

**PERBANDINGAN EFEK RADIASI SINAR GAMMA DOSIS TUNGGAL DAN
FRAKSINASI TERHADAP APOPTOSIS ENTEROSIT DUODENUM TIKUS
PUTIH DENGAN PARAMETER GAMBARAN HISTOPATOLOGI**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

**Hervi Laksari Fitri Ari
NIM: 0910713045**

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PERBANDINGAN EFEK RADIASI SINAR GAMMA DOSIS TUNGGAL DAN
FRAKSINASI TERHADAP APOPTOSIS ENTEROSIT DUODENUM TIKUS
PUTIH DENGAN PARAMETER GAMBARAN HISTOPATOLOGI

Oleh:

Hervi Laksari Fitri Ari
NIM : 0910713045

Telah diuji pada :

Hari : Jumat
Tanggal : 15 Februari 2013
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Endang Asmaningsih, MS
NIP. 080943206

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Dr. dr. Yuyun Yueniwati, M.Kes, Sp.Rad

dr. Rachmad Sarwo Bekti

NIP. 19681031 199601 2 001

NIP. 19810619 200812 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono DTM & H, MSc, SpPark

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul "Perbandingan Efek Radiasi Sinar Gamma Dosis Tunggal dan Fraksinasi Terhadap Apoptosis Enterosit Duodenum Tikus Putih Dengan Parameter Gambaran Histopatologi".

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy) dan radiasi dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy) terhadap apoptosis enterosit duodenum tikus putih.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dr. dr. Yuyun Yueniwati, M.kes, Sp.Rad, sebagai dosen pembimbing pertama yang sabar membimbing dan mengarahkan dalam proses penulisan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. dr. Rachmad Sarwo Bekti, sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing penulisan serta analisis data sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Dr. Endang Asmaningsih, MS, sebagai ketua tim penguji Tugas Akhir.
5. Para staf laboratorium yang ikut berperan dalam penelitian Tugas akhir ini khususnya Pak Soni, Mas Antok, Mas Mijan, Mbak Vindy, Mas Memed dan Ibu Ferrida.

5. Yang tercinta keluarga saya, Bapak Sugeng Hariyadi, Ibu Nurchasanah dan Nizar Premadia Satria atas segala pengertian, kasih sayang dan dukungannya kepada saya selama penulisan Tugas Akhir Ini.
6. Teman-temanku yang tergabung dalam Anak Gaul Radiologi (Claurita, Nadhila, Iraky, Pratiwi, Icha, Nisak, Alwita dan Jodi) atas kerjasama, saran, dan masukan yang telah diberikan.
7. Sahabat-sahabatku Ema, Puri, Riris, Ina, Donabella, dan Putri atas dukungan yang telah diberikan.
8. Para penghuni kost Andong Raya : Cece, Nisa, Mila, Uci, Mbak Devi, Mbak Arum, Della, Ellen, Feby dan Prisky yang sabar mendengarkan cerita dan keluh kesah penulis.
9. Teman-teman KBI 2009 dan PD FKUB 2009 atas segala dukungan yang telah diberikan.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 27 Januari 2013

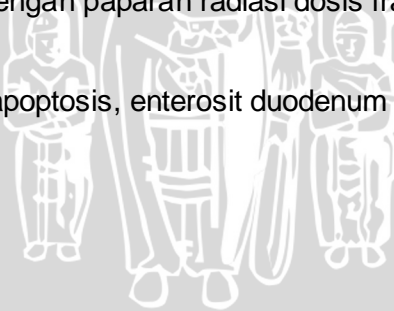
Penulis

ABSTRAK

Ari, H. L. F. 2013. *Perbandingan Efek Radiasi Sinar Gamma Dosis Tunggal dan Fraksinasi Terhadap Apoptosis Enterosit Duodenum Tikus Putih Dengan Parameter Gambaran Histopatologi*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Yuyun Yueniwati, Mkes, SpRad. (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti.

Paparan radiasi sinar gamma dapat merusak DNA melalui pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan peroksidasi lemak dan stress oksidatif. Kerusakan DNA yang parah dapat menyebabkan kematian sel yaitu apoptosis. Pengecatan *Hematoxyllin Eosin* merupakan standar untuk melakukan pengamatan morfologi sel apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy) dan radiasi dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy) terhadap apoptosis enterosit duodenum tikus putih. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni yang menggunakan *post test only control group design* dilakukan pada hewan coba tikus putih (*Rattus Norvegicus var. Wistar*) jantan. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I (kontrol, n = 8), kelompok II (radiasi dengan dosis tunggal, n = 9) dan kelompok III (radiasi dengan dosis fraksinasi, n = 9). Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan persentase morfologi sel apoptosis yang signifikan ($p = 0,000$) pada radiasi dosis fraksinasi dan dosis tunggal. Apoptosis pada dosis tunggal meningkat secara signifikan jika dibandingkan dengan dosis fraksinasi ($p = 0,001$). Disimpulkan bahwa terjadi peningkatan jumlah apoptosis enterosit duodenum tikus putih dengan paparan radiasi dosis tunggal jika dibandingkan dengan paparan radiasi dosis fraksinasi.

Kata kunci : sinar gamma, apoptosis, enterosit duodenum

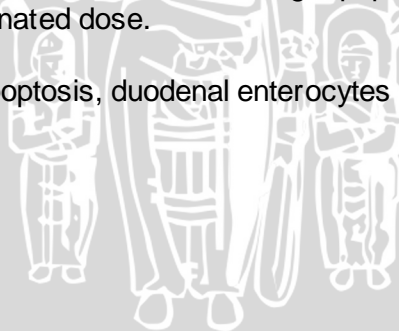


ABSTRACT

Ari, H. L. F. 2013. *Comparisson of Gamma Radiation Effect in Single and Fractionated Dose Toward Apoptosis of Duodenal Enterocytes of White Rats Using Histopathological Morphology*. Final Assigment, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Yuyun Yueniwati, Mkes, SpRad. (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti.

Ionizing radiation exposure of gamma rays can damage DNA through the formation of free radicals that can cause lipid peroxidation and oxidative stress. Severe DNA damage lead to cell death, that is apoptosis. *Hematoxyllin Eosin* staining is a standard for observing the morphology of apoptotic cells. This study is intended compare the gamma radiation effect in single dose of 10 Gy (1 x 10 Gy) and fractionated dose (5 x 2 Gy) toward apoptosis of duodenal enterocytes of white rat. This research was designed experimental research using post test only with control group which used male white rat (*Rattus norvegicus var. Wistar*) as the subject samples. The samples were divided into 3 groups: group I (control, n = 8), group II (single dose of radiation, n = 9) and group III (fractionated dose of radiation, n = 9). The results showed an increase in the percentage of apoptotic cells morphology significantly ($p = 0.000$) both in single and fractionated dose of radiation. Apoptosis in single dose increased significantly when compared with the fractionated dose ($p = 0.001$). It is concluded that exposure of gamma ray radiation with single dose had more increasing apoptotic cells of duodenal enterocytes than the fractionated dose.

Keywords: gamma rays, apoptosis, duodenal enterocytes



DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar isi.....	vii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Radiasi.....	7
2.1.1 Radiasi Ionisasi	7
2.1.1.1 Sinar Gamma.....	9
2.1.2 Manfaat dan Bahaya Radiasi Ionisasi	11
2.1.3 Metode Radiasi	12



2.1.3.1	Radiasi Eksterna.....	13
2.1.3.2	Brakiterapi	13
2.1.3.3	Kombinasi Radiasi Eksterna dan Brakiterapi	14
2.1.4	Dosis Radiasi.....	15
2.1.5	Radiosensitivitas	17
2.1.5.1	Radiosenstivitas pada Siklus Sel	17
2.1.5.2	Radiosensitivitas pada Jaringan Normal	19
2.1.6	Efek Radiasi pada Hewan percobaan.....	21
2.1.7	Mekanisme Radiasi terhadap Sel Tubuh.....	21
2.1.7.1	Efek Langsung.....	22
2.1.7.2	Efek Tidak Langsung.....	23
2.1.8	Efek Biologis Radiasi.....	24
2.2	Usus Halus	25
2.2.1	Anatomi dan Histologi Usus Halus	25
2.2.1.1	Anatomi Usus Halus	25
2.2.1.2	Histologi Mukosa Usus Halus	26
2.2.2	Fisiologi Usus Halus	28
2.3	Apoptosis	29
2.3.1	Apoptosis pada Epitel Usus Halus	29
2.3.2	Apoptosis Sel Epitel Usus Halus Akibat Radiasi	31
2.4	Efek Sinar Gamma terhadap Usus Halus	32

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konsep	34
3.2	Hipotesis Penelitian	36



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1	Rancangan Penelitian	37
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian.....	38
	4.2.1 Populasi Hewan Coba	38
	4.2.2 Sampel Penelitian	38
4.3	Variabel Penelitian	39
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	40
	4.4.1 Lokasi Penelitian	40
	4.4.2 Waktu Penelitian.....	41
4.5	Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian	41
	4.5.1 Bahan Penelitian	41
	4.5.2 Pakan dan Air Minum	42
	4.5.3 Instrumen Penelitian.....	42
	4.5.3.1 Kandang Tikus	42
	4.5.3.2 Alat Fiksasi	43
4.6	Definisi Operasional	44
4.7	Prosedur Penelitian	45
	4.7.1 Adaptasi Hewan Coba	45
	4.7.2 Fiksasi Hewan Coba	45
	4.7.3 Proses Radiasi Sinar Gamma	45
	4.7.4 Euthanasia	46
	4.7.5 Pembedahan dan Pengambilan Organ	47
4.8	Alur Penelitian dan Pengumpulan Data	48
4.9	Analisis Data	49
4.10	Jadwal Penelitian.....	50



BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1	Hasil Penelitian.....	53
5.1.1	Hasil Pewarnaan HE	53
5.1.2	Hasil Penghitungan Apoptosis Index pada Enterosit Duodenum	55
5.2	Analisa Data.....	57
5.2.1	Uji Normalitas	57
5.2.2	Uji Deskriptif	57
5.2.3	Uji Homogenitas	58
5.2.4	Uji <i>One Way ANOVA</i>	58
5.2.5	Uji <i>Post Hoc Tukey HSD</i>	59
5.2.6	Uji <i>Homogeneous Subsets</i>	60

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1	Efek Sinar Gamma terhadap Apoptosis Enterosit Duodenum	65
6.2	Implikasi terhadap Bidang Kedokteran.....	68

BAB 7 PENUTUP

7.1	Kesimpulan	70
7.2	Saran.....	70

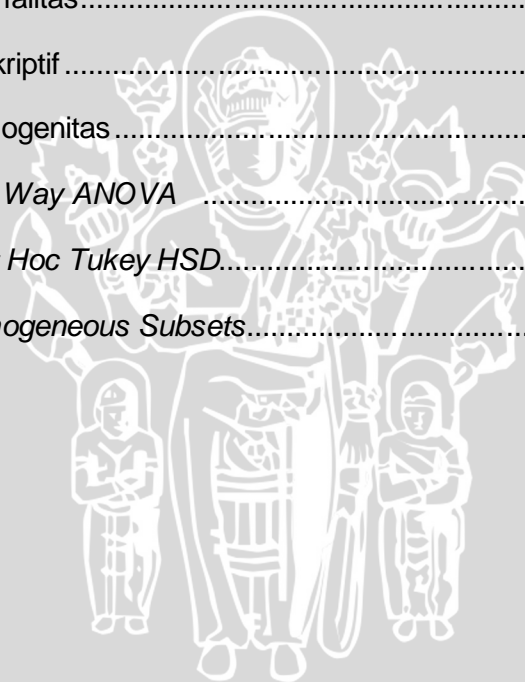
DAFTAR PUSTAKA	71
-----------------------------	----

LAMPIRAN	76
-----------------------	----



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Karakteristik Radiasi Nuklear	11
Tabel 2.2 Radiosensitivitas Organ dan Jaringan	20
Tabel 2.3 Perbedaan Karakteristik Nekrosis dan Apoptosis	29
Tabel 4.1 <i>Depth Dose</i> dan Lama Penyinaran Kelompok Hewan Coba	46
Tabel 4.2 Jadwal Kegiatan Penelitian	50
Tabel 5.1 Persentase <i>Apoptosis Index</i>	56
Tabel 5.2 Uji Normalitas	57
Tabel 5.3 Uji Deskriptif	58
Tabel 5.4 Uji Homogenitas	58
Tabel 5.5 Uji <i>One Way ANOVA</i>	59
Tabel 5.6 Uji <i>Post Hoc Tukey HSD</i>	60
Tabel 5.7 Uji <i>Homogeneous Subsets</i>	61



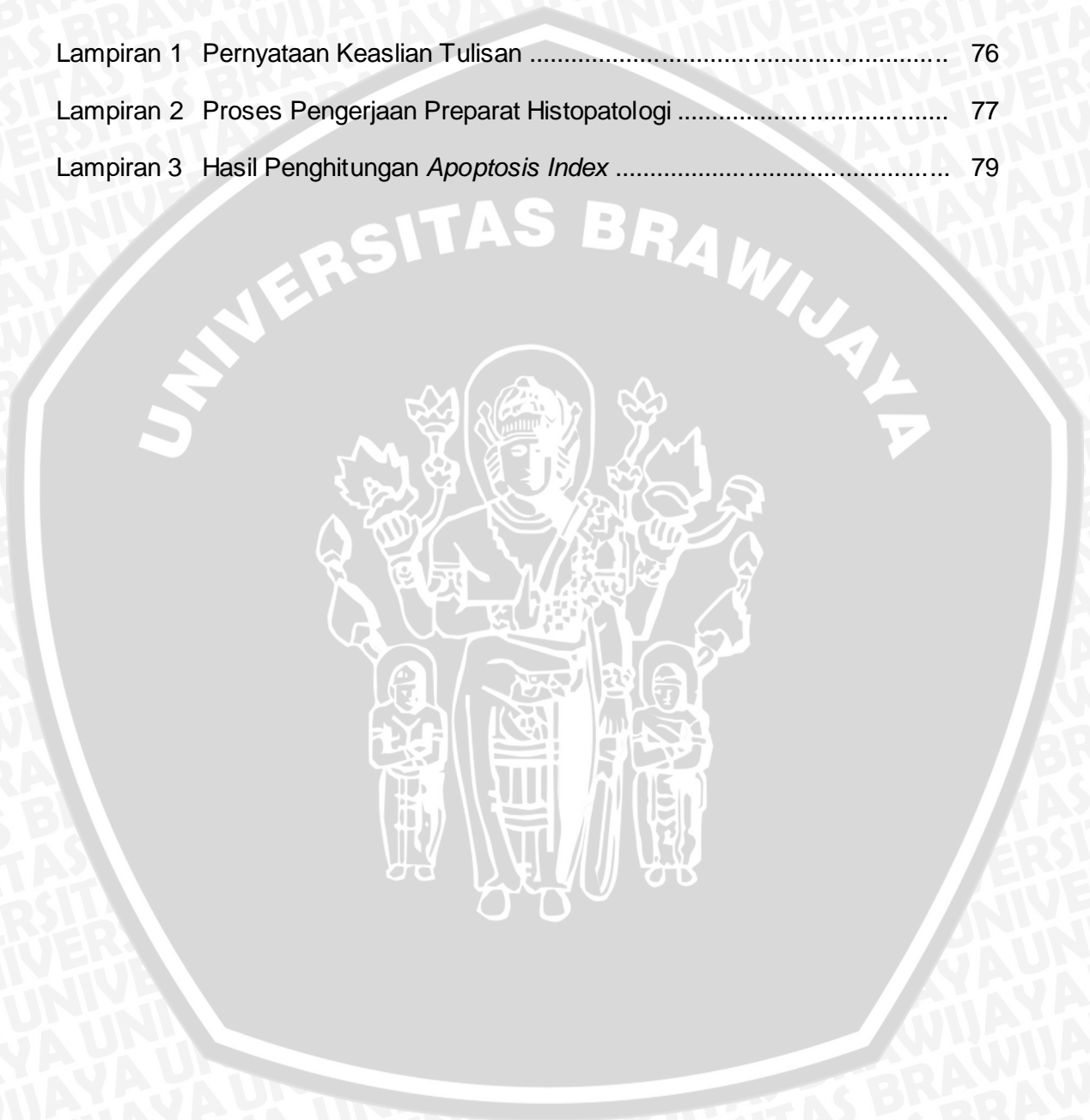
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Radiasi Ionisasi	9
Gambar 2.2 Siklus Sel pada Sel Mamalia	19
Gambar 2.3 Histologi Duodenum Normal.....	28
Gambar 2.4 Regulasi Proses Apoptosis Sel Epitel Instestinal yang Normal	31
Gambar 4.1 True Experimental Design	37
Gambar 4.2 Kandang Tikus	43
Gambar 4.3 Alat Fiksasi Hewan Coba.....	43
Gambar 4.4 Euthanasia Hewan Coba	47
Gambar 4.5 Pembedahan dan Pengambilan Organ Hewan Coba	47
Gambar 4.6 Alur Penelitian	48
Gambar 5.1 Apoptosis Enterosit Duodenum pada Kelompok I	53
Gambar 5.2 Apoptosis Enterosit Duodenum pada Kelompok II	53
Gambar 5.3 Apoptosis Enterosit Duodenum pada Kelompok III	54
Gambar 5.4 Grafik Persentase <i>Apoptosis Index</i>	56



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan	76
Lampiran 2	Proses Pengerjaan Preparat Histopatologi	77
Lampiran 3	Hasil Penghitungan <i>Apoptosis Index</i>	79



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan penggunaan radiasi di bidang kedokteran menunjukkan peningkatan yang pesat. Pemanfaatan radiasi dan radioisotop merupakan salah satu kegiatan di bidang kedokteran, terutama kedokteran nuklir dan bidang radiologi (Suyatno, 2010). Dalam dunia kedokteran, radiasi digunakan sebagai alat penunjang diagnostik serta terapi kanker. Penggunaan radiasi untuk terapi keganasan dikenal dengan istilah radioterapi. Ada dua macam pemberian radioterapi yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Radiasi dosis tunggal dapat digunakan untuk terapi paliatif pada kasus metastasis tulang (Lutz *et al.*, 2011) sedangkan dosis fraksinasi dapat digunakan untuk terapi kuratif maupun terapi paliatif pada beberapa kasus kanker (Susworo, 2007). Dosis harian fraksinasi konvensional sekitar 1,8 - 2 Gy/hari, diberikan 5 hari dalam 1 minggu dengan dosis mingguan sekitar 9 - 10 Gy (Joiner dan Kogel, 2009).

Saat ini kanker menduduki peringkat kedua dalam kategori penyakit tidak menular yang menjadi penyebab kematian di Indonesia (Amirullah, 2011). Prof. Dr. dr. med. Akmal Taher, SpU(K), dalam acara jumpa pers usai membuka *Regional Training Course on Introduction to Image-Based Radiotherapy* di RSCM Jakarta, 23 Mei 2011 menyatakan bahwa diperkirakan 60 - 70% penderita kanker memerlukan pengobatan radiasi. Dengan estimasi angka kejadian kanker di Indonesia pertahun 200.000 kanker baru, maka jumlah pasien kanker yang

mempunyai kebutuhan terapi radiasi mencapai 140.000 kasus per tahun, terutama kanker mulut rahim, kanker payudara, dan kanker nasofaring (Depkes, 2011). Menkes Endang Rahayu mengungkapkan bahwa sekitar 70% kasus kanker ditemukan pada stadium lanjut (Anna, 2011). Pada stadium lanjut, sel-sel kanker telah menyebar ke bagian tubuh lain sehingga pembedahan tidak dapat dilakukan lagi (Bellmunt *et al.*, 2010).

Terapi radiasi merupakan salah satu modalitas dalam pengobatan kanker selain pembedahan, kemoterapi, dan terapi kombinasi. Salah satu jenis radiasi yang sering digunakan dalam pengobatan kanker adalah radiasi elektromagnetik (Joiner dan Kogel, 2009). Sinar yang menghasilkan radiasi elektromagnetik di antaranya adalah sinar gamma. Sinar gamma merupakan penghasil radiasi ionisasi tidak langsung karena tidak menghasilkan kerusakan kimiawi dan biologi molekul secara langsung tetapi menghasilkan partikel bermuatan setelah energi terserap dalam benda (International Atomic Energy Agency, 2010).

Dikenal dua macam metode penggunaan radioterapi, yaitu sinar ekterna dan brakhiterapi dengan pilihan tergantung pada jenis dan lokasi tumor. Radiasi ekterna merupakan metode pemberian radiasi dengan sumber radiasi terletak pada suatu jarak tertentu dari tubuh pasien (Susworo, 2007) sedangkan brakhiterapi merupakan metode pemberian radiasi dengan menggunakan sumber radioaktif yang tertutup yang diletakkan dengan jarak cukup dekat dengan volume target (Levitt *et al.*, 2006). Radioterapi dengan sinar ekterna sering diberikan dengan dosis fraksinasi harian sebesar 1,8 - 3 Gy/hari selama 5 - 8 minggu (International Atomic Energy Agency, 2010).

Radiasi dapat menyebabkan kerusakan sel dengan berbagai mekanisme. Sinar gamma terutama merusak jaringan melalui pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan peroksidasi lemak dan stress oksidatif (Aghazadeh *et al.*, 2007). Terbentuknya radikal bebas dan terionisasinya molekul oksigen mengakibatkan kerusakan DNA (Burnham, 2001). DNA sel kanker yang rusak mengakibatkan sel berhenti membelah dan mati yang selanjutnya dihilangkan melalui proses alami tubuh (National Cancer Institute, 2010). *Double Strand Break* merupakan kerusakan DNA yang paling berbahaya (Khanna dan Jackson, 2001). Kerusakan DNA yang parah dapat menyebabkan kematian sel yang dapat terjadi pada sel kanker maupun jaringan normal di sekitar.

Efek radiasi pada jaringan normal bervariasi. Jaringan yang berespon cepat terhadap radiasi adalah sel-sel yang aktif membelah, meliputi sel-sel hematopoetik dan jaringan epitel. Sedangkan jaringan yang berespon lambat terhadap radiasi adalah sel yang memiliki *turn over* yang lambat seperti jaringan ikat (Joiner dan Kogel, 2009). Epitel usus halus merupakan salah satu jaringan yang memiliki *turn over* sangat cepat di antara jaringan mamalia yang lain (Watson dan Pritchard, 2000). Lapisan mukosa usus halus merupakan area yang radiosensitif sehingga beresiko terjadi sindroma akut dalam beberapa hari setelah terapi (Lyer dan Jhingran, 2006).

Paparan sinar radiasi pada regio abdomino-pelvis selama radioterapi dapat menimbulkan efek samping yang membatasi tujuan utama terapi. Gejala muncul ketika jaringan yang fungsional kehilangan sebagian sel dan tidak digantikan karena terjadi kerusakan kompartemen *stem cell* (Stone *et al.*, 2003). Salah satu akibat radiasi pada usus halus adalah enteritis akut, dimana terjadi

perubahan siklus *stem cell* kripti usus halus dan hilangnya sebagian struktur mukosa usus halus (MacNaughton, 2000).

Usus halus memiliki peranan yang penting dalam proses pencernaan dan penyerapan makanan. Duodenum merupakan bagian usus halus yang krusial karena hampir sebagian besar enterosit usus halus terdapat lebih banyak pada lapisan mukosa duodenum (Conti *et al.*, 2004). Proses pencernaan makanan secara kimiawi terutama terjadi di enterosit (Waugh dan Grant, 2004). Kerusakan pada usus halus akibat radiasi dengan dosis lebih dari 1 Gy saja dapat mengakibatkan mual, muntah, dan diare (Burnham, 2001).

Untuk mengetahui efek biologis radiasi terhadap duodenum dilakukan pengamatan gambaran histopatologi duodenum setelah diberikan radiasi. Pengamatan difokuskan pada jumlah enterosit duodenum yang mengalami kematian sel yang dikenal sebagai apoptosis. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang fisiologis yang berlangsung secara terprogram dan terjadi melalui proses yang memiliki kaskade yang khas (Kumar *et al.*, 2007).

Dengan melihat fakta-fakta di atas, mengingat besarnya fungsi duodenum dalam proses pencernaan dan penyerapan makanan serta efek negatif radiasi pada jaringan normal, maka penulis ingin membandingkan efek radiasi sinar gamma dosis tunggal dan dosis fraksinasi 10 Gy terhadap apoptosis enterosit duodenum dengan parameter gambaran histopatologi. Selama ini hasil penelitian menunjukkan bahwa radiasi sinar gamma dengan dosis tinggi menyebabkan kerusakan sel yang selanjutnya mengalami kematian sel dan menimbulkan efek samping yang lebih banyak jika dibandingkan dengan dosis rendah (International Atomic Energy Agency, 2010). Oleh karena itu, dipandang perlu untuk mengetahui perbedaan jumlah apoptosis setelah paparan

radiasi dengan total dosis yang sama namun dengan jadwal pemberian yang berbeda.

1.2 Rumusan masalah

Apakah radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy) menyebabkan perbedaan jumlah apoptosis enterosit duodenum tikus putih jika dibandingkan dengan radiasi dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy)?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Membandingkan efek radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy) dan radiasi dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy) terhadap apoptosis enterosit duodenum tikus putih.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menghitung jumlah sel apoptosis enterosit duodenum dengan paparan radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy).
2. Menghitung jumlah sel apoptosis enterosit duodenum dengan paparan radiasi sinar gamma dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy).

1.4 Manfaat

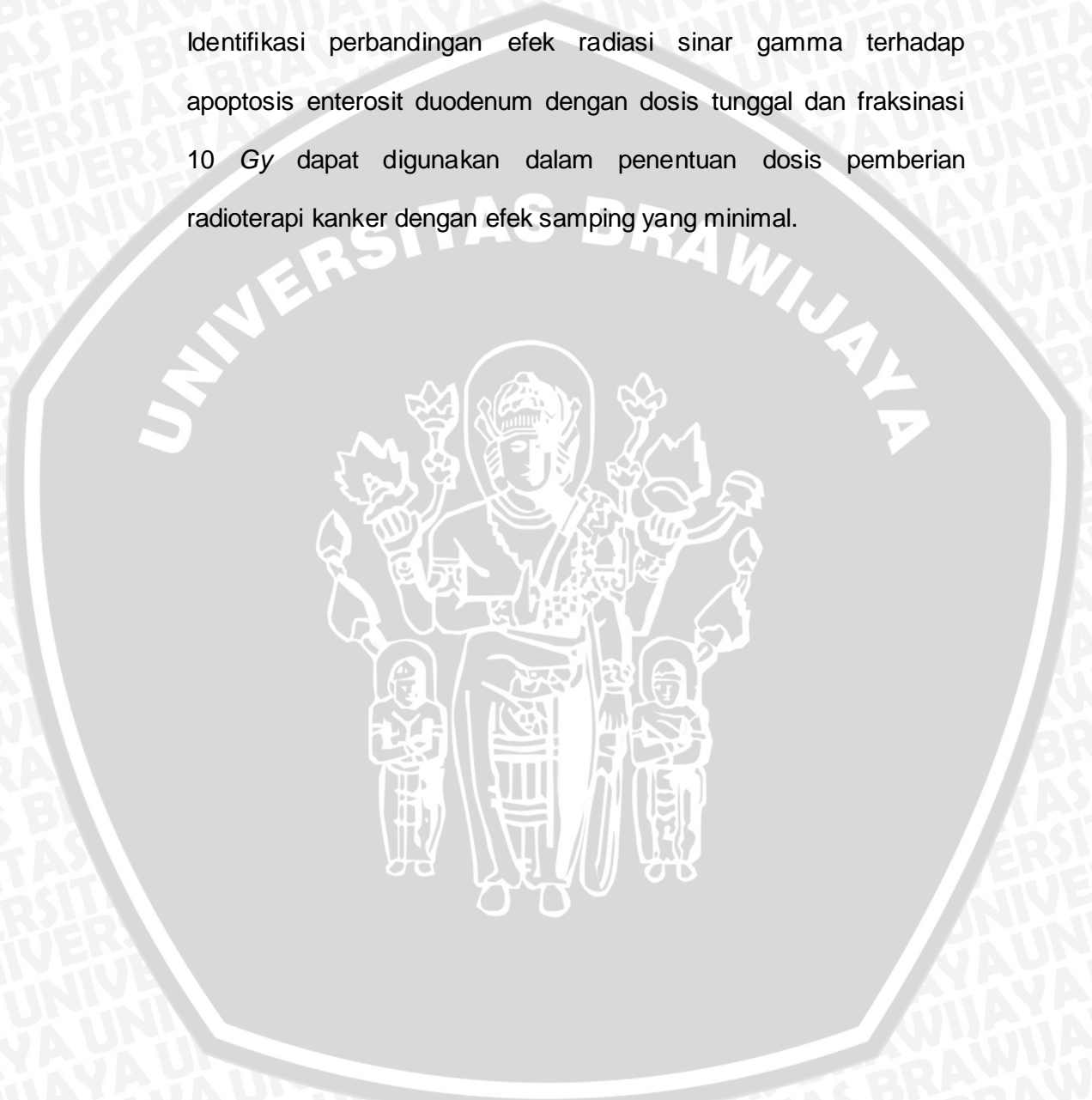
1. Akademis

Identifikasi perbandingan efek kedua macam dosis radiasi sinar gamma terhadap apoptosis enterosit duodenum tikus putih dengan parameter gambaran histopatologi dapat digunakan sebagai data dasar untuk penelitian lebih lanjut dan digunakan untuk

menyempurnakan patogenesis enteritis akut akibat radiasi sinar gamma.

2. Klinik

Identifikasi perbandingan efek radiasi sinar gamma terhadap apoptosis enterosit duodenum dengan dosis tunggal dan fraksinasi 10 Gy dapat digunakan dalam penentuan dosis pemberian radioterapi kanker dengan efek samping yang minimal.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radiasi

2.1.1 Radiasi Ionisasi

Radiasi adalah pancaran energi dari suatu benda dalam bentuk partikel (korpuskuler) dan gelombang elektromagnetik (non korpuskuler) dari sumber radiasi. Radiasi dalam bentuk partikel adalah jenis radiasi yang mempunyai massa terukur berupa partikel, contohnya partikel alpha, beta, dan neutron. Sedangkan radiasi bentuk gelombang elektromagnetik atau foton adalah jenis radiasi yang tidak mempunyai massa dan muatan listrik, seperti radiasi sinar gamma, sinar X, sinar lampu, sinar matahari, radar, dan handphone (Suyatno, 2008). Ketika radiasi menumbuk suatu benda maka akan terjadi suatu interaksi antara radiasi dan benda tersebut. Kemungkinan yang pertama adalah radiasi itu menyebabkan ionisasi atom-atom pada benda sehingga timbul pasangan ion negatif dan ion positif. Kemungkinan yang kedua adalah radiasi tersebut hanya menyebabkan perpindahan elektron ke orbit dengan tingkat energi yang lebih tinggi atau yang dikenal dengan eksitasi (Badan Tenaga Nuklir, 2008).

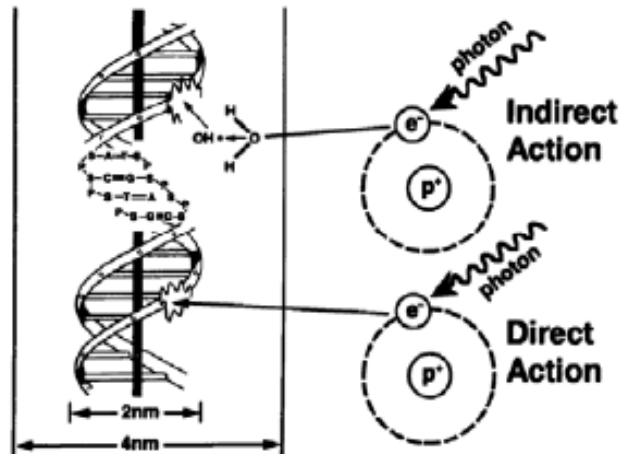
Berdasarkan aksi yang ditimbulkan, radiasi dapat dikategorikan menjadi dua macam yaitu radiasi pengion dan radiasi non pengion. Radiasi pengion didefinisikan sebagai setiap jenis radiasi elektromagnetik atau radiasi partikel yang memiliki energi yang cukup untuk mengionisasi atom atau molekul sehingga elektron dapat keluar dari orbit terluar (Kiang *et al.*, 2010). Menurut sifat

kejadian radiasi pengion, ionisasi dikelompokkan ke dalam ionisasi langsung dan ionisasi tidak langsung. Radiasi ionisasi langsung terdiri dari partikel bermuatan (seperti elektron, proton, partikel alfa, dan partikel berat) yang memiliki energi kinetik yang cukup untuk secara langsung merusak struktur biologi dan kimia molekul. Sebaliknya, radiasi elektromagnetik (seperti : sinar X dan sinar gamma) dan neutron yang terdiri dari partikel yang netral merupakan sumber radiasi ionisasi tidak langsung karena tidak menghasilkan kerusakan kimia dan biologi pada atom secara langsung tetapi menghasilkan partikel bermuatan setelah energi terserap dalam materi tersebut (International Atomic Energy Agency, 2010). Efek langsung dan tidak langsung yang ditimbulkan oleh radiasi ionisasi pada molekul dijelaskan pada gambar 2.1.

Berdasarkan *Linear Energy Transfer* (LET), perhitungan jumlah energi yang terserap pada benda saat dipapar sinar radiasi, radiasi ionisasi dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu radiasi yang memiliki LET rendah dan radiasi yang memiliki LET tinggi. Radiasi LET rendah meliputi sinar gamma, sinar X, dan partikel beta sedangkan yang termasuk radiasi LET tinggi adalah partikel alfa dan neutron serta sinar kosmik partikel berat (Kiang *et al.*, 2010). Radiasi LET tinggi dapat menimbulkan efek samping berupa reaksi akut yang cepat. Sebaliknya, efek radiasi LET rendah pada jaringan dapat ditolerir sehingga organ dapat mengkompensasi fungsi yang hilang dan kerusakan dapat diperbaiki sehingga radiasi LET rendah efektif untuk mengobati tumor (Brahme, 2008).

Jika suatu radiasi tidak dapat mengionisasi atom maka dinamakan radiasi non pengion. Hal ini disebabkan karena radiasi non pengion tidak memiliki energi potensial yang cukup untuk mengionisasi suatu molekul. Beberapa radiasi elektromagnetik yang termasuk radiasi non pengion adalah

radiasi ultraviolet, foton infra merah, gelombang mikro, dan gelombang radio (Podgorsak, 2010).



Gambar 2.1 Radiasi Ionisasi (International Atomic Energy Agency, 2010)

2.1.1.1 Sinar Gamma

Sinar gamma pertama kali ditemukan oleh seorang fisikawan asal Perancis, Henri Becquerel pada tahun 1896. Saat itu Henri berhasil menemukan unsur uranium dapat menembus piringan fotografi melalui kertas buram. Ketika Roentgen menemukan sinar X, Henri menyatakan bahwa Uranium mengemisikan cahaya yang mirip dengan sinar X. Fenomena ini disebut *metallic phosphorescence*. Saat ini sinar yang ditemukan oleh Henri tersebut dikenal dengan sinar gamma (U.S. Environmental Protection Agency, 2011).

Salah satu sumber radiasi yang sering digunakan dalam kedokteran adalah sinar gamma. Sinar gamma dipancarkan oleh sumber radiasi alamiah yang merupakan hasil peluruhan inti atom dari unsur-unsur yang tidak stabil. Sinar gamma sering menyertai emisi partikel alfa atau beta dari inti atom (U.S. Department of Health and Human Services, 2003). Berbagai sumber radiasi isotop yang menghasilkan sinar gamma antara lain ^{60}Co (Kobalt), ^{137}Cs (Sesium),

^{226}Ra (Radium), ^{192}Ir (Iridium) (Susworo, 2007). Dari keempat radioisotop, ^{60}Co adalah yang paling banyak digunakan karena cukup praktis digunakan untuk radioterapi eksternal, mengingat energi foton yang dipancarkan, waktu paruh, aktivitas spesifik, dan produktivitas sinar gamma (Podgorsak, 2005).

Sinar gamma merupakan spektrum radiasi elektromagnetik berkekuatan energi sangat tinggi. Panjang gelombang sinar gamma sekitar 100 *picometers* (100×10^{-12} meter) atau energi per foton minimal sekitar 10 *Kiloelectron Volt* (KeV). Panjang gelombang tersebut jauh lebih pendek jika dibandingkan dengan cahaya tampak (Russel, 2005). Cahaya tampak adalah bagian dari gelombang elektromagnetik yang dapat dideteksi oleh mata manusia yang terdiri dari cahaya ungu, biru, hijau, kuning, oranye dan merah (Madigan, 2011).

Gelombang yang dipancarkan oleh sinar gamma adalah foton sehingga berlaku kaidah umum dari radiasi gelombang elektromagnetik dimana semakin pendek gelombang cahaya (λ) maka semakin kuat daya tembus yang dihasilkan oleh sumber radiasi (International Atomic Energy Agency, 2010). Karakteristik sinar gamma dibandingkan dengan sinar lain dijelaskan pada tabel 2.1. Sinar gamma juga merupakan sumber radiasi pengion dengan LET rendah dimana energi yang terdeposit pada sel dalam jumlah yang relatif rendah (Baskar, 2010) sehingga efek samping akibat radiasi pada jaringan normal di sekitar jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan radiasi pengion dengan LET tinggi.

Tabel 2.1 Karakteristik Radiasi Nuklear (Kiang *et al.*, 2010)

Nama	Massa relative	Muatan listrik	Sumber emisi	Rentang daya tempuh di udara	Penetrasi jaringan	Dapat dihentikan oleh
Alfa	7,300	+2	Uranium dan plutonium yang tidak meluruh	5 cm	Lapisan pertama kulit	Pakaian, kertas
Beta	1	-1	Produk peluruhan	12 m	Beberapa lapisan kulit	pakaian
Gamma	0	0	Produk peluruhan	100 m	Keseluruhan tubuh	Beton dengan ketebalan beberapa kaki (feet)
Neutron	1,830	0	Diemisikan hanya saat proses peluruhan	100 m	Keseluruhan tubuh	Beton dengan ketebalan beberapa kaki (feet)

2.1.2 Manfaat dan Bahaya Radiasi ionisasi

Menurut Podgorsak (2010), radiasi ionisasi yang sering digunakan dalam bidang kesehatan ternyata memiliki beberapa manfaat antara lain:

- Di bidang medis, digunakan untuk modalitas diagnostik radiologi, pengobatan kanker pada radioterapi, dan radiasi darah untuk mencegah *transfusion-associated graft versus host disease* serta sterilisasi peralatan medis.
- Di bidang nuklir, digunakan sebagai dasar penelitian fisika nuklir, memproduksi radionuklida yang digunakan dalam bidang kedokteran dan industri dan juga sebagai pembangkit energi listrik.
- Di bidang industri konstruksi, digunakan untuk mengecek hasil pengelasan pesawat serta pipa minyak dan gas.

- Di bidang pertanian, digunakan untuk mensterilkan hama dengan menggunakan dosis tinggi sehingga dapat mengontrol dan memusnahkan hama serangga.
- Di bidang pengeboran, digunakan untuk memberikan informasi tentang kondisi geologis dan zona hidrokarbon yang dipulihkan melalui lubang bor yang sudah ditanam.
- Di bidang keamanan, digunakan untuk skrining kargo dan koper.

Di satu sisi radiasi memang sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia. Namun di sisi yang lain, efek radiasi dapat membahayakan kesehatan manusia. Radiasi ionisasi memiliki efek yang merugikan yaitu tidak hanya menimbulkan efek biologi pada sel-sel kanker tetapi juga pada sel-sel normal di sekitar. Radiasi dapat mengganggu fungsi normal tubuh manusia mulai dari efek yang ringan hingga efek yang dapat mengancam jiwa. Efek biologis radiasi pada jaringan tergantung pada LET, total dosis yang diberikan, metode pemberian radiasi dan radiosensitivitas sel atau jaringan (Baskar, 2010).

2.1.3 Metode Radiasi

Metode radiasi merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi efek biologi radiasi. Prinsip metode pengobatan dengan sinar radiasi ionisasi adalah dengan memaparkan sinar radioaktif pada jaringan target yaitu sel-sel kanker. Secara umum dikenal dua cara pemberian radiasi pada sel kanker yaitu radiasi eksternal atau teleterapi dan brakiterapi (International Atomic Energy Agency, 2010). Namun Susworo (2007) menyatakan selain dua metode tersebut, ada satu metode lain yang digunakan dalam radioterapi yaitu kombinasi antara radiasi eksternal dan brakiterapi yang dilakukan dengan tujuan untuk

memperoleh dosis yang maksimal pada tumor dan minimal pada jaringan sehat di sekitar.

2.1.3.1 Radiasi Eksterna

Radiasi eksternal merupakan metode pemberian radiasi dengan sumber radiasi terletak pada suatu jarak tertentu dari tubuh pasien. Dengan cara ini, maka radiasi bukan hanya menjangkau kanker primer tetapi juga dapat menjangkau kelenjar getah bening di sekitar yang menjadi potensi utama penyebaran kanker (metastasis). Akibat jangkauan sinar radiasi yang cukup luas, maka jaringan normal di sekitar berisiko terkena dampak negatif radiasi berupa efek akut maupun efek kronis. Oleh karena itu, dosis pemberian radiasi eksternal perlu dibatasi tergantung pada luas lapangan radiasi, organ vital di sekitar, dan radiosensitivitas dari jaringan (Susworo, 2007).

Radiasi eksternal dilakukan dengan lebih dari satu sinar radiasi untuk mencapai suatu distribusi dosis yang seragam pada volume target sel dan memberikan dosis serendah mungkin pada jaringan sehat di sekitar. Radioterapi sinar foton modern dilakukan dengan berbagai pancaran energi dengan ukuran lapangan pandang tertentu (Podgorsak, 2005). Pada umumnya radiasi eksternal dilakukan dengan pesawat akselerator linier, namun di negara-negara berkembang seperti Indonesia masih digunakan ^{60}Co . Menurut badan tenaga atom internasional (IAEA), penggunaan ^{60}Co di negara berkembang sangat dianjurkan meskipun memiliki kelebihan dan kekurangan (Susworo, 2007).

2.1.3.2 Brakiterapi

Brakiterapi merupakan metode pemberian radiasi dengan menggunakan sumber radioaktif yang tertutup seperti: ^{137}Cs (Sesium), ^{192}Ir

(Iridium), ^{60}Co (Kobalt), ^{125}I (Iodin), ^{90}Sr (Strontium), ^{198}Au (Emas), dan ^{103}Pd (Paladium) yang diletakkan dengan jarak cukup dekat dengan volume target baik dengan secara langsung memasukkan bahan radioaktif tersebut pada tumor (implan) atau dengan memasukkan sumber radiasi pada instrumen yang sebelumnya dimasukkan pada lubang yang dibuat di sekitar tumor (intrakaviter). Brakiterapi dapat digunakan sebagai pengobatan radiasi tunggal seperti pada stadium awal kanker prostat dan kanker payudara (Levitt *et al.*, 2006). Jaringan yang berdekatan dengan implan menerima dosis yang maksimal dan jumlah sel kanker yang mati menjadi lebih banyak (International Atomic Energy Agency, 2010). Cakupan radiasi pada brakiterapi jauh lebih sempit jika dibandingkan dengan radiasi eksterna sehingga efek samping radiasi yang ditimbulkan pada jaringan normal di sekitar hanya minimal (Susworo, 2007).

2.1.3.3 Kombinasi Radiasi Eksterna dan Brakiterapi

Brakiterapi sering diberikan dengan kombinasi radiasi eksterna untuk memperoleh hasil yang lebih optimal pada tumor, seperti pada kasus kanker ginekologi, stadium akhir kanker prostat, dan berbagai kanker pada kepala dan leher (Levitt *et al.*, 2006). Radiasi eksterna bertujuan untuk mematikan tumor primer dan metastasis sedangkan pemberian radiasi brakiterapi bertujuan untuk mematikan tumor primer dengan dosis tinggi tanpa merusak jaringan di sekitar. Metode ini pertama kali dilakukan pada radioterapi kanker leher rahim, namun saat ini banyak kanker solid yang mendapatkan terapi metode radiasi kombinasi (Susworo, 2007).

2.1.4 Dosis Radiasi

Dosis radiasi yang diberikan sangat berhubungan dengan efek samping yang diterima oleh tubuh. Dosis radiasi dapat dibedakan menjadi beberapa satuan antara lain:

1. Aktivitas, merupakan besaran untuk menyatakan aktivitas radiasi yang dikeluarkan oleh sumber radiasi. Besaran aktivitas radiasi mempunyai satuan *becquerel* (U.S. Department of Health and Human Services, 2003).
2. Dosis serap (D), merupakan besaran untuk menyatakan energi yang diserap per satuan massa dari suatu organ atau jaringan. Dosis ini digunakan untuk mengetahui efek samping radiasi pada tubuh manusia. Sebelum satuan internasional (SI) digunakan, dosis serap diberi satuan khusus *rad* (radiation absorbed dose). Saat ini satuan yang digunakan adalah *Gray (Gy)*, dimana $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$ (International Atomic Energy Agency, 2010). Penelitian menunjukkan bahwa radiasi partikel alfa dan neutron menghasilkan kerusakan jaringan lebih besar daripada sinar gamma karena kedua partikel tersebut memiliki energi serap pada jaringan yang lebih tinggi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa radiasi alfa atau neutron lebih berbahaya dibandingkan dengan radiasi sinar gamma dengan besar dosis yang sama (Burnham, 2001).
3. Dosis ekivalen (H), merupakan satuan yang digunakan untuk membandingkan efek biologis dari berbagai jenis radiasi terhadap jaringan tertentu. Satuan internasional (SI) untuk besaran ini adalah *Sievert (Sv)*, yang diperoleh dari hasil perkalian dosis serap (D_T) di jaringan dikalikan dengan *radiation weighting factor* (W_R) yang disebut dengan *quality factor*. Sebelum menggunakan satuan SI, dosis ekivalen diberi satuan *rem*

(*radiation equivalent man*) di mana $100 \text{ rem} = 1 \text{ Sv}$). *Quality factor* untuk radiasi dengan LET rendah termasuk sinar gamma adalah 1 sehingga untuk radiasi dengan LET rendah, $1 \text{ Sv} = 1 \text{ Gy}$ (International Atomic Energy Agency, 2010).

4. Dosis efektif (E), merupakan besaran yang digunakan untuk memprediksi keefektifan radiasi dalam menghasilkan efek tertentu pada organ manusia. Besaran ini didapatkan dari hasil perkalian dosis ekuivalen beberapa organ yang berbeda dengan *tissue weighting factors*. Satuan internasional SI untuk dosis efektif adalah *person-sievert* (*person-Sv*) (U.S. Department of Health and Human Services, 2003).
5. Paparan, merupakan besaran yang untuk menyatakan kuantitas sinar yang dapat menghasilkan ionisasi di udara. Besaran ini hanya terbatas untuk foton. Besaran ini memiliki satuan roentgen (R) yang setara dengan $2,58 \times 10^{-4} \text{ coulomb/kg-udara}$. Besaran paparan tidak dapat digunakan untuk radiasi partikel dan foton dengan energi yang melebihi 3 *Megaelectron Volt* (*MeV*) dan media lain selain udara (U.S. Department of Health and Human Services, 2003).

Ada 2 macam pemberian radiasi ionisasi yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Radiasi dengan dosis tunggal adalah radiasi yang diberikan sekaligus dalam satu paparan, sedangkan radiasi dengan dosis fraksinasi adalah radiasi yang diberikan secara bertahap yaitu, 5 hari dalam seminggu selama 5 minggu (Susworo, 2007). Radiasi dosis tunggal dapat digunakan untuk terapi paliatif pada kasus metastasis tulang (Lutz *et al.*, 2011) sedangkan dosis fraksinasi dapat digunakan untuk terapi kuratif maupun terapi paliatif pada beberapa kasus kanker (Susworo, 2007). Radioterapi dengan sinar eksterna sering diberikan

dengan dosis fraksinasi harian sebesar 1.8 - 3 Gy/hari selama 5 - 8 minggu (International Atomic Energy Agency, 2010).

Radiasi dosis tunggal ternyata memberikan efek samping yang lebih banyak dibandingkan dengan efek kurasi yang diharapkan. Pemberian radiasi dengan dosis tunggal dan dosis fraksinasi memberikan *survival rate* yang berbeda. Percobaan pemberian dosis fraksinasi pada sel kanker pada jaringan testikuler kambing menunjukkan bahwa dengan metode ini proses spermatogenesis dapat dihentikan dan tingkat cedera pada skrotum yang dapat ditolerir. Hasil ini sangat berbeda ketika menggunakan dosis tunggal dimana terjadi penghentian proses spermatogenesis dan cedera yang hebat pada skrotum. Hal ini dikarenakan pada pemberian radiasi dengan fraksinasi terjadi 4R yaitu reoksigenisasi, repopulasi, redistribusi dan reparasi (Susworo, 2007). Namun menurut Podgorsak (2005), selain 4R di atas, ada faktor biologi lain yang menjadi dasar pemberian dosis fraksinasi yaitu radiosensitivitas.

2.1.5 Radiosensitivitas

Sel-sel mamalia memiliki radiosensitivitas yang berbeda (Podgorsak, 2005). Jaringan yang berespon dengan cepat terhadap radiasi disebut sebagai radiosensitif dan sel-sel yang berespon lambat terhadap radiasi disebut sebagai radioresisten. Sedangkan sel yang memiliki radiosensitivitas di antara radiosensitif dan radioresisten disebut sebagai radioresponsif (Susworo, 2007).

2.1.5.1 Radiosensitivitas pada Siklus Sel

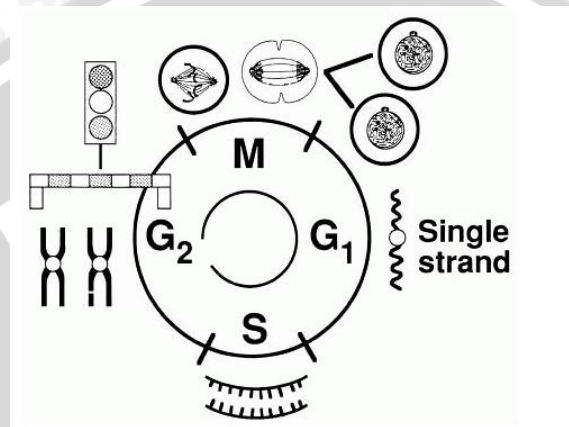
Siklus sel dapat diklasifikasikan menjadi dua periode waktu yaitu fase sintesis (S) dimana terjadi sintesis DNA dan fase mitosis (M) yang merupakan fase sel membelah diri. Antara fase S dan M dipisahkan oleh dua periode

checkpoint yaitu G1 dan G2. G1 memisahkan fase M dan fase S, sedangkan G2 memisahkan fase S dan fase M (Podgorsak, 2005). Fase *checkpoint* merupakan fase pengkoreksian kembali sintesis DNA yang telah dilakukan, apakah telah sesuai atau tidak dan memberikan kesempatan sel tersebut untuk diperbaiki. Fase ini berperan pada sel yang dipapar radiasi dimana sel yang mengalami kerusakan diistirahatkan untuk memberikan kesempatan diperbaiki dan mencegah sel rusak tersebut memasuki siklus sel pada fase S dan fase M (Desaintes *et al.*, 2002). Gambar siklus sel dapat dilihat pada gambar 2.2.

Untuk sel-sel mamalia, fase S biasanya terjadi dalam waktu 6 - 8 jam, fase M berlangsung kurang dari 1 jam, fase G2 terjadi antara 2 - 4 jam dan fase G1 terjadi antara 1 - 8 jam sehingga total siklus sel kira-kira membutuhkan waktu sekitar 10 - 20 jam. Sebaliknya siklus sel untuk *stem cell* pada beberapa jaringan tertentu membutuhkan waktu 10 hari (Podgorsak, 2005). Sel-sel pada fase G2 tahap akhir dan M adalah sel-sel yang radiosensitif, sel-sel pada fase S tahap akhir termasuk sel-sel yang radioresisten dan sel-sel pada fase G1 termasuk sel-sel yang radioresponsif (International Atomic Energy Agency, 2010). Radiosensitivitas pada fase-fase siklus sel berkaitan dengan proses perbaikan DNA. Sel-sel yang rusak pada fase G2 akhir dan M akan mengalami perbaikan DNA melalui *Non Homologous End-Joining* (NHEJ) yang rentan terjadi *error* sedangkan perbaikan sel yang rusak pada fase S terjadi melalui *Homologous Recombination* (HR) yang relatif bebas *error* (Joiner dan Kogel, 2009).

Sel yang gagal diperbaiki akan mengalami kematian sel melalui apoptosis (Pucci *et al.*, 2000). Sel yang diradiasi pada fase G2/M lebih sensitif untuk dapat menyebabkan apoptosis bila dibandingkan dengan fase G1/S. Jika sel yang diradiasi dalam fase G1/S maka tetap akan menghasilkan apoptosis

dengan proses lebih lambat bila dibandingkan dengan fase G₂/M. Apoptosis pada radiasi dosis tinggi akan mempengaruhi semua fase dalam siklus sel sedangkan radiasi dengan dosis rendah hanya akan mempengaruhi fase G₂ saja (Sun, 2000).



Gambar 2.2 Siklus Sel pada Sel Mamalia (Hall dan Giaccia, 2006)

2.1.5.2 Radiosensitivitas jaringan normal

Menurut Joiner dan Kogel (2009), efek radiasi pada jaringan normal dapat diklasifikasikan menjadi 2 tipe yaitu:

1. Jaringan yang berespon cepat.

Efek akut radiasi dapat ditemukan pada jaringan yang memiliki aktivitas proliferasi yang tinggi seperti sumsum tulang belakang, epidermis atau mukosa usus halus dan usus besar. Namun karena *turn over* sel-sel ini sangat cepat maka proses regenerasi dapat segera terjadi. *Stem cell* yang bertahan atau tidak terkena radiasi dengan cepat mengganti sel-sel yang mati akibat radiasi.

2. Jaringan yang berespon lambat

Jaringan yang termasuk berespon lambat meliputi jaringan parenkim, jaringan ikat, dan jaringan otot. Secara umum, efek radiasi bersifat

irreversible karena proses regenerasi yang cukup lama. Sehingga dapat disimpulkan bahwa jaringan yang berespon lambat terhadap radiasi adalah jaringan yang memiliki *turn over* yang lambat.

Berdasarkan sifat radiosensitivitas yang dimiliki, organ atau jaringan yang normal dapat dibedakan menjadi 5 kelompok, yaitu sangat radiosensitif, kurang radiosensitif, radioresponsif, relatif radioresisten, dan sangat radioresisten sebagaimana tercantum pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Radiosensitivitas Organ dan Jaringan (U.S. Department of Health and Human Services, 2003)

Radiosensitivitas	Kelas	Karakter	Jenis sel yang mewakili
Sangat radiosensitif	Sel dengan vegetatif intermitosis	Sel yang memiliki masa hidup pendek dan memiliki kemampuan proliferasi tinggi	Sel-sel hematopoetik, <i>stem cell</i> di usus, spermatogonia tipe A, sel granulosa pada folikel ovarium, epidermis, kelenjar holokrin.
Kurang radiosensitif	Sel berdiferensiasi intermitosis	Sel yang akan berdiferensiasi	Sel hematopoetik yang berdiferensiasi, spermatogonia yang berdiferensiasi, spermatisit dan oogonia.
Radioresponsif	Sel jaringan ikat yang multipoten	Sel yang membelah secara rutin atau secara sporadik membelah karena respon stimulus spesifik	Sel endotel, sel mesenkim dan fibroblas.
Relatif radioresisten	Sel pada post-mitosis (<i>reverting</i>)	Sel yang memiliki masa hidup panjang dan proliferasi yang rendah	Sel parenkim epitel, liver, ginjal, pankreas, sel-sel dari kelenjar adrenal, tiroid, paratiroid dan pituitari

Sangat radioresisten	Sel pada post-mitosis (<i>fixed</i>)	Sel yang tidak aktif membelah dan telah berdiferensiasi	Sel neuron dan sel otot
----------------------	--	---	-------------------------

2.1.6 Efek Radiasi pada Hewan Percobaan

Efek pemberian dosis tunggal radiasi seluruh tubuh pada hewan percobaan dapat dibedakan menjadi tiga sindroma, antara lain (International Atomic Energy Agency, 2010):

1. Sindroma neurovaskular, terjadi setelah pemberian radiasi dengan dosis > 20 Gy dan biasanya mengakibatkan kematian yang cepat dalam beberapa jam hingga hari akibat disfungsi sistem kardiovaskular dan sistem syaraf tubuh.
2. Sindroma gastrointestinal, terjadi setelah pemberian radiasi dengan dosis antara 8 - 12 Gy dan pada tikus dengan dosis di atas rentang tersebut dapat mengakibatkan kematian setelah 1 minggu pemberian radiasi. Hal ini terjadi akibat terjadi kerusakan mukosa traktus gastrointestinal yang disebabkan oleh hilangnya *barrier* dan ketidakseimbangan elektrolit dan cairan.
3. Sindroma hematopoetik, terjadi setelah pemberian dosis antara 2 - 8 Gy pada manusia (3 - 10 Gy pada tikus) sehingga mengakibatkan kematian sel-sel prekursor di sumsum tulang. Sindroma ini dapat menyebabkan kematian pada tikus (pada dosis yang lebih tinggi) setelah 12 - 30 hari pemberian radiasi.

2.1.7 Mekanisme Radiasi terhadap Sel Tubuh

Interaksi antara radiasi ionisasi dengan jaringan dapat mengakibatkan kematian sel secara langsung maupun tidak langsung. Kematian langsung terjadi

akibat perubahan struktur molekuler pada DNA berupa *single* atau *double strand break* (SSB atau DSB), sedangkan yang tidak langsung terjadi akibat terbentuknya radikal bebas (OH) akibat ionisasi air (Susworo, 2007).

2.1.7.1 Efek langsung

Tingkat kerusakan kromosom akibat radiasi bergantung dengan dosis serap radiasi dan tipe LET. Radiasi ionisasi dengan LET tinggi seperti neutron, partikel alfa, dan sinar kosmik partikel berat biasanya menyebabkan kerusakan DNA secara langsung. Kerusakan DNA yang disebabkan LET tinggi bersifat kompleks dan lebih sulit untuk diperbaiki dibandingkan dengan kerusakan yang disebabkan radiasi dengan LET rendah. (Kiang *et al.*, 2010).

Interaksi radiasi ionisasi dapat menghasilkan molekul yang bermuatan. Molekul yang terionisasi ini sangat reaktif dan dapat merusak ikatan kimia molekul sehingga terjadi kerusakan struktur makromolekuler seperti DNA. Deposit energi radiasi dapat menyebabkan kerusakan molekul sel. Namun sebagian besar molekul seperti air, mRNA, protein, dan lain-lain memiliki kopian yang banyak dan memiliki *turn over* yang cepat. Sebaliknya DNA hanya memiliki 2 kopian dan *turn over* yang terbatas sehingga menjadi target utama radiasi. Konsekuensi dari kerusakan DNA yang permanen bersifat sangat serius dan menyebabkan kematian sel (Joiner dan Kogel, 2009).

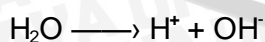
Radiasi ionisasi dapat menyebabkan kerusakan basa, *single strand breaks* (SSBs), *double strand breaks* (DSBs) dan *DNA crosslink*. DSBs adalah lesi utama yang menyebabkan kematian (Kiang *et al.*, 2010). DNA DSBs merupakan kerusakan DNA yang menjadi pertimbangan yang sangat penting karena proses perbaikan secara intrinsik sangat sulit jika dibandingkan dengan kerusakan DNA yang lain. Pada tahap lanjut, kegagalan penggabungan kembali

DNA DSBs yang rusak dapat terjadi dan menyebabkan hilangnya materi kromosom dan translokasi kromosom terutama translokasi resiprokal. Peristiwa ini dapat menyebabkan tumorigenesis apabila regio kromosom yang hilang berisi kromosom yang mengatur supresi tumor, sedangkan pada translokasi kromosom menyebabkan penggabungan gen yang mengubah fungsi *proto-oncogen* (Khanna dan Jackson, 2001).

SSBs dapat menjadi DSBs ketika kerusakan basa terjadi pada *strand* yang berlawanan dengan letak SSBs akibat radiasi. Kerusakan basa tersebut dapat bergabung dengan SSBs dan menghasilkan DSBs. Proses ini dapat terjadi ketika proses *Base Excision Repair* (BER) berlangsung. Radiasi dengan dosis 1 Gy dapat menyebabkan 10^5 sel terionisasi, lebih dari 1000 kerusakan basa DNA, 1000 SSBs dan 20-40 DSBs. Radiasi dengan dosis 1 Gy dapat membunuh sekitar 30% sel mamalia, termasuk manusia (Joiner dan Kogel, 2009).

2.1.7.2 Efek Tidak Langsung

Selain menghasilkan efek langsung dengan mengionisasi molekul jaringan tubuh, radiasi ionisasi ternyata juga menghasilkan efek tidak langsung dengan membentuk radikal bebas dalam air. Sebagian besar komposisi tubuh manusia terdiri dari air (sekitar 60%) sehingga hampir sebagian sebesar tindakan langsung radiasi juga terjadi pada air. Apabila molekul H_2O murni mengalami radiasi maka akan kita dapatkan persamaan:



Kedua ion yang dihasilkan dari molekul H_2O ini dikenal sebagai radikal bebas (Burnham, 2001). Sehubungan dengan peranan penting air dalam sel maka bila suatu radiasi pengion mengenai sel tubuh makhluk hidup maka energi radiasi diserap dan mengakibatkan terjadi reaksi radiolisis air. Reaksi radiolisis ini

menghasilkan peroksida H_2O_2 yang berbahaya bagi tubuh makhluk hidup. Peroksida H_2O_2 merupakan oksidator kuat yang dapat merusak enzim-enzim sehingga enzim tidak berfungsi lagi sebagai biokatalisator (Wibisono, 2000).

Pada sel-sel mamalia, radiasi ionisasi dengan LET rendah seperti sinar gamma menghasilkan radikal bebas meliputi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) yang melalui mekanisme mitokondria (Kiang *et al.*, 2010). Radikal bebas memang dibutuhkan tubuh dalam jumlah tertentu tetapi produksi radikal bebas yang berlebihan dapat merusak komponen sel. ROS yang aktif dapat merusak DNA dan mengganggu fungsi protein dan peroksidasi lemak (Meydan *et al.*, 2011). Lipid radikal dan lipid peroksidase yang terbentuk kemudian dapat merusak membran sel dan organel sel (Somosy, 2000). ROS di nukleus dapat merusak DNA sedangkan ROS di sitoplasma mengaktifkan jalur transduksi sinyal yang meliputi pertumbuhan dan apoptosis. ROS merupakan *short-lived* dan sangat reaktif sedangkan RNS merupakan *long-lived* dan memiliki reaksi yang spesifik. NO bereaksi dengan superoksida dan membentuk anion *peroxynitrite* yang menghasilkan stress oksidatif. Selanjutnya terjadi pelepasan sitokrom c dari nukleus ke sitoplasma dan berinteraksi dengan mediator kimia dengan kaskade tertentu dan menyebabkan proses apoptosis (Kiang *et al.*, 2010).

2.1.8 Efek Biologis Radiasi

Menurut Podgorsak (2005), efek radiasi pada manusia dapat diklasifikasikan menjadi 2, yaitu :

- Efek somatik, bersifat seumur hidup seperti kanker yang diinduksi oleh radiasi, sterilitas dan kekeruhan lensa mata.

- Efek genetik, timbul akibat kerusakan DNA sperma atau ovarium akibat radiasi yang menimbulkan penyakit genetik yang diteruskan ke generasi selanjutnya.

2.2 Usus Halus

2.2.1 Anatomi dan Histologi Usus Halus

2.2.1.1 Anatomi Usus Halus

Usus halus merupakan bagian dari traktus gastrointestinal yang terletak antara sfingter pilorus lambung dan katup *ileocaecal* yang membuka ke arah usus besar. Usus halus berada pada bagian tengah dan bawah rongga abdominal dan ditopang oleh mesenterium, kecuali pada bagian awal. Mesenterium adalah lipatan membranosa yang melekatkan organ usus halus dengan dinding tubuh bagian dorsal. Dengan adanya mesenterika ini memungkinkan usus halus untuk bergerak tetapi tidak menyebabkan posisi usus halus menjadi berputar. Di dalam mesenterika terdapat pembuluh darah, syaraf, pembuluh limfatik yang menyuplai dinding usus halus (Graff, 2001).

Serabut syaraf yang mempersyarafi usus halus meliputi syaraf parasimpatis yang berasal dari nervus vagus dan syaraf simpatis yang berasal dari *nervus splanicus thoracic*. Keduanya keluar dari *plexus mesenterika superior*. Suplai darah arteri terutama berasal dari arteri mesenterika superior. Vena mesenterika superior berjalan beriringan dengan arteri. Kemudian darah vena yang kaya nutrisi dari usus halus tersebut dibawa ke vena porta hepar (Marieb dan Hoehn, 2007).

Panjang usus halus kurang lebih 5 meter. Di usus halus terjadi proses pencernaan makanan secara kimiawi dan proses penyerapan nutrisi makanan. Untuk keperluan deskriptif usus halus dibagi menjadi tiga bagian yaitu: pertama,

duodenum. Duodenum memiliki panjang kira-kira 25 cm dan memiliki bentuk seperti huruf C yang terletak di dekat bagian kepala pankreas. Sekresi kandung empedu dan pankreas dilepaskan ke duodenum melalui ampula hepato-pancreatik dan pada bukaan duodenum terdapat sfingter Oddi. Kedua, jejunum. Jejunum adalah bagian tengah dari usus halus yang memiliki panjang kira-kira 2 meter. Ketiga, ileum. Bagian ini merupakan bagian terminal dari usus halus yang memiliki panjang kira-kira 3 meter dan berakhir pada katup ileosekal yang berfungsi untuk mengontrol aliran materi dari ileum ke caecum dan mencegah regurgitasi (Waugh dan Grant, 2004).

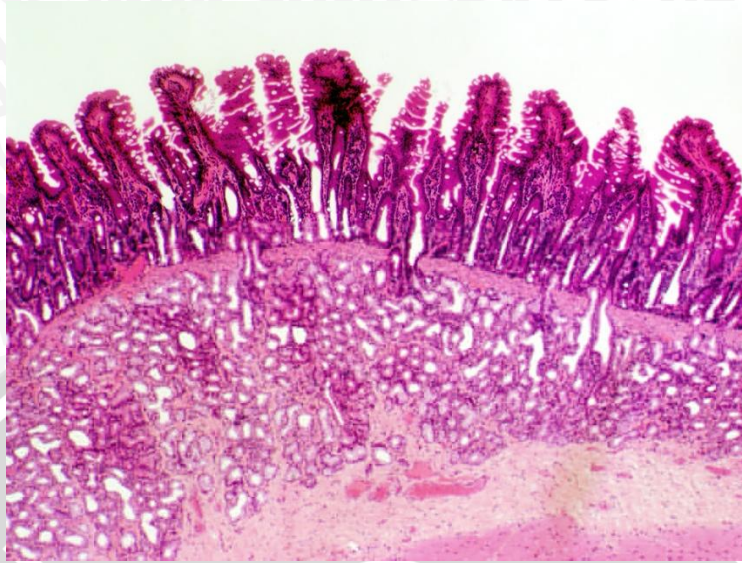
2.2.1.2 Histologi Mukosa Usus Halus

Mukosa usus halus menampakkan struktur khusus untuk memperluas permukaan absorpsi. Struktur tersebut adalah plika sirkularis, vili intestinalis dan mikrovili. Plika sirkularis adalah lipatan atau peninggian mukosa permanen, berjalan berpilin dan terjulur ke dalam lumen usus. Plika yang paling besar terdapat pada bagian proksimal usus halus yang merupakan tempat sebagian besar absorpsi berlangsung dan makin mengecil ke arah ileum. Vili intestinalis adalah tonjolan permanen mirip jari pada lamina propria mukosa yang juga terjulur ke arah lumen. Vili ditutupi epitel yang tersusun atas sel kolumnar (enterosit) dan lebih banyak terdapat di bagian proksimal usus halus. Pada bagian dinding vili intestinalis dapat ditemukan enterosit, dimana sebagian besar proses pencernaan makanan secara kimiawi terjadi. Sel goblet yang berfungsi untuk memproduksi mucus terletak di sela-sela enterosit (Waugh dan Grant, 2004). Mikrovili adalah juluran sitoplasma yang menutupi apeks sel-sel absorptif usus. Pada mukosa usus halus juga terdapat *intraepithelial lymphocytes* (IELs), yang memiliki peranan penting dalam sistem imun tubuh (Marieb dan Hoehn,

2007). Usus halus banyak mengandung banyak kelenjar intestinalis (kripti Lieberkuhn). Kripti Lieberkuhn termasuk kelenjar tipe *simple tubular*. Kelenjar-kelenjar ini terletak di mukosa usus halus dan bermuara ke lumen usus pada dasar vili. Epitel permukaan vili juga ikut melapisi kelenjar intestinal. Sel yang tidak berdiferensiasi pada kelenjar intestinalis (*stem cell*) menampakkan aktivitas mitotik dan membentuk sel absorptif silindris (enterosit) dan sel goblet epitel usus (Eroschenko, 2003). Gambaran histologis usus halus dapat dilihat pada gambar 2.3.

Sel epitel yang melapisi kripti intestinal mensekresikan mucus yang berfungsi sebagai barrier proses penyerapan nutrisi kimus. Jumlah kripti berkurang pada bagian distal usus halus, sebaliknya populasi sel goblet semakin bertambah. Sel epitel usus halus berasal dari *stem cell* yang terletak di kripti Lieberkuhn. Sel-sel tersebut kemudian bermigrasi ke bagian vili, berdiferensiasi dan menjadi sel spesifik tertentu. Regenerasi epitel vili terjadi setiap tiga sampai enam hari. Penggantian sel epitel usus halus yang berlangsung sangat cepat ini memiliki makna klinis dan fisiologis yang cukup signifikan (Marieb dan Hoehn, 2007).

Secara Histologi, duodenum dibagi menjadi menjadi 4 lapisan yang terdiri dari : (1) lapisan mukosa yang terdiri dari epitel yang tersusun atas enterosit dan sel goblet, lamina propria yang tersusun atas kripti Lieberkuhn, dan mukosa muskularis, (2) lapisan submukosa yang tersusun atas kelenjar Brunner, (3) lapisan muskularis eksterna yang terdiri atas lapisan sirkular dalam dan lapisan longitudinal luar yang merupakan otot polos, (4) lapisan serosa yang tersusun atas pembuluh darah dan sel-sel lemak (Eroschenko, 2003).



Gambar 2.3 Histologi Duodenum Tikus Normal (Caceci, 2011)

Keterangan :

- Pengecatan *Hematoxyllin Eosin* dengan pembesaran 400x.

2.2.2 Fisiologi Usus Halus

Usus halus merupakan salah satu bagian dari organ pencernaan yang memiliki beberapa fungsi antara lain (Waugh dan Grant, 2004):

- Mendorong makanan ke organ pencernaan selanjutnya melalui gerakan peristaltik.
- Mensekresikan *intestinal juice*, yang terdiri dari air, mucus, garam mineral dan enzim. pH *intestinal juice* berkisar antara 7,8-8,0.
- Berperan dalam proses pencernaan makanan seperti karbohidrat, protein dan lemak yang terutama terjadi di enterosit.
- Melindungi dari infeksi mikroba yang berhasil lolos dari HCL lambung, terutama dilakukan oleh limfonodi yang terletak di submukosa usus halus.
- Mensekresikan hormon kolesitokinin (CCK) dan sekretin.
- Berperan dalam proses penyerapan nutrisi makanan.

2.3 Apoptosis

Apoptosis adalah cara kematian sel yang penting dan tersendiri dan harus dibedakan dengan nekrosis. Apoptosis adalah jalur bunuh diri sel bukan pembunuhan sel yang terjadi pada kematian nekrotik (Kumar *et al.*, 2007). Perbedaan antara apoptosis dan nekrosis dapat dilihat pada tabel 2.3. Apoptosis merupakan suatu kematian sel secara fisiologis. Apoptosis bertanggung jawab untuk mengontrol jumlah sel dalam suatu jaringan dan menyingkirkan sel-sel yang mengancam kehidupan organisme (Wijaya, 2009).

Tabel 2.3 Perbedaan Karakteristik Nekrosis dan Apoptosis (Kumar *et al.*, 2007)

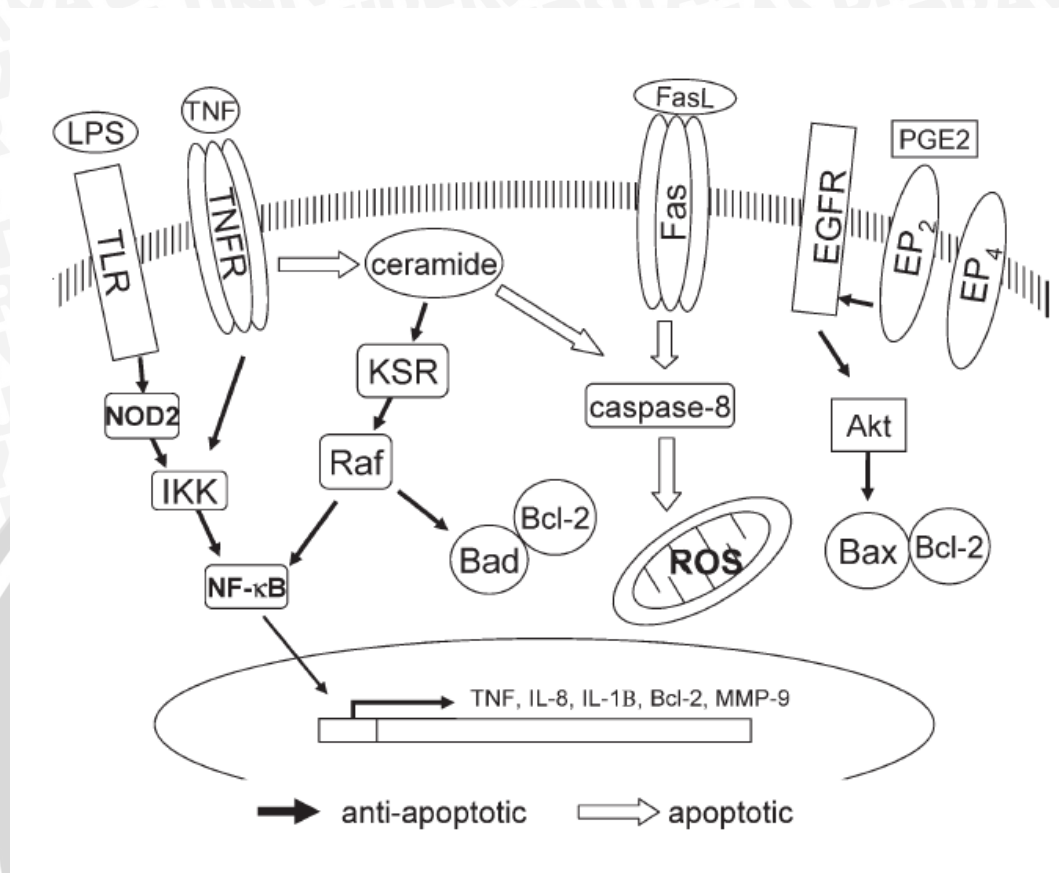
Gambaran	Nekrosis	Apoptosis
Rangsangan	Hipoksia, toksin	Faktor fisiologis dan patologis
Histologi	Pembengkakan sel, nekrosis koagulasi dan gangguan organela	Sel tunggal, kondensasi kromatin dan badan apoptotik
Pemecahan DNA	Acak, difus	Internukleosomal
Mekanisme	Deplesi ATP, jejas membran	Aktivasi gen, endonuklease, protease
Reaksi jaringan	Inflamasi	Tidak ada inflamasi, fagositosis badan apoptotik

2.3.1 Apoptosis pada Epitel Usus Halus

Sel epitel gastrointestinal merupakan jaringan yang dinamis karena memiliki kecepatan *turn over* yang tinggi. Proses pembaruan sel-sel epitel berlangsung setiap 3 - 5 hari. Sel epitel intestinal yang matang terletak di kripti intestinalis. Untuk mempertahankan jumlah sel yang konstan dan konsistensi

arsitektur epitel, maka apoptosis berperan sebagai faktor penyeimbang aktivitas proliferasi sel epitel intestinalis yang tinggi. Pada kondisi normal, sel apoptotik epitel terletak pada ujung vili dan lokasi kompartemen *stem cell* berada pada kripti usus halus (Edelbum *et al.*, 2006).

Berdasarkan proses yang menginisiasi, apoptosis pada sel epitel usus halus dapat terjadi melalui reseptor yang memediasi jalur ekstrinsik (*receptor mediated extrinsic pathway*), mitokondria atau jalur intrinsik (*mitochondrial pathway*) dan kombinasi antara kedua jalur tersebut (Vyas *et al.*, 2007). Apoptosis jalur intrinsik terjadi ketika ada rangsangan berupa sinyal interselular sedangkan apoptosis jalur ekstrinsik terjadi apabila ada sinyal yang berasal dari aktivitas ekstraselular. Apoptosis jalur intrinsik terjadi setelah DNA rusak atau *toxic stress* dimana mitokondria mengeluarkan sitokrom c yang kemudian berikatan dengan *apoptotic protease-activating factor* (Apaf-1) yang selanjutnya mengaktifkan caspase dan terjadilah apoptosis. Permeabilitas mitokondria dikontrol oleh famili Bcl-2 yang terdiri dari Bcl-2 dan Bax. Bcl-2 merupakan protein anti apoptosis, sedangkan Bax adalah protein pro apoptosis (Elmore, 2007). Protein Bax banyak ditemukan di usus halus dan memfasilitasi proses apoptosis sedangkan Bcl-2 tidak terekspresi pada usus halus sehingga Bcl-2 di usus halus tidak memiliki peranan penting dalam apoptosis (Booth dan Potten, 2000). Apoptosis jalur ekstrinsik terjadi setelah aktivasi reseptor yang berperan saat ada kematian sel meliputi *tumor necrosis faktor* (TNF) reseptor (TNFR)-1, DR3, DR4, DR5 dan Fas (Lowe and Lin, 2000). Stimulasi aktivasi reseptor menyebabkan teraktivasinya caspase dan kemudian terjadilah apoptosis. Proses apoptosis melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik dapat dilihat pada gambar 2.6.



Gambar 2.4 Regulasi proses apoptosis pada sel epitel instestinal yang normal (Edenblum *et al*, 2006)

2.3.2 Apoptosis Sel Epitel Usus Halus Akibat Radiasi

Radiosensitivitas kripti usus halus menjadi pertimbangan dalam pengobatan kanker regio abdominal dan pelvis. Beberapa penelitian menunjukkan terjadi peningkatan aktivitas apoptosis setelah radioterapi. Apoptosis ini memiliki peranan terutama untuk mempertahankan homeostatis dan mengeliminasi sel yang rusak dan berpotensi menjadi sel kanker. Protein p53 memiliki peranan yang sangat penting dalam respon stress genotoksik pada traktus gastrointestinalis (Edelblum, 2006). Radiasi dengan dosis sangat kecil

dapat menaikkan level apoptosis dan protein onkogen p53 merupakan faktor yang menginisiasi proses apoptosis tersebut. Peranan p53 sangat penting dalam respon sinar gamma yang menginduksi kerusakan DNA pada mukosa usus halus (Ramachandran *et al.*, 2000). Ekspresi gen p53 yang tinggi meningkatkan transkripsi Bax yang lebih lanjut menginduksi apoptosis (Cruchten dan Broeck, 2002). Bax, protein pro apoptosis turut memiliki peranan dalam regulasi apoptosis yang diinduksi radiasi (Watson dan Pritchard, 2000). Bax berlokalisasi di sitosol dan setelah diaktivasi oleh *death signal*, Bax menempel pada membran mitokondria dan menyebabkan keluarnya sitokrom c dari mitokondria (Cruchten dan Broeck, 2002).

2.4 Efek Sinar Gamma terhadap Usus Halus

Studi klinik dan eksperimental menyebutkan telah terjadi kerusakan usus halus akibat efek radiasi untuk pengobatan kanker regio abdominal dan pelvis. Salah satu akibat radiasi adalah enteritis. Enteritis dapat diklasifikasikan menjadi enteritis akut dan enteritis kronis. Enteritis akut terjadi dalam beberapa jam hingga hari setelah pemberian radiasi. Hal ini merupakan konsekuensi dari kematian sel kripti Lieberkuhn yang memiliki *turn over* yang cepat dan selanjutnya mengakibatkan kerusakan *barrier* epitel dan inflamasi mukosa (*radiation mucositis*). Enteritis kronis dapat terjadi beberapa bulan setelah radiasi. Ciri enteritis yang kronis meliputi *sklerosis vascular*, fibrosis dinding usus yang menyebabkan disfungsi usus halus (Wang *et al.*, 2007). Namun karena mukosa usus halus memiliki *turn over* yang cepat maka usus halus berisiko tinggi terkena efek akut akibat radiasi.

Target utama radiasi pada sel usus halus adalah *stem cell* yang terletak di bagian bawah kripti usus halus. *Stem cell* ini berfungsi untuk menggantikan

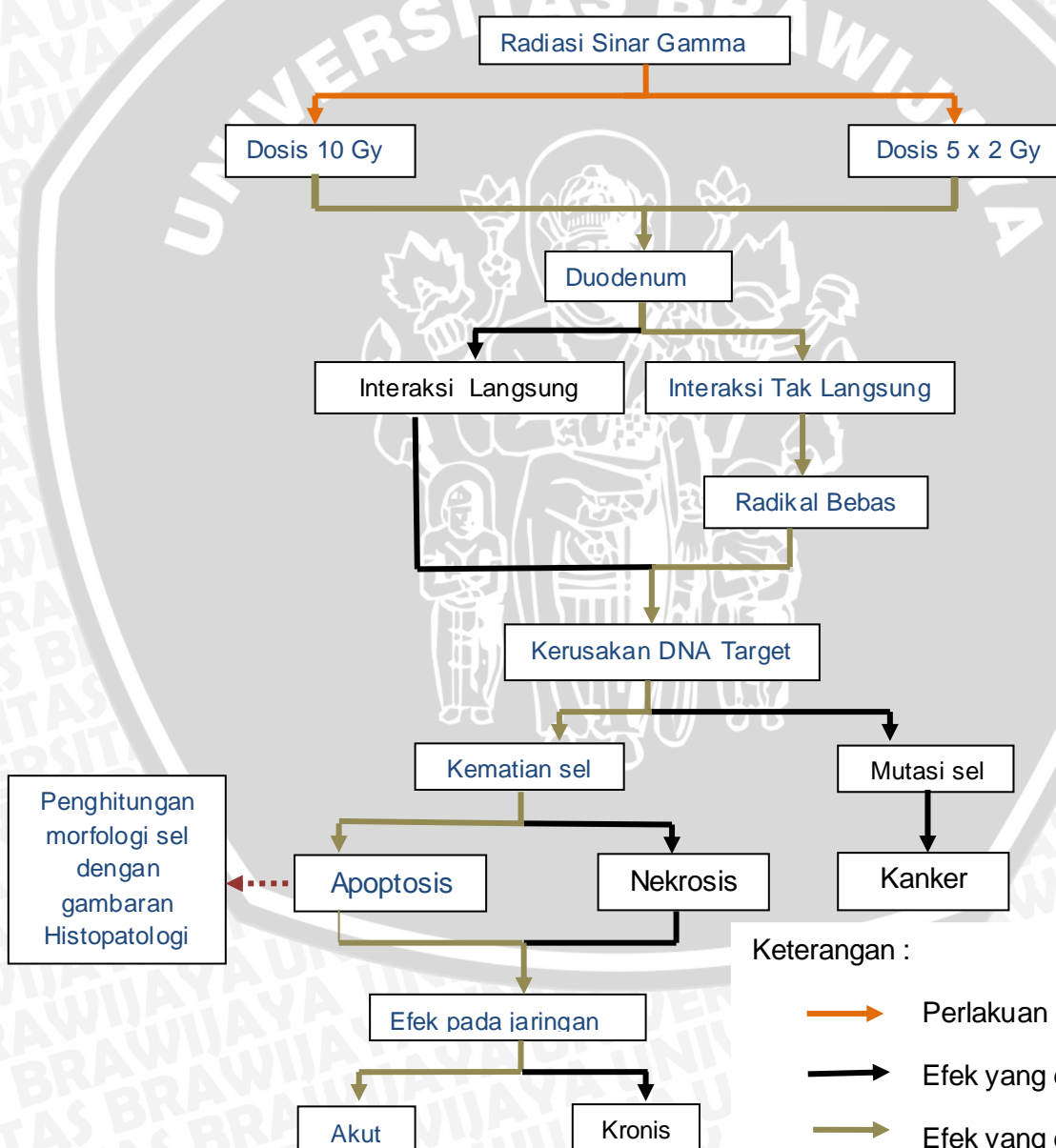
sel-sel usus halus. Pada keadaan normal, enterosit yang matang atau tua akan dieliminasi melalui jalur apoptosis dan digantikan dengan sel baru yang dibentuk oleh kripti usus halus (Driak *et al.*, 2008). Namun pada keadaan di mana usus halus terpapar oleh sinar radiasi, kripti usus halus mengalami kerusakan dan tidak mampu menggantikan sel-sel usus halus yang mengalami apoptosis (Stone *et al.*, 2003). Setelah 5 - 8 hari pemberian radiasi dengan dosis 8 Gy atau lebih, terjadi proses inflamasi, denudasi epitel, dan perubahan morfologi usus halus (Driak *et al.*, 2008) Pada model hewan coba didapatkan beberapa perubahan pada gambaran mikroskopik usus halus yang diradiasi, antara lain: jumlah enterosit berkurang dan memendek, vili intestinalis memendek, dan jumlah kripti usus halus dan sel goblet yang berkurang (Akpolat *et al.*, 2011).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- Perlakuan
- Efek yang ditimbulkan
- Efek yang diteliti
- ⋯→ Parameter



Penjelasan Kerangka Konsep

Salah jenis radiasi ionisasi yang sering digunakan dalam dunia kedokteran adalah sinar gamma yang merupakan gelombang elektromagnetik (Joiner dan Kogel, 2009). Besarnya efek samping akibat radiasi tergantung besar dosis pemberian dan cara pemberian. Ada 2 macam pemberian radiasi ionisasi yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Radiasi dengan dosis tunggal adalah radiasi yang diberikan sekaligus dalam satu paparan, sedangkan radiasi dengan dosis fraksinasi adalah radiasi yang diberikan secara bertahap dengan dosis harian sebesar 1.8 - 3 Gy/hari selama 5 - 8 minggu (International Atomic Energy Agency, 2010).

Paparan radiasi ionisasi dapat menyebabkan kerusakan DNA, organel-organel penting seperti mitokondria, membran sel dan sebagainya baik yang ditimbulkan melalui interaksi langsung maupun interaksi tidak langsung melalui radiolisis air yang menghasilkan *superoxide* dan *hydroxyl radical* (Kiang *et al.*, 2010). Hal ini terjadi karena hampir sebagian besar komposisi penyusun tubuh manusia adalah air (sekitar 60%) sehingga sebagian besar aksi radiasi terjadi di air (Burnham, 2001).

Kerusakan DNA yang terjadi akibat interaksi radiasi dengan jaringan tubuh ini dapat menyebabkan kematian sel dan mutasi sel. Ada beberapa mekanisme dari radiasi ionisasi dapat menyebabkan sel mengalami apoptosis yaitu melalui jalur intrinsik yang diinisiasi oleh family Bcl-2 yaitu Bax (protein pro apoptosis) dan protein p53 (protein supresi tumor). Sehingga caspase menjadi aktif dan terjadilah proses apoptosis (Edelblum, 2006). Selain dapat menginduksi kematian sel, efek radiasi juga dapat menyebabkan kerusakan sel pada tingkat yang lebih parah yaitu mutasi sel. kerusakan DNA yang berupa DSB (*Double*

Strand Breaks) dapat menyebabkan hilangnya materi kromosom dan terjadi translokasi resiprokal. Peristiwa ini dapat menjadi mutasi sel dan merupakan awal tumorigenesis (Khanna dan Jackson, 2001).

Efek radiasi pada jaringan dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu efek akut dan efek kronis. Efek akut dapat terjadi setelah beberapa jam hingga hari setelah pemberian radiasi. Sedangkan efek kronis dapat terjadi beberapa bulan setelah pemberian radiasi (Wang *et al.*, 2007). Jaringan yang berproliferasi dengan cepat sangat rentan terkena dampak radiasi dan sebaliknya. Umumnya sel-sel yang sangat peka terhadap radiasi ini cenderung mengalami efek akut (Joiner dan Kogel 2009).

3.2 Hipotesis Penelitian

Radiasi sinar gamma dengan dosis tunggal 10 Gy (1×10 Gy) pada enterosit duodenum tikus putih menyebabkan peningkatan apoptosis yang lebih tinggi daripada dengan pemberian radiasi fraksinasi dengan total dosis 10 Gy (5×2 Gy).

BAB 4
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Penelitian ini dilakukan dengan membandingkan hasil yang didapat sesudah perlakuan (*post-test*) dengan kontrol. Model penelitian dapat dilihat pada gambar 4.1. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok karena rancangan tersebut memungkinkan untuk menyelidiki pengaruh dari dua jenis variabel atau lebih sekaligus. Kelompok perlakuan dibagi menjadi tiga, yaitu:

Kelompok I : Tanpa radiasi sinar gamma

Kelompok II : Diberikan radiasi sinar gamma dosis tunggal

Kelompok III : Diberikan radiasi sinar gamma dosis fraksinasi

Variabel bebas berupa data nominal dan variabel tergantung berupa data numerik sehingga menggunakan rancangan analisis *One Way ANOVA*.

	<u>treatment</u>	<u>post-test</u>
Group 1		O₁
Group 2_R	X	O₂
Group 3_R	X	O₃

Gambar 4.1 *True Experimental Design* (Endharti, 2011)



4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* varian *Wistar* jantan yang berusia 3 - 4 bulan dengan berat badan kira-kira 200 gram, dan dinyatakan sehat pada pemeriksaan fisik oleh dokter hewan. Hewan coba diperoleh dari Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Populasi hewan coba dibuat homogen dengan mempertahankan homogenitas strain, umur, berat badan, makanan, dan keadaan lingkungan sekitar sesuai dengan keperluan fisiologis.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus *Rattus norvegicus* varian *Wistar* dengan ketentuan:

1. Jenis kelamin jantan
2. Usia 3 - 4 bulan
3. Berat badan seragam kira-kira 200 gram

Jumlah perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga macam, yaitu:

1. Tikus kontrol
2. Tikus yang diradiasi dengan dosis tunggal 10 Gy
3. Tikus yang diradiasi dengan dosis fraksinasi 10 Gy yang diberikan dengan dosis 2 Gy selama 5 hari berturut-turut

Menurut Supranto (2000) untuk penelitian eksperimen dengan rancangan acak lengkap, acak kelompok atau faktorial, secara sederhana perhitungan besar sampel dapat dirumuskan:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

dimana : t = banyaknya kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi

Berdasarkan rancangan penelitian yang akan dilakukan 3 macam perlakuan pada hewan coba, maka besar sampel penelitian (jumlah replikasi) dapat dihitung seperti berikut:

$$(3-1) (r-1) \geq 15$$

$$2 (r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 15/2$$

$$r-1 \geq 7,5$$

$$r \geq 7,5 + 1$$

$$r \geq 8,5 \approx 9$$

Menurut perhitungan, besar sampel yang diperlukan untuk setiap kelompok adalah 9 ekor. Maka digunakan besar sampel minimal untuk penelitian eksperimental yaitu 27 ekor, dimana masing-masing kelompok perlakuan menggunakan 9 ekor hewan coba.

4.3 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

- Variabel dosis radiasi sinar gamma, yang diberikan terdiri atas 3 macam, yaitu:

I : tanpa pemaparan radiasi

II : radiasi dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy)

III : radiasi fraksinasi dengan jumlah dosis total 10 Gy (5 x 2 Gy)

b. Variabel Kendali

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel kendali, yaitu:

- Hewan percobaan yang meliputi

- Umur
- Jenis kelamin
- Berat badan
- Manajemen pemeliharaan hewan coba
- Cara kerja
- Alat-alat yang digunakan
- c. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek biologi yang timbul akibat radiasi sinar gamma yang berupa perubahan morfologi enterosit duodenum yang mengalami apoptosis.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

- Pemilihan hewan coba dilakukan di pusat pemeliharaan hewan coba di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.
- Pemeliharaan dan adaptasi hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Pemberian radiasi sinar gamma dilakukan di Instalasi Radiologi Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang.
- Pembedahan organ dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan pembuatan slide jaringan dilakukan di Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Pengamatan dan penghitungan apoptosis enterosit duodenum dari tikus kelompok I, kelompok II, dan kelompok III dilakukan di

Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Tikus dewasa muda dengan umur seragam diperoleh dari Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang pada bulan Juni 2012. Persiapan, adaptasi, dan pemeliharaan ketiga kelompok tikus dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juni 2012. Pemberian radiasi sinar gamma dilakukan di Instalasi Radiologi Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang mulai bulan Juli 2012. Pembedahan organ tikus kelompok I, kelompok II, dan kelompok III dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli 2012. Pembuatan slide dan pengecatan HE dilakukan di Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli 2012. Pengamatan dan penghitungan apoptosis enterosit duodenum dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya pada bulan November 2012.

4.5 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah sampel jaringan yang diambil dari tikus yang dikorbankan berupa organ duodenum usus halus. Untuk pembuatan slide diperlukan: *Buffered Neutral Formalin* 10%, parafin, xylol, alkohol, H₂O, entelan dan *deckglass*. Untuk pewarnaan *Hematoxyllin Eosin* (HE) digunakan *Hematoxyllin*, alkohol asam 1%, amonia air, *Eosin* 1%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan *xylol*.

4.5.2 Pakan dan Air Minum

Pakan tikus yang digunakan adalah sama dengan pakan dari tempat asal, yaitu pakan ayam petelur berupa pellet yang diperoleh dari PT Pokhand Indonesia. Pakan diberikan secara tidak terbatas (*ad libitum*).

Sedangkan air minum yang diberikan adalah air bersih berasal dari PDAM Malang. Air minum ditempatkan dalam botol gelas, yang diletakkan pada anyaman kawat di atas kandang. Tikus dapat minum air dari botol tersebut melalui pipa. Air minum harus tersedia terus-menerus, karena tiap hari seekor tikus dewasa minum 20 - 45 ml air.

4.5.3 Instrumen Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus dan perlengkapannya, alat fiksasi tikus, alat teleterapi radiasi Cobalt-60, seperangkat alat bedah, peralatan untuk pembuatan slide dan pewarnaan, kamera digital merk Casio Exilim.

4.5.3.1 Kandang Tikus

- Kandang tikus terbuat dari kotak plastik dengan ukuran 40 x 31 x 14 cm, dan ditutup dengan anyaman kawat yang bisa dilepas sehingga mudah dibersihkan.
- Alas kandang diberi sekam dan diganti setiap satu minggu sekali supaya kebersihan dapat terjaga.

Kandang tikus dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Kandang Tikus

4.5.3.2 Alat Fiksasi

Alat fiksasi untuk tikus saat menerima perlakuan radiasi sinar gamma dibuat dari kardus yang dibentuk menyerupai balok tanpa atap dengan ukuran panjang 15 cm, lebar 15 cm, dan tinggi 25 cm. Di dalam balok kardus terdapat sekat yang membagi kardus menjadi 6 ruangan sama besar, dengan ukuran 7,5 x 5 cm. Ruangan di dalam balok kardus dibuat sesuai dengan ukuran tubuh hewan coba sehingga hewan coba terfiksasi dalam posisi tubuh dorsal menghadap ke atas (posisi anatomis tikus) saat pemberian radiasi sinar gamma berlangsung. Model alat fiksasi hewan coba dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar. 4.3 Alat Fiksasi Hewan Coba

4.6 Definisi Istilah / Operasional

- a. Radiasi dosis tunggal adalah pemberian radiasi dengan dosis 10 Gy dalam sekali paparan.
- b. Radiasi dosis fraksinasi adalah pemberian radiasi dengan dosis 2 Gy setiap hari dalam 5 hari, sehingga jumlah total dosis radiasi 10 Gy.
- c. Sel enterosit duodenum adalah sel penyusun epitel mukosa duodenum yang berbentuk kolumnar berinti bulat atau lonjong yang terletak di dasar sel (Eroschenko, 2003).
- d. Kriteria yang digunakan untuk menentukan morfologi sel yang mengalami apoptosis: pengkerutan sel, membran plasma intak, inti sel yang piknotik, fragmentasi sel, dan badan apoptotik (Elmore, 2007). Penelitian ini hanya memfokuskan pada morfologi apoptosis tanpa membedakan fase-fase dari apoptosis.
- e. Morfologi enterosit duodenum yang mengalami apoptosis dilihat dengan pewarnaan HE dan diamati dengan mikroskop dot slide. Mikroskop dot slide merupakan mikroskop yang dihubungkan dengan layar monitor komputer dengan kemampuan menyamakan hasil potongan scan gambar dari slide dengan akurat sehingga gambaran histopatologi dapat diamati dengan jelas dalam dua dimensi dengan pembesaran yang dapat diatur (Ahrent, 2009). Pada penelitian ini pembesaran yang digunakan adalah 400x.

4.7 **Prosedur Penelitian**

4.7.1 **Adaptasi Hewan Coba**

Adaptasi dimulai dari hari ke 1 sampai dengan hari ke 3. Semua sampel penelitian sebanyak 27 ekor tikus ditempatkan di dalam 6 kandang berukuran 40 x 31 x 14 sentimeter, dimana tiap kandang berisi 4 - 5 ekor tikus. Tikus diberi makan bolus pellet dan diberi air minum yang berasal dari PDAM Kota Malang. Pakan dan air minum tikus diberikan secara tidak terbatas (*ad libitum*). Penggantian sekam kandang tikus dilakukan seminggu sekali. Tikus dipelihara secara normal selama 3 hari masa adaptasi. Proses adaptasi ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.7.2 **Fiksasi Hewan Coba**

Sebelum dilakukan perlakuan radiasi sinar gamma, hewan coba terlebih dahulu difiksasi pada alat fiksasi yang dibuat khusus untuk keperluan penelitian ini. Dengan jumlah 9 ekor hewan coba pada setiap kelompok perlakuan, maka dibutuhkan dua kali giliran penyinaran. Enam ekor tikus pada penyinaran tahap pertama dan 3 ekor tikus pada penyinaran tahap selanjutnya. Fiksasi hewan coba dilakukan di Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang sebelum dilakukan penyinaran.

4.7.3 **Proses Radiasi Sinar Gamma**

Tikus yang telah terfiksasi diletakkan dibawah pesawat teleterapi radiasi Co-60 dengan jarak 80 cm. Lapang penyinarannya diatur sebesar 15 x 15 cm sesuai dengan ukuran luas alat fiksasi hewan coba. Radiasi sinar gamma dilakukan dengan dosis tunggal 10 Gy untuk tikus kelompok II dan dosis fraksinasi 2 Gy yang diberikan setiap hari selama 5 hari untuk tikus kelompok III.

Pemaparan radiasi dilakukan setiap sore pada pukul 17.00. *Depth Dose* dan lama penyinaran radiasi sinar gamma dapat dilihat pada tabel 4.1. Perbedaan *Depth dose* pada hari ke 4 dengan hari ke 5 - 9 dikarenakan perubahan ukuran tikus yang menjadi lebih besar. Penyinaran dilakukan dalam 2 tahap secara bergantian karena hanya ada 6 ruangan pada alat fiksasi. Penyinaran dilakukan di Instalasi Radiologi RSUD. Saiful Anwar Malang.

Tabel 4.1 *Depth Dose* dan Lama Penyinaran Kelompok Hewan Coba

Hari ke	Kelompok Hewan Coba	<i>Depth Dose (DD)</i>	Lama Penyinaran
4	Kelompok II tahap 1	2,5 cm	697 detik
	Kelompok II tahap 2	2,5 cm	697 detik
	Kelompok III tahap 1	2,5 cm	148 detik
	Kelompok III tahap 2	2,5 cm	148 detik
5 - 9	Kelompok III tahap 1	3 cm	141 detik
	Kelompok III tahap 2	3 cm	141 detik

4.7.4 Euthanasia

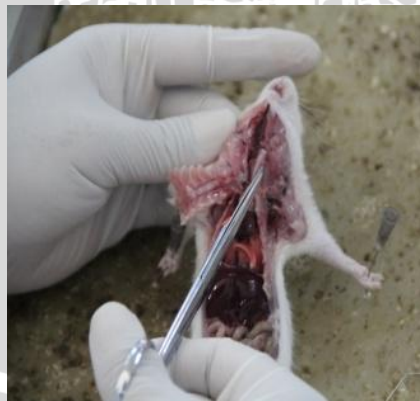
Hewan coba dieuthanasia dengan menggunakan eter. Kapas yang telah dibasahi dengan eter dimasukkan ke dalam wadah besar yang terbuat dari kaca. Setelah beberapa saat tikus dimasukkan ke dalam wadah tersebut dan ditunggu sampai tikus tertidur. Selanjutnya pembedahan tikus dapat dilakukan. Euthanasia pada tikus dilakukan 17 jam setelah perlakuan dengan alasan masalah teknis. Peneliti menghitung mundur waktu dari proses euthanasia sampai pada waktu proses pemaparan radiasi. Euthanasia hewan coba dapat diamati pada gambar 4.4. Euthanasia dilakukan di Laboratorium Farmakologi FKUB.



Gambar 4.4 Euthanasia Hewan Coba

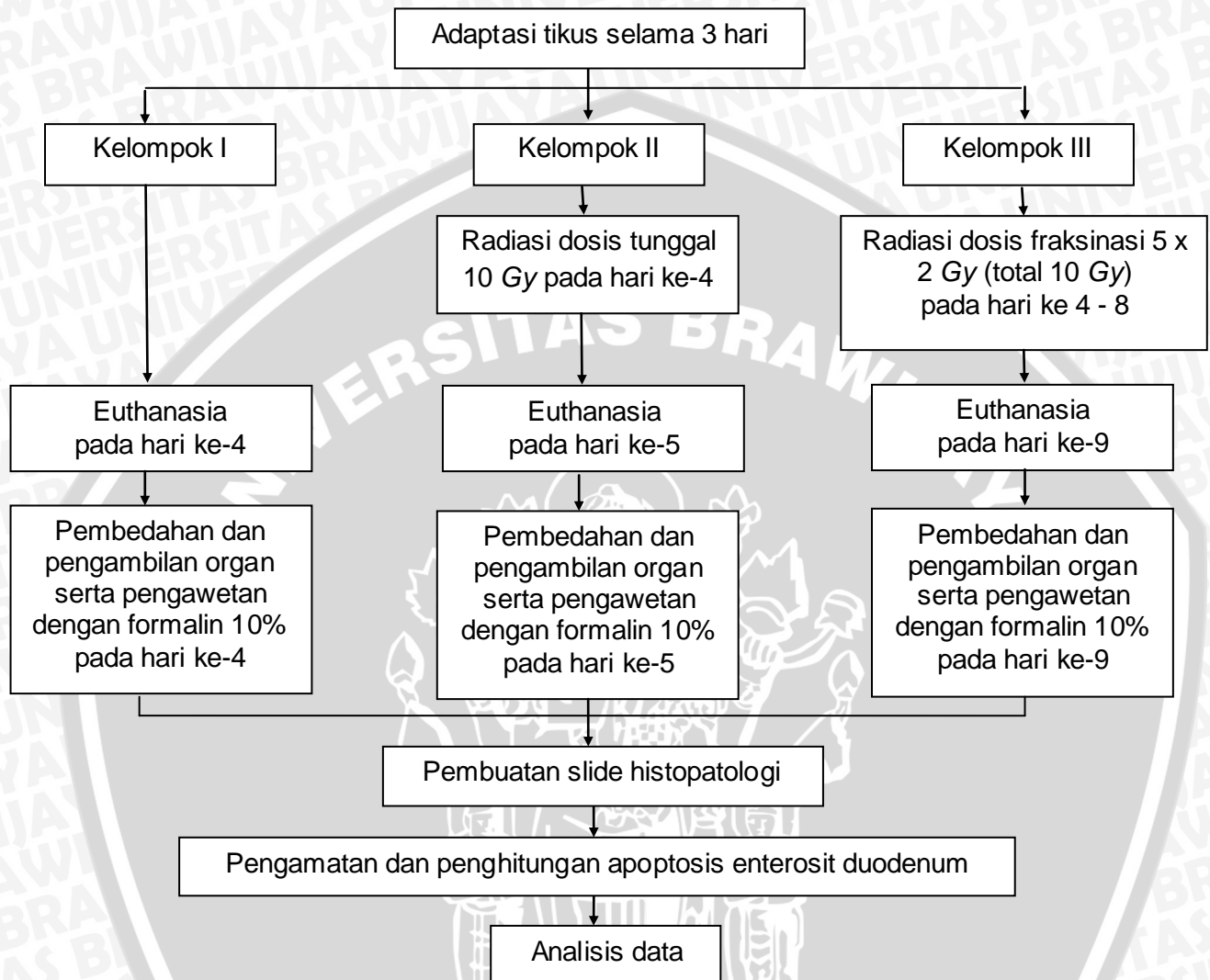
4.7.5 Pembedahan dan Pengambilan Organ

Pembedahan dimulai dari regio leher oleh tenaga ahli dari Laboratorium Farmakologi FKUB, kemudian organ duodenum diambil. Duodenum disimpan dalam wadah plastik berisi formalin 10% dan diberi label sesuai kelompoknya. Pembedahan dan pengambilan organ dapat dilihat pada gambar 4.5. Selanjutnya disimpan pada suhu ruang (25°C). Kemudian duodenum dikirim ke Laboratorium Histologi FKUB untuk pembuatan sediaan histopatologi dengan pewarnaan HE.



Gambar 4.5 Pembedahan dan Pengambilan Organ Hewan Coba

4.8 Alur Penelitian dan Pengumpulan Data



Gambar 4.6 Alur Penelitian

Sebelum penelitian dimulai, dilakukan pengambilan tikus dari populasi yang sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan, dibagi menjadi 3 kelompok secara random dan diberi label I, II, dan III yang masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik dan ditutupi jaringan kawat dan dialasi sekam. Pakan dan minum tikus yang diberikan sesuai dengan pakan dan minum yang diberikan pada tempat asal. Kemudian dilakukan adaptasi selama tiga hari. Setelah proses adaptasi selesai, maka tikus diberikan

perlakuan. Kelompok I tidak diberikan perlakuan. Kelompok II diberi perlakuan berupa radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy, dan kelompok III diberi radiasi sinar gamma dosis fraksinasi 2 Gy selama 5 hari berturut-turut hingga mencapai dosis 10 Gy.

Menurut Junru *et al* (2007), efek akut dapat terjadi setelah beberapa jam hingga hari pemberian radiasi. Oleh karena itu, setelah 17 jam diberi perlakuan, tikus dieuthanasia dan dibedah. Proses pembedahan dan pengambilan duodenum dilakukan dengan hati-hati, dan selanjutnya sampel jaringan duodenum diproses untuk pembuatan slide histopatologi dengan metode perwarnaan HE. Kemudian pengamatan dan penghitungan morfologi enterosit duodenum yang mengalami apoptosis dapat dilakukan. Prosedur pengecatan HE secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 2.

4.9 Analisis Data

Analisis statistik dengan *One Way ANOVA* dengan menggunakan program SPSS 18. *One Way ANOVA* digunakan untuk menguji apakah rata-rata lebih dari dua sampel berbeda secara signifikan atau tidak yaitu untuk sampel tikus kelompok I, kelompok II dan kelompok III. Variabel bebas adalah dosis radiasi sinar gamma dan variabel tergantung adalah jumlah morfologi enterosit duodenum yang mengalami apoptosis, kemudian dicari mean dan standar deviasi (SD) dengan tingkat kepercayaan $\alpha = 0,05$ dimana apabila diperoleh $p > 0.05$ artinya tidak ada perbedaan bermakna, sebaliknya bila $p < 0.05$ menunjukkan ada perbedaan yang bermakna.

4.10 Jadwal Penelitian

Rangkaian kegiatan penelitian dimulai pada minggu ke-2 April 2012.

Secara rinci jadwal kegiatan penelitian dapat dijelaskan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Jadwal Kegiatan Penelitian

Waktu	Kegiatan
Minggu ke 2 April 2012	Mengurus pernyataan kelaikan etik penelitian di Sekretariat <i>Ethical Clearance</i> yang bertempat di Gedung Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
Minggu ke 2 April 2012 s.d. minggu ke 4 April 2012	Melakukan <i>follow up</i> terhadap pernyataan kelaikan etik penelitian.
Minggu ke 1 Juni 2012	Memesan hewan coba di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.
Minggu ke 1 Juni 2012 s.d. minggu ke 2 Juni 2012	Mengurus surat pengantar penelitian untuk Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang di Sekretariat Tugas Akhir yang bertempat di Gedung Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
Minggu ke 4 Juni 2012 sampai dengan minggu ke 5 Juni 2012	Mengurus izin penelitian di Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang.
Minggu ke 5 bulan Juni 2012	Adaptasi hewan coba di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
Minggu ke 1 Juli 2012 s.d.	Melakukan penelitian (pemberian radiasi sinar gamma

minggu ke 4 Juli 2012	di Instalasi Radiologi Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang, pemotongan organ dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, pembuatan dan pewarnaan slide jaringan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya).
Minggu ke 4 Juli 2012 sampai Minggu ke 4 Desember 2012	Melakukan pemeriksaan slide jaringan hasil penelitian, analisis data, dan penyelesaian tugas akhir di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya



BAB 5

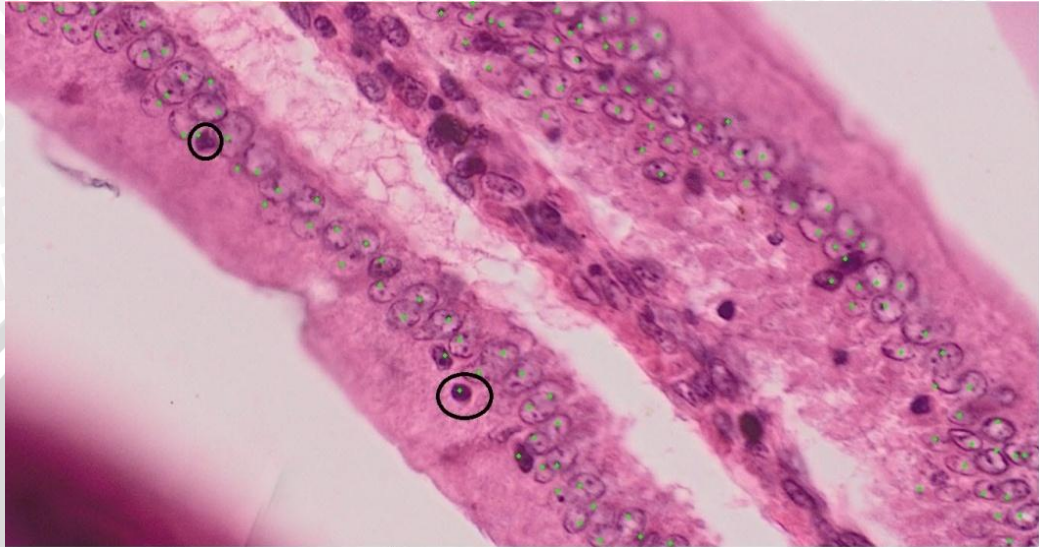
HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Penelitian ini menggunakan studi eksperimental laboratorik dan membagi tikus menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I, kelompok II dan kelompok III. Kelompok I adalah kelompok tikus tanpa perlakuan atau sebagai kontrol, kelompok II adalah kelompok tikus yang dipapar dengan radiasi sinar gamma dengan dosis tunggal 10 Gy dan kelompok III adalah kelompok tikus yang dipapar dengan radiasi sinar gamma dengan dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy).

Setelah 17 jam diberi perlakuan, dilakukan pembedahan pada tikus dan organ duodenum diambil dan disimpan dalam larutan formalin 10% dalam suhu ruangan. Selanjutnya dibuat sediaan dalam bentuk slide dan dilakukan pengecatan *Hematoxyllin Eosin* untuk melihat morfologi enterosit duodenum yang mengalami apoptosis. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dot slide dengan pembesaran 400x, kemudian dilakukan penghitungan *Apoptosis Index*. Hasil pengamatan yang diperoleh kemudian dianalisa dengan menggunakan program spss 18 dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* dan uji Tukey dalam *Post Hoc Test HSD* dengan tingkat kepercayaan 0,05.

5.1 Hasil Penelitian

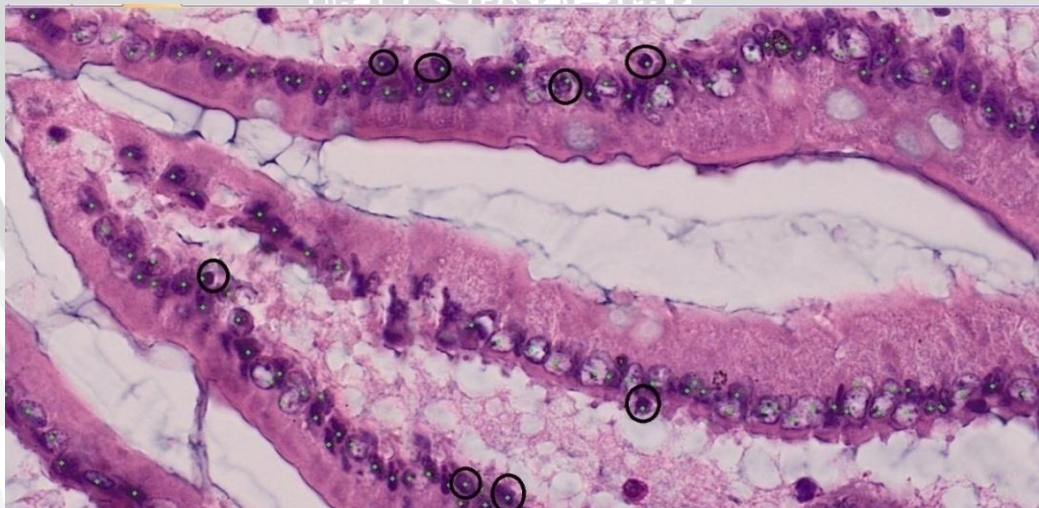
5.1.1 Hasil Pewarnaan HE



Gambar 5.1 Apoptosis Enterosit Duodenum pada Kelompok I

Keterangan :

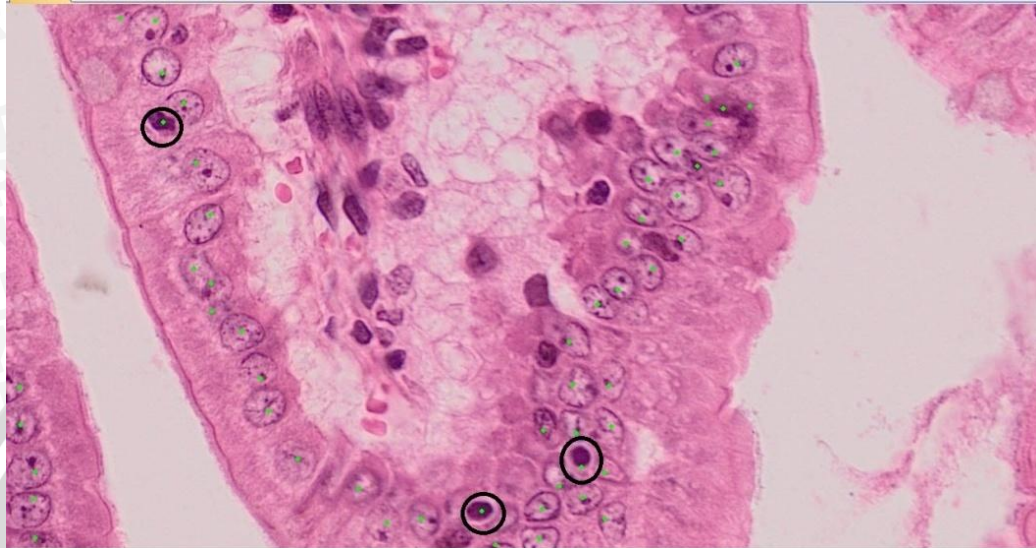
- Pengamatan dengan mikroskop dot slide pembesaran 400x dengan pengecatan *Hematoxyllin Eosin*.
- Sel yang ditandai dengan ○ adalah enterosit duodenum yang apoptosis.



Gambar 5.2 Apoptosis Enterosit Duodenum pada Kelompok II


Keterangan :

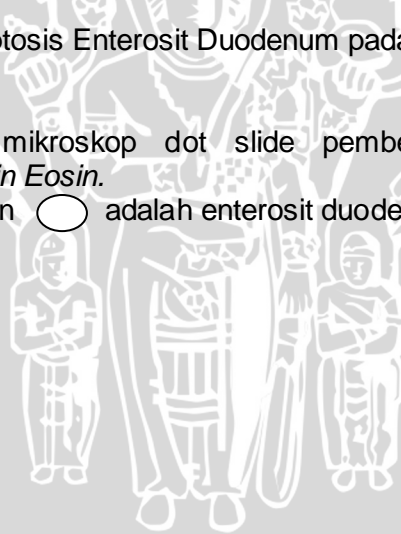
- Pengamatan dengan mikroskop dot slide pembesaran 400x dengan pengecatan *Hematoxyllin Eosin*.
- Sel yang ditandai dengan ○ adalah enterosit duodenum yang apoptosis.



Gambar 5.3 Apoptosis Enterosit Duodenum pada kelompok III

Keterangan :

- Pengamatan dengan mikroskop dot slide pembesaran 400x dengan pengecatan *Hematoxyllin Eosin*.
- Sel yang ditandai dengan  adalah enterosit duodenum yang apoptosis.



5.1.2 Hasil Penghitungan *Apoptosis Index* pada Enterosit Duodenum

Menurut Losa, *et al* (2000), penghitungan *Apoptosis Index* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Dalam setiap lapangan pandang dihitung jumlah sel yang mengalami apoptosis. X adalah enterosit duodenum yang apoptosis sedangkan $X + Y$ adalah keseluruhan sel yang mencakup enterosit normal dan enterosit duodenum yang apoptosis.

$$\frac{X}{X + Y}$$

2. Penghitungan dikerjakan untuk lapangan pandang lain hingga mencapai total sel ± 1000 sel.
3. Masing-masing perhitungan untuk tiap lapangan pandang dijumlah dan hasil akhir dibuat persentase.

$$\frac{(X_1 + X_2 + X_3 + X_n) \times 100\%}{1000}$$

Dimana,

X_1 = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapangan pandang ke 1

X_2 = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapangan pandang ke 2

X_3 = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapangan pandang ke 3

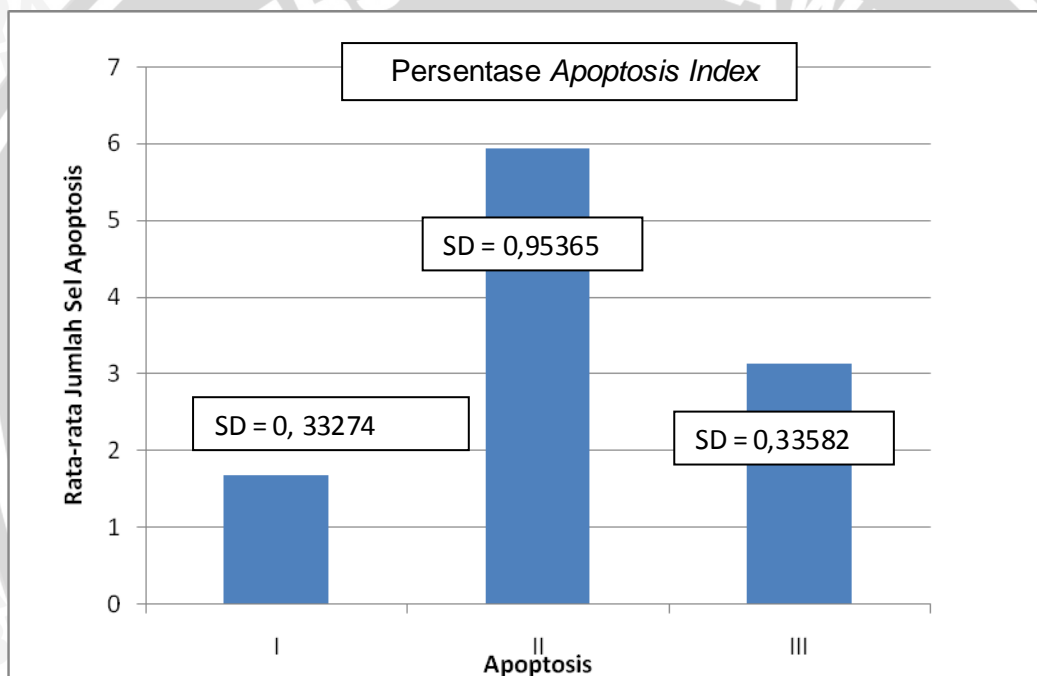
X_n = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapangan pandang ke n

Selanjutnya hasil tersebut dilakukan analisa data.

Dari hasil perhitungan persentase *Apoptosis Index*, dilakukan uji analisis statistik deskriptif didapatkan rata-rata jumlah sel enterosit duodenum yang mengalami apoptosis dari tiap-tiap kelompok. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.1 dan gambar 5.4.

Tabel 5.1 Persentase Apoptosis Index

No	Nama Kelompok	N	Σ Apoptosis Index x ± SD
1.	I	8	1, 6750 ± 0, 33274
2.	II	9	6,0778 ± 0,95365
3.	III	9	3,1556 ± 0,33582



Gambar 5.4 Grafik Persentase Apoptosis Index

Keterangan :

I : kelompok tikus yang tidak diradiasi

II : kelompok tikus yang diradiasi dengan dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy)

III : Kelompok tikus yang diradiasi dengan dengan dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy)

Dari hasil penghitungan dapat dilihat adanya peningkatan jumlah enterosit duodenum yang mengalami apoptosis bila dibandingkan dengan kelompok I, dimana kelompok II mengalami peningkatan lebih besar daripada kelompok III.

5.2 Analisis data

5.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah distribusi data kelompok sama atau berbeda. Berdasarkan uji normalitas pada tabel 5.2, maka didapatkan hasil sebagaimana berikut :

1. Pada kontrol didapatkan $p = 0,200$ ($p > 0,05$), maka H_0 diterima yang berarti distribusi populasi normal
2. Pada tunggal didapatkan $p = 0,200$ ($p > 0,05$), maka H_0 diterima yang berarti distribusi populasi normal
3. Pada fraksinasi didapatkan $p = 0,200$ ($p > 0,05$), maka H_0 diterima yang berarti distribusi populasi normal

Tabel 5.2 Uji Normalitas

kelompok	Kolmogorov-Smimov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
apoptosis Kontrol	,229	8	,200	,907	8	,334
Tunggal	,187	9	,200	,905	9	,281
fraksinasi	,114	9	,200	,960	9	,803

5.2.2 Uji Deskriptif

Fungsi uji deskriptif adalah untuk melihat perbedaan rata-rata apoptosis pada ketiga kelompok yang dibandingkan. Pada tabel 5.3 menunjukkan perbedaan rata-rata sel apoptosis dari kelompok I (kontrol), kelompok II (tunggal) dan kelompok III (fraksinasi) dengan rincian sebagai berikut :

1. Rata-rata jumlah sel apoptosis pada kelompok I (kontrol) adalah sebesar 1,6750 dengan standar deviasi sebesar 0,33274

2. Rata-rata jumlah sel apoptosis pada kelompok II (tunggal) adalah sebesar 6,0778 dengan standar deviasi sebesar 0,95365
3. Rata-rata jumlah sel apoptosis pada kelompok III (fraksinasi) adalah sebesar 3,1556 dengan standar deviasi sebesar 0,33582.

Secara deskriptif rata-rata jumlah sel apoptosis paling tinggi adalah pada kelompok II (tunggal).

Tabel 5.3 Uji Deskriptif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	8	1,6750	,33274	,11764	1,3968	1,9532	1,10	2,30
tunggal	9	6,0778	,95365	,31788	5,3447	6,8108	4,70	7,20
fraksinasi	9	3,1556	,33582	,11194	2,8974	3,4137	2,50	3,60
Total	26	3,7115	1,95250	,38292	2,9229	4,5002	1,10	7,20

5.2.3 Uji Homogenitas

Uji Homogenitas digunakan untuk menguji kesamaan varian. Hasil uji homogenitas pada tabel 5.4 menunjukkan $p = 0,062$ ($p > 0,05$), maka H_0 diterima yang berarti varian ketiga kelompok yang dibandingkan adalah sama.

Tabel 5.4 Uji Homogenitas

Apoptosis			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,151	2	23	,062

5.2.4 Uji One Way ANOVA

Uji *One Way ANOVA* dilakukan untuk menguji apakah ketiga kelompok mempunyai rerata yang sama atau berbeda. Hasil uji *One Way ANOVA* pada

tabel 5.5 menunjukkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), maka H_0 ditolak yang berarti bahwa rerata sel apoptosis pada ketiga kelompok tersebut adalah berbeda secara signifikan.

Tabel 5.5 Uji *One Way ANOVA*

Apoptosis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,883	2	,442	70,314	,000
Within Groups	,144	23	,006		
Total	1,028	25			

5.2.5 Uji *Post Hoc Tukey HSD*

Uji *Post Hoc Tukey HSD* dilakukan untuk membandingkan apakah rerata apoptosis sama atau berbeda pada tiap-tiap kelompok secara berpasangan. Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey HSD* pada tabel 5.6 didapatkan hasil sebagaimana berikut :

1. Rerata jumlah sel apoptosis antara kelompok I (kontrol) jika dibandingkan dengan kelompok II (tunggal) didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), maka H_0 ditolak yang berarti bahwa rerata jumlah sel apoptosis pada kelompok I (kontrol) dan kelompok II (tunggal) adalah berbeda secara signifikan.
2. Rerata jumlah sel apoptosis antara kelompok I (kontrol) jika dibandingkan dengan kelompok III (fraksinasi) didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), maka H_0 ditolak yang berarti bahwa rerata jumlah sel apoptosis pada kelompok I (kontrol) dan kelompok III (fraksinasi) adalah berbeda secara signifikan.
3. Rerata jumlah sel apoptosis antara kelompok II (tunggal) jika dibandingkan dengan kelompok III (fraksinasi) didapatkan $p = 0,001$ ($p <$

0,05), maka H_0 ditolak yang berarti bahwa rerata jumlah sel apoptosis pada kelompok II (tunggal) dan kelompok III (fraksinasi) adalah berbeda secara signifikan.

Tabel 5.6 Uji *Post Hoc* Tukey HSD

	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	kontrol	tunggal	,45107	,03851	,000	,3546	,5475
		fraksinasi	,29910	,03851	,000	,2027	,3955
	tunggal	kontrol	-,45107	,03851	,000	-,5475	-,3546
		fraksinasi	-,15196	,03736	,001	-,2455	-,0584
	fraksinasi	kontrol	-,29910	,03851	,000	-,3955	-,2027
		tunggal	,15196	,03736	,001	,0584	,2455
Bonferroni	kontrol	tunggal	,45107	,03851	,000	,3516	,5505
		fraksinasi	,29910	,03851	,000	,1997	,3985
	tunggal	kontrol	-,45107	,03851	,000	-,5505	-,3516
		fraksinasi	-,15196	,03736	,001	-,2484	-,0555
	fraksinasi	kontrol	-,29910	,03851	,000	-,3985	-,1997
		tunggal	,15196	,03736	,001	,0555	,2484

Keterangan :
Tingkat kepercayaan 0,05

5.2.6 Uji *Homogeneous Subsets*

Uji *homogeneous subsets* dilakukan untuk mencari kelompok mana yang mempunyai perbedaan rerata yang tidak signifikan. Hasil uji pada tabel 5.7 menunjukkan ketiga kelompok sampel berada pada kolom subset yang berbeda. Kelompok tunggal masuk ke dalam kolom subsets 1, kelompok fraksinasi masuk

ke kolom subsets 2 dan kelompok kontrol masuk di kolom subsets 3. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga kelompok ini memiliki perbedaan yang signifikan.

Tabel 5.7 Uji *Homogeneous Subsets*

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
TukeyHSD ^{a,d} tunggal	9	,1684		
fraksinasi	9		,3204	
kontrol	8			,6195
Sig.		1,000	1,000	1,000



BAB 6

PEMBAHASAN

Radiasi sinar gamma merupakan sumber radiasi ionisasi yang dapat mengakibatkan perubahan struktur atom sehingga elektron dapat keluar dari orbit terluar dan menghasilkan molekul yang bermuatan. Molekul yang terionisasi ini sangat reaktif dan dapat merusak ikatan kimia molekul sehingga terjadi kerusakan struktur makromolekular seperti DNA (Joiner dan Kogel, 2009). Kerusakan tersebut sebagian besar diakibatkan oleh interaksi tidak langsung melalui radiolisis air yang menghasilkan *reactive oxygen species* (Kiang *et al.*, 2010). Hal ini terjadi karena hampir sebagian besar komposisi penyusun tubuh manusia adalah air (sekitar 60%) sehingga sebagian besar aksi radiasi juga terjadi di air (Burnham, 2001).

Kerusakan DNA yang bersifat minor dapat segera diperbaiki (Kanna *et al.*, 2001) sedangkan kerusakan DNA yang sangat serius dan bersifat permanen dapat menyebabkan kematian sel berupa apoptosis dan nekrosis (Joiner dan Kogel, 2009). Selain kematian sel, kerusakan DNA yang gagal diperbaiki atau salah diperbaiki dapat menyebabkan terjadinya mutasi sel yang merupakan awal dari proses tumorigenesis (Khanna dan Jackson, 2001). Efek samping akibat radiasi tergantung pada besar dosis pemberian dan cara pemberian.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan efek radiasi sinar gamma dosis tunggal dan dosis fraksinasi terhadap jumlah apoptosis enterosit duodenum pada tikus putih. Penelitian ini menggunakan

radiasi sinar gamma Co^{60} yang dibagi dalam dua macam dosis radiasi yaitu dosis tunggal 10 Gy dan dosis fraksinasi yang diberikan setiap hari sebesar 2 Gy selama 5 hari. Pemberian radiasi dosis tunggal ini didasarkan pada aplikasi penggunaan radioterapi untuk terapi paliatif kasus keganasan metastasis pada tulang (Lutz *et al.*, 2011) sedangkan untuk dosis fraksinasi diberikan dengan dosis sebesar 2 Gy selama 5 hari karena didasarkan pada pedoman dosis harian fraksinasi konvensional yaitu sebesar 1,8 - 2 Gy / hari, diberikan 5 hari dalam 1 minggu dengan dosis mingguan sekitar 9 - 10 Gy (Joiner dan Kogel, 2009).

Penelitian ini membagi tikus menjadi 3 kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil penghitungan sampel menurut rumus Supranto (2000) maka didapatkan jumlah sampel total adalah 27 tikus. Hal ini sesuai dengan rekomendasi lampiran peraturan BATAN No: 195/KA/XI/2011 tahun 2011 yang menyatakan bahwa untuk penelitian pada hewan coba sebaiknya menggunakan jumlah hewan coba seminimal mungkin yang masih memungkinkan untuk uji statistik (memenuhi unsur *Reduction* dalam 3R yang meliputi *Replacement*, *Reduction*, dan *Refinement* (Badan Tenaga Nuklir, 2011).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan coba dari golongan *rodent* yaitu tikus putih (*Rattus Norvegicus var Wistar*). Secara umum tikus golongan *Rattus* mudah dikembangbiakkan, mudah beradaptasi pada lingkungan baru, serta memiliki masa hidup yang pendek sehingga cocok untuk penelitian dalam waktu singkat (Hau dan Haussier, 2003). Morfologi apoptosis pada hewan coba tikus putih, seperti halnya spesies vertebrata lain mempunyai kemiripan dengan manusia (Elmore, 2007). Sehingga studi dengan memakai tikus putih dapat dipakai untuk menggantikan duodenum manusia sebagai bahan percobaan.

Tikus yang digunakan adalah tikus usia dewasa yaitu usia 3 - 4 bulan dan berat 200 gram dengan asumsi tikus usia dewasa adalah usia yang paling tidak rentan terhadap infeksi jika dibandingkan dengan usia tua. Hal ini diduga terjadi akibat jumlah limfosit yang menurun setelah terpapar radiasi sinar gamma (Pecaut *et al.*, 2001). Penurunan jumlah sel limfosit ini merupakan penyebab sel rentan terkena infeksi setelah radiasi.

Penelitian ini menggunakan teknik pengecatan *Hematoxyllin Eosin* yang merupakan pengecatan rutin yang standar untuk mengamati berbagai jenis sel dan perubahan morfologi yang penting dalam penentuan diagnosis kanker. Keuntungan dari pengecatan ini adalah memberikan warna yang jelas pada nukleus sel, sitoplasma dan matriks ekstraselular (Fischer *et al.*, 2008). Pengamatan morfologi pada nukleus dan sitoplasma merupakan kriteria penentuan morfologi sel apoptosis (Elmore, 2007). Tetapi ada beberapa batasan yang perlu diperhatikan, yaitu (1) pengecatan HE tidak bisa untuk mendeteksi tahap awal kematian sel ketika sel tersebut akan mati tetapi pada anatomi makros belum tampak perubahan, (2) sangat sulit membedakan nekrosis dengan tahap akhir apoptosis, (3) bersifat subjektif (Darzynkiewicz *et al.*, 2001).

Tindakan euthanasia hewan coba dilakukan dengan metode inhalasi dengan gas anestesi eter. Teknik inhalasi merupakan metode euthanasia pilihan untuk hewan coba jenis *rodent* yang memiliki ukuran tubuh yang kecil. Eter dipilih karena harga yang relatif lebih murah dibandingkan gas inhalan lain. Namun eter memiliki efek negatif pada jaringan di antaranya adalah merusak membran mukosa organ pernapasan dan meningkatkan hormon katekolamin yang menyebabkan stress pada hewan coba (Irvine, 2008). Pembedahan dan pengambilan organ yang dilakukan 17 jam setelah radiasi berakhir dengan tujuan

untuk mengamati efek akut radiasi. Efek akut berlangsung beberapa jam hingga hari setelah pemberian radiasi (Wang *et al.*, 2007).

6.1 Efek Sinar Gamma terhadap Apoptosis Enterosit Duodenum

Penghitungan data dari masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan uji normalitas data dengan *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan distribusi data yang tidak normal pada kelompok I, dimana $p = 0,001$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan sebaran distribusi data tidak normal. Hal ini dikarenakan pada penghitungan sel apoptosis sampel 6 pada kelompok I didapatkan apoptosis yang sangat meningkat jika dibandingkan dengan sampel yang lain dalam satu kelompok yang sama sebagaimana tercantum dalam lampiran 3. Hal ini dimungkinkan karena tikus kontrol sampel 6 mengalami sakit akibat infeksi. Atas dasar alasan tersebut maka sampel 6 pada kelompok I dikeluarkan, sehingga jumlah sampel total adalah 26 sampel, dengan distribusi sebagaimana berikut : kelompok I dengan sampel sejumlah 8 tikus, kelompok II dengan sampel yang sejumlah 9 tikus dan kelompok III dengan sampel sejumlah 9 tikus.

Hasil analisis statistik pada tabel 5.1 didapatkan data yang menunjukkan bahwa apoptosis enterosit paling banyak didapatkan pada kelompok II yaitu sebesar $6,0778 \pm 0,95365$. Sehingga radiasi terbukti dapat meningkatkan apoptosis sel pada penelitian ini. Dari grafik indeks apoptosis pada gambar 5.4 didapatkan data yang menunjukkan bahwa jumlah morfologi enterosit duodenum yang mengalami apoptosis sebesar pada kelompok I dan terdapat peningkatan pada kelompok II dan kelompok III. Apoptosis pada kelompok kontrol diduga merupakan apoptosis spontan yang merupakan apoptosis yang terjadi secara fisiologis untuk membuang sel yang berlebih. Peningkatan apoptosis pada kelompok perlakuan II dan III dimungkinkan karena akumulasi antara apoptosis

spontan dan apoptosis yang diinduksi oleh radiasi. Apoptosis spontan merupakan apoptosis yang terjadi dalam kondisi fisiologis yang berlangsung sekitar 2 - 4 jam dan cepat difagosit dan dibuang dari jaringan oleh sel epitel tetangga dan sel mononuklear (Barrett *et al.*, 2006), sedangkan apoptosis yang diinduksi radiasi terdeteksi pada 3 - 6 jam setelah paparan (Ramachandran *et al.*, 2000) dan tetap dipertahankan 12 - 24 jam setelah paparan radiasi sinar gamma (Vyas *et al.*, 2007). Sehingga dapat disimpulkan bahwa sebagian besar peningkatan apoptosis pada kelompok II dan III adalah kontribusi dari radiasi sinar gamma yang menginduksi terjadinya apoptosis.

Dengan asumsi pengamatan yang dilakukan peneliti adalah benar, maka pemberian radiasi dengan dosis 10 Gy pada enterosit duodenum menyebabkan kematian sel secara apoptosis. Peningkatan apoptosis pada organ gastrointestinal setelah paparan radiasi diduga terjadi melalui mekanisme *p53-dependent*. Setelah beberapa jam terpapar agen perusak DNA seperti radiasi, sel-sel pada usus halus tersebut segera mendeteksi kerusakan DNA dan mengaktifkan kaskade kematian sel melalui apoptosis yang dikontrol oleh gen tumor supresor p53 yang mengkode protein p53. Fungsi gen p53 sangat penting dalam respon normal terhadap radiasi gamma yang menginduksi kerusakan DNA pada sel mukosa usus halus dan defisiensi p53 dapat mencegah populasi sel yang mengalami kerusakan DNA dari proses normal kematian sel (Ramachandran *et al.*, 2000). Ekspresi gen p53 yang tinggi meningkatkan transkripsi Bax yang lebih lanjut menginduksi apoptosis (Cruchten dan Broeck, 2002). Bax, protein pro apoptosis turut memiliki peranan dalam regulasi apoptosis yang diinduksi radiasi (Watson dan Pritchard, 2000). Bax berlokalisasi di sitosol dan setelah diaktivasi oleh *death signal*, Bax menempel pada membran

mitokondria dan menyebabkan keluarnya sitokrom c dari mitokondria (Cruchten dan Broeck, 2002).

Penghitungan data dengan menggunakan analisis statistik *Post Hoc Tukey HSD* didapatkan perbedaan rata-rata yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok I dengan kelompok II, kelompok I dengan kelompok III, dan kelompok II dan kelompok III. Adanya perbedaan yang signifikan pada penelitian ini, menunjukkan bahwa pemberian radiasi sinar gamma dapat meningkatkan apoptosis sel enterosit duodenum, dimana radiasi dosis tunggal 10 Gy memberikan efek peningkatan apoptosis yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan radiasi dengan dosis fraksinasi (2 Gy selama 5 hari). Meskipun hubungan antara dosis radiasi dengan jumlah sel apoptosis ini tidak dapat disimpulkan karena dosis radiasi tidak diberikan secara bertingkat, namun secara analisis hipotetik berdasarkan data yang diperoleh diduga bahwa terdapat hubungan linear dimana radiasi ionisasi akan meningkatkan rata-rata jumlah sel enterosit epitel duodenum usus halus. Hal ini sesuai dengan teori bahwa paparan sinar radiasi dosis tunggal dapat meningkatkan jumlah sel apoptosis lebih banyak jika dibandingkan dengan paparan radiasi dosis fraksinasi. Hal ini dikarenakan pada pemberian radiasi dengan fraksinasi terjadi 4R yaitu reoksigenisasi, repopulasi, redistribusi dan reparasi (Susworo, 2007). Hal ini juga didukung oleh penelitian lain yang dilakukan oleh Sulistiana. Penelitian tersebut menggunakan sel glomerulus hewan coba tikus putih yang dipapar dengan menggunakan radiasi sinar gamma dosis tunggal (10 Gy) dan dosis fraksinasi (5 x 2 Gy). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan sel apoptosis yang signifikan pada kelompok tikus yang dipapar radiasi dosis tunggal jika dibandingkan dengan radiasi dosis fraksinasi (Sulistiana, 2006).

Selain karena adanya faktor 4R tersebut, ada faktor biologi lain yang turut berperan dalam survival rate pada sel normal, yaitu radiosensitivitas (Podgorsak, 2005). Peningkatan sel apoptosis pada enterosit mukosa duodenum usus halus ini berkaitan sifat radiosensitif yang dimiliki epitel mukosa usus halus yang dibuktikan dalam beberapa penelitian dengan berbagai macam hewan coba (Watson dan pritchard , 2000; Zhang *et al.*, 2003).

Kematian sel karena apoptosis ini tergantung pada fase mana dari siklus sel yang mendapat paparan radiasi. Sel-sel pada fase G2 tahap akhir dan M adalah sel-sel yang radiosensitif, sel-sel pada fase S tahap akhir termasuk sel-sel yang radioresisten dan sel-sel pada fase G1 termasuk sel-sel yang radioresponsif (International Atomic Energy Agency, 2010). Sel yang diradiasi pada fase G2/M lebih sensitif untuk dapat menyebabkan apoptosis bila dibandingkan dengan fase G1/S. Jika sel yang diradiasi dalam fase G1/S maka tetap akan menghasilkan apoptosis tetapi prosesnya lebih lambat bila dibandingkan dengan fase G2/M. Apoptosis pada radiasi dosis tinggi akan mempengaruhi semua fase dalam siklus sel sedangkan radiasi dengan dosis rendah hanya akan mempengaruhi fase G2 saja (Sun, 2000). Hal ini menyebabkan radiasi pada dosis tinggi dapat menyebabkan apoptosis sel yang lebih banyak dibandingkan dengan dosis rendah.

6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Hasil penelitian ini dapat menyempurnakan enteritis akut akibat radiasi. Efek akut akibat radiasi terjadi ketika sel fungsional hilang dan tidak segera digantikan karena terjadi kerusakan kompartemen *stem cell* yang merupakan sel yang paling radiosensitif di usus halus. Secara normal, terdapat mekanisme kompensasi proliferasi di kompartemen *stem cell* yang kemudian berdiferensiasi

menjadi sel fungsional tersebut (Molla dan Panes, 2007). Dari hasil analisis hasil penelitian yang dikaitkan dengan teori yang ada maka dapat disimpulkan bahwa penyakit enteritis akibat radiasi terjadi akibat adanya apoptosis yang terjadi pada sel enterosit sehingga fungsi absorpsi sel terganggu dan terjadinya kerusakan kompartemen *stem cell* pada kripti Lieberkuhn, sehingga *stem cell* tidak dapat berdiferensiasi menjadi enterosit baru untuk menggantikan sel enterosit yang mengalami apoptosis. Enterosit yang tidak digantikan ini mengakibatkan fungsi penyerapan makanan, cairan dan elektrolit terganggu dan terjadilah diare dan bila keadaan ini tidak ditangani maka akan menyebabkan malnutrisi.



BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Terjadi peningkatan jumlah apoptosis enterosit duodenum tikus putih dengan paparan radiasi dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy) jika dibandingkan dengan paparan radiasi dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy) dengan $p = 0,001$ ($p < 0,05$).
2. Apoptosis enterosit duodenum tikus putih dengan paparan radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy (1 x 10 Gy) yaitu sebesar $6,0778 \pm 0,95365$
3. Apoptosis enterosit duodenum tikus putih dengan paparan radiasi sinar gamma dosis fraksinasi 10 Gy (5 x 2 Gy) yaitu sebesar $3,1556 \pm 0,33582$

7.2 Saran

1. Hasil penghitungan morfologi sel apoptosis pada penelitian ini bersifat subyektif sehingga penghitungan perlu dilakukan oleh dua orang yang berbeda untuk penelitian lebih lanjut.
2. Perlu dilakukan perawatan tambahan terhadap tikus karena tikus yang terpapar radiasi sangat rentan terhadap infeksi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis serupa dengan penelitian ini untuk menghitung morfologi sel mutasi yang diakibatkan oleh radiasi sinar gamma.

DAFTAR PUSTAKA

- Aghazadeh, S., Azarnia, M., Shirazi, A., Mahdavi, SR., Zangii, BM. Protective Effect of Melatonin on Spinal Cord Damage After Gamma Irradiation. *AATEX*, 2007, 14 : 535 - 538.
- Ahrent, E. 2009. *Olympus Releases Cutting-Edge dotSlide 2.1 Virtual Microscopy System*. (online).<http://www.microscopy-analysis.com/news/olympus-releases-cutting-edge-dotslide-21-virtual-microscopy-system/> diakses 20 Februari 2013).
- Akpolat, M., Tardacalisir, YT., Dokmeci, D., Turan, FN, Uzal, MC. Protective Effects of Ibuprofen and L-Carnitine Against Whole Body Gamma Irradiation-Induced Duodenal Mucosal Injury. *Balkan Medical Journal*. 2011, 28 (1) : 80 - 85.
- Amirullah. 2011. Kanker Ternyata Penyebab Utama Kematian Global, *Tempo*, 18 Desember 2011,<http://www.tempo.co/read/news/2011/12/18/107372348/Kanker-Penyebab-Utama-Kematian-Global.html>.
- Anna, LK. 2011. Menghitung Biaya Ekonomi Pengobatan Kanker, *Kompas*, 23 November 2011,<http://health.kompas.com/read/2011/11/23/11392382/Menghitung.Biaya.Ekonomi.Pengobatan.Kanker.html>.
- Badan Tenaga Nuklir. 2011. *Lampiran Pedoman Etik*. (online). http://www.batan.go.id/etik_hewan.php diakses 3 Januari 2013).
- Badan Tenaga Nuklir. 2008. *Efek Radiasi Terhadap Manusia*, (online). http://www.batan.go.id/pusdiklat/elearning/proteksiradiasi/pengenalan_radiasi/2-3.htm diakses 19 Desember 2011).
- Barrett, KE., Ghishan, FK., Merchant, JL, Said, HM., Wood, JD. 2006. *Physiology of Gastrointestinal Tract Volume 1*, 4th ed., Elsevier Academic Press., USA, p 345 - 348.
- Baskar, R. Emerging Role of Radiation Induced Bystander Effects : Cell Communications and Carcinogenesis. *Baskar Genome Integrity*, 2010, 1 (13): 1 - 8.
- Bellmunt, J., Orsola, A., Maldonado, X., Kataja, V. Bladder cancer: ESMO Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow Up. *Annals Oncology*, 2010, 21 : v134 - v136.
- Booth, C., Potten, CS. Gut Instincts: Thoughts on Intestinal Epithelial Stem Cells. *Journal of Clinical Investigation*, 2000, 105 (11) : 1493 - 1499.

- Brahme, A. Radiation Biology. *Physical Methods, Instruments and Measurement*, 2008, IV.
- Burnham, J. 2001. *Radiation Protection*, NB Power Corporation., Canada, p. 1 - 103.
- Caceci, T. *Exercise 19: Digestive System 2: Intestines*, (online). <http://www.vetmed.vt.edu/education/Curriculum/VM8054/Labs/Lab19/Lab19.htm>. diakses tanggal 12 Januari 2012).
- Conti, CJ., Conti, IBG., Benavides, F., Frijhoff, AFW., Conti, MA. 2004. *Duodenum Overview*, (online), <http://www.ctrgenpath.net/static/atlas/mousehistology/Windows/digestive/duodenum.html>, diakses 10 Desember 2011).
- Cruchten, S., Broeck, W. Morphological and Biochemical Aspects of Apoptosis, Oncosis and Necrosis. *Anatomy Histology Embryology*, 2002, 31 : 214 - 223.
- Darzynkiewicz, Z., Bedner, E., Traganos, F. Difficulties and Pitfalls in Analysis of Apoptosis. *Methods Cell Biology*, 2001, 63 : 527 - 546.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Ketahui Biaya yang Dihabiskan untuk Pengobatan Kanker*, (online). <http://www.depkes.go.id/index.php/component/content/article/43-newsslider/1746-ke-tahu-i-bi-aya-yang-dihabiskan-untuk-pengobatan-kanker.html>. diakses 19 Desember 2011).
- Desaintes, Ch., Kelly, GN., Coiffard Karin. 2002. *Understanding The Effects of Radiation On Health*. Eropcan Communities., Belgium, p 24.
- Driak, D., Osterreicher, J., Vavrova, J., Rehakova, Z., Vilasova, Z. Morphological Changes of Rat Jejunum After Whole Body Gamma Radiation and Their Impact in Biodosimetry. *Physiology Research*. 2008, 57 : 475 - 479.
- Edelblum, KL., Yan, F., Yamaoka, T., Polk, B. Regulation of Apoptosis During Homeostasis and Disease in the Intestinal Epithelium. *Inflammation Bowel Disease*, 2006, 12 (5) : 413 - 422.
- Elmore, S. Apoptosis : A Review of Programmed Cell Death. *Toxicology Pathology*. 2007, 35 : 495 - 516.
- Endharti, Agustina Tri. 2011. *Experimental Research : Designs and Sample Size*. Makalah disajikan dalam kuliah metodologi 3, FKUB, Malang, 14 Oktober.
- Eroschenko, VP. 2000. *Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*, 9th Ed, *Atlas Histologi Di Fiore dengan Korelasi Fungsional*, edisi 9, Jan Tambayong, 2003, ECG, Jakarta, Indonesia, hal 195 - 201.

- Fischer, AH., Jacobson, KA., Rose, J., Zeller, R. 2008. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protoc.*
- Graff, KVD. 2001. *Van De Graff Human Anatomy*, 6th Ed., The McGraw-Hill Companies., New York, p 652 - 656.
- Hall, EJ., Giaccia, AJ. 2006. *Radiobiology for the Radiologist*. 6th Ed., Lippincott Williams and Wilkins., United Sates, p 56.
- Hau, J., Haussier, GL. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Science Volume II*, 2th Ed., CRC Press., USA, p. 1 - 2.
- International Atomic Energy Agency. 2010. *Radiation Biology: Handbook for Teachers and Students*, Austria. p. 14 - 99.
- Irvine. 2008. *Use of Ether Anesthesia*, (Online). <http://www.research.uci.edu/ora/acup/etheranesthesia.htm#Undesirable>. Diakses 27 Januari 2013).
- Joiner, M., Kogel A. 2009. *Basic Clinical Radiobiology*, 4th Ed., Hodder Education Hachette UK Company., UK, p. 11 - 178.
- Khanna, KK., Jackson, SP. *DNA Double-Strand Breaks: Signaling, Repair and the Cancer Connection*. *Nature Genetics*, 2001, 27 : 247 - 254.
- Kiang, JG., Garrison BR., Gorbunov, NV. Radiation Combined Injury : DNA Damage, Apoptosis and Autophagy. *Adaptive Medicine*, 2010, 2(1) : 1 - 10.
- Kumar, V., Cotran, RS., Robbins, SL. 2007. Robbins Basic Pathology, 7th Ed, *Buku Ajar Patologi Robbins*, edisi 7, Prasetyo Awal, Brahm Pendit, Toni Priliono, 2007, ECG, Jakarta, Indonesia, hal. 28 - 31.
- Levitt, S. H., Purdy, J. A., Perez, C. A., Vijayakumar, S. 2006. *Technical Basis of Radiation Therapy*. 7th Ed., Springer., New York, p. 255.
- Losa, M., et al. Determination of Proliferation and Apoptotic Index in Adrenocorticotropin-Secreting Pituitary Tumors. *Am J Pathology*, 2000, 156 (1) : 245 - 251.
- Lowe and Lin. Apoptosis in Cancer. *Carcinogenesis*, 2000, 21 (3) : 485 - 495.
- Lutz, S., et al. Palliative Radiotherapy For Bone Metastases: An Astro Evidence-Based Guideline. *Radiation Oncology*, 2011, 4 : 965 - 976.
- Lyer, R., Jhingran, A. Radiation Injury : Imaging Findings in the Chest, Abdomen and Pelvic After Therapeutic Radiation. *Cancer Imaging*, 2006, 6 : S131 - S139.
- MacNaughton, WK. Review Article: New Insights into the Pathogenesis of Radiation-Induced Intestinal Dysfunction. *Alimentary Pharmacology Therapy*, 2000, 14 : 523 - 528.

- Madigan, J. 2011. *What Wavelength Goes With a Color?*, (online). http://science-edu.larc.nasa.gov/EDDOCS/Wavelengths_for_Colors.html/ diakses tanggal 18 Februari 2013).
- Marieb, EN., Hoehn, K. 2007. *Human Anatomy & Physiology*, 7th Ed., Pearson Education Inc., US, p 908 - 911.
- Meydan, D., Gursel, B., Bilgici, B., Can, B., Ozbek, N. Protective Effect of Lycopene Against Radiation-induced Hepatic Toxicity in Rats. *Journal of International Medical Research*, 2011, 39 (4) : 1239 - 1252.
- Molla, M., Panes, J. Radiation-Induced Intestinal Inflammation. *World Journal Gastroenterology*, 2007, 13 (22) : 3043 - 3046.
- National Cancer Institute. 2010. *Radiation Therapy for Cancer*, (Online). <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Therapy/radiation>. diakses 12 Desember 2011).
- Pecaut, MJ., Nelson, GA., Gridley, DS. Dose and Dose Rate Effects of Whole-Body Gamma-Irradiation: I. Lymphocytes and Lymphoid Organs. *In Vivo*, 2001, 15 (3) : 195 - 208.
- Podgorsak, EB. 2005. *Oncology Physics : A Handbook for Teachers and Students*. International Atomic Energy Agency. Austria, p. 130 - 502.
- Podgorsak, EB. 2010. *Radiation Physics for Medical Physicists*. 2th Ed. Springer Heidelberg Dordrecht London., New York, p. 42 - 219.
- Pucci, B., Kasten, M., Giordano, A. Cell Cycle and Apoptosis. *Neoplasma*, 2000, 2 (4) : 291 - 299.
- Ramachandran, A., Madesh, M., Balasubramania, KA. Apoptosis in the Intestinal Epithelium : Its Relevance in Normal and Pathophysiological Condition. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2000, 15 : 109 - 102.
- Russel, R. 2005. *Gamma Ray Radiation*. (online). http://www.windows2universe.org/physical_science/magnetism/em_gamma_ray.html. diakses tanggal 19 Desember 2011).
- Somogyi, Z. Radiation Response to Cell Organelles. *Micron*, 2000, 31 : 165 - 181.
- Stone, HB., Coleman, N., Anscher, MS., McBride, WH. Effects of Radiation on Normal Tissue : Consequences and Mechanism. *The Lancet Oncology*, 2003, 4 : 520 - 536.
- Sulistiana. 2006. *Efek Radiasi Sinar Gamma Terhadap Apoptosis Sel Glomerulus Rattus Norvegicus Var. Wistar Jantan dengan Parameter Caspase 3*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

- Sun, W. Cell cycle Response Radiosensitivity. *Radiation Biology*, 2000 : 1 - 8.
- Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. Penerbit PT Rineka Cipta., Jakarta.
- Susworo, R. 2007. *Radioterapi*. UI-Press., Jakarta. Hal 1 - 28.
- Suyatno, F. 2008. *Aplikasi Radiasi Sinar-X di Bidang Kedokteran untuk Menunjang Kesehatan Masyarakat*. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional IV SDM Teknologi Nuklir , Yogyakarta, 25 - 26 Agustus.
- Suyatno, F. 2010. *Aplikasi Radiasi dan Isotop dalam Bidang Kedokteran*. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional IV SDM Teknologi Nuklir, Yogyakarta, 18 November.
- U.S. Department of Health and Human Services. 2003. *X Radiation & Gamma Radiation and Neutrons*. Technology Planning and Management Corporation., Durham, North Carolina, p. 30 - 172.
- U.S. Environmental Protection Agency. 2011. *Gamma Rays* .(online). <http://www.epa.gov/radiation/understand/gamma.html/> diakses tanggal 19 Desember 2011).
- Vyas, *et al*. Epithelial Apoptosis in Mechanistically Distinct Methods of Injury in the Murine Small Intestine. *Histology Histopathology*, 2007, 22(6) : 623 - 630.
- Wang, J., Boerma, M., Fu, Q., Hauer-Jensen, M. Significance of Endothelial Dysfunction in the Pathogenesis of Early and Delayed Radiation Enteropathy. *World Journal Gastroenterology*, 2007, 13 (22) : 3047 - 3055.
- Watson, AJM and Pritchard DM. Lessons from Genetically Engineered Animal Models VII. Apoptosis in Intestinal Epithelium : Lessons from Transgenic and Knockout Mice. *AJP -Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2000, 278 : G1 - G5.
- Waugh, A., Grant, A. 2004. *Anatomy and Physiology in Health and Illness*, 9th Ed., Elsevier Ltd., Spain, p. 299 - 303.
- Wibisono, M. Pengaruh Sinar Gamma Co-60 terhadap Peroksidase Lemak pada Sumsum Tulang. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 2000, 8 (2) : 64 - 69.
- Wijaya, LK. 2009. *Buku Ajar IPD Jilid 3*. Edisi 5., Interna Publishing., Jakarta, hal 2416.
- Zhang, B., Su, YP., Ai, GP., Liu XH., Wang, FC., Cheng, TM. Differentially Expressed Protein of Gamma Ray Irradiated Mouse Intestinal Epithelial Cells by Two Dimensional Electrophoresis and MALDI-TOF Mass Spectrometry. *World J Gastroenterology*, 2003, 9(12) : 2726 - 2731.

Lampiran 1

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hervi Laksari Fitri Ari
NIM : 0910713045
Program Studi : Program Studi Kedokteran Umum
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

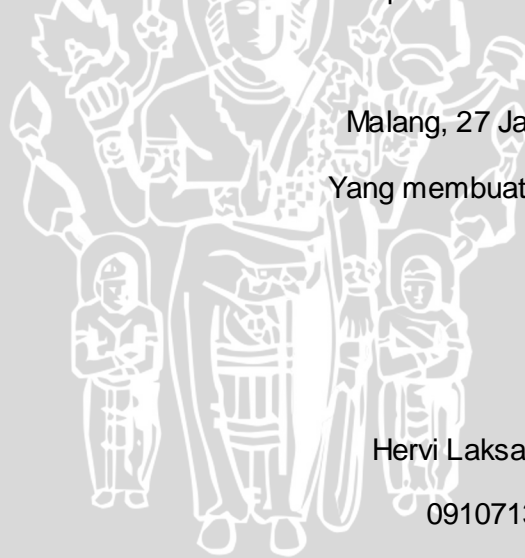
Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Januari 2013

Yang membuat pernyataan,

Hervi Laksari Fitri Ari

0910713045



Lampiran 2

PROSES Pengerjaan Preparat Histopatologi

1.1 PEMOTONGAN Jaringan Berupa Makros

1. Organ dimasukkan ke larutan *Buffered Neutral Formalin* 10% (fiksasi) minimal 1 hari.
2. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan diteliti
3. Jaringan dipotong dengan ketebalan kurang lebih 2-3 milimeter
4. Potongan dimasukkan ke *tissue cassette* dan diberi kode sesuai dengan kode organ peneliti
5. Dimasukkan ke larutan *Buffered Neutral Formalin* 10 % sebelum diproses ke alat *Tissue Tex Processor*
6. Diproses menggunakan alat *Tissue Tex Prosesor* selama 90 Menit
7. Alarm bunyi tanda selesai.

1.2 PENGEblokan & PEMOTONGAN Jaringan

1. Jaringan diangkat dari mesin *Tissue Tex Processor*
2. Jaringan diblok dengan *paraffin* sesuai kode jaringan
3. Jaringan dipotong dengan alat *microtome* ketebalan 3-5 mikron.

1.3 DEPARAFINISASI

1. Setelah dipotong dengan ketebalan 3-5 mikron, dimasukkan dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70° - 80°
2. Potongan jaringan tersebut lalu direndam ke dalam 2 tabung larutan *xylol* (*xylol I* dan *xylol II*) masing-masing selama 20 menit
3. Kemudian potongan jaringan direndam ke dalam 4 tabung alkohol masing-masing selama 3 menit.
4. Terakhir, dibilas dengan air mengalir selama 15 menit.

1.4 PEWARNAAN HE (*HEMATOXYLLIN EOSIN*)

1. Cat utama *Harris Hematoxyllin* selama 10-15 Menit
2. Cuci dengan air mengalir selama 15 Menit
3. Alkohol asam 1 % 2-5 Celup
4. Amonia air 3-5 Celup
5. Cat pembeding :
- *Eosin* 1% selama 10-15 Menit

1.5 DEHIDRASI

- Alkohol 70% 3 menit
- Alkohol 80% 3 menit
- Alkohol 96% 3 menit
- Alkohol Absolut 3 menit

1.6 PENJERNIHAN (CLEARING)

- *Xylol* 60 menit
- *Xylol* 60 menit

1.7 MOUNTING

- Slide ditetesi dengan entelan dan ditutup dengan *deckglass*
- Biarkan slide kering pada suhu ruangan
- Slide kering siap untuk diamati.



Lampiran 3

HASIL PENGHITUNGAN APOPTOSIS INDEX

Slide Duodenum Kelompok I

No	Kode	Sel apoptosis	Total sel	<i>Apoptosis Index</i>	Persentase (%)
1.	DK1	17	1000	0,017	1,7%
2.	DK2	16	1000	0,016	1,6%
3.	DK3	11	1000	0,011	1,1%
4.	DK4	17	1000	0,017	1,7%
5.	DK5	23	1000	0,023	2,3%
6.	DK6	55	1000	0,055	5,5%
7.	DK7	15	1000	0,015	1,5%
8.	DK8	18	1000	0,018	1,8%
9.	DK9	17	1000	0,017	1,7%

Slide Duodenum Kelompok II

No	Kode	Sel apoptosis	Total sel	<i>Apoptosis Index</i>	Persentase (%)
1.	DF1	36	1000	0,036	3,6%
2.	DF2	29	1000	0,029	2,9%
3.	DF3	32	1000	0,032	3,2%
4.	DF4	32	1000	0,032	3,2%
5.	DF5	35	1000	0,035	3,5%
6.	DF6	31	1000	0,031	3,1%
7.	DF7	25	1000	0,025	2,5%
8.	DF8	30	1000	0,030	3,0%
9.	DF9	34	1000	0,034	3,4%

Slide Duodenum Kelompok III

No	Kode	Sel apoptosis	Total sel	<i>Apoptosis Index</i>	Persentase (%)
1.	DT1	62	1000	0,062	6,2%
2.	DT2	59	1000	0,059	5,9%
3.	DT3	68	1000	0,068	6,8%
4.	DT4	50	1000	0,050	5,0%
5.	DT5	47	1000	0,047	4,7%
6.	DT6	67	1000	0,067	6,7%
7.	DT7	71	1000	0,071	7,1%
8.	DT8	51	1000	0,051	5,1%
9.	DT9	72	1000	0,072	7,2%