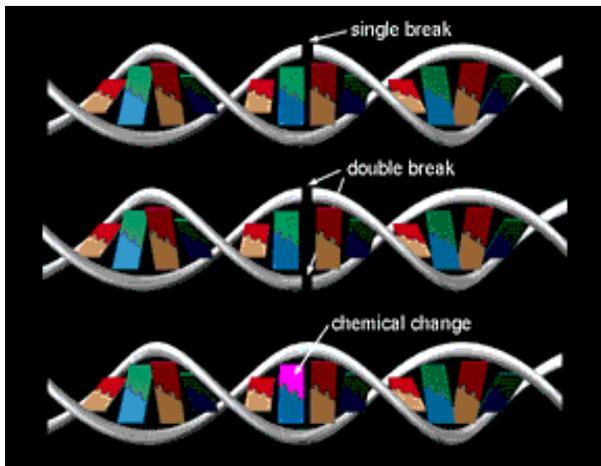
Ilmu pengetahuan dan teknologi nuklir diketahui berperan penting dalam berbagai aspek kehidupan manusia. Di bidang kesehatan misalnya, Indonesia dan negara lain di seluruh dunia, saat ini sedang menghadapi tantangan yang besar antara lain penanganan penyakit kanker dengan radioterapi serta penanganan dan pengendalian penyakit infeksi dengan vaksin iradiasi. Bidang kedokteran adalah bidang yang sudah sejak lama memanfaatkan teknologi atau teknik nuklir. Contoh sederhana adalah bahwa tidak perlu membedah dada hanya untuk mengetahui kondisi paru-paru atau organ dalam lainnya, tetapi cukup datang ke Rumah Sakit, menemui dokter untuk meminta layanan penggunaan sinar Rontgen untuk memperoleh gambaran dalam tubuh. Itu baru sekelumit manfaatnya. Teknik nuklir juga terbukti banyak membantu memecahkan problem di bidang hidrologi dengan menggunakan suatu metode yang sederhana yaitu metode perunut. Di bidang otomotif, telah diketahui bahwa sebagian besar mobil yang dikendarai masyarakat Indonesia dan dunia internasional berasal dari atau merupakan produk teknologi Jepang yang untuk membuatnya memerlukan pembangkitan listrik dimana sepertiganya dihasilkan oleh sumber energi nuklir. Radiasi nuklir memberikan manfaat dan bahaya, artinya di satu pihak radiasi memberikan manfaat yang sangat besar bagi

kehidupan manusia, namun di lain pihak mampu memberi ancaman bahaya yang perlu diwaspadai.

Implementasi atau pemanfaatan teknologi nuklir baik untuk sumber energi maupun non energi tersebut diperlukan jaminan keselamatan yang handal bagi pekerja maupun anggota masyarakat dengan menerapkan suatu strategi yang tepat. Salah satunya adalah analisis sitogenetik yang telah diterapkan di BATAN sejak 1990 yang selanjutnya akan digunakan untuk biodosimetri sebagaiantisipasi terjadinya kecelakaan nuklir di Indonesia.

Telah diketahui dengan sangat mendalam bahwa radiasi pengion dapat berpengaruh baik secara langsung dan tidak langsung terhadap sistem biologik. Pengaruh radiasi secara langsung adalah kerusakan asam deoksiribonukleat (DNA) yang akan terputus untainya sehingga mengganggu proses pembelahan sel. Pengaruh tidak langsung adalah dimana radiasi pengion akan berinteraksi dengan atom dan molekul sel, terutama air, serta menghasilkan radikal bebas yang tersebar ke dalam sel yang kemudian merusak target yaitu patahan (*breaks*) DNA baik patahan tunggal atau ganda atau perubahan kimia (mutasi) gen yang dapat mengakibatkan kematian atau kehilangan kapasitas reproduksi sel seperti ditunjukkan pada Gambar 1.

Hasil pengkajian interaksi radiasi dengan sel mengarah pada tabiat sel setelah terkena radiasi meliputi satu dari sembilan kemungkinan *outcome* yang terdiri dari:



Gambar 1. Tiga kerusakan atau patahan (*breaks*) yang dapat terjadi pada DNA yaitu patahan tunggal, rangkap dan perubahan kimia atau mutasi.

- Tidak ada efek sama sekali pada sel.
- Penundaan pembelahan sel.
- Apoptosis yakni sel mati sebelum atau sesudah pembelahan dengan cara fragmentasi menjadi ukuran yang lebih kecil, yang kemudian dimakan oleh sel di sekitarnya.
- Kegagalan reproduktif yakni bahwa sel mati ketika memasuki mutasi pertama atau berikutnya.
- Ketidak stabilan genomik: terjadi suatu bentuk penundaan kegagalan reproduktif sebagai akibat ketidak stabilan genomik.
- Mutasi dimana sel tetap hidup tetapi mengandung gen yang termutasi.
- Transformasi yakni sel tetap hidup tetapi mutasinya menyebabkan fenotip yang tertransformasi (berubah) dan mungkin terjadi karsinogenesis (proses kanker).
- Efek *Bystander* : sel yang terkena radiasi dapat mengirim sinyal ke sel sekitarnya yang tidak terkena radiasi dan menginduksi kerusakan genetik padanya.
- Respon Adaptif : Sel yang terkena radiasi distimulasi untuk bereaksi dan menjadi resisten terhadap iradiasi berikutnya.

Dalam paragraf-paragraf berikut akan diulas teknik *fluorescent in situ hybridization* (FISH) dan perkembangannya di BATAN yang

dimanfaatkan sebagai biosimetri (penentuan dosis) dan perkiraan risiko.

### **BIODOSIMETRI**

Efek biologik radiasi adalah terjadinya kerusakan sel yang secara lebih mendetail berupa kerusakan DNA yang merupakan sasaran utama paparan radiasi. Ketika suatu jenis radiasi, baik sinar-X, gamma atau partikel bermuatan maupun tidak bermuatan mengenai atau berada dalam suatu jaringan tubuh organisme, maka ada kemungkinan radiasi ini akan berinteraksi langsung dengan sel atau komponennya dengan sasaran kritis seperti inti sel yang mengandung kromosom.

Sejumlah komponen biologik seperti sel hematopoitik juga akan mengalami perubahan setelah terpajan radiasi. Indikator hematopoitik yang umum digunakan sebagai indikasi paparan radiasi atau biosimetri adalah hitung atau jumlah sel limfosit absolut, neutrofil, pletelet, dan sel darah merah. Sedangkan indikator yang telah dianggap handal dan umum digunakan dalam memperkirakan besarnya kerusakan sel adalah metode analisis aberasi kromosom dalam limfosit darah perifer. Dengan metode ini dapat diperkirakan dosis paparan radiasi yang diterima individu seperti pada kasus kedaruratan nuklir.

Dari berbagai macam kerusakan genetik yang digunakan sebagai *marker* (petanda) paparan yang telah berlalu dari agensia perusak kromosom atau yang disebut clastogen seperti radiasi, beberapa diantaranya bersifat stabil dan karenanya dapat dideteksi beberapa dekade sesudahnya, sedangkan yang lain bersifat tidak stabil dan menghilang dalam beberapa tahun. Untuk kategori yang pertama adalah kromosom translokasi (perpindahan segmen) yang dapat diuji dengan teknik pelabelan (*banding*) kromosom atau FISH yang disebut juga sebagai teknik pengecatan kromosom. Kromosom translokasi ini dapat ditemukan pada korban selamat bom atom Hiroshima dan Nagasaki, dan ternyata frekuensinya tidak berubah dengan berjalannya waktu. Jenis aberasi atau kerusakan kromosom ini juga terjadi pada sumsum tulang.

Karena bentuknya seperti kromosom normal maka sel yang mengandung translokasi akan lolos dalam pembelahan sel dan akan selalu diproduksi kembali.

Teknik pengecatan kromosom ini telah dikembangkan sejak lama di PTKMR BATAN sebagai bagian dari program keselamatan radiasi, khususnya pemantauan bagi para pekerja radiasi dalam hal penerimaan dosis berlebihan baik karena kecelakaan atau sebagai pengecekan silang hasil pemantauan dosis radiasi dengan metode fisika seperti *personal dosimeter* (TLD).

Pengukuran besar dosis secara potensial menjadi bagian penting dan integral dari metode biodosimetrik yang digunakan dalam studi jangka panjang risiko kesehatan pasca paparan radiasi. Studi ini bersandar pada estimasi akurat dosis terhadap seluruh atau sebagian tubuh (organ tertentu) dari seseorang untuk memperkirakan risiko terkena kanker. Akan tetapi perkiraan dosis yang didasarkan pada rekonstruksi dosis analitik (yakni menggunakan kurva model respon-dosis) atau pemantauan personal dengan film *badge* memiliki kelemahan terkait ketidak-tentuan dalam pengukurannya. Biodosimetri dapat memperkecil ketidak-tentuan ini dalam studi risiko kesehatan dengan pembenaran/justifikasi perkiraan dosis berbasis model atau menggunakannya untuk mengkaji adanya perbedaan (bias) dalam model dosis. Sementara biodosimetri mulai berperan lebih nyata dalam studi risiko jangka panjang, penggunaannya secara umum masih terbatas karena satu atau lebih faktor seperti tidak adekuatnya batas deteksi, variabilitas yang besar antar-individu, tingginya biaya per-sampel dan bersifat invasif.

Dengan demikian dosimetri yang ideal haruslah memenuhi beberapa persyaratan sebagai berikut :

- Menunjukkan secara nyata penyerapan energi, apapun jenis radiasinya.
- Memiliki sinyal atau tanda yang diakibatkan oleh radiasi yang stabil dalam waktu yang lama (minimal puluhan tahun).
- Spesifik untuk radiasi pengion.

- Memiliki karakteristik yang baik untuk dosis-respon.
- Memiliki variasi antar-individu yang rendah.
- Memiliki dosis minimal yang dapat terdeteksi (dalam orde beberapa puluh mGy) atau paling tidak mampu mengukur dosis serendah yang diterima oleh fraksi substansial dari subyek pada studi epidemiologi.
- Memiliki presisi atau ketepatan yang cukup (moderat) (dalam orde  $\pm 30\%$ ) pada dua kali dosis minimum terdeteksi (dan mungkin lebih baik pada dosis lebih tinggi).
- Memiliki keakuratan yang baik (biasnya rendah).
- Mudah dilakukan di lapangan (*field-friendly*).
- Pengambilan sampelnya (sampling) invasif yang minimal.
- Menghasilkan ukuran yang langsung merefleksikan energi yang terserap dalam jaringan yang dapat diidentifikasi secara tunggal (*single identifiable tissue*).
- Menghasilkan ukuran yang dapat diinterpretasikan untuk merefleksikan dosis dalam organ lain di samping jaringan yang diuji.
- Harga analisisnya murah per-sampel.

Disamping persyaratan ideal di atas, para peneliti juga mengajukan persyaratan yang lain adalah sbb :

- Harus menunjukkan ketergantungannya yang baik pada dosis dengan rentang dosis tertentu yakni mulai dari batas dosis pajanan akibat bekerja (20-30 mSv untuk akut, 50 mSv untuk pajanan kronik) hingga pajanan akibat kecelakaan akibat pajanan dosis beberapa gray.
- Hasilnya harus bermanfaat segera setelah pajanan radiasi (dalam beberapa hari) untuk suatu kasus kecelakaan.
- Efeknya harus permanen. Jika tidak permanen maka harus diketahui ketergantungannya pada waktu (menghilang dengan waktu). Waktu yang diperlukan untuk pengukuran juga harus dalam rentang waktu tertentu.

- Paparan sebagian tubuh harus dapat terdeteksi, terlebih lagi untuk paparan lokal dimana tempatnya harus tepat.
- Metodenya harus dapat digunakan untuk paparan kronis maupun terfraksionasi.
- Semua kualitas radiasi harus dicakup oleh metode ini, terutama paparan akibat pengemisi interna yang harus terukur.
- Evaluasi harus mudah dan cepat atau dapat ditransfer ke suatu mesin.

Hasil pengkajian berbagai literatur menunjukkan bahwa dosis yang diperkirakan berdasarkan translokasi adalah lebih rendah dari yang diprediksi dari kurva kalibrasi. Variasi antar-individu dari translokasi ini diketahui tinggi. Kegunaan FISH sebagai suatu biosimeter juga terbatas dalam kurun waktu <10 tahun setelah paparan terbagi (protraksi) tingkat tinggi.

### **FISH DALAM ANALISIS SITOGENETIK**

Analisis sitogenetika klasik sudah mulai digantikan oleh teknik yang disebut *in situ hybridization* (ISH) yang merupakan teknik sitokimia untuk analisis sekuen DNA atau RNA suatu organisme. ISH ini sudah banyak digunakan dan merupakan teknik yang sangat penting dalam berbagai penelitian molekuler. Teknik ini memungkinkan untuk menentukan lokasi fisik sekuen DNA di dalam kromosom dengan tepat. Dengan prosedur ini dapat menggunakan sinyal berpendar yang akan mengidentifikasi sekuen, kromosom, segmen kromosom yang spesifik atau seluruh set kromosom dengan gambaran yang mudah dilihat dengan baik.

Teknik ISH telah mengalami berbagai macam modifikasi, salah satunya adalah dengan menggunakan suatu molekul yang berpendar. Lokasi yang diberi molekul tersebut nantinya akan berpendar dan dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop fluoresens. Hal inilah yang membuat lokasi fisik gen pada kromosom dapat dengan tepat diketahui. Teknik ini biasa disebut sebagai FISH. Teknik ini lebih cepat dibandingkan dengan teknik ISH dalam

mendeteksi lokasi gen atau DNA, memiliki resolusi yang tinggi, dan sensitif.

Terdapat 2 metode pewarnaan dalam FISH, yaitu metode langsung dan metode tidak langsung. Metode langsung adalah dengan menggunakan nukleotida berlabel fluorochrome sebagai penanda probe, sedangkan metode tidak langsung adalah metode yang menggunakan biotin, digoxigenin, dan dinitrophenol sebagai reporter molekul yang akan terdeteksi oleh fluorochrome-conjugated avidin atau antibodi. Metode langsung tidak menggunakan imunokimia sehingga dapat lebih cepat dan menghasilkan resolusi yang baik.

Berikut adalah tahapan atau komponen dalam teknik FISH.

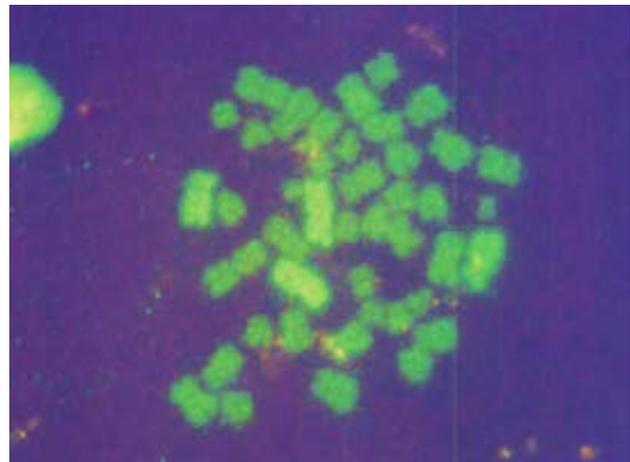
1. *Probe* dan labeling. Probes untuk FISH harus spesifik, sensitif, dan mudah masuk ke dalam jaringan. Terdapat tiga tipe probe, yaitu oligonucleotide, *double-stranded* DNA, dan *single-stranded* DNA. Tipe probe oligonucleotide berukuran antara 15 dan 30 bp. Probe yang pendek dapat lebih mudah mengakses target, tetapi hanya dapat membawa sedikit label. Terdapat dua cara dalam melakukan labeling, yakni cara langsung atau cara tidak langsung. Cara langsung lebih umum digunakan karena lebih cepat, murah, dan mudah.
2. *Fluorescent dyes*. Pewarna yang umum digunakan adalah turunan dari fluoresens (fluorescein-isothiocyanate, 5-(6) carboxy fluorescein-N-hydroxyuccimide-ester) dan turunan dari rodamine (Tetramethyl-rhodamine-isothiocyanate, texas red) dan baru-baru ini menggunakan pewarna cyanine seperti Cy3 dan Cy5. Pendaran berwarna biru dapat dihasilkan oleh diamidines aromatic seperti 4,6-diamidino-2-phenylidole dihydrochloride (DAPI).
3. Fiksasi. Fiksasi dapat dibantu dengan menggunakan agen pengendap seperti etanol dan metanol, agen *cross-linking* seperti aldehid, atau kombinasi antara keduanya. Fiksasi yang baik sangat menentukan hasil analisis FISH. Fiksasi yang baik harus bisa

mendapatkan penetrasi *probe* yang baik, semaksimal mungkin dalam menyimpan RNA target, dan menjaga keutuhan sel dan morfologinya. Pada umumnya untuk fiksasi digunakan larutan 3-4 % (v/v) formaldehid atau paraformaldehid atau etanol (50%), campuran etanol:formalin (9:1) atau perlakuan pemanasan.

4. Preparasi spesimen dan *pre-treatment*. Spesimen yang lebih baik dapat diperoleh dengan memberikan agen pelapis pada permukaannya. Bahan kimia yang dapat digunakan diantaranya adalah gelatin. Pra perlakuan yang dapat dilakukan diantaranya adalah dengan perlakuan enzimatis dengan isozyme dan lysostaphin. Prosedur pra perlakuan dapat meningkatkan kemampuan *probe* untuk mengakses target dan mengurangi *banding* yang tidak spesifik.
5. Hibridisasi. Hibridisasi harus dilakukan dalam kondisi yang tepat. Hibridisasi merupakan langkah yang penting dalam prosedur FISH. Hibridisasi dilakukan di *chamber* yang gelap dan lembab. Temperatur yang digunakan antara 37–50°C. Waktu yang digunakan bervariasi antara 30 menit sampai beberapa jam. Kemudian dibilas dengan air destilasi. Untuk mengurangi jumlah zat beracun dapat digunakan larutan garam atau formamide. Dan akhirnya, slide dibilas kembali dengan air dingin, kemudian dikeringkan dan didokumentasi.

Prosedur FISH yang dipergunakan di BATAN telah diulas oleh Lusiyanti dkk (2006) yang menjelaskan bahwa secara umum, proses FISH diawali dengan dehidrasi slide yang telah ditetesi larutan kromosom metafase ke dalam larutan serial etanol 70%, 90% dan 100% selama waktu tertentu. Selanjutnya slide dikeringkan (*aged*) di atas *hot-plate* suhu 65°C selama 1,5 jam. Di lain pihak *whole chromosome probe* sebanyak 1 µl dalam *buffernya* divortex dan disentrifuse kemudian didenaturasi pada suhu 65°C dan disimpan dalam *water-bath* suhu 37°C selama 45 menit (30-60 menit). Slide berisi

kromosom didenaturasi dengan menginkubasinya dalam larutan formamida dalam *water-bath* suhu 65°C selama 1,5 menit dan dicuci berturut-turut dengan serial alkohol 70% dingin, 90% dua kali dan 100% selama 5 menit. Proses hibridisasi dilakukan dengan meneteskan *probe* pada slide yang telah didenaturasi kemudian ditutup dengan coverslip serta bagian pinggirnya diolesi lem kuning untuk mencegah udara masuk (penguapan). Slide diletakkan dalam kotak (*lunch box*) berwarna gelap dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Setelah proses hibridisasi, coverslip dibuka dan slide direndam dalam *water-bath* suhu 45°C selama 30 menit. Selanjutnya direndam berturut-turut dalam kopleng jar berisi *stringency wash solution* dua kali, larutan 1x SSC dua kali dan akhirnya larutan detergen selama 4 menit. Setelah dikeringkan, slide ditetesi dengan DAPI dan pengamatan translokasi dilakukan di bawah mikroskop *epi-fluorescence*. Prosedur teknik FISH dapat berbeda-beda bergantung pada produsen *probe* kromosom yang digunakan. Hasil pengecatan kromosom dengan FISH di BATAN untuk tahap awal perkembangannya dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengembangan teknik FISH tahap awal di PTKMR BATAN.

Prosedur FISH juga telah banyak mengalami modifikasi. Hal ini sangat bergantung pada tujuan yang ingin dicapai oleh masing – masing peneliti. Modifikasi-modifikasi tersebut

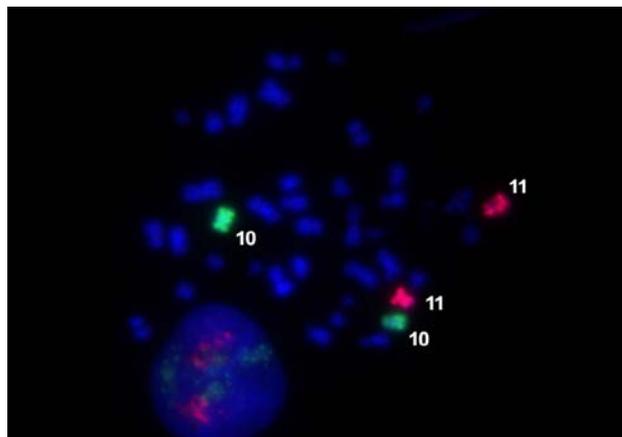
diantaranya adalah : 1) Tyr-FISH, 2) Three-dimensional FISH using *optical-sectioning microscopy*, 3) *FISH on super-stretched chromosomes*, dan 4) FISH on DNA fibers.

Teknik pengecatan kromosom di PTKMR saat ini dilakukan dengan probe *XCyting Chromosome Paints* (XCP 10 green dan XCP 11 Orange) dengan counterstain DAPI dari produk MetaSystems (Gambar 3). Prosedur pengecatan dengan produk metasistem lebih mudah dibandingkan metode sebelumnya (ID Labs). Perbedaannya adalah slide tidak perlu didehidrasi dalam larutan seri alkohol maupun dihangatkan (*aged*) di atas *hotplate*. Probe juga tidak perlu didenaturasi tersendiri, melainkan probe langsung ditetaskan pada slide kemudian dilakukan denaturasi di atas *hotplate* bersamaan pada suhu 75°C selama 2 menit.

Secara berurutan pengecatan kromosom menggunakan produk metasystem adalah sebagai berikut: suspensi sel ditetaskan pada slide kemudian dikeringkan pada suhu ruang, dilakukan penandaan pada area yang akan ditetesi dengan probe *XCyting Chromosome paints*. Ditetaskan 5-10 µl *mixed probe* pada area yang telah ditandai kemudian ditutup dengan coverslip ukuran 22x22 mm<sup>2</sup> dan direkatkan dengan *rubber cement* di sekeliling coverslip. Selanjutnya slide didenaturasi diatas *hotplate* pada suhu 75°C selama 2 menit. Inkubasi slide dilakukan dalam kotak plastik dengan suasana lembab pada suhu 37°C dalam inkubator selama kurang lebih 16 jam (*overnight*). Setelah proses hibridisasi, coverslip dibuka perlahan dan selanjutnya slide dicuci dalam larutan 0,4xSSC pH 7-7,5 pada suhu 72°C selama 2 menit, proses pencucian ini dilakukan dalam *water-bath* untuk menjaga kestabilan suhu larutan SSC. Proses pencucian slide dilanjutkan pada suhu ruang dalam larutan 2xSSC 0,05% Tween 20 pH 7 selama 30 detik, dan terakhir slide dibilas dalam air destilasi kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Slide yang telah dikeringkan ditambahkan DAPI pada area yang telah ditandai, selanjutnya DAPI diratakan serta ditutup dengan coverslip. Slide disimpan pada tempat gelap selama 10 menit kemudian

dilakukan pengamatan kromosom dengan mikroskop *fluorescence*. Selain lebih praktis, hasilnya pun lebih baik daripada sebelumnya.

Hasil pengecatan kromosom dengan FISH ini kemudian dapat diamati dan diambil gambarnya untuk sejumlah besar sel metafase dan dalam waktu yang lebih cepat menggunakan peralatan otomatis yang dimiliki PTKMR yakni *slide scanning system* atau *metaphase finder*.



Gambar 3. Hasil pemotretan kromosom dalam tahap metafase yang dipulas (*paint*) dengan FITC untuk kromosom nomor 10 dan Texas Red untuk kromosom nomor 11 menggunakan prosedur teknik FISH terbaru.

## PENUTUP

Sejumlah komponen biologik dalam tubuh akan mengalami perubahan setelah pajanan radiasi sebagai akibat langsung dari kerusakan radiasi dan sebagai respon untuk proses perbaikan atau regenerasi sel. Perubahan ini dapat dijadikan sebagai petanda tentang besarnya risiko yang akan dialami seseorang setelah pajanan radiasi. Sejumlah respon atau proses biologik seperti perbaikan sel juga berperan dalam menentukan risiko ini.

BATAN adalah salah satu instansi pemerintah yang antara lain bertanggung jawab dalam memberikan saran/masukan/informasi serta penelitian dan pengembangan tentang bahaya radiasi, juga informasi tentang risiko akibat pajanan radiasi yang dapat mengarah pada pembentukan sel kanker. Salah satunya adalah dengan mengembangkan biodosimetri yakni memperkirakan dosis (serap) radiasi dengan

mengukur perubahan yang terjadi akibat radiasi pada tubuh manusia. Hal ini dipertegas lagi dengan kenyataan bahwa dosimetri fisik tidak dapat diandalkan secara sendirian. Dengan kelebihan dan kekurangannya, teknik FISH yang antara lain untuk mendeteksi kromosom translokasi (perpindahan segmen) senantiasa dikembangkan di PTKMR, baik teknik preparasi maupun peralatannya, meskipun saat ini masih diperlukan kemampuan dalam meng-interpretasi data translokasi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- DEVI, J., KO, J.M., SEO, B. B., FISH and GISH: Modern cytogenetic techniques. *Indian Journal of Biotechnology*, 4, 307-315, 2005.
- HALL, E.J., *Radiobiology for the Radiologist*, Edisi keempat, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia USA, 1994.
- HANDE, M.P., AZIZOVA, T.V., BURAK, L.E., KHOKHRYAKOV, V.F., GEARD, C.R., BRENNER, D.J., Complex chromosome aberrations persist in individuals many years after occupational exposure to densely ionizing radiation: an mFISH study, *Genes Chromosomes Cancer*, 44, 1–9, 2005.
- ICRU, Retrospective assessment of exposures to ionizing radiation Report. 68, No. 2. Bethesda, MD: International Commission on Radiation Units and Measurements; 2002.
- JIANG, J. and GILL, B.S., Current status and the future of hybridization (FISH) in plant genome research, *Genome*, 49, 1057-1068, 2006.
- KATO, A., VEGA, J. M., HAN, F., LAMB, J. C. and BIRCHLER, J.A., Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques, *Current Opinion in Plant Biology*, 8, 148-154, 2005.
- LUSIYANTI, Y., INDRAWATI, I., PURNAMI, S., Pengenalan teknik FISH untuk deteksi aberasi kromosom translokasi akibat radiasi pengion. *Buletin ALARA*, 8 (2), 53 – 63, 2006.
- SIMON, S.L., BOUVILLE, A., and KLEINERMAN, R., Current use and future needs of biodosimetry in studies of long-term health risk following radiation exposure, *Health Phys.* 98(2), 109–117, 2010.