

**EFEK RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP JUMLAH APOPTOSIS
SEL KELENJAR ADRENAL RATTUS NORVEGICUS VARIAN WISTAR
JANTAN DENGAN PARAMETER GAMBARAN HISTOPATOLOGI**

TUGAS AKHIR

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



**Oleh:
Claurita Deasy Natalina
NIM. 0910710016**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP JUMLAH APOPTOSIS SEL
KELENJAR ADRENAL RATTUS NORVEGICUS VARIAN WISTAR JANTAN
DENGAN PARAMETER GAMBARAN HISTOPATOLOGI

Oleh:

Claurita Deasy Natalina

NIM: 0910710016

Telah diuji pada

Hari: Kamis

Tanggal: 7 Februari 2013

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Djoko Santoso, M. Kes, DAHK

NIP. 00848051

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

dr. Indrastuti Normahayu, Sp.Rad (K)

NIP. 19630224 198910 2 001

dr. Imam Sarwono, Sp.PA

NIP. 19521111 198002 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

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

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan kasih setianya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir berjudul “Efek Radiasi Sinar Gamma terhadap Jumlah Apoptosis Sel Kelenjar Adrenal *Rattus norvegicus* Varian Wistar Jantan dengan Parameter Gambaran Histopatologi” ini dengan baik dan tepat pada waktunya.

Penulis mengangkat judul ini karena dalam praktik radioterapi yang bertujuan untuk membunuh sel-sel tumor, sel-sel normal juga dapat ikut rusak dan mati. Penulis ingin melihat dampak kerusakan tersebut pada kelenjar adrenal yang merupakan kelenjar penting bagi tubuh.

Dengan selesainya tugas akhir ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp. PA (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono DTM& H, MSc, Sp.ParK, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr. Indrastuti Normahayu, Sp. Rad (K), selaku pembimbing pertama yang dengan sabar memberikan banyak bimbingan dan saran.
4. dr. Imam Sarwono, Sp. PA, selaku pembimbing kedua yang dengan sabar mengarahkan dan memberi nasihat yang membangun.
5. Dr. Sri Winarsih, Apt, M. Si, selaku Ketua Tim Tugas Akhir.

6. dr. Soemardini, M.Pd, selaku Koordinator Tugas Akhir Program Studi Pendidikan Dokter.
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
8. Kedua orang tua penulis, Erti Wuryaningsih dan Thomas Supriyanto, serta kakak penulis, Claudia Wuri P., yang dengan penuh cinta kasih mendukung dan menguatkan penulis dalam setiap permasalahan.
9. Teman-teman kelompok penelitian, Annisa Alwita, Hervi Laksari, Igsana Chyntia, Iraky Mardya, Nadhila Sharfina, Nisak Humairok, dan Pratiwi Indrihapsari.
10. Para sahabat dekat penulis, Rr. Krisanti Pascaningtyas, yang setia memberi semangat, Erika M. C. Simatupang dan Firdanis Setyaning yang juga telah membagi ilmu demi penyelesaian tugas akhir ini.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna baik dari segi isi maupun tata cara penulisan. Oleh karena itu, penulis mohon maaf membuka diri atas berbagai saran dan kritik yang membangun agar dapat menjadi bahan perbaikan. Akhirnya, semoga tugas akhir ini berguna bagi yang membutuhkan.

Malang, 20 Januari 2013

Penulis

ABSTRAK

Natalina, Claurita Deasy. 2013. **Efek Radiasi Sinar Gamma Terhadap Jumlah Apoptosis Sel Kelenjar Adrenal Rattus Norvegicus Varian Wistar Jantan dengan Parameter Gambaran Histopatologi**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Indrastuti Normahayu, Sp. Rad (K) (2) dr. Imam Sarwono, Sp. PA.

Radiasi sinar gamma merupakan radiasi ionisasi yang sering digunakan sebagai terapi keganasan. Radiasi sinar gamma dapat diberikan dalam 2 macam dosis, yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Radiasi sinar gamma yang menembus tubuh manusia akan menyebabkan kerusakan DNA dan dapat menyebabkan kematian sel, salah satunya apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal 1 x 10 Gy akan menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis lebih banyak dibandingkan dengan dosis fraksinasi yang diberikan 2 Gy setiap hari selama 5 hari. Studi eksperimental dengan *post test only control group design* dilakukan terhadap hewan coba *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan. Sampel dipilih dengan cara *random sampling* untuk dibagi dalam 3 kelompok, yaitu kelompok I/kontrol (n=9), kelompok II/dosis tunggal 10 Gy (n=9), dan kelompok III/dosis fraksinasi 5 x 2 Gy (n=9). Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis setelah paparan radiasi sinar gamma. Sel kelenjar adrenal yang apoptosis diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x dan menggunakan pengecatan hematoksilin-eosin (HE). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis pada kelompok II/dosis tunggal 10 Gy terhadap kelompok I/kontrol tidak berbeda secara bermakna (Anova, $p > 0,05$). Sedangkan antara kelompok III/dosis fraksinasi 5 x 2 Gy dengan kelompok I dan II berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal 1 x 10 Gy tidak dapat menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis lebih banyak dibandingkan dengan dosis fraksinasi 5 x 2 Gy. Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan agar pengecatan selanjutnya tidak menggunakan HE lagi karena bagian korteks adrenal tidak dapat dievaluasi, serta sebaiknya dilakukan pengamatan *post-radiation* dengan waktu yang lebih lama untuk melihat efek samping kronis pemberian radiasi sinar gamma.

Kata kunci: radiasi sinar gamma, apoptosis, kelenjar adrenal

ABSTRACT

Natalina, Claurita Deasy. 2013. **The Effect of Gamma Rays Radiation toward The Amount of Apoptosis of Male Rattus Norvegicus Wistar Strain Adrenal Gland Cells with Histopatological Appearance as a Parameter.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Indrastuti Normahayu, Sp. Rad (K) (2) dr. Imam Sarwono Sp. PA.

Gamma rays radiation is an ionizing radiation that is often used as cancer therapy. Gamma rays radiation can be given in 2 kind of dose, which are single dose and fractionated dose. Gamma rays radiation which passes human body will cause DNA damage and lead to cell death, such as apoptosis. Objective of this research is to prove that 1 x 10 Gy single dose gamma rays radiation will cause the amount of apoptotic adrenal gland cells higher than those with fractionated dose, 2 Gy given each day for 5 days. Experimental study with post test only control group design was done to male Rattus norvegicus Wistar strain. Samples were chosen by random sampling to be divided into 3 groups, which are 1st group/control (n=9), 2nd group/10 Gy single dose (n=9), and 3rd group/5 x 2 Gy fractionated dose (n=9). Dependent variable of this research is the amount of apoptotic adrenal gland cells that is observed by light microscope with 1000x magnification and hematoxylin-eosin (HE) staining. The result shows that the increasing of the amount of apoptotic adrenal gland cells in 2nd group/10 Gy single dose to 1st group/control has no significant difference (Anova, $p > 0,05$). Besides, the amount of apoptotic adrenal gland cells between 3rd group/5 x 2 Gy fractionated dose and 1st group/control and 2nd group/10 Gy single dose are different significantly ($p < 0,05$). The conclusion of this research is that 1 x 10 Gy single dose gamma rays radiation cannot cause the amount of apoptotic adrenal gland cells higher than those with 5 x 2 Gy fractionated dose. According to the result, it is recommended not to use HE staining for the next research because adrenal cortex cannot be evaluated well, and the observation of post gamma rays radiation with fractionated dose should be done in longer period to see its chronic side effect.

Keywords: gamma rays radiation, apoptosis, adrenal gland

DAFTAR ISI

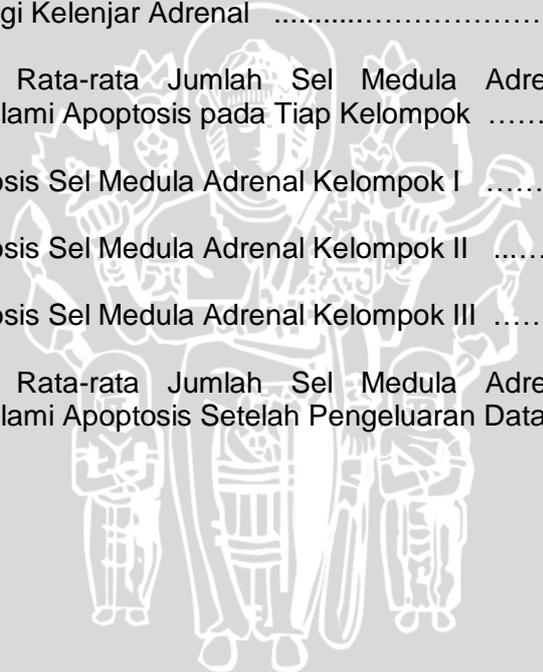
	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	ix
Daftar Tabel	x
Daftar Lampiran	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Radiasi Sinar Gamma	6
2.1.1 Radiasi Ionisasi dan Interaksi dengan Materi	6
2.1.2 Sinar Gamma	9
2.1.3 Dosis Radiasi	10
2.1.4 Interaksi Radiasi Ionisasi dengan Sel	12
2.1.5 Radiosensitivitas dan Siklus Sel	14
2.1.6 Efek Biologis Radiasi Ionisasi	17
2.1.7 Radiasi Ionisasi sebagai Radioterapi	20
2.2 Apoptosis	22
2.3 Kelenjar Adrenal	27
2.3.1 Anatomi dan Histologi Kelenjar Adrenal	27
2.3.2 Efek Radiasi terhadap Kelenjar Adrenal	32
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	34
3.2 Hipotesis Penelitian	37
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	38
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	39
4.2.1 Populasi Hewan Coba	39
4.2.2 Sampel Penelitian	39
4.3 Variabel Penelitian	40
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	41
4.4.1 Lokasi Penelitian	41
4.4.2 Waktu Penelitian	42
4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	42
4.5.1 Bahan Penelitian	42

4.5.2 Pakan dan Air Minum	43
4.5.3 Instrumen Penelitian	43
4.5.3.1 Kandang Tikus	43
4.5.3.2 Alat Fiksasi	43
4.6 Definisi Istilah/Operasional	44
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data	45
4.8 Analisis Data	48
4.9 Jadwal Penelitian	49
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	50
5.1.1 Hasil Pengamatan dan Perhitungan Sel Apoptosis	50
5.1.2 Hasil Pengamatan dengan Pewarnaan HE	53
5.2 Analisis Data	54
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Efek Radiasi Sinar Gamma terhadap Morfologi Apoptosis Sel Medula Kelenjar Adrenal	60
6.2 Keterbatasan Penelitian	63
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	65
7.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	71



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bagan Klasifikasi Jenis Radiasi	6
Gambar 2.2 Spektrum Gelombang Elektromagnetik	8
Gambar 2.3 Siklus Sel	15
Gambar 2.4 Skema Proses Apoptosis melalui Jalur Instrinsik dan Ekstrinsik	24
Gambar 2.5 Morfologi Sel Normal dan Sel Apoptosis	26
Gambar 2.6 Histologi Kelenjar Adrenal	29
Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis pada Tiap Kelompok	52
Gambar 5.2 Apoptosis Sel Medula Adrenal Kelompok I	53
Gambar 5.3 Apoptosis Sel Medula Adrenal Kelompok II	53
Gambar 5.4 Apoptosis Sel Medula Adrenal Kelompok III	53
Gambar 5.5 Grafik Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis Setelah Pengeluaran Data	55



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Radiosensitivitas Jaringan dan Organ	17
Tabel 2.2 Perbedaan Nekrosis dan Apoptosis	27
Tabel 2.3 Perbandingan Hormon Medula Adrenal	32
Tabel 4.1 Jadwal Perlakuan Hewan Coba	47
Tabel 4.2 Jadwal Penelitian	49
Tabel 5.1 Indeks Apoptosis Medula Kelenjar Adrenal	51
Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis	52
Tabel 5.3 Indeks Apoptosis Medula Adrenal Setelah Pengeluaran Data	54
Tabel 5.4 Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis Setelah Pengeluaran Data	55



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan..... 71
Lampiran 2	Keterangan Kelaikan Etik..... 72
Lampiran 3	Metode Perlakuan, Pembedahan, dan Pengambilan Organ pada Hewan Coba..... 73
Lampiran 4	Proses Pengerjaan Preparat Histopatologi 76
Lampiran 5	Proses Pemeriksaan dan Perhitungan Sel Kelenjar Adrenal 78
Lampiran 6	Hasil Uji Normalitas, Homogenitas dan Analisis <i>One Way</i> ANOVA 81
Lampiran 7	Hasil Analisis Uji <i>Post Hoc Tukey</i> 82



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Radiasi dalam bidang kedokteran digunakan dalam tiga hal, yaitu untuk diagnosis radiologi, kedokteran nuklir, dan radioterapi (HPA, 2011). Radioterapi, disebut juga terapi radiasi, adalah pengobatan yang terutama ditujukan untuk mengatasi keganasan dengan menggunakan radiasi sinar pengion berenergi tinggi. Tipe radiasi yang digunakan untuk pengobatan kanker antara lain sinar X, sinar gamma, dan partikel bermuatan. Sinar gamma termasuk radiasi elektromagnetik yang memiliki energi yang lebih tinggi daripada sinar X, sehingga lebih sering digunakan untuk membunuh sel-sel kanker (Supriana, 2008; NCI, 2010).

Terapi radiasi dapat membunuh sel-sel kanker secara langsung dengan merusak DNA, yaitu molekul di dalam sel yang membawa informasi genetik untuk generasi sel selanjutnya. Selain itu, radiasi juga dapat merusak DNA dengan cara membentuk radikal bebas yang dapat menghancurkan DNA di dalam sel itu sendiri (Affandi, 2009; NCI, 2010). Kemampuan reparasi sel-sel kanker lebih rendah daripada sel-sel normal, sehingga setelah diradiasi, sel-sel kanker yang mati dan tetap rusak jumlahnya lebih banyak dibandingkan sel-sel normal. Kemampuan reparasi DNA sel normal lebih baik dan lebih cepat dibandingkan sel kanker, sehingga dapat digunakan sebagai dasar radioterapi (Affandi, 2009).

Terapi radiasi dapat diberikan dalam dua macam dosis, yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Dosis tunggal dapat dipakai sebagai terapi paliatif pada kasus tumor metastasis tulang, sedangkan dosis fraksinasi dipakai sebagai terapi kuratif keganasan pada umumnya (Nielsen *et al.*, 1998). Kedua dosis ini dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan normal, tetapi radiasi dengan dosis fraksinasi memberi kesempatan sel-sel normal untuk mereparasi DNA sehingga kerusakan jaringan normal bisa ditekan. Dosis fraksinasi diberikan 1,8-2 Gy per hari selama 5 hari setiap minggu selama 2-8 minggu, dengan durasi tiap terapi 2-5 menit. Dosis radiasi seluruh tubuh yang biasanya dipakai berkisar antara 8-14 Gy (Otto, 2005).

Berbagai tingkat kerusakan dapat terjadi akibat dari terapi radiasi. Kerusakan DNA sel, baik sel kanker maupun sel normal, oleh radiasi akan menginduksi sel tersebut untuk melakukan reparasi. Reparasi sel dapat terjadi secara sempurna maupun tidak sempurna tergantung berat dan kerusakan sel yang terjadi. Jika kerusakan sel berat dan tidak dapat diperbaiki secara sempurna, maka sel akan diprogram untuk mengalami kematian yang disebut apoptosis (Gondhowiardjo, 2004). Apoptosis merupakan proses aktif yang dilakukan sel sebagai upaya untuk mempertahankan homeostasis. Sel yang tidak dapat diperbaiki akan memberi sinyal melalui *death inducing protein* dan *death receptor* untuk diapoptosis (Nurhayati & Lusiyanti, 2006).

Radiasi seluruh tubuh dapat mengenai berbagai macam organ di dalam tubuh manusia sehingga menimbulkan efek baik akut maupun lambat. Salah satu organ yang dapat terpengaruh adalah kelenjar adrenal. Berdasarkan penelitian Kecheva (2010), terjadi gangguan kontrol kadar kortisol di dalam darah setelah dilakukan radiasi sinar gamma seluruh tubuh dengan dosis 0,1 dan 0,5 Gy pada

kelinci dan babi selama 30 hari. Hal ini menandakan adanya perubahan struktural pada kelenjar adrenal sehingga sel yang mensekresi kortisol tidak dapat berfungsi dengan baik.

Kelenjar adrenal memegang peranan penting dalam berbagai sistem yang esensial. Hormon yang disekresikan dapat mengatur respon stres, fungsi imun, regulasi kardiovaskuler, dan proses anabolik maupun katabolik (Bielohuby, 2007). Apabila terjadi gangguan pada kelenjar adrenal, maka terjadi pula gangguan sekresi berbagai hormon, diantaranya hormon aldosteron, adrenalin, dan kortisol. Aldosteron berperan dalam regulasi keseimbangan elektrolit tubuh dengan reabsorpsi sodium dan ekskresi potasium. Hormon adrenalin bersama kortisol memengaruhi proses pengaturan kadar glukosa dalam darah dengan meregulasi glukoneogenesis dan lipolisis di jaringan. Gangguan produksi hormon kortisol, misalnya, dapat menyebabkan *Cushing's syndrome* jika jumlahnya berlebihan dan *Addison's disease* jika terjadi defisiensi (Bobick & Balaban 2008).

Dari penelitian yang pernah dilakukan, disebutkan bahwa kelenjar adrenal merupakan salah satu organ yang kurang sensitif terhadap radiasi (Deshmukh & Suryawanshi, 1989). Selain itu, dari penelitian serupa dengan parameter berbeda, yaitu aktivitas superoksida dismutase, katalase, dan kadar malondialdehid, didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan aktivitas superoksida dismutase, sebaliknya terjadi peningkatan aktivitas katalase dan kadar malondialdehid pada tikus yang diradiasi (Hayati, 2010).

Berdasarkan fakta-fakta tersebut, pada penelitian ini akan diteliti efek radiasi sinar gamma Co-60 terhadap jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis dengan membandingkan dua macam dosis, yaitu dosis tunggal sebesar 10 Gy dan dosis fraksinasi sebesar 10 Gy dalam 5 kali fraksinasi dengan

dosis 2 Gy/hari. Penelitian ini menggunakan *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan sebagai hewan coba. Pemilihan dosis sebesar 10 Gy didasarkan pada efek radiasi terhadap kerusakan jaringan normal, dimana 1-10 Gy merupakan *moderate dose*. Perubahan struktur dan fungsi sel normal sebagai respon pemberian radiasi bisa diukur dan diamati pada dosis ini (Radiation Research Program, 2002).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal (1 x 10 Gy) dapat menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis pada *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan lebih banyak dibandingkan dengan pemberian radiasi dosis fraksinasi (5 x 2 Gy) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Membuktikan bahwa pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal (1 x 10 Gy) dapat menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis pada *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan lebih banyak dibandingkan dengan pemberian radiasi dosis fraksinasi (5 x 2 Gy).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Memberi pengetahuan tentang efek radiasi sinar gamma terhadap apoptosis sel kelenjar adrenal sebagai dasar dan pengetahuan untuk pengembangan penelitian yang lebih lanjut.

1.4.2 Manfaat Praktis

Mengidentifikasi efek radiasi sinar gamma terhadap apoptosis sel kelenjar adrenal dengan dosis tunggal dan dosis fraksinasi sehingga dapat digunakan dalam klinik sebagai pertimbangan untuk menentukan cara dan dosis pemberian terapi radiasi.

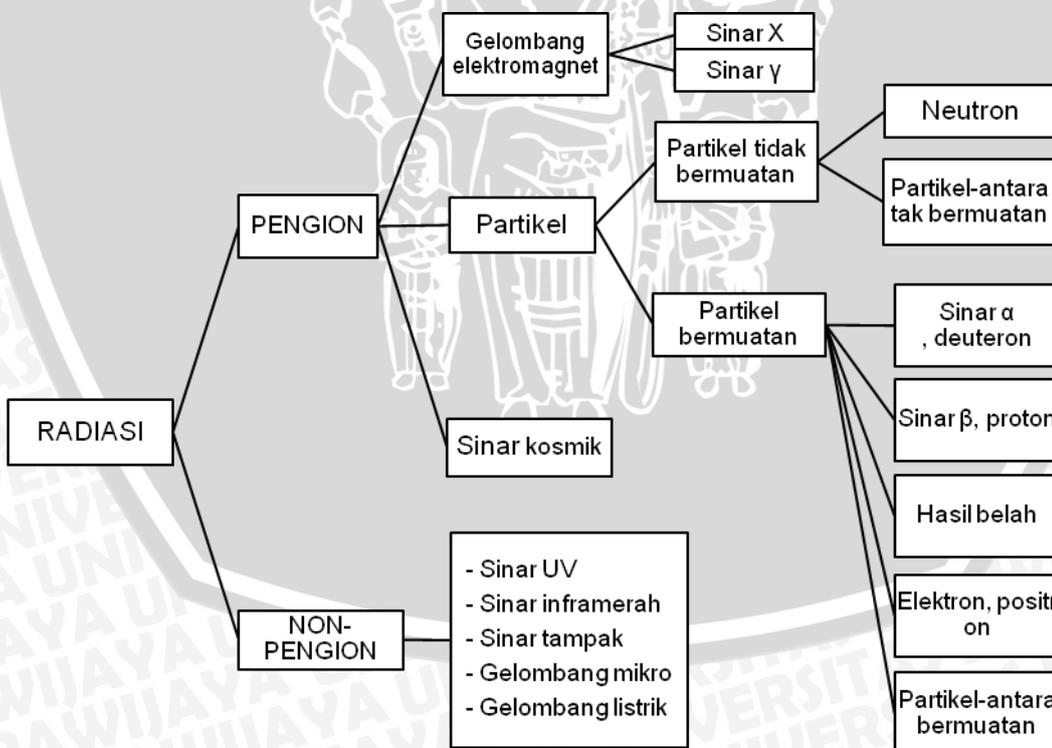


BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radiasi Sinar Gamma

2.1.1 Radiasi Ionisasi dan Interaksi dengan Materi

Radiasi adalah energi yang berasal dari sebuah sumber dan dipancarkan melalui materi atau ruang dalam bentuk panas, partikel atau gelombang elektromagnetik/cahaya (ORISE, 2011; BATAN 2008). Radiasi secara umum digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu radiasi pengion (*ionizing*) dan radiasi non-pengion (*non-ionizing*).



Gambar 2.1 Bagan Klasifikasi Jenis Radiasi (BATAN, 2005)

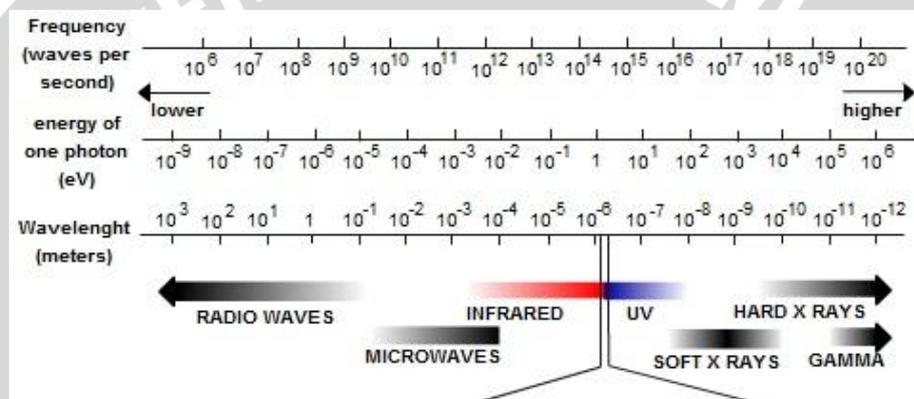


Radiasi pengion adalah jenis radiasi yang memiliki energi sehingga dapat menyebabkan proses ionisasi (terbentuknya ion positif dan elektron bebas) apabila berinteraksi dengan materi (BATAN, 2005). Energi ionisasi adalah kemampuan radiasi berenergi tinggi untuk menggeser elektron keluar dari atom dan menyebabkan materi yang dilewatinya menjadi bermuatan (Tintinalli *et al.*, 2011). Interaksi radiasi pengion dengan materi dapat menyebabkan sebagian radiasi diteruskan, sebagian dihamburkan, dan sebagian diserap. Jika energi radiasi tersebut tinggi akan terjadi reaksi ionisasi yaitu terlepasnya elektron dari atom atau molekul. Jika energi radiasi tidak cukup untuk menggeser elektron, maka hanya akan terjadi eksitasi. Setelah terjadi ionisasi atau eksitasi, atom atau molekul akan mengalami disintegrasi menjadi ion dan menghasilkan radikal bebas. Proses ionisasi dan eksitasi juga akan terjadi pada makhluk hidup bila terkena radiasi. Interaksi antara radiasi dengan materi sangat bergantung pada jenis dan energi radiasi (BATAN, 2005). Radiasi pengion dibedakan menjadi tiga, yaitu:

1. Gelombang elektromagnetik

Radiasi elektromagnetik dapat berupa radiasi pengion dan non-pengion. Yang termasuk radiasi pengion adalah sinar X, sinar gamma, dan sebagian sinar UV. Sedangkan yang tidak termasuk radiasi pengion adalah gelombang radio, *microwaves*, sinar inframerah, dan sinar tampak. Radiasi elektromagnetik merupakan radiasi dengan energi murni dan gelombangnya terdiri dari komponen elektrik dan magnetik. Gelombang elektromagnetik mengalir dalam bentuk kumpulan paket-paket energi kecil yang disebut foton (NDT, 2011).

Gelombang elektromagnetik pengion, yaitu sinar X dan sinar gamma, memiliki energi tinggi dan panjang gelombang yang pendek sehingga daya tembusnya besar. Sifat ini sering dimanfaatkan dalam dunia kedokteran. Sinar X sering digunakan untuk pencitraan bagian dalam tubuh manusia yang disebut foto Roentgen. Sedangkan sinar gamma yang berenergi lebih tinggi sering digunakan untuk membunuh sel-sel kanker sebagai radioterapi (Pikatan, 1992; Supriana, 2008).



Gambar 2.2 Spektrum Gelombang Elektromagnetik (NDT, 2011)

2. Partikel

Radiasi partikel terbentuk melalui proses disintegrasi atom tidak stabil. Yang termasuk dalam radiasi partikel diantaranya adalah sinar alfa (α) dan beta (β). Sinar alfa terdiri dari proton dan neutron, radiasinya hanya jarak pendek, dan tidak dapat menembus kertas atau kulit. Karena itu, sinar alfa tidak banyak digunakan dalam radioterapi (Affandi, 2009). Sinar beta terdiri dari elektron yang bergerak cepat dengan ukuran partikel lebih kecil daripada sinar alfa sehingga daya tembusnya juga lebih besar daripada sinar alfa (NDT, 2011). Sinar beta digunakan sebagai radioterapi terutama untuk lesi yang superfisial (Affandi, 2009).

3. Sinar kosmik

Radiasi kosmik dibedakan menjadi dua, yaitu radiasi kosmik primer dan sekunder. Disebut primer jika radiasi berasal dari benda angkasa yang menembus ke dalam atmosfer bumi. Disebut sekunder jika radiasi dihasilkan oleh interaksi radiasi kosmik primer dengan inti atom yang ada di udara (BATAN, 2005). Sinar kosmik termasuk sumber radiasi alamiah. Dosis serap radiasi alamiah yang diterima oleh tubuh manusia setiap tahunnya sekitar 0,2 rem dan merupakan dosis yang sangat kecil sehingga tidak menimbulkan efek biologis secara langsung (Pikatan, 1992).

2.1.2 Sinar Gamma

Sinar gamma (γ) merupakan pancaran gelombang elektromagnetik yang berasal dari disintegrasi inti atom unsur-unsur yang tidak stabil. Sumber radioisotop yang menghasilkan sinar gamma antara lain Co^{60} (kobalt), Cs^{137} (sesium), Ra^{226} (radium), Ir^{192} (iridium) (Susworo, 2007). Akibat dari disintegrasi inti tersebut akan terbentuk satu pancaran energi berupa sinar gamma dan dua pancaran partikel, yaitu pancaran elektron yang disebut sinar beta (β) dan pancaran inti helium yang disebut sinar alfa (α) (Kreshnamurti dkk., 2009).

Sinar gamma terdiri dari aliran energi dalam paket-paket kecil yang disebut foton. Sinar gamma terdiri atas foton-foton monoenergetik berenergi tinggi sebesar beberapa megaelektron volt (MeV) (NIEHS, 2003). Panjang gelombang sinar gamma adalah sekitar 0,0001 angstrom (\AA) dan merupakan gelombang dengan panjang yang sangat pendek. Karena itu sinar memiliki daya penetrasi yang sangat tinggi (NDT, 2011).

Sinar gamma dapat menembus tubuh manusia. Daya tembus sinar gamma tergantung dari besar energinya. Makin tinggi energi atau voltasenya, makin besar daya tembusnya (Affandi, 2009). Karena sangat mudah menembus dan diabsorpsi oleh jaringan, radiasi sinar gamma dapat membahayakan tubuh (NIEHS, 2003). Sifat sinar gamma yang dapat menembus jaringan sering dimanfaatkan dalam radioterapi untuk membunuh sel-sel kanker (Supriana, 2008).

2.1.3 Dosis Radiasi

Radiasi dapat diukur secara kuantitatif menggunakan besaran-besaran tertentu. Ada empat besaran yang penting dalam radiasi, yaitu aktivitas radioaktif, paparan, dosis serapan, dan dosis ekuivalen.

1. Aktivitas radioaktif (A)

Besaran ini menyatakan banyaknya partikel yang dipancarkan per detik dari suatu sumber radiasi, biasanya disebut peluruhan per satuan waktu (BATAN, 2008). Satuan SI untuk aktivitas radioaktif adalah *becquerel* (Bq). Aktivitas radioaktif tidak menunjukkan jenis radiasi maupun besar energi yang dipancarkannya, sehingga besaran ini tidak dapat digunakan untuk mengukur dampak radiasi terhadap makhluk hidup (Pikatan, 1992).

2. Paparan (X)

Paparan radiasi adalah satuan yang menunjukkan besarnya intensitas sinar X atau sinar gamma yang dapat menghasilkan ionisasi di udara dalam jumlah tertentu (BATAN, 2008). Satuan SI untuk paparan adalah coulomb/kg. Sedangkan satuan yang umum dipakai untuk paparan adalah *roentgen* (R) dimana 1 R didefinisikan sebagai paparan

sinar X atau gamma yang menghasilkan muatan 1 esu di dalam 1 cc udara kering dalam keadaan STP, dengan nilai $1 R = 2,58 \times 10^{-4} C/kg$ (Pikatan, 1992).

Satuan Roentgen penggunaannya terbatas untuk mengetahui besarnya paparan radiasi sinar X atau sinar gamma di udara dan belum bisa digunakan untuk mengetahui besarnya paparan yang diterima oleh suatu medium, khususnya oleh jaringan kulit manusia (BATAN, 2008).

3. Dosis serapan (D)

Radiasi pengion yang mengenai medium akan terserap. Dosis serapan adalah besaran yang dipakai sebagai standar serapan radiasi untuk berbagai jenis bahan dosis serapan, yaitu jumlah energi radiasi yang terserap dalam 1 satuan massa bahan. Satuan SI untuk dosis serapan adalah *gray* (Gy). 1 Gy sama dengan energi 1 joule yang terserap oleh 1 kg bahan. Satuan lain yang juga sering dipakai adalah *rad* (*radiation absorbed dose*) yaitu energi 100 erg yang terserap tiap gram bahan, sehingga $1 Gy = 100 rad$ (Pikatan, 1992). Besaran ini juga tidak dapat mengukur dampak radiasi terhadap tubuh manusia.

4. Dosis Ekuivalen (DE)

Dosis ekuivalen digunakan berkaitan dengan pengaruh radiasi terhadap tubuh manusia atau sistem biologis lainnya. Tingkat kerusakan sistem biologis yang mungkin ditimbulkan oleh radiasi tidak hanya tergantung pada dosis serapnya saja (rad), tetapi tergantung pada jenis radiasinya juga. Faktor yang ikut menentukan perhitungan dosis ekuivalen disebut *Quality Factor* (Q), yaitu bilangan/faktor yang tergantung pada jenis radiasi (BATAN, 2008).

Dosis ekivalen didefinisikan dengan $DE = Q \times D$, dimana untuk sinar X, beta dan gamma, $Q = 1$. Sedangkan pada radiasi proton atau neutron $2 < Q < 5$ untuk energi rendah (keV) dan $5 < Q < 10$ untuk energi tinggi (MeV). Q tertinggi dimiliki oleh radiasi alfa atau ion berat lainnya, yaitu dapat mencapai 20. Sehingga radiasi alfa memiliki kemampuan merusak sel-sel tubuh 20 kali lebih besar daripada radiasi gamma. Jika satuan D dinyatakan dalam rad, maka satuan DE dinyatakan dalam *rem* (*roentgen equivalent in man*). Satuan SI untuk dosis ekivalen adalah *sievert* (Sv), dimana $1 \text{ Sv} = 100 \text{ rem}$ (Pikatan, 1992).

2.1.4 Interaksi Radiasi Ionisasi dengan Sel

Radiasi pengion yang menembus tubuh manusia dapat menggeser elektron dari molekul di dalam sel. Kerusakan biologis perlahan-lahan dapat terjadi karena ion yang terlepas berikatan dengan molekul lain yang tidak terion sehingga terjadi kerusakan DNA. DNA yang rusak akan sulit untuk diperbaiki, sehingga terjadi kerusakan permanen pada DNA akan terjadi kematian sel. Kerusakan yang terjadi pada DNA bisa berupa rusaknya ikatan basa DNA, *single-strand breaks*, dan *double-strand breaks* (Joiner & Kogel, 2009).

Reaksi yang terjadi antara radiasi pengion dengan sel bisa berupa reaksi *direct* dan reaksi *indirect*. Reaksi langsung adalah interaksi langsung yang terjadi antara radiasi pengion dengan DNA di dalam kromosom pada inti. Atom-atom yang menyusun molekul pada DNA akan mengalami ionisasi. Akibatnya, DNA kehilangan fungsi-fungsinya sehingga proliferasi sel terhenti. Reaksi tidak langsung adalah reaksi yang paling banyak terjadi pada sel karena adanya interaksi antara radiasi pengion dengan molekul air dan molekul oksigen yang terdapat sebanyak 70% di intraseluler dan ekstraseluler (Gondhowiardjo & Aman,

2004). Akibatnya elektron akan terlempar keluar orbit dan akan berubah menjadi ion H^+ , ion OH^- , dan ion oksigen. Ion-ion ini bersifat tidak stabil dan akan berubah menjadi radikal H, radikal OH dan radikal oksigen. Radikal-radikal tersebut secara kimiawi sangat berbeda dengan molekul asalnya dan mempunyai kecenderungan besar untuk bereaksi dengan DNA. Akibat dari reaksi tersebut maka akan terjadi kerusakan DNA yang dapat berupa putusya kedua *backbone* DNA (*double strand break*), satu *backbone* DNA putus (*single strand break*), kerusakan *base* (*base damage*), kerusakan molekul gula (*sugar damage*), DNA-DNA *crosslink* dan DNA *protein cross link* (Kreshnamurti dkk., 2009).

Sebagai respon terhadap kerusakan DNA oleh radiasi, sel akan memberikan efek yang berbeda. Hal ini dikontrol oleh sistem sensor dan efektor kerusakan DNA. Sistem sensor terdiri atas protein yang peka terhadap kerusakan DNA dan akan memberikan sinyal pada efektor untuk menentukan respon sel. Jalur efektor dapat melalui: (1) kematian sel terprogram/apoptosis, (2) perbaikan kerusakan DNA, dan (3) blok terhadap progresi sel melalui *damage checkpoint* pada siklus sel (Joiner & Kogel, 2009).

Selain kerusakan DNA, interaksi radiasi pengion dengan sel juga dapat menyebabkan aberasi kromosom. Radiasi akan menghambat proses pembelahan sel. Radiasi yang terjadi pada saat sel dalam proses interfase dan mulai membelah, akan menyebabkan beberapa sel mengalami aberasi kromosom. Akibat aberasi kromosom ini dapat terjadi beberapa kemungkinan: (1) kematian sel yang segera terjadi (*early cell death*), (2) aberasi terus menerus setelah beberapa kali sel membelah. Terdapat beberapa jenis aberasi kromosom: (1) satu fragmen kromosom akan berpindah tempat ke kromosom lain, (2) satu fragmen kromosom berpindah tempat pada lengan yang lain pada

kromosom yang sama (3) satu fragmen kromosom berpindah tempat pada lengan yang sama pada kromosom yang sama (Kreshnamurti dkk., 2009; Hall & Giaccia, 2006).

2.1.5 Radiosensitivitas dan Siklus Sel

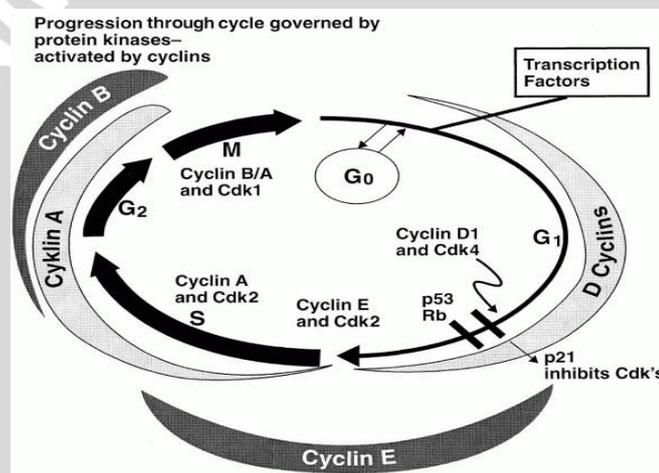
Radiosensitivitas adalah tingkat kerentanan relatif yang dimiliki oleh sel, jaringan, organ, maupun substansi lainnya terhadap paparan radiasi. Radiosensitivitas sel berbanding lurus dengan kecepatan pembelahan sel dan berbanding terbalik dengan tingkat diferensiasi sel yang berarti bahwa sel-sel yang sangat aktif membelah berisiko tinggi terhadap paparan radiasi. Sel yang bersifat radiosensitif pada umumnya memiliki kecepatan pembelahan sel dan metabolisme yang tinggi, bukan merupakan tipe sel khusus, dan mendapatkan suplai nutrisi dan oksigenasi yang baik (NDT, 2011).

Sel memperbanyak diri dan berproliferasi melalui proses mitosis. Pada saat mitosis, sel akan membelah menjadi dua dan masing-masing membawa kromosom yang sama dengan sel induk. Pembelahan sel berlangsung dalam sebuah siklus yang terdiri dari fase mitosis (M), diikuti oleh G_1 , S, G_2 , lalu kembali lagi. Jika selama siklus sel terdapat fase dimana progresivitas sel itu berhenti, maka disebut fase G_0 . Waktu yang diperlukan sel untuk membelah diri secara sempurna disebut *mitotic-cycle time/cell-cycle time* (T_c) (Hall & Giaccia, 2006).

Pada fase S berlangsung replikasi DNA sedangkan pada fase M (mitosis) terjadi pemisahan *sister chromatid*. Fase G_1 (*Gap-1*) merupakan fase antara mitosis dan sintesis DNA. Fase G_2 (*Gap-2*) merupakan fase antara sintesis DNA dan mitosis. Fase S dan M adalah fase yang paling mudah dipengaruhi oleh faktor. Oleh karena suatu faktor, misalnya paparan radiasi, sel biasanya

melakukan “*arrest*” pada fase G_1 atau G_2 . Hanya setelah perbaikan DNA selesai pembelahan sel akan memasuki fase berikutnya (Nurhayati & Lusiyanti, 2006).

Proses siklus sel dikendalikan oleh *cyclin-dependent kinases* (CDKs). CDK memfosforilasi protein lain untuk menginisiasi proses yang diperlukan agar siklus sel tetap berjalan. CDK hanya aktif dan bekerja jika terasosiasi dengan *cyclin partner* (membentuk cyclin-CDK kompleks) dan bekerja pada fase yang berbeda dalam siklus sel. Misalnya, cyclinD-CDK4 aktif pada G_1 dan cyclinB-CDK1 aktif saat mitosis (Joiner & Kogel, 2009).



Gambar 2.3 Siklus Sel (Hall & Giaccia, 2006)

Radiosensitivitas sel berubah-ubah menurut distribusi sel tersebut selama siklus. Sel paling sensitif jika berada pada fase mitosis (M). Fase yang mendekati fase M (G_2) biasanya juga sensitif. Pada umumnya sel paling resisten pada fase akhir S dimana pertumbuhan sel lambat dengan siklus yang panjang. Peningkatan resistensi terjadi karena adanya perbaikan rekombinan homolog antar *sister chromatid* setelah terjadi replikasi DNA. Jika fase G_1 cukup panjang, periode resistensi dapat terjadi pada awal fase G_1 yang biasa disebut fase G_0 dimana sel berada pada kondisi tidak berproliferasi (resting) kemudian diikuti dengan periode sensitif di akhir G_1 (Hall & Giaccia, 2006).

Progresi siklus sel dikontrol oleh suatu gen yang disebut *molecular checkpoint genes*. Sel yang terpapar radiasi dosis kecil akan mengalami blok pada fase G₂. Fungsi *checkpoint* adalah untuk memastikan urutan siklus berjalan dengan benar, artinya bahwa permulaan fase berikutnya tergantung pada akhir dari fase sebelumnya. Peran gen ini adalah pada saat sel terpapar radiasi pengion, maka sel akan dihentikan pada fase G₂ agar kromosom yang rusak segera direparasi seperti semula sebelum masuk ke fase M. Sel yang kehilangan fungsi gen *checkpoint* G₂ akan tetap masuk pada fase M dengan kromosom yang rusak sehingga sel ini berisiko untuk mati, dalam hal ini sel akan semakin sensitif terhadap sinar gamma (Hall & Giaccia, 2006).

Aktivasi *checkpoint* membutuhkan inhibisi kompleks cyclin-CDK. Pada radiasi, inhibisi terjadi melalui dua mekanisme. Pertama melalui aktivasi protein yang dapat menginhibisi kompleks cyclin-CDK (*CDK inhibitors/CDKIs*), dan kedua dengan memengaruhi fosforilasi dan aktivitas enzim CDK itu sendiri (Joiner & Kogel, 2009).

Setiap bagian di dalam tubuh manusia juga memiliki radiosensitivitas yang relatif bervariasi. Secara garis besar radiosensitivitas jaringan digolongkan menjadi tiga, yaitu radiosensitivitas tinggi, moderat, dan rendah seperti yang ada pada tabel 2.1 berikut

Tabel 2.1 Radiosensitivitas Jaringan dan Organ (NDT, 2011)

High Radiosensitivity	Lymphoid organs, bone marrow, blood, testes, ovaries, intestines
Fairly High Radiosensitivity	Skin and other organs with epithelial cell line (cornea, oral cavity, esophagus, rectum, bladder, vagina, uterine cervix, ureters)
Moderate Radiosensitivity	Optic lens, stomach, growing cartilage, fine vasculature, growing bone
Fairly Low Radiosensitivity	Mature cartilage or bones, salivary glands, respiratory organs, kidneys, liver, pancreas, thyroid, adrenal and pituitary glands
Low Radiosensitivity	Muscle, brain, spinal cord

2.1.6 Efek Biologis Radiasi Ionisasi

Efek radiasi pengion terhadap manusia dikelompokkan menjadi efek stokastik dan non-stokastik. Stokastik berarti kemungkinan sesuatu yang akan terjadi (EPA, 2011).

1. Efek stokastik

Efek stokastik terjadi akibat paparan radiasi dosis kecil dalam waktu yang lama/kronis. Sekalipun dosis ditingkatkan/diturunkan tetap tidak akan berpengaruh terhadap tingkat keparahan dan tipe efek (NDT, 2011). Efek yang sering terjadi adalah kanker, yaitu pertumbuhan sel yang tidak terkontrol. Secara alami, tubuh mengontrol kecepatan dan jumlah sel yang tumbuh serta mengatur perbaikan jaringan yang rusak. Tetapi akibat kerusakan sel, dalam hal ini paparan radiasi ionisasi yang menyebabkan rusaknya ikatan kimia di dalam molekul, akan menyebabkan molekul menjadi karsinogen yang poten (EPA, 2011). Efek lain adalah adanya

mutasi DNA akibat kegagalan tubuh mereparasi DNA sehingga dapat menyebabkan gangguan genetik dan teratogenik pada janin.

2. Efek non-stokastik

Efek non-stokastik muncul akibat radiasi dosis tinggi (paparan akut) dan akan bertambah berat jika paparan ditingkatkan (EPA, 2011). Efek akut yang akan terjadi adalah *radiation sickness/poisoning* yang dapat menyebabkan penuaan dini sampai kematian. Jika dosis yang diberikan sangat tinggi, kematian bisa terjadi dalam waktu 2 bulan. Gejala *radiation sickness* antara lain mual, kelemahan, rambut rontok, kulit terbakar, dan kehilangan fungsi organ (EPA, 2011).

Tidak seperti efek stokastik, jika dosis radiasi diturunkan, efek non-stokastik dapat dikurangi sehingga hubungan antara dosis dan efek berlaku pada efek ini. Efek non-stokastik terjadi akibat paparan radiasi yang sangat besar dalam waktu yang singkat (NDT, 2011).

Efek biologis radiasi ionisasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

1. Tipe radiasi

Semakin tinggi energi yang dimiliki oleh radiasi, maka daya tembusnya akan semakin besar. Misalnya, sinar gamma (NDT, 2011).

2. Dosis yang diterima

Semakin tinggi dosis yang diterima, risiko terhadap efek kesehatan juga semakin tinggi (NDT, 2011).

3. Frekuensi dosis yang diterima

Dosis yang besar akan berefek lebih besar jika diberikan langsung dalam satu waktu dibandingkan dengan sehari sekali atau seminggu (NDT, 2011).

4. Bagian tubuh yang terpapar

Ekstremitas seperti tangan dan kaki cenderung mengalami kerusakan yang ringan dibandingkan dengan batang tubuh jika diberikan radiasi dosis besar (NDT, 2011).

5. Usia

Pada pasien dengan usia tua, pembelahan sel cenderung berjalan lambat sehingga tubuh akan kurang sensitif terhadap radiasi pengion (NDT, 2011).

6. Variasi biologis

Beberapa orang akan memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap radiasi dibandingkan orang lain tanpa penyebab yang jelas (NDT, 2011).

7. Oksigenasi

Oksigen merupakan materi kimia peningkat sensitifitas radiasi yang sangat poteni. Mekanisme sensitisasi tersebut terjadi akibat terikatnya oksigen oleh radikal bebas dan membentuk peroksidase yang lebih stabil, lebih lama, dan lebih toksik dibanding radikal bebas sendiri sehingga kerusakan yang terjadi akan menjadi lebih besar (Gondhowiardjo & Aman, 2004).

8. Fase dalam siklus sel

Sel bersifat radiosensitif saat berada pada fase G₂ dan M. Hal ini berhubungan dengan target utama kematian sel yaitu DNA, dimana pada fase-fase tersebut didapatkan jumlah DNA yang terbanyak dan dalam keadaan rentan (Gondhowiardjo & Aman, 2004).

9. Panas

Panas merupakan agen sitotoksik yang bekerja pada fase S dimana sel bersifat radioresisten dan tidak dipengaruhi oleh kandungan oksigen jaringan (Gondhowiardjo & Aman, 2004).

10. Bahan-bahan kimia

Beberapa bahan kimia yang akan terikat pada proses sintesa DNA misalnya derivat uridin (bromodeoxyuridine/iodode-oxyuridine), dapat mengakibatkan kerapuhan dan peningkatan kepekaan DNA tersebut terhadap radiasi (Gondhowiardjo & Aman, 2004).

2.1.7 Radiasi Ionisasi sebagai Radioterapi

Radiasi pengion sering dimanfaatkan dalam bidang kedokteran, yaitu sebagai diagnosis radiologi, kedokteran nuklir, dan radioterapi (HPA, 2011). Radioterapi, disebut juga terapi radiasi, adalah pengobatan yang terutama ditujukan untuk mengatasi keganasan dengan menggunakan radiasi sinar pengion berenergi tinggi (Supriana, 2008). Tipe radiasi yang digunakan sebagai terapi radiasi antara lain sinar alfa, sinar beta, dan sinar gamma (Affandi, 2009). Sinar gamma adalah sinar yang sering digunakan untuk membunuh sel-sel kanker karena daya tembusnya yang sangat tinggi (NCI, 2010).

Ada 2 macam teknik pemberian terapi radiasi, yaitu:

1. Radiasi eksternal/teleterapi

Sumber sinar, misalnya sinar X dan sinar gamma, berupa pesawat akselerator linier/pesawat Co-60 yang ditempatkan di luar tubuh. Sinar diarahkan pada tumor yang akan diberikan radiasi. Besar energi yang akan diserap oleh tumor tergantung dari besarnya energi yang

dipancarkan oleh sumber, jarak antara sumber energi dan tumor, dan kepadatan massa tumor (Affandi, 2009).

2. Radiasi interna/brachiterapi

Sumber energi (material radioaktif) diimplantasikan di dalam tumor atau area yang berdekatan dengan tumor. Implan yang digunakan berupa tabung kecil atau kapsul yang diisi dengan materi radioaktif (MD Anderson, 2011).

Terapi radiasi dapat membunuh sel-sel kanker secara langsung dengan merusak DNA, yaitu molekul di dalam sel yang membawa informasi genetik untuk generasi sel selanjutnya, dan secara tidak langsung dengan ionisasi molekul air sehingga membentuk radikal bebas yang dapat menghancurkan DNA di dalam sel itu sendiri (Gondhowiardjo & Aman, 2004). Kemampuan reparasi sel-sel kanker lebih rendah daripada sel-sel normal, sehingga setelah diradiasi, sel-sel kanker yang mati dan tetap rusak jumlahnya lebih banyak dibandingkan sel-sel normal. Kemampuan reparasi DNA sel normal lebih baik dan lebih cepat dibandingkan sel kanker, sehingga dapat digunakan sebagai dasar radioterapi (Affandi, 2009).

Terapi radiasi dapat diberikan dalam dua macam dosis, yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Dosis tunggal dapat dipakai sebagai terapi paliatif pada kasus tumor metastasis tulang, sedangkan dosis fraksinasi dipakai sebagai terapi kuratif keganasan pada umumnya (Nielsen *et al.*, 1998). Kedua dosis ini dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan normal, tetapi radiasi dengan dosis fraksinasi memberi kesempatan sel-sel normal untuk mereparasi DNA sehingga kerusakan jaringan normal bisa ditekan. Dosis fraksinasi diberikan 1,8-2 Gy per hari selama 5 kali dalam seminggu dengan jumlah dosis total 30-40 Gy untuk

tumor sensitif, 50-66 Gy untuk tumor responsif, dan lebih dari 70 Gy untuk tumor resisten (Otto, 2005; Susworo, 2007).

2.2 Apoptosis

Apoptosis berasal dari bahasa Yunani yang berarti gugurnya putik bunga atau daun dari batangnya (Lumongga, 2008). Kematian sel terprogram (apoptosis) merupakan proses normal yang terjadi pada setiap organisme multiseluler. Apoptosis melibatkan peran aktif sel untuk mengontrol kematiannya sendiri sehingga disebut juga *cell suicide* (Dash, 2011). Apoptosis berperan penting dalam berbagai proses baik fisiologis maupun patologis, antara lain (Kumar *et al.*, 2007) :

- a. Proses embriogenesis mulai dari implantasi, organogenesis, sampai tumbuh kembang.
- b. Proses involusi fisiologis *hormone-dependent* seperti peluruhan endometrium selama siklus menstruasi dan regresi payudara selepas masa menyusui.
- c. Delesi sel yang berproliferasi seperti kematian sel pada tumor.
- d. Delesi *T-cells* yang autoreaktif di timus selama proses maturasi, kematian sel yang diinduksi *cytotoxic T-cells*.
- e. Berbagai macam stimuli (panas, radiasi, obat-obatan kanker, dll) yang menyebabkan kerusakan DNA dan menginduksi kematian sel.

Proses apoptosis dapat terjadi melalui dua jalur berbeda, yaitu (Abbas *et al.*, 2007) :

1. *Mitochondrial pathway (intrinsic pathway)*

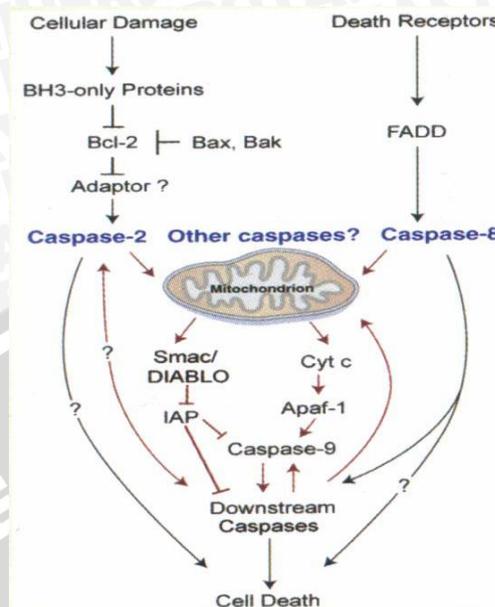
Pada jalur ini apoptosis diinduksi oleh protein khusus yang menyebabkan kebocoran mitokondria sehingga *death-inducing protein*

dilepaskan. Protein yang berperan adalah kelompok protein Bcl-2 yang dibagi menjadi 3 macam yaitu : *multidomain anti-apoptotic proteins* (Bcl-2 dan Bcl-X_L), *multidomain pro-apoptotic proteins* (Bax dan Bak), dan *single-domain BH3-only protein*.

Kerusakan DNA menginduksi gen p53 untuk mengkode *BH3-only protein* yang disebut Puma dan Noxa. *BH3-only protein* yang telah diaktivasi tersebut memengaruhi kelompok protein yang lain. Bcl-2 dan Bcl-XL yang menjaga stabilitas mitokondria dihambat, sedangkan Bax dan Bak yang dapat merusak integritas membran luar mitokondria diaktivasi, sehingga stabilitas membran mitokondria rusak. Akibatnya terjadi kebocoran yang selanjutnya menyebabkan pelepasan induktor apoptosis (salah satunya apoptosom). Apoptosom berikatan dan mengaktivasi procaspase-9 menjadi caspase-9. Caspase-9 inilah yang paling sering mengaktivasi jalur kematian sel.

2. *Death receptor (extrinsic pathway)*

Apoptosis diinduksi oleh ikatan pada reseptor TNF yang disebut *death receptor*. Reseptor yang berperan adalah Fas. Bagian intraselular dari reseptor Fas memiliki domain interaksi protein-protein yang disebut *death domain* (*Fas-associated death domain/FADD*). FADD menghubungkan Fas dengan procaspase-8. Ikatan Fas dengan FasL mengaktivasi procaspase-8 menjadi caspase-8 yang menginduksi apoptosis. Caspase-8 dapat mengaktivasi *pro-apoptotic BH3-only protein* (Bid) yang berperan dalam jalur intrinsik melalui Bak dan Bax.



Gambar 2.4 Skema Proses Apoptosis Melalui Jalur Intrinsik dan Ekstrinsik (Nurhayati & Lusiyanti, 2006)

Secara garis besar proses apoptosis melalui tahap-tahap berikut ini (Kumar *et al.*, 2007) :

1. *Signaling*

Apoptosis dipicu oleh sinyal intrinsik seperti perkembangan organisme, kekurangan faktor pertumbuhan, interaksi antara reseptor dan ligan, pelepasan granzim oleh sel T sitotoksik, dan sinyal ekstrinsik seperti radiasi.

2. *Control and integration*

Penerusan sinyal awal sampai terjadinya proses eksekusi akhir [melibatkan peran protein spesifik. Pada tahap ini terdapat dua jalur penerusan sinyal yaitu secara langsung melalui reseptor (jalur ekstrinsik) dan melalui regulasi permeabilitas mitokondria (jalur intrinsik). Protein spesifik, misalnya *BH3-only* protein, bekerja pada jalur intrinsik tetapi



tidak pada jalur ekstrinsik. Akhir dari dua jalur ini adalah aktivasi caspase dan aktivitas proteolitik dalam kematian sel.

3. Execution

Jalur akhir apoptosis ditandai dengan proses biokimia hasil dari aktivitas enzim katabolik sitosol yaitu caspase. Caspase merupakan protease yang mengatur proteolisis selama apoptosis. Aktivasi satu macam caspase akan memicu aktivasi protease lain. Aktivitas protease yang demikian menyebabkan fragmentasi DNA, sehingga pada morfologi sel akan tampak perubahan volume dan bentuk akibat pecahnya komponen sitoskeleton.

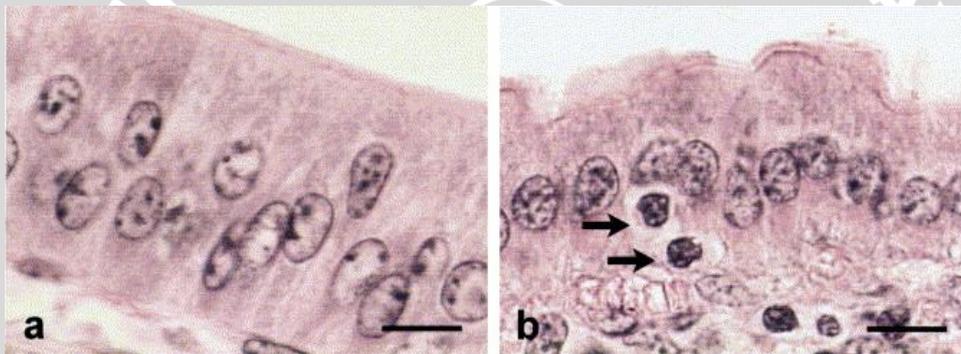
4. Removal of dead cells

Sel yang mengalami apoptosis beserta fragmennya memiliki marker pada permukaannya (*phosphatidylserine*) untuk dikenali oleh sel-sel fagosit. Proses fagositosis sel apoptosis tidak melibatkan mediator *proinflammatory* sehingga proses ini sangat efisien karena sel yang mati tidak meninggalkan sisa dan tidak ada inflamasi.

Sel yang mengalami apoptosis, secara mikroskopis dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) akan tampak perubahan sebagai berikut (Lumongga, 2008; Kumar *et al.*, 2007) :

- Sel mengerut dan lebih bulat karena pemecahan sitoskeleton oleh caspase.
- Sitoplasma tampak lebih padat.
- Kromatin nukleus menjadi padat (pyknotik), agregasi ke perifer, di bawah membran inti, dan menjadi massa padat dalam berbagai bentuk dan ukuran.

- Membran inti menjadi diskontinyu dan DNA yang ada di dalamnya pecah menjadi fragmen-fragmen (karyorheksis). Degradasi DNA ini mengakibatkan inti terpecah menjadi beberapa nukleosomal unit.
- Membran sel memperlihatkan tonjolan-tonjolan ireguler/blebs pada sitoplasma.
- Sel terpecah menjadi beberapa fragmen yang disebut *apoptotic bodies*.
- *Apoptotic bodies* akan difagosit oleh sel-sel disekitarnya tanpa menimbulkan tanda-tanda inflamasi.



Gambar 2.5 Morfologi Sel Normal dan Sel Apoptosis (Franchini et al., 2004)

Keterangan: (a) morfologi sel normal dengan pengecatan HE
(b) morfologi sel apoptosis (anak panah)

Proses apoptosis tidak sama dengan nekrosis. Nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi pada organisme hidup yang disebabkan oleh injuri maupun infeksi. Pada nekrosis terjadi perubahan inti yang menyebabkan inti menjadi lisis dan membran plasma menjadi ruptur. Sedangkan pada apoptosis tidak terjadi ruptur membran inti dan inti mengalami fragmentasi yang kemudian memberi sinyal kepada sel-sel fagosit (Lumongga, 2008).

Tabel 2.2 Perbedaan Nekrosis dan Apoptosis (Kumar *et al.*, 2007)

	Nekrosis	Apoptosis
Stimuli	Hipoksia, toksin	Faktor fisiologis dan patologis
Gambaran histologi	Sel membengkak	Satu sel
	Nekrosis koagulasi	Kondensasi kromatin
	Organel rusak	<i>Apoptotic bodies</i>
Kerusakan DNA	Random, difus	Internukleosomal
Mekanisme	Kekurangan ATP	Aktivasi gen
	Injuri pada membran	Endonuklease
	Radikal bebas	Protease
Reaksi jaringan	Inflamasi	Tidak ada inflamasi
		Fagositosis <i>apoptotic bodies</i>

2.3 Kelenjar Adrenal

2.3.1 Anatomi dan Histologi Kelenjar Adrenal

Berdasarkan bahasa Latin, adrenal berasal dari kata *ad* yang berarti dekat dengan, dan *renal* yang berarti ginjal (Sherwood, 2010). Kelenjar adrenal (kelenjar suprarenal) terdiri atas sepasang organ berbentuk piramid berwarna kuning yang terletak di retroperitonium dan menempel di batas superior ginjal. Permukaannya diselubungi oleh kapsul yang tersusun atas jaringan adiposa. Setiap kelenjar adrenal memiliki ukuran panjang sekitar 50 mm, lebar 30 mm, dan tebal 10 mm. Masing-masing kelenjar adrenal terdiri dari dua lapisan, yaitu : lapisan luar, disebut korteks adrenal, dan lapisan dalam, disebut medula adrenal. Keduanya berfungsi sebagai kelenjar terpisah (Van de Graff, 2001).

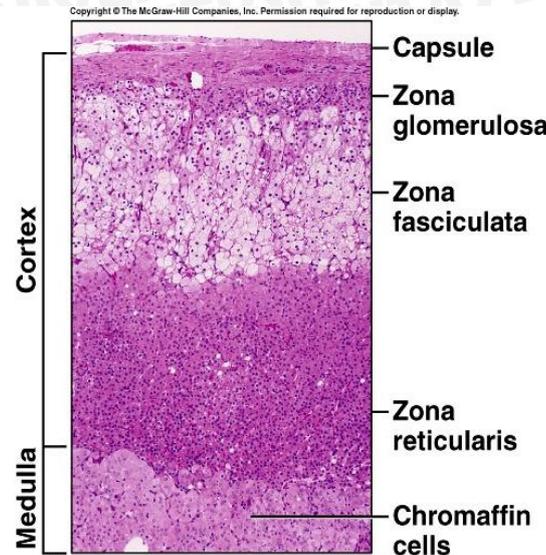
Seperti kelenjar endrokin yang lain, kelenjar adrenal memiliki vaskularisasi yang tinggi. Tiga arteri suprarenalis yang berasal dari arteri frenikus inferior, aorta, dan cabang ketiga arteri renalis menyuplai darah ke masing-

masing kelenjar adrenal. Kelenjar adrenal diinervasi oleh neuron preganglionik nervus splanikus dan *celiac fibers* dari plexus simpatikus (Van de Graff, 2001).

Korteks adrenal merupakan bagian dari kelenjar adrenal yang paling besar karena memengaruhi hampir 90% berat totalnya. Secara histologis, korteks adrenal dibagi menjadi tiga bagian, yaitu: bagian terluar disebut zona glomerulosa, bagian tengah disebut zona fasikulata, dan bagian paling dalam disebut zona retikularis (Bobick & Balaban, 2008).

Zona glomerulosa, 15% dari volume korteks adrenal, tersusun ireguler dan dikelilingi oleh jaringan kapiler tipe *fenestrated*. Sel-selnya berukuran kecil, berbentuk kolumnar atau piramida, dan berwarna gelap pada pengecatan. Zona fasikulata merupakan zona paling tebal (80% dari volume korteks adrenal). Sel-selnya berbentuk polihedral atau kolumnar, tersusun memanjang secara paralel, dan berwarna terang pada pengecatan eosin. Zona retikularis hanya 5% dari volume korteks adrenal dan tersusun secara anastomosis. Sel-selnya lebih kecil dibandingkan dengan sel-sel di zona fasikulata. Pada pengecatan bisa tampak sel berwarna terang dan gelap (Henrikson *et al.*, 1997).

Sedangkan medula adrenal terdiri atas sel-sel kromafin yang tersusun rapat di sekitar pembuluh darah (Van de Graff, 2001). Sel kromafin merupakan modifikasi dari neuron *postganglionic* simpatis. Disebut kromafin karena mengikat ion kromium pada pengecatan. Sel kromafin tidak memiliki serabut akson, tetapi stimulasi pada serabut preganglioniknya menyebabkan sel kromafin mampu melepaskan transmitter kimia, yaitu katekolamin, ke dalam sirkulasi secara langsung (Sherwood, 2010).



Gambar 2.6 Histologi Kelenjar Adrenal (APII Study Guide, 2011)

Kelenjar adrenal memiliki fungsi sekresi berbagai hormon. Setiap lapisan kelenjar adrenal dapat mensekresi hormon yang berbeda. Bagian korteks adrenal mensekresi hormon kortikosteroid. Hormon kortikosteroid adrenal dibagi menjadi 3, yaitu:

1. Mineralokortikoid

Hormon ini diproduksi oleh sel-sel di zona glomerulosa. Secara umum memiliki fungsi untuk mengatur keseimbangan elektrolit dalam tubuh. Mineralokortikoid yang paling penting adalah aldosteron. Aldosteron memengaruhi ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi sodium dari urin menuju darah yang menyebabkan retensi urin dan meningkatkan ekskresi potasium melalui urin. Aldosteron disekresi jika ada penurunan konsentrasi sodium atau tekanan darah dan peningkatan konsentrasi potasium (Bobick & Balaban, 2008).

2. Glukokortikoid

Hormon ini diproduksi oleh sel-sel di zona fasikulata. Glukokortikoid yang paling banyak adalah hidrokortison (kortisol). Kortisol memengaruhi banyak jaringan dalam tubuh, terutama terhadap metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Pada hepatosit di hepar, kortisol menstimulasi sintesis glukosa (glukoneogenesis) dari asam lemak dan asam amino. Sedangkan pada otot dan jaringan adiposa, kortisol menstimulasi pemecahan lipid (lipolisis) menjadi asam lemak dan asam amino (Henrikson *et al.*, 1997). Efek lain dari kortisol adalah sebagai anti-inflamasi dan immunosupresan. Kortisol sistemik dapat meningkat sehingga menyebabkan *Cushing's syndrome*, atau menurun sehingga menyebabkan *Addison's disease*. Kortisol juga berpengaruh pada resistensi terhadap stres. Efek fisik dan stres emosional seperti ketakutan, berdarah, dan infeksi dapat dikontrol karena adanya suplai glukosa dari hepar menuju jaringan (Bobick & Balaban, 2008).

Regulasi sintesis dan sekresi glukokortikoid dikontrol dengan adanya interaksi antara kelenjar hipotalamus, pituitari, dan adrenal. *Corticotropin-releasing hormone* (CRH), yang disekresi hipotalamus, menstimulasi *corticotrophs* di adenofisis untuk mensekresi *adrenocorticotropic hormone* (ACTH). ACTH menstimulasi sel di zona fasikulata untuk mensintesis dan mensekresi glukokortikoid. Glukokortikoid sebagian menuju ke sel target, sebagian lainnya memberi *feedback* pada *CRH-producing cells* di hipotalamus dan *corticotrophs* di kelenjar pituitari untuk menghambat produksi glukokortikoid itu sendiri sehingga kadarnya dalam darah dapat dikontrol (Henrikson *et al.*, 1997).

3. Gonadokortikoid

Hormon ini disekresi oleh sel-sel di zona retikularis. Gonadokortikoid yang terbanyak adalah androgen yang merupakan hormon seks. Pada remaja laki-laki dan perempuan, androgen memengaruhi pertumbuhan rambut di pubis. Pada wanita dewasa, androgen memengaruhi massa otot, pembentukan sel darah, dan libido. Sedangkan pada pria fungsi androgen adrenal tidak signifikan karena adanya androgen yang diproduksi langsung dari gonad (Bobick & Balaban, 2008).

Bagian medula adrenal yang tersusun oleh sel-sel kromafin mensekresi hormon katekolamin, yaitu adrenalin/epinefrin dan noradrenalin/norepinefrin. Adrenalin disekresi oleh sel kromafin yang berukuran lebih kecil dan berwarna lebih terang. Sedangkan noradrenalin disekresi oleh sel kromafin yang berukuran lebih besar, gelap, dan granulanya berbentuk ireguler (Henrikson *et al.*, 1997).

Katekolamin adrenal memiliki efek yang lebih umum, diantaranya (Henrikson *et al.*, 1997) :

1. Efek metabolik

Katekolamin meningkatkan konsumsi oksigen dan produksi panas. Selain dapat meningkatkan glukoneogenesis pada otot jantung dan hepatosit, katekolamin juga dapat meningkatkan lipolisis pada jaringan adiposa.

2. Efek fisiologis

Katekolamin menyebabkan efek yang berbeda pada jaringan yang sama pada tubuh berbeda. Peningkatan denyut dan kontraktilitas otot-otot jantung dan otot-otot pembuluh darah dapat terjadi sehingga menyebabkan peningkatan tekanan darah.

3. Fight-or-flight response

Kombinasi efek metabolik dan fisiologis menyebabkan peningkatan sekresi katekolamin sebagai akibat kebutuhan energi yang tinggi untuk melakukan aktivitas fisik.

Perbandingan efek kerja hormon adrenalin dan noradrenalin yang disekresi medula adrenal dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Perbandingan Hormon Medula Adrenal (Van de Graff, 2001)

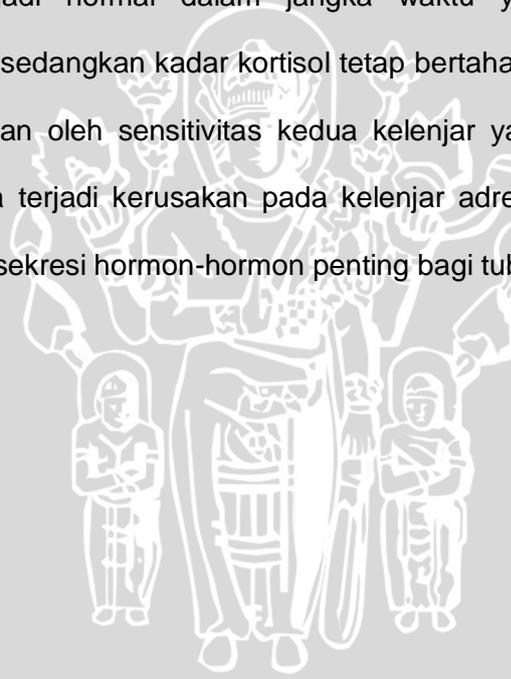
ADRENALIN	NORADRENALIN
Peningkatan tekanan darah akibat peningkatan curah jantung dan vasokonstriksi perifer	Peningkatan tekanan darah akibat vasokonstriksi general
Peningkatan frekuensi napas dan dilatasi saluran napas	Efek sama, tetapi derajatnya lebih rendah
Peningkatan efisiensi kontraksi otot	Efek sama, tetapi derajatnya lebih rendah
Peningkatan kecepatan pemecahan glikogen menjadi glukosa, sehingga kadar gula darah meningkat	Efek sama, tetapi derajatnya lebih rendah
Peningkatan pelepasan asam lemak dari jaringan lemak, sehingga kadar asam lemak darah meningkat	Efek sama, tetapi derajatnya lebih rendah
Peningkatan pelepasan ACTH dan TSH dari adenohipofisis di kelenjar pituitari	Tidak ada efek

2.3.2 Efek Radiasi terhadap Kelenjar Adrenal

Penelitian yang dilakukan oleh Kecheva (2010) menunjukkan bahwa radiasi sinar gamma yang dilakukan dapat menyebabkan gangguan pada fungsi dan morfologi kelenjar adrenal. Pada penelitian pertama (Kecheva *et al*, 2010), disebutkan bahwa pada iradiasi dengan dosis 3,0 Gy terjadi perubahan morfologi

kelenjar adrenal (*necrobiotic*) dan perubahan itu meningkat dengan bertambahnya dosis radiasi menjadi 4,5 Gy.

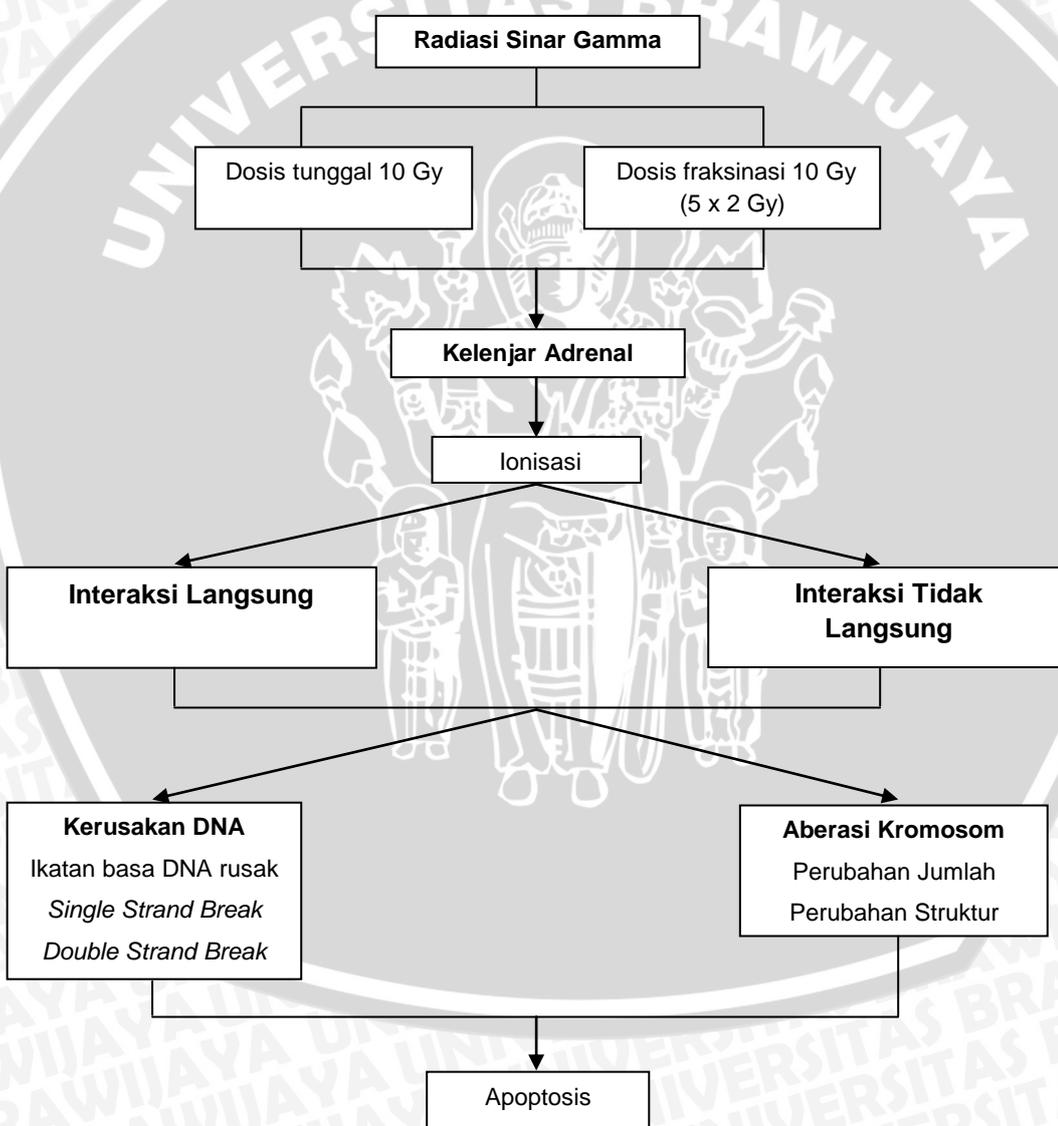
Pada penelitian kedua oleh Kecheva (2010), dengan membandingkan kadar ACTH yang disekresi oleh kelenjar pituitari dan kortisol oleh zona fasikulata kelenjar adrenal, didapatkan bahwa pemberian radiasi 0,1 Gy dan 0,5 Gy selama 30 hari memengaruhi kadar ACTH di dalam darah. ACTH diproduksi lebih banyak sehingga menstimulasi sintesis dan produksi kortisol oleh kelenjar adrenal. Akibatnya terjadi peningkatan kadar kortisol di dalam darah. Kadar ACTH kembali menjadi normal dalam jangka waktu yang lebih singkat dibandingkan kortisol, sedangkan kadar kortisol tetap bertahan selama beberapa hari. Hal ini disebabkan oleh sensitivitas kedua kelenjar yang berbeda. Pada dosis yang tinggi bisa terjadi kerusakan pada kelenjar adrenal yang berakibat rusaknya sel-sel pengsekresi hormon-hormon penting bagi tubuh.



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Penjelasan Kerangka Konsep

Sinar gamma termasuk radiasi ionisasi karena dapat menggeser elektron dan membentuk ion saat berinteraksi dengan materi lain yang dilewatinya (BATAN, 2008). Sinar gamma memiliki panjang gelombang yang pendek dan daya tembus yang kuat, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan tubuh manusia (Affandi, 2009). Efek biologis radiasi ionisasi terhadap sel dipengaruhi berbagai faktor, diantaranya dosis dan frekuensi pemberian radiasi (NDT, 2011). Radiasi dapat diberikan dalam dua macam dosis, yaitu dosis tunggal dan dosis fraksinasi. Dosis tunggal dapat dipakai sebagai terapi paliatif pada kasus tumor metastasis tulang, sedangkan dosis fraksinasi dipakai sebagai terapi kuratif keganasan pada umumnya (Nielsen *et al.*, 1998). Kedua dosis ini dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan normal, tetapi radiasi dengan dosis fraksinasi memberi kesempatan sel-sel normal untuk mereparasi DNA sehingga kerusakan jaringan normal bisa ditekan. Dosis fraksinasi diberikan 1,8 - 2 Gy per hari selama 5 hari setiap minggu (Susworo, 2007; Otto, 2005).

Radiasi sinar gamma yang mengenai materi biologis, dalam hal ini kelenjar adrenal, akan menimbulkan reaksi ionisasi di dalam sel-sel kelenjar adrenal. Ionisasi menyebabkan elektron di dalam atom/molekul sel keluar sehingga terbentuk ion positif dan negatif (BATAN, 2008). Elektron yang tergeser keluar dapat berinteraksi dengan molekul lain yang tidak terionisasi. Interaksi yang terjadi dapat melalui dua jalur, yaitu interaksi langsung dan tidak langsung (Joiner & Kogel, 2009). Interaksi langsung terjadi antara radiasi pengion dengan DNA di dalam kromosom pada inti. Interaksi tidak langsung adalah reaksi yang paling banyak terjadi pada sel karena adanya interaksi antara radiasi pengion dengan molekul air dan molekul oksigen yang terdapat sebanyak 70% di

intraseluler dan ekstraseluler. Ionisasi tidak langsung akan membentuk radikal bebas yang pada akhirnya juga akan menyebabkan kerusakan pada DNA dan kromosom sel (Gondhowiardjo & Aman, 2004).

Akibat dari reaksi ionisasi radiasi sinar gamma tersebut akan terjadi kerusakan DNA, yang dapat berupa putusya kedua *backbone* DNA (*double strand break*), satu *backbone* DNA putus (*single strand break*), kerusakan *base* (*base damage*), kerusakan molekul gula (*sugar damage*), DNA-DNA *crosslink* dan DNA *protein cross link*, serta terjadi pula aberasi kromosom yang akan mengubah jumlah dan struktur kromosom (Kreshnamurti dkk., 2009).

Apoptosis adalah kematian sel terprogram dan merupakan proses normal yang terjadi pada setiap organisme multiseluler. Apoptosis melibatkan peran aktif sel untuk mengontrol kematiannya sendiri (Dash, 2011). Pada dasarnya apoptosis terjadi karena adanya *caspase* yang memberi sinyal kepada sel untuk memprogram kematiannya. Apoptosis dapat diamati secara mikroskopis dengan gambaran sel yang mengerut, kromatin nukleus menjadi padat (*pyknotik*), DNA pecah menjadi fragmen-fragmen (*karyorheksis*), tampak *bleb* pada membran sel, dan terbentuk fragmen sel yang disebut *apoptotic bodies* yang akan difagosit oleh sel disekitarnya (Kumar *et al.*, 2007). Untuk melihat morfologi sel apoptosis dapat dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin (HE).

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal (1×10 Gy) dapat menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis pada *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan lebih banyak dibandingkan dengan pemberian radiasi dosis fraksinasi (5×2 Gy).



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang akan digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Penelitian ini akan dilakukan dengan membandingkan hasil yang didapat sesudah perlakuan (*post-test*) dengan kontrol. Rancangan 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

Kelompok II : Diberikan radiasi dosis tunggal

Kelompok III : Diberikan radiasi dosis fraksinasi

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

Desain *post-test* dengan kontrol:

	Treatment	Post test
Group 1	-	O ₁
Group 2	X ₂	O ₂
Group 3	X ₃	O ₃

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 2-3 bulan dengan berat badan kira-kira 200 gram. 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 sekitarnya sesuai dengan keperluan fisiologisnya.

4.2.2 Sampel Penelitian

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

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

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

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

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

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

dimana: t = banyaknya kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi

Berdasarkan rancangan penelitian, yang akan dilakukan 3 macam perlakuan pada kelompok 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. Karena terdapat 3 macam perlakuan maka besar sampel total minimal untuk penelitian ini adalah 27 ekor.

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:

1. Hewan percobaan yang meliputi:

- Umur

- Jenis kelamin
 - Berat badan
2. Manajemen pemeliharaan hewan coba
 3. Cara kerja
 4. Alat-alat yang digunakan

c. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek biologi yang timbul akibat radiasi sinar gamma yang berupa jumlah morfologi sel kelenjar adrenal 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.
- Radiasi ionisasi sinar gamma dilakukan di Instalasi Radiologi Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang.
- Pembedahan organ dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Pembuatan slide kelenjar adrenal dilakukan di Laboratorium Histologi dan pemeriksaan morfologi sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis 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 mulai bulan Juni 2012. Persiapan, adaptasi, dan pemeliharaan ketiga kelompok tikus, serta pengorbanan tikus kontrol 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. Pematangan organ dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli 2012. Pembuatan slide dan pengecatan HE dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang mulai bulan Juli 2012. Pemeriksaan slide kelenjar adrenal dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mulai bulan Desember 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 kelenjar adrenal. Untuk pembuatan slide diperlukan: formalin 10%, alkohol 30%, alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol absolut, xilol, parafin lunak, parafin keras, gelatin 5 %, dan dH₂O. Untuk pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) digunakan bahan-bahan Harris Hematoksin, alkohol asam 1%, dH₂O, dan eosin 1%.

4.5.2. Pakan dan Air Minum

Pakan tikus yang digunakan adalah sama dengan pakan dari tempat asalnya, 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 diatas 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, toples berisi eter, seperangkat alat bedah, alat pembuatan slide, dan kamera Canon EOS 600D.

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 kandangnya diberi sekam dan diganti setiap satu minggu sekali agar terjaga kebersihannya.

4.5.3.2. Alat Fiksasi

Alat fiksasi untuk tikus yang digunakan saat menerima radiasi sinar gamma dibuat dari kardus berbentuk balok tanpa atap dengan ukuran panjang 15 cm, lebar 15 cm, dan tinggi 25 cm. Di dalam balok kardus terdapat sekat yang membagi balok menjadi 6 ruangan sama besar, dengan masing-masing ruangan

berukuran 7,5 x 5 cm. Ruangannya di dalam balok kardus dibuat sesuai dengan ukuran tubuh hewan coba sehingga hewan coba terfiksasi dalam keadaan bagian dorsal tubuh menghadap ke atas saat proses pemberian radiasi sinar gamma berlangsung.

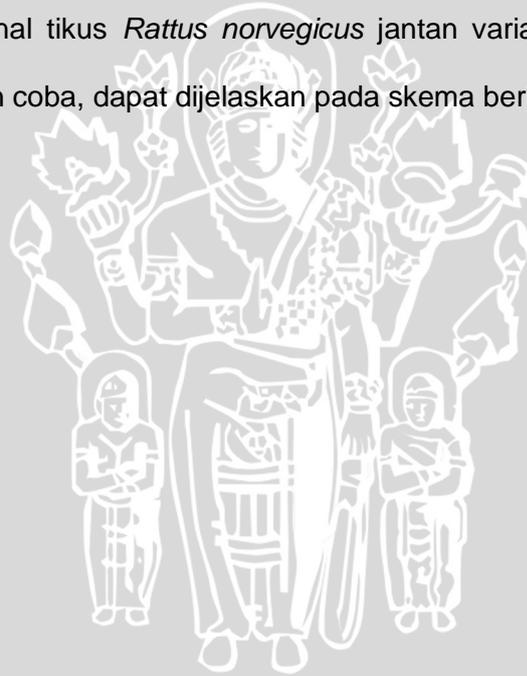
4.6 Definisi Istilah/Operasional

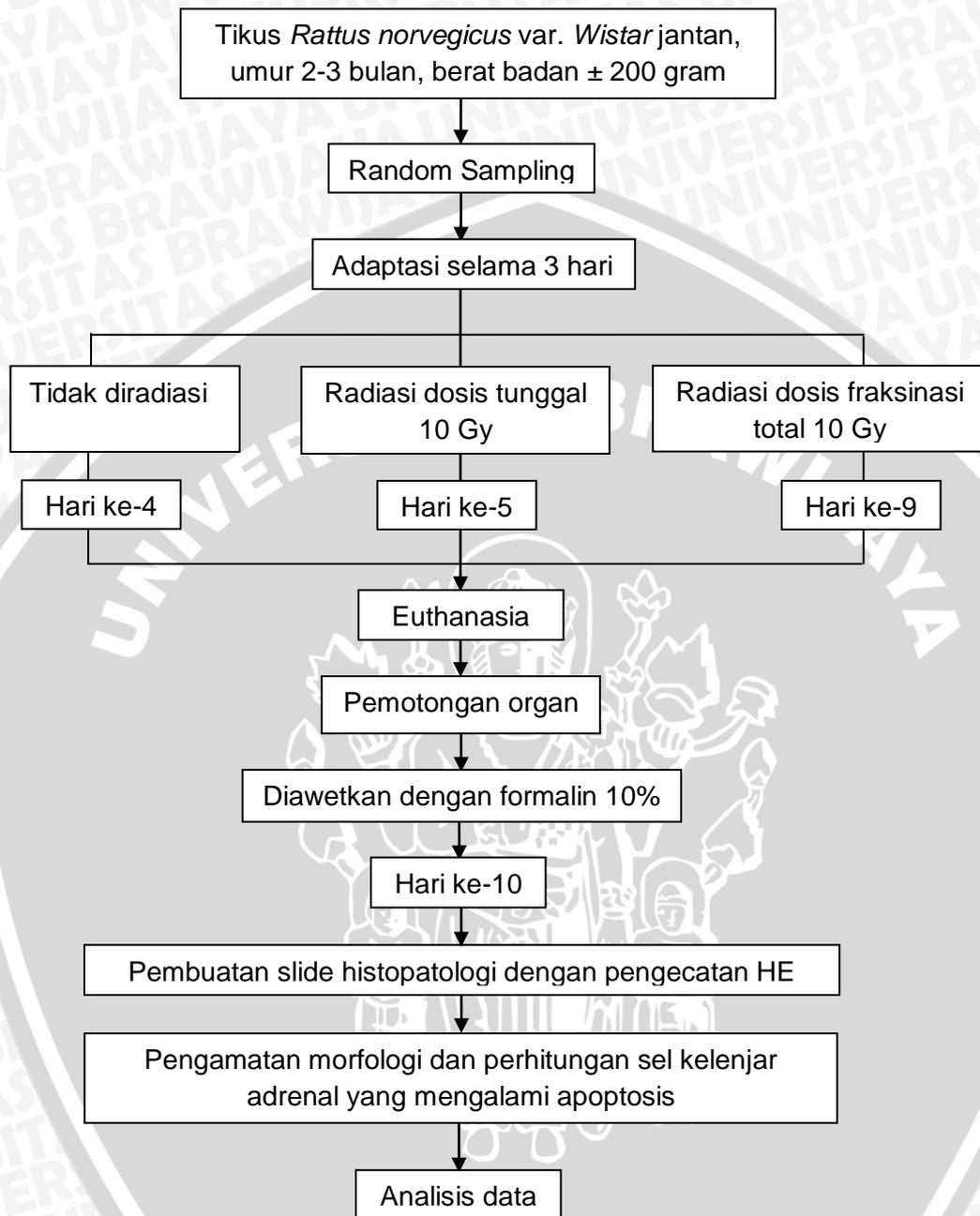
- a. Radiasi dosis tunggal adalah pemberian radiasi dengan dosis 10 Gy dalam satu waktu.
- b. Radiasi dosis fraksinasi adalah pemberian radiasi dengan dosis 2 Gy setiap hari dalam 5 hari, sehingga jumlah total dosis radiasi 10 Gy.
- c. Apoptosis merupakan suatu mekanisme kematian sel secara fisiologis, atau disebut juga dengan program kematian sel. Apoptosis menjaga homeostasis pada diferensiasi dan proliferasi sel dan bertanggung jawab untuk mengontrol jumlah sel dalam suatu jaringan dengan memprogram kematian sel-sel yang mengancam kehidupan organisme.
- d. Morfologi sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis dilihat dengan pewarnaan HE dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Kriteria yang digunakan untuk menentukan morfologi sel yang mengalami apoptosis : sel mengerut dan lebih bulat, sitoplasma tampak lebih padat, kromatin nukleus memadat (*pyknosis*), dan fragmentasi sel membentuk badan apoptotik, tanpa membedakan fase-fase dari apoptosis.
- e. Sel kelenjar adrenal adalah sel-sel yang berada di lapisan kelenjar adrenal, baik korteks maupun medula, tanpa membedakan jenis dan bentuk sel.

- f. Kelenjar adrenal merupakan sepasang organ berbentuk piramid berwarna kuning yang terletak di retroperitonium dan menempel di batas superior ginjal dan berfungsi mengsekresi hormon kortikosteroid dan katekolamin. Permukaannya diselimuti oleh kapsul yang tersusun atas jaringan adiposa.

4.7. Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

Data secara primer diperoleh dari hasil pemeriksaan pada kelenjar adrenal dalam hal ini adalah sel-sel yang berada pada lapisan korteks dan medula kelenjar adrenal tikus *Rattus norvegicus* jantan varian Wistar. Metode perlakuan pada hewan coba, dapat dijelaskan pada skema berikut ini:





Sebelum penelitian dimulai, dilakukan pengambilan tikus dari populasi yang sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan, kemudian dibagi menjadi 3 kelompok secara random dan diberi label I, II, dan III yang masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus. Kelompok I untuk kontrol tanpa radiasi, kelompok II untuk radiasi dosis tunggal, dan kelompok III untuk radiasi dosis

fraksinasi. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik, ditutupi jaring kawat, dan dialasi sekam. Pakan dan minum tikus yang diberikan sesuai dengan pakan dan minum yang diberikan pada tempat asalnya. Kemudian dilakukan adaptasi selama tiga hari. Setelah tikus beradaptasi, tikus akan diberi perlakuan seperti yang tertera pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Jadwal Perlakuan Hewan Coba

Hari	Perlakuan
1	Adaptasi tikus
2	Adaptasi tikus
3	Adaptasi tikus
4	Euthanasia, pemotongan, dan pengawetan organ kel. I
	Radiasi dosis tunggal 10 Gy kel. II
	Radiasi dosis fraksinasi 2 Gy kel. III
5	Euthanasia, pemotongan, dan pengawetan organ kel. II
	Radiasi dosis fraksinasi 2 Gy kel. III
6	Radiasi dosis fraksinasi 2 Gy kel. III
7	Radiasi dosis fraksinasi 2 Gy kel. III
8	Radiasi dosis fraksinasi 2 Gy kel. III
9	Euthanasia, pemotongan, dan pengawetan organ kel. III
10	Pemotongan organ dan pembuatan sediaan slide histopatologi

Pada saat pemberian radiasi, jarak antara pesawat teleterapi radiasi Co-60 dengan tikus adalah 80 cm (Susworo, 2007). Lapang penyinaran pesawat teleterapi radiasi Co-60 adalah sebesar 15 x 15 cm yang sesuai dengan ukuran luas alat fiksasi hewan coba. Waktu penyinaran untuk tikus kelompok II (dosis tunggal 10 Gy) adalah 697 detik. Waktu penyinaran hari ke-1 untuk tikus kelompok III (dosis fraksinasi) adalah 148 detik dengan *depth dose* (DD) sebesar 2,5 cm. Sedangkan waktu penyinaran hari ke-2 sampai dengan hari ke-5 untuk

tikus kelompok III adalah 141 detik dengan *depth dose* (DD) sebesar 3 cm. Karena hanya terdapat 6 ruangan pada alat fiksasi hewan coba, maka penyinaran untuk masing-masing kelompok dilakukan dalam 2 tahap secara bergantian.

Setelah pemberian jeda waktu 24 jam, tikus dikorbankan dengan menggunakan eter. Proses pembedahan dan pengangkatan kelenjar adrenal dilakukan dengan hati-hati oleh staf ahli. Selanjutnya kelenjar adrenal dimasukkan ke dalam tabung berisi formalin 10% dan diberi label sesuai kelompoknya. Kelenjar adrenal dikirim ke laboratorium histologi untuk diproses guna pemeriksaan morfologi sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis dengan menggunakan pengecatan hematoksilin-eosin (HE). Selanjutnya dilakukan perhitungan sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis dengan menggunakan program untuk membantu menghitung sel (*cell counter*) dan dikonfirmasi ulang dengan pemeriksaan manual menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 1000x.

4.8 Analisis Data

Analisis statistik *One Way ANOVA* dilakukan dengan menggunakan program SPSS 18 for Windows. *One Way ANOVA* digunakan untuk menguji apakah rata-rata lebih dari dua sampel berbeda secara signifikan atau tidak, yaitu untuk sampel yang tidak diradiasi, diradiasi dengan dosis tunggal, dan diradiasi dengan dosis fraksiasi. Variabel bebasnya adalah dosis radiasi sinar gamma dan variabel terganggunanya adalah jumlah morfologi sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis, kemudian dicari median dan standar deviasi (SD) dengan tingkat kepercayaan $\alpha = 0,05$ dimana apabila diperoleh $p > 0.05$ artinya tidak ada

perbedaan nyata, sebaliknya bila $p < 0.05$ menunjukkan ada perbedaan yang bermakna.

4.9 Jadwal Penelitian

Penelitian akan dilakukan menurut rancangan jadwal pada tabel 4.2 berikut ini.

Tabel 4.2 Jadwal Penelitian

Perkiraan Waktu	Kegiatan
Minggu ke-2 April 2012	Mengurus Ethical Clearance
Minggu ke-2 April 2012 s/d minggu ke-4 Mei 2012	Follow-up Ethical Clearance
Minggu ke-1 Juni 2012	Pemesanan hewan coba
Minggu ke-1 s/d minggu ke-4 Juni 2012	Mengurus surat pengantar dan surat izin penelitian
Minggu ke-4 Juni 2012	Adaptasi hewan coba
Minggu ke-1 s/d minggu ke-4 Juli 2012	Penelitian (penyinaran, pembedahan organ)
Minggu ke-4 Juli 2012 s/d selesai	Pembuatan slide, pewarnaan jaringan, pemeriksaan slide, analisis data, dan penyelesaian tugas akhir

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian dengan studi eksperimental ini menggunakan 3 kelompok dengan perlakuan berbeda. Kelompok I terdiri dari 9 tikus kontrol tanpa radiasi, kelompok II terdiri dari 9 tikus dengan radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy, dan kelompok III terdiri dari 9 tikus dengan radiasi dosis fraksinasi (5 x 2 Gy).

Setelah 24 jam sejak masing-masing perlakuan, tikus dibedah, kelenjar adrenal diambil, dan difiksasi dengan formalin 10%. Kemudian dilakukan pembuatan slide dengan pengecatan HE untuk melihat morfologi sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis, khususnya medula adrenal karena bagian korteks sulit dievaluasi dengan pengecatan HE. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 1000x, kemudian dihitung jumlah sel yang apoptosis per lapangan pandang sampai jumlahnya mencapai 1000 sel dari tiap slide.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Pengamatan dan Perhitungan Sel Apoptosis

Hasil pengamatan morfologi sel apoptosis dengan pengecatan HE untuk kelenjar adrenal hanya dapat diamati dengan baik pada bagian medula. Sel-sel pada korteks medula sangat sulit dievaluasi karena memiliki inti yang gelap dan padat. Sedangkan salah satu kriteria morfologi sel apoptosis yang diamati adalah sel pyknotik, dimana kromatin inti sel akan memadat dan warnanya menjadi lebih

gelap. Sehingga untuk memperkecil kesalahan pada penelitian ini, pengamatan dan perhitungan dikhususkan pada sel-sel di bagian medula saja.

Setelah dilakukan pengamatan dan perhitungan sel apoptosis menggunakan metode indeks apoptosis didapatkan hasil pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1 Indeks Apoptosis Medula Kelenjar Adrenal

Sampel	I/Kontrol (%)	II/Tunggal (%)	III/Fraksinasi (%)
1	0,4	0,6	2
2	0,3	1,9	1,5
3	0,5	0,3	1,6
4	1	0,5	0,7
5	0,7	0,8	2
6	3,9	1,1	1,3
7	0,6	1	1,2
8	0,7	1,3	1,4
9	0,3	1,3	1,7

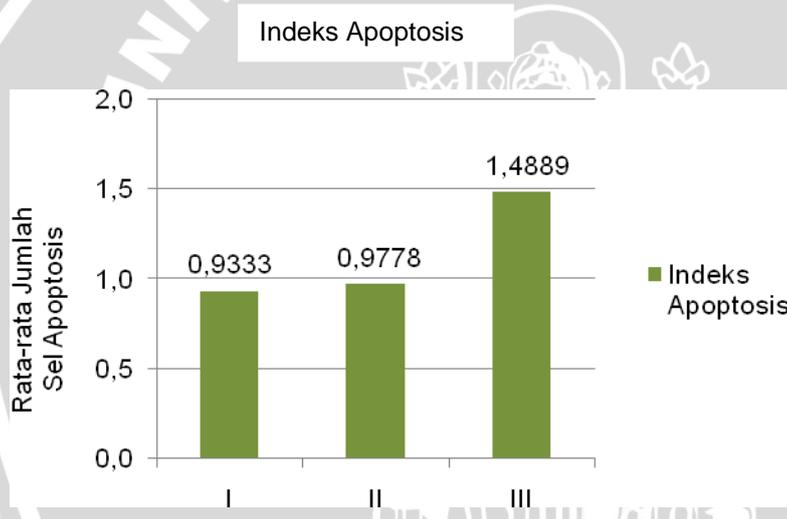
Nilai persentase pada hasil menyatakan persentase jumlah sel apoptosis per 1000 sel. Misalnya, pada sampel 1 didapatkan indeks apoptosis sebesar 0,4%. Artinya bahwa di antara 1000 sel terdapat 4 sel apoptosis dan demikian seterusnya.

Selanjutnya didapatkan juga rata-rata jumlah sel medula adrenal yang mengalami apoptosis dari tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungannya dapat dilihat pada tabel 5.2 berikut:

Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis

No.	Kelompok	N	Σ Sel Apoptosis per 1000 sel $\bar{x} \pm SD$
1	I (Kontrol)	9	0,9333 \pm 1,1347
2	II (Tunggal)	9	0,9778 \pm 0,4919
3	III (Fraksinasi)	9	1,4889 \pm 0,4076

Secara umum hasil perhitungan di atas dapat dinyatakan dalam diagram pada gambar 5.1 berikut ini:

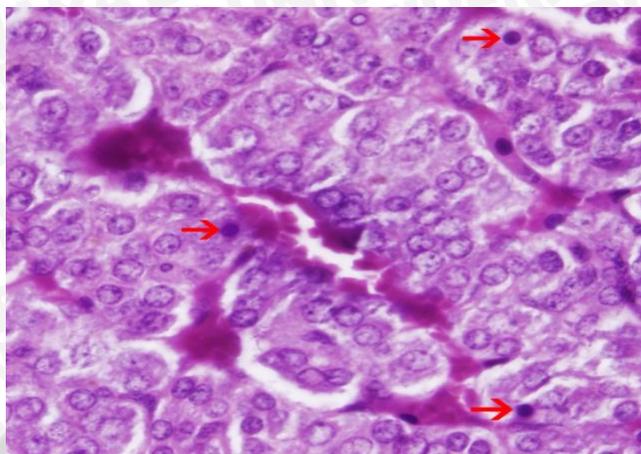


Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis pada Tiap Kelompok

Keterangan: I = Kelompok tikus kontrol tanpa perlakuan
 II = Kelompok tikus dosis tunggal 10 Gy
 III = Kelompok tikus dosis fraksinasi 5 x 2 Gy

Dari grafik di atas dapat dilihat adanya peningkatan jumlah sel apoptosis pada kelompok III, yaitu kelompok dosis fraksinasi (5 x 2 Gy), jika dibandingkan dengan kelompok I (kontrol) dan kelompok II (dosis tunggal 10 Gy). Sedangkan ada sedikit perbedaan peningkatan jumlah sel apoptosis antara kelompok I dan kelompok II.

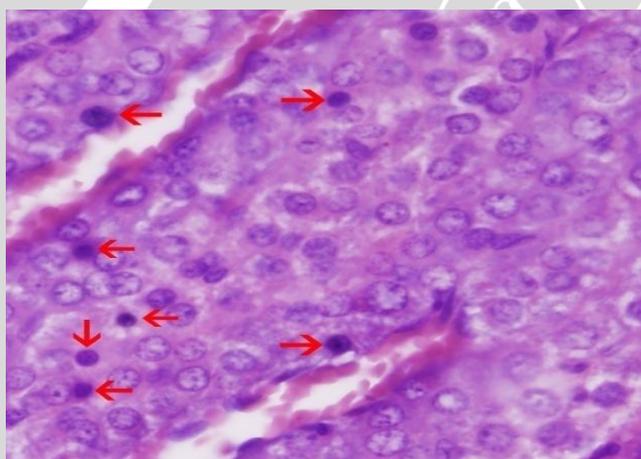
5.1.2 Hasil Pengamatan dengan Pewarnaan HE



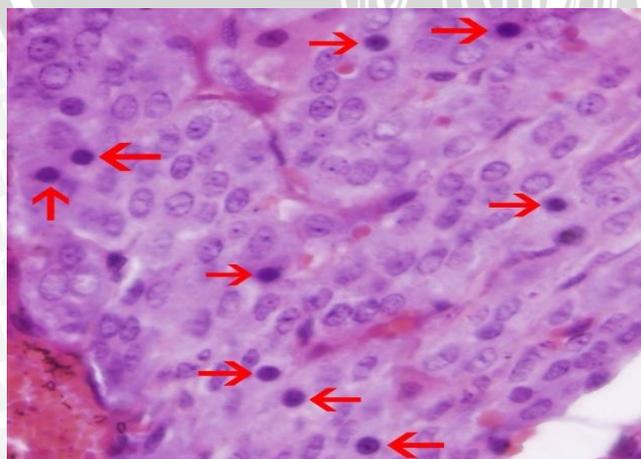
Keterangan:

- Perbesaran 1000x dengan pewarnaan HE
- → = sel medula adrenal yang mengalami apoptosis

Gambar 5.2 Apoptosis Sel Medula Adrenal Kelompok I



Gambar 5.3 Apoptosis Sel Medula Adrenal Kelompok II



Gambar 5.4 Apoptosis Sel Medula Adrenal Kelompok III

5.2 Analisis Data

Analisis dan pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 18.0 for Windows. Analisis yang digunakan adalah *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 0,05. Sebelum dilakukan analisis *One Way Anova*, dilakukan uji normalitas terhadap data yang ada dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Dari uji normalitas data didapatkan bahwa sebaran data pada kelompok I (kontrol) bernilai tidak normal, sedangkan pada kelompok II dan III bernilai normal. Hal ini disebabkan oleh adanya data yang *outlier* pada kelompok I, sehingga untuk menormalkan sebaran data, data tersebut harus dikeluarkan. Untuk menyamakan jumlah sampel tiap kelompok perlakuan, meskipun berdistribusi normal, masing-masing 1 data dari kelompok I, II, dan III yang dianggap bernilai menyimpang dikeluarkan, sehingga jumlah sampel untuk tiap kelompok menjadi 8. Tabel data setelah 3 data dikeluarkan dapat dilihat pada tabel 5.3 berikut ini.

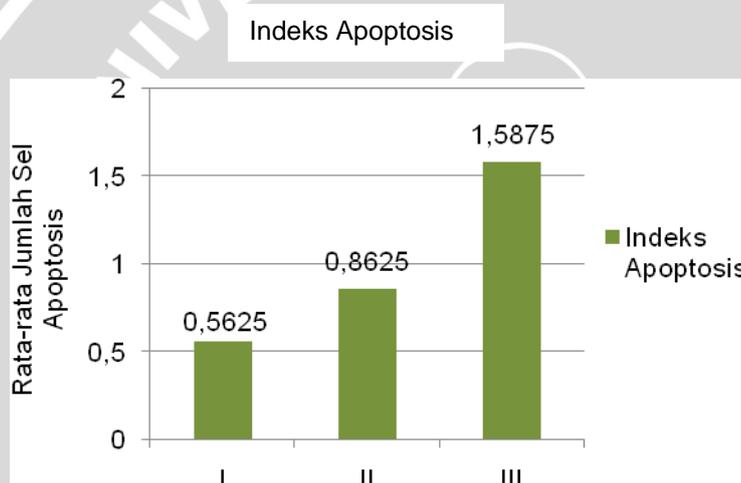
Tabel 5.3 Indeks Apoptosis Medula Adrenal Setelah Pengeluaran Data

Sampel	I/Kontrol (%)	II/Tunggal (%)	III/Fraksinasi (%)
1	0,4	0,6	2
2	0,3	0,3	1,5
3	0,5	0,5	1,6
4	1	0,8	2
5	0,7	1,1	1,3
6	0,6	1	1,2
7	0,7	1,3	1,4
8	0,3	1,3	1,7

Pada kelompok I, II, dan III, data yang dibuang berturut-turut adalah data ke-6, ke-2, dan ke-4. Dari hasil tersebut maka didapat rata-rata dan diagram yang baru sebagai berikut:

Tabel 5.4 Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis Setelah Pengeluaran Data

No.	Kelompok	N	Σ Sel Apoptosis per 1000 sel $\bar{x} \pm SD$
1	I (Kontrol)	8	0,5625 \pm 0,2387
2	II (Tunggal)	8	0,8625 \pm 0,3739
3	III (Fraksinasi)	8	1,5875 \pm 0,2997



Gambar 5.5 Grafik Rata-rata Jumlah Sel Medula Adrenal yang Mengalami Apoptosis Setelah Pengeluaran Data

Hasil rata-rata tiap kelompok perlakuan setelah pengeluaran data dibandingkan dengan rata-rata sebelumnya tidak menunjukkan perbedaan yang terlalu mencolok. Hanya pada kelompok I dan kelompok II terdapat perbedaan selisih yang agak meningkat dibandingkan dengan rata-rata sebelum pengeluaran data.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian data menggunakan uji *Levene*. Dari uji tersebut didapatkan angka signifikansi (p) sebesar 0,281. Nilai p

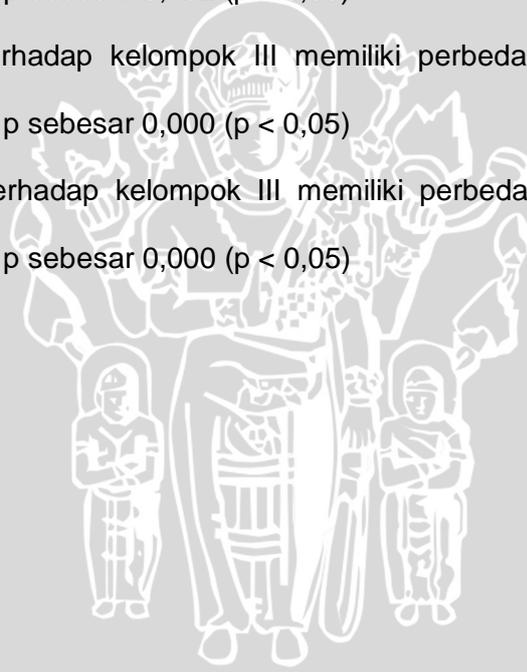
> 0,05 menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Setelah syarat-syarat terpenuhi, selanjutnya dilakukan analisis *One Way Anova*.

Dari hasil uji *One Way Anova* didapatkan angka signifikansi (p) sebesar 0,000. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan rata-rata yang bermakna pada kelompok perlakuan. Sehingga untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* dan diperoleh angka signifikansi sebagai berikut:

Kelompok I terhadap kelompok II tidak memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan dengan nilai p sebesar 0,152 ($p > 0,05$)

Kelompok I terhadap kelompok III memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan dengan nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$)

Kelompok II terhadap kelompok III memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan dengan nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$)



BAB 6

PEMBAHASAN

Radiasi sinar gamma merupakan radiasi ionisasi yang sering digunakan sebagai terapi keganasan. Radiasi tersebut dapat menembus tubuh manusia dan menyebabkan kerusakan DNA sel tumor maupun sel normal. Kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki akan menyebabkan kematian sel (Joiner & Kogel, 2009). Kerusakan DNA dapat dipicu melalui reaksi langsung dan tidak langsung. Reaksi langsung terjadi akibat interaksi langsung radiasi pengion dengan kromosom inti sel. Atom-atom penyusun DNA mengalami ionisasi dan kehilangan fungsinya sehingga proliferasi terhenti. Sedangkan reaksi tidak langsung terjadi akibat interaksi radiasi pengion dengan molekul air dan oksigen yang menyebabkan air dan oksigen mengion dan membentuk radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk akan berikatan dengan DNA dan menyebabkan rusaknya ikatan DNA (Gondhowiardjo & Aman, 2004). Respon kerusakan DNA dapat bermacam-macam ditentukan oleh sensitivitas sel, tipe sel, dan waktu kematian sel. Pada umumnya sel yang mengalami kerusakan DNA akibat radiasi akan mengalami kematian sel berupa apoptosis (Joiner & Kogel, 2009).

Penelitian dengan studi eksperimental ini dilakukan untuk mengetahui efek radiasi sinar gamma terhadap apoptosis sel normal kelenjar adrenal pada tikus *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan dengan membandingkan dua macam dosis perlakuan. Penelitian ini membagi perlakuan ke dalam 3 kelompok. Kelompok I terdiri dari 9 tikus kontrol tanpa radiasi, kelompok II terdiri dari 9 tikus

dengan radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy yang diberikan satu kali waktu, dan kelompok III terdiri dari 9 tikus dengan radiasi dosis fraksinasi yang diberikan masing-masing 2 Gy selama 5 hari. Pemilihan dosis sebesar 10 Gy didasarkan pada efek radiasi terhadap kerusakan jaringan normal, dimana 1-10 Gy merupakan *moderate dose*. Perubahan struktur dan fungsi sel normal sebagai respon pemberian radiasi bisa diukur dan diamati pada dosis ini (Radiation Research Program, 2002). Terapi radiasi diberikan dalam dua macam dosis, yaitu dosis tunggal dan fraksinasi. Kedua dosis ini dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan normal, tetapi radiasi dengan dosis fraksinasi memberi kesempatan sel-sel normal untuk memperbaiki DNA sehingga kerusakan jaringan normal bisa ditekan. Jadwal yang digunakan dalam pemberian radiasi dosis fraksinasi adalah 1,8-2 Gy diberikan 5 kali dalam seminggu selama 6-7 minggu dengan jumlah dosis berbeda sesuai dengan jenis tumornya (Otto, 2005; Susworo, 2007).

Tikus Wistar jantan dipilih dengan alasan karena termasuk mamalia yang jika diberi perlakuan dampaknya tidak jauh berbeda dengan manusia. Kelebihan tikus Wistar dalam penelitian adalah penanganannya yang tidak sulit, mudah beradaptasi, dan ukurannya yang cukup besar sehingga mudah untuk dijadikan subjek pengamatan (Permana, 2010).

Setelah 24 jam sejak masing-masing perlakuan, tikus dibedah, kelenjar adrenal diambil, dan difiksasi dengan formalin 10%. Rentang waktu pembedahan tikus 24 jam setelah penyinaran didasarkan pada waktu yang diperlukan sel untuk mengalami satu kali siklus sel, dimana pemberian jeda waktu tersebut memberi kesempatan pada sel yang rusak karena terpapar radiasi untuk memperbaiki dirinya sebelum akhirnya benar-benar mengalami kematian sel, yaitu

apoptosis. Selain itu, dalam rentang waktu tersebut, gambaran morfologi sel yang mengalami apoptosis diharapkan juga sudah tampak karena proses apoptosis sel pada umumnya membutuhkan waktu sekitar 12-24 jam (Soini *et al.*, 1998).

Kemudian dilakukan pembuatan slide dengan pengecatan HE untuk melihat morfologi sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 1000x, kemudian dihitung jumlah sel yang apoptosis per lapangan pandang sampai jumlahnya mencapai 1000 sel dari tiap slide (Losa *et al.*, 2000). Untuk penelitian ini bagian kelenjar adrenal yang diamati adalah sel-sel medula adrenal saja. Pada pengecatan HE sel-sel korteks adrenal tidak dapat dievaluasi karena intinya yang sangat gelap, sedangkan salah satu morfologi apoptosis yang dapat diamati adalah sel *pyknosis*, yaitu kromatin nukleus memadat sehingga memberi gambaran inti sel padat dan memberi kesan berwarna lebih gelap (Kumar *et al.*, 2007).

Pada saat dilakukan pengamatan sediaan, didapatkan peningkatan apoptosis yang sangat tinggi pada tikus ke-6 pada kelompok I (kontrol) sehingga menyebabkan distribusi data tidak normal. Hal ini mungkin disebabkan oleh tikus tersebut yang sedang sakit. Oleh karena itu, pada saat analisis data, data tikus tersebut dikeluarkan. Untuk menyeimbangkan jumlah sampel keseluruhan tiap kelompok, maka masing-masing data yang dianggap menyimpang dari kelompok II dan III, yaitu berturut-turut data ke-2 dan ke-4, ikut dikeluarkan. Sehingga diperoleh jumlah sampel per kelompok masing-masing menjadi 8 dengan asumsi pengurangan jumlah sampel masih memenuhi jumlah sampel minimal penelitian.

Menurut perhitungan, jumlah sampel minimal untuk penelitian ini adalah 8,5 sehingga jumlahnya dapat dibulatkan ke atas (9 ekor) atau ke bawah (8 ekor).

6.1 Efek Radiasi Sinar Gamma terhadap Morfologi Apoptosis Sel Medula Kelenjar Adrenal

Berdasarkan hasil analisis data pada bab 5, didapatkan peningkatan jumlah sel medula kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis pada kelompok II dan III dibandingkan dengan kelompok I. Rata-rata jumlah sel apoptosis paling tinggi sebesar $1,5875 \pm 0,2997$ terdapat pada kelompok III, yaitu pada pemberian dosis fraksinasi. Sehingga hipotesis penelitian ini yang menyatakan bahwa pemberian radiasi dosis tunggal dapat menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis lebih banyak dibandingkan dengan pemberian radiasi dosis fraksinasi tidak terbukti.

Berdasarkan hasil uji statistik *One Way Anova* didapatkan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata secara signifikan ($p > 0,05$) antara kelompok I dengan kelompok II. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal 10 Gy tidak menyebabkan peningkatan jumlah sel apoptosis pada medula kelenjar adrenal. Hal ini dapat terjadi karena terkait oleh sifat kelenjar adrenal yang termasuk organ radioresisten (NDT, 2011). Terlebih lagi bahwa bagian medula adrenal bersifat lebih resisten jika dibandingkan dengan bagian korteks (Fajardo *et al.*, 2001). Kemungkinan sel-sel kelenjar adrenal memiliki fase S yang panjang dan pada saat diradiasi sel berada pada fase akhir S dalam siklus sel, dimana pada fase ini sel tidak mudah terpengaruh oleh paparan radiasi sehingga tidak terjadi apoptosis (Hall & Giaccia, 2006). Hal ini dikemukakan juga oleh Sinclair (1968) dalam penelitiannya yang menjelaskan tentang *survival cells* pada kultur sel *Chinese hamster* yang diberi radiasi sinar X

dosis tunggal 6,6 Gy. Sel dikultur 1 jam setelah mitosis, kemudian dilakukan radiasi dan dihitung koloni sel yang masih *survive*. Saat siklus sel berada pada fase M dan G₂ hampir tidak ada sel yang *survive*. Sedangkan pada saat siklus masuk ke fase S, sel yang *survive* meningkat hingga mencapai 42% dan dipertahankan sampai akhir fase S (Hall & Giaccia, 2006).

Selain itu terjadinya apoptosis juga dipengaruhi oleh keseimbangan antara *pro* dan *anti-apoptotic protein*, dimana keseimbangan ini sangat bervariasi tergantung pada jenis dan tipe sel. Pada beberapa tipe sel, induksi dari *pro-apoptotic* protein tidak mampu mengaktivasi *caspase* sebagai eksekutor apoptosis. Hal ini dapat menjelaskan mengapa radiasi tidak dapat menyebabkan apoptosis pada sel-sel tertentu padahal aktivasi p53 sebagai respon dari kerusakan DNA terjadi pada hampir semua sel normal (Joiner & Kogel, 2009).

Kemungkinan lain yang dapat terjadi adalah letak kelenjar adrenal yang dekat dengan organ-organ yang bersifat radiosensitif, misalnya gaster, intestin, dan ginjal. Efek radiasi terhadap kelenjar adrenal berkurang karena organ-organ tersebut bersifat protektif dan mengurangi efek tumbukan radiasi ionisasi terhadap kelenjar adrenal (Fajardo et al., 2001: 348).

Berdasarkan hasil uji statistik *One Way Anova* didapatkan pula perbedaan rata-rata yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok III dengan kelompok I dan II. Perbedaan rata-rata yang signifikan pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian radiasi sinar gamma dosis fraksinasi 2 Gy dalam 5 hari menyebabkan jumlah sel medula kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis lebih banyak dibandingkan dengan dosis tunggal 10 Gy. Hal ini mungkin dapat terjadi karena terkait oleh berbagai macam jenis efek yang timbul setelah paparan radiasi sinar gamma.

Respon radiasi pada berbagai jaringan tidak hanya tergantung oleh karakteristik sel tersebut, tetapi juga variabel lain seperti dosis, pemberian fraksinasi, dan waktu observasi. Dalam hal ini waktu observasi memegang peranan terhadap perubahan morfologi dan fungsional sel. Paparan radiasi dosis tunggal dapat menyebabkan efek akut dengan menimbulkan *immediate lesion* dalam waktu yang sangat cepat, yaitu menit ke jam, atau *early lesion* yaitu mulai 24 jam sejak radiasi sampai beberapa minggu. Namun, karena kelenjar adrenal termasuk organ yang radioresisten, *immediate lesion* setelah paparan dosis tunggal kemungkinan tidak dapat diamati (Fajardo *et al.*, 2001: 156).

Pada pemberian radiasi dosis fraksinasi dalam jangka waktu 5 hari, efek yang mungkin terjadi dapat berupa *early lesion* dan *delayed lesion*. *Early lesion* dapat terjadi jika selama paparan radiasi, sel sedang berada pada fase sensitif, misalnya fase G₂ atau M. *Delayed lesion* adalah efek yang paling sering terjadi pada organ yang terpapar radiasi jangka panjang. Lesi ini dapat terjadi mulai hitungan minggu, bulan, hingga tahun setelah paparan radiasi. Semakin lama waktu paparan radiasi, *delayed lesion* yang terjadi dapat bermacam-macam, mulai dari apoptosis, nekrosis, hingga atrofi jaringan, sel atipik, dan displasia (Fajardo *et al.*, 2001: 158).

Hal ini ditegaskan pula oleh Kecheva (2010) dalam dua penelitiannya yang menjelaskan tentang perubahan morfologi dan fungsional kelenjar adrenal setelah pemberian radiasi sinar gamma. Pada penelitian pertama, 10 ekor babi diradiasi dengan 2 dosis fraksinasi berbeda, yaitu sebesar 3 Gy dan 4,5 Gy selama 45 hari. Terjadi perubahan morfologi kelenjar adrenal setelah 7 minggu pemberian radiasi 3 Gy dan perubahan morfologi menjadi semakin berat saat dosis dinaikkan menjadi 4,5 Gy. Pada penelitian kedua, 10 ekor kelinci dan 10

ekor babi dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, kemudian diradiasi masing-masing dengan dosis fraksinasi 0,1 Gy dan 0,5 Gy selama 30 hari. Terjadi perubahan fungsional sel-sel pengsekresi kortisol di kelenjar adrenal sehingga membuat kadar kortisol dalam darah terganggu. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa perubahan morfologi dan fungsional kelenjar adrenal yang nyata dapat diamati dalam beberapa waktu, mulai hitungan minggu, bulan, hingga tahun, setelah pemberian radiasi dosis fraksinasi.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Dalam melakukan penelitian ini terdapat banyak keterbatasan antara lain:

- Penyinaran tikus yang diarahkan mengenai bagian dorsal tikus sehingga kemungkinan dosis terakumulasi di organ-organ bagian dorsal meskipun telah dilakukan penyesuaian *depth dose*. Hal ini disebabkan oleh alat fiksasi tikus yang kurang memadai.
- Pengecatan organ yang hanya menggunakan HE sehingga bagian korteks adrenal tidak dapat dievaluasi dan pengamatannya bersifat subjektif meskipun telah dilakukan konfirmasi kepada dokter Patologi Anatomi. Sebaiknya selain HE dilakukan juga pengecatan imunohistokimia. Hal ini tidak dapat dilakukan pada penelitian ini oleh karena keterbatasan biaya dan waktu yang ada.
- Terdapat kelompok yang tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini mungkin juga dapat disebabkan oleh kurangnya jumlah sampel ($n=8$) sehingga dapat memengaruhi hasil rata-rata pada masing-masing kelompok.
- Perlakuan pada tikus kelompok III sebaiknya ditambahkan dengan pemberian makanan dan minuman yang mengandung anti oksidan yang

tinggi untuk memperbaiki kerusakan sel lebih banyak, sehingga apoptosis yang terjadi tidak tinggi. Hal ini perlu dilakukan sesuai dengan kondisi pemberian radioterapi pada manusia yang sebenarnya.



BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data, dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

Pemberian radiasi sinar gamma dosis tunggal (1×10 Gy) tidak dapat menyebabkan jumlah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis pada *Rattus norvegicus* varian Wistar jantan lebih banyak dibandingkan dengan pemberian radiasi dosis fraksinasi (5×2 Gy).

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari keseluruhan penelitian ini yaitu:

1. Karena sel-sel di lapisan korteks kelenjar adrenal sangat sulit dibedakan dengan pengecatan HE, perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan metode pengecatan yang lain, misalnya imunohistokimia, agar lapisan korteks dapat dievaluasi.
2. Karena pengamatan dengan pengecatan HE bersifat subyektif, untuk selanjutnya pengamatan lebih baik dilakukan oleh dua orang atau lebih dengan metode *double blind test*, dan sebaiknya menggunakan metode pengecatan selain HE, misalnya imunohistokimia.
3. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan waktu pengamatan yang lebih lama untuk menilai efek samping kronis dari pemberian radiasi sinar gamma.

4. Sebaiknya perlakuan tikus pada kelompok III (dosis fraksinasi) diberikan diet anti oksidan tinggi agar tidak banyak apoptosis yang terjadi. Hal ini perlu dilakukan sesuai dengan keadaan pemberian radioterapi pada manusia yang sesungguhnya.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K., Lichtman A.H., dan Pillai S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology*, 6th edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, p. 255-256.
- Affandi, Ahmad. 2009. *Prinsip Terapi Radiasi Dalam THT*, (Online), (<http://www.Files-of-DrsMed.tk>, diakses 7 Desember 2011).
- APII Study Guide. *Study Guide Endocrine Glands*, (Online), (<http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcaplan/anat2/Study%20Guides/APII%20Study%20Guide%20B%20Endocrine%20Glands.htm>, diakses 20 Desember 2011)
- BATAN, 2005. *Ensiklopedi Teknologi Nuklir*, (Online), (<http://www.batan.go.id/ensiklopedi/>, diakses 27 Desember 2011).
- BATAN, 2008. *Frequently Asked Question: Radiasi*, (Online), (http://www.batan.go.id/FAQ/faq_radiasi/, diakses 7 Desember 2011)
- Bielohuby, Maximilian. 2007. *The Mouse Adrenal Gland: Age- and Gender-Dependent Alterations of Growth and Function*, (Online), (<http://edoc.ub.uni-muenchen.de/7606/>, diakses 7 Desember 2011).
- Bobick J. and Balaban N.E. 2008. *The Handy Anatomy Answer Book*, Visible Ink Press, Canton, USA, p. 175-177. Dari Google Books, (Online), (<http://books.google.co.id/>, diakses 19 Desember 2011).
- Dash, Phil. 2011. *Apoptosis*, (Online), (www.sgul.ac.uk/dept/immunology/~dash, diakses 22 Desember 2011)
- Deshmukh BD dan Suryawanshi SA. 1989. Effects of gamma irradiation on histomorphology of some endocrine glands of the rain quail, *Coturnix coromandelica* (Gmelin), 1989 Sep;27(9):780-4. Abstrak diperoleh dari *Indian J Exp Biol*, (Online), (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2632397>, diakses 7 Desember 2011).
- EPA. 2011. *Health Effects*, (Online), (http://www.epa.gov/rpdweb00/understand/health_effects.html, diakses 27 Desember 2011).
- Fajardo L. F, Berthrong M., Anderson R. E. 2001. *Radiation Pathology*, Oxford University Press, New York, p. 155-158, 347-348. Dari Google Books, (Online), (<http://books.google.co.id/>, diakses 2 Januari 2013)
- Franchini A., Marchesini E., Poletti R., Ottaviani E.. 2004. Lethal and Sub-lethal Yessotoxin Dose-induced Morpho-functional Alterations in Intraperitoneal Injected Swiss CD1 Mice. *Toxicol*, 44 (1): 83-90.
- Gondhowiardjo, Soehartati dan Renindra Ananda Aman. 2004. Peran Radiasi Dalam Penanganan Adenoma Hipofise. *Makara Kesehatan*, 8 (1): 14-20.

Hall E.J. dan Giaccia A. J. 2006. *Radiobiology for The Radiologist*, Sixth Edition, Lippincott Williams & Wilkins, New York, USA.

Hayati, Kemala. 2010. *Aktivitas Superoksida Dismutase, Katalase, dan Kadar Malondialdehida Kelenjar Submandibularis Tikus Wistar Setelah Iradiasi Sinar Gamma*. Abstrak diperoleh dari ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga.

Henrikson, R. C., Kaye G.I, and Mazurkiewics J. E. 1997. *NMS Histology:National Medical Series for Independent Study*, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore,Maryland, USA, p. 360-364. Dari Google Books, (Online), (<http://books.google.co.id/>, diakses 19 Desember 2011).

HPA. 2011. *Health Protection Agency : Medical radiation*, (Online), (<http://www.hpa.org.uk/Topics/Radiation/UnderstandingRadiation/UnderstandingRadiationTopics/MedicalRadiation/>, diakses tgl 11 Desember 2011).

Joiner M. dan Albert van der Kogel. 2009. *Basic Clinical Radiobiology*, Fourth Edition, Hodder Arnold, UK.

Kecheva, R.Z. 2010. Comparative Investigations on Blood Adrenocorticotrophic Hormone and Cortisol Changes After Total Body Gamma Irradiation of Rabbits and Pigs at 0.1 and 0.5 Gy. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 13 (2): 81-86.

Kecheva R, Velev V., dan Nikiforov Iv. 2010. Pathomorfological Changes in Some Glands of Internal Secretion in Pigs After Irradiation at 3.0 and 4.5 Gy. *Trakia Journal of Sciences*, (Online), 8 (2): 95-98, (<http://www.uni-sz.bg>, diakses 20 Desember 2011).

Kreshnamurti I., Ginting R., dan Farah Dina. 2009. *Radioterapi pada Kanker Serviks*, (Online), (<http://digilib.unsri.ac.id/jurnal/health-sciences/page/mrlist/11/60>, diakses 19 Desember 2011).

Kumar, Cotran R.S, dan Robbins. 2007. *Basic Pathology*, 7th Edition, Elsevier.

Losa M. et al. 2000. Determination the Proliferation and Apoptotic Index in Adrenocorticotropin-Secreting Pituitary Tumors. *The American Journal of Pathology*, 156 (1): 245-251.

Lumongga, Fitriani. 2008. Apoptosis, (Online), (<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/2061/1/09E01457.pdf>, diakses 22 Desember 2011).

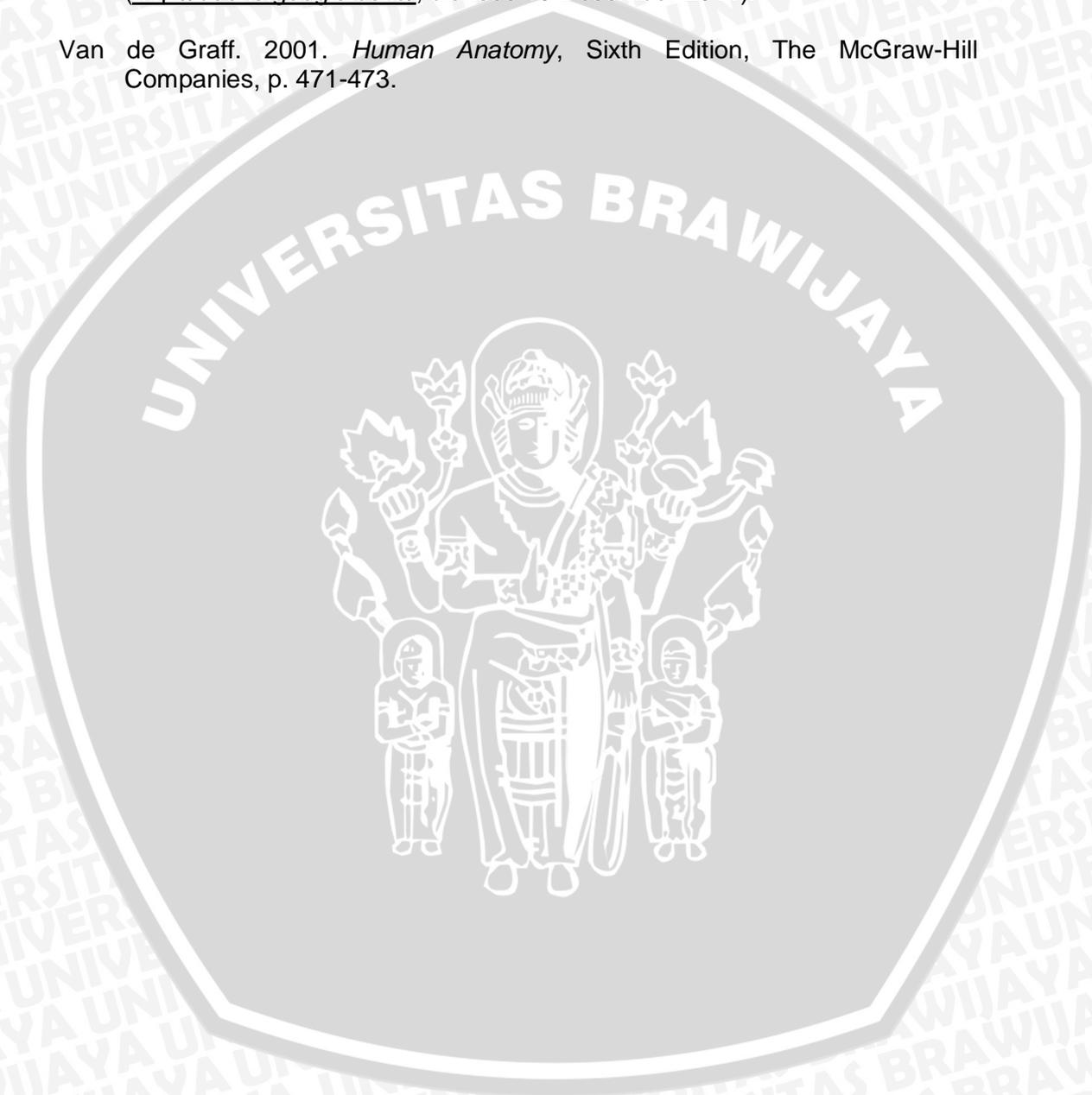
MD Anderson Cancer Center. *Radiation Therapy*, (Online), (<http://www.mdanderson.org/patient-and-cancer-information/cancer-information/cancer-topics/cancer-treatment/radiation/index.html>, diakses 27 Desember 2011).

- NCI. 2010. *Radiation Therapy for Cancer*, (Online), (<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Therapy/radiation>), diakses 7 Desember 2011).
- NDT Resource Center. *Radiation Safety* in Brian Larson (Ed), (Online), (<http://www.ndt-ed.org/EducationResources/CommunityCollege/RadiationSafety/theory/>), diakses 27 Desember 2011).
- NIEHS/NTP. 2003. *Report on Carcinogens Background Documents for X Radiation & Gamma Radiation and Neutrons*, (Online), (http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/newhomeroc/roc11/ir_rq2_public.pdf), diakses 9 Januari 2012).
- Nielsen O.S., Bentzen S. M., Sandberg E., Gadeberg C.C., Timothy A. R. 1998. Randomized trial of single dose versus fractionated palliative radiotherapy of bone metastases. *Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, 47 (3): 233-240.
- Nurhayati, Siti dan Yanti Lusiyanti. 2006. Apoptosis dan Respon Biologi Sel Sebagai Faktor Prognosa Radioterapi Kanker. *Buletin Alara*, 7 (3): 57-66.
- ORISE. *Basic of Radiation*, (Online), (<https://orise.orau.gov/reacts/default.aspx>), diakses 19 Desember 2011).
- Otto, Shirley E. *Buku Saku Keperawatan Onkologi*. Terjemahan Jane Freyana Budi. 2005. Jakarta: EGC. Dari Google Books, (Online), (<http://books.google.co.id/>), diakses 10 Desember 2011).
- Permana, Zurida. 2010. *Konsumsi, Kecernaan dan Performa Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Disuplementasi Biomineral Cairan Rumen dalam Ransum*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Program Studi Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Pikatan, Sugata. 1992. Manusia dan Radiasi. *Kristal*, 1992 (6), (Online), (<http://tan.awardspace.com/publi/Radiasi.PDF>), diakses 7 Desember 2011).
- Radiation Research Program NCI. 2002. *Workshop Draft Report: Molecular and Cellular Biology of Moderate Dose (1-10 Sv) Radiation and Potential Mechanisms of Radiation Protection*, Bethesda, 17-18 Desember 2001.
- Sherwood, Lauralee. 2010. *Human Physiology : from cell to systems*, 7e, Brooks/Cole Cengage Learning, Belmont, USA, p. 698-705. Dari Google Books, (Online), (<http://books.google.co.id/>), diakses 19 Desember 2011).
- Soini Y., Paako P., Lehto V-P. 1998. Histopathological Evaluation of Apoptosis in Cancer. *The American Journal of Pathology*, 153 (4): 1041-1053.
- Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. PT Rineka Cipta, Jakarta.
- Supriana, Nana. 2008. *Tentang Radioterapi*, (Online), (http://www.radioterapi-cm.org/index.php?lang=ina&to=mnu_120), diakses 7 Desember 2011).

Susworo, R. 2007. *Radioterapi*. Penerbit Universitas Indonesia: Jakarta.

Tintinalli J.E., Stapczynski J.S., Ma O.J., Cline D.M., Cydulka R. K, and Meckler G.D. 2011. *Tintinalli's Emergency Medicine*, 7th Edition, Mc Graw-Hill Companies, USA, p. 56. Dari Google Books, (Online), (<http://books.google.co.id/>, diakses 19 Desember 2011).

Van de Graff. 2001. *Human Anatomy*, Sixth Edition, The McGraw-Hill Companies, p. 471-473.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Claurita Deasy Natalina

NIM : 0910710016

Program Studi: Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya Malang

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, Januari 2013

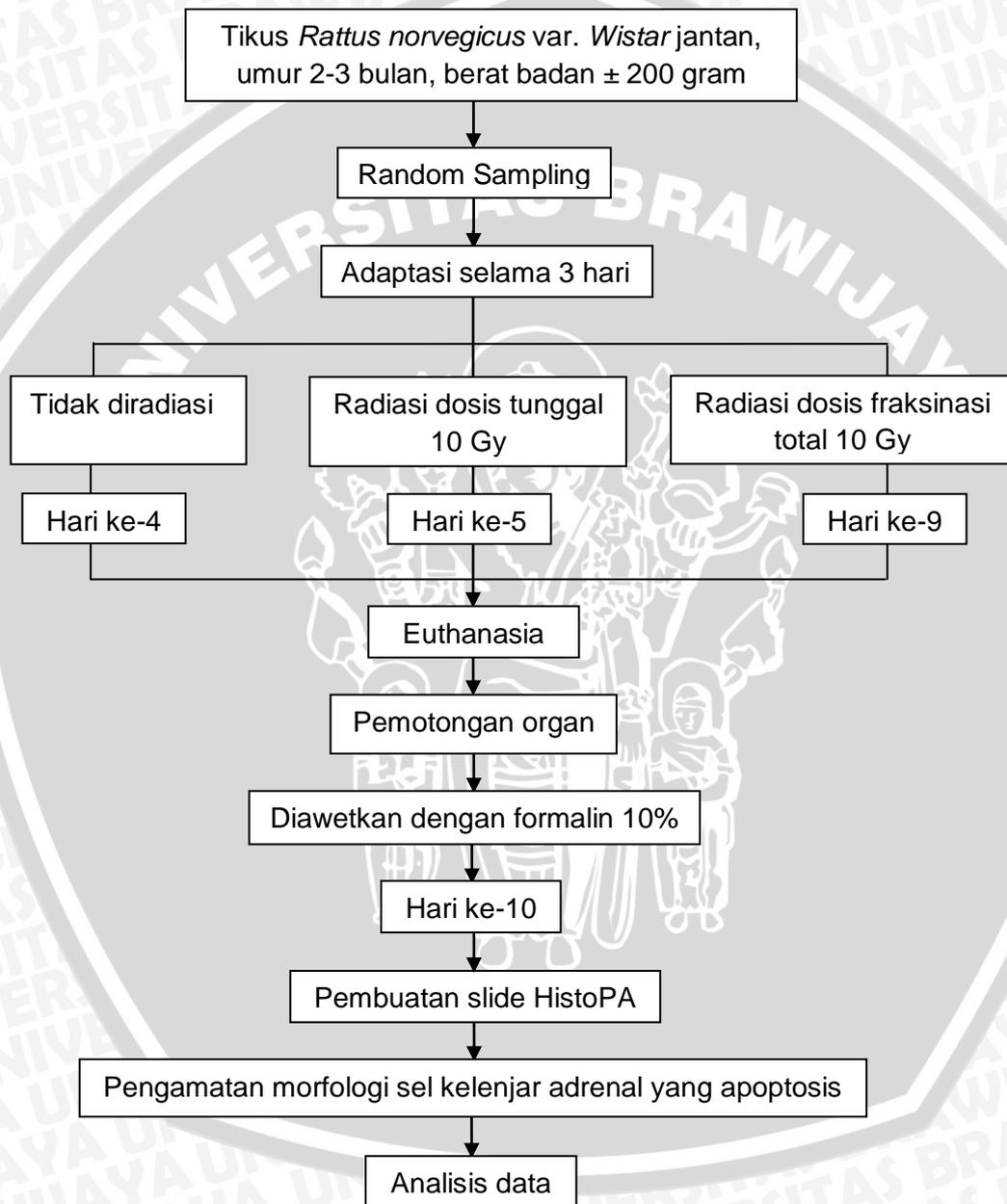
Yang membuat pernyataan,

Claurita Deasy Natalina

NIM. 0910710016

Metode Perlakuan, Pembedahan, dan Pengambilan Organ Pada Hewan Coba

- **Metode Perlakuan Hewan Coba**



- **Proses Radiasi Sinar Gamma**

Sebelum dilakukan penyinaran, tikus difiksasi pada alat fiksasi. Alat fiksasi dibuat dari kardus berbentuk balok tanpa atap dengan ukuran panjang 15 cm, lebar 15 cm, dan tinggi 25 cm. Di dalam balok kardus terdapat sekat yang membagi balok menjadi 6 ruangan sama besar, dengan masing-masing ruangan berukuran 7,5 x 5 cm. Ruangan di dalam balok kardus dibuat sesuai dengan ukuran tubuh hewan coba sehingga hewan coba terfiksasi dalam keadaan bagian dorsal tubuh menghadap ke atas saat proses pemberian radiasi sinar gamma berlangsung.



Alat Fiksasi Hewan Coba



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. Waktu penyinaran untuk kelompok II (dosis tunggal 10 Gy) adalah 697 detik. Waktu penyinaran hari ke-1 untuk tikus kelompok III (dosis fraksinasi) adalah 148 detik dengan *depth dose* (DD) sebesar 2,5 cm. Sedangkan waktu penyinaran hari ke-2 sampai dengan hari ke-5 untuk tikus kelompok III adalah 141 detik dengan *depth dose* (DD) sebesar 3 cm. Penyinaran dilakukan dalam 2 tahap secara bergantian

karena hanya ada 6 ruangan pada alat fiksasi. Penyinaran dilakukan di Instalasi Radiologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

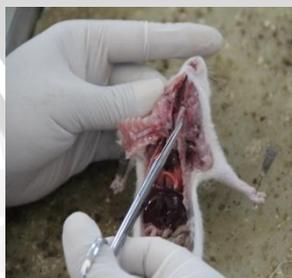
- **Euthanasia**

Tikus-tikus dikorbankan dengan cara memasukkan satu ekor tikus ke dalam toples kaca berisi kapas yang telah dibasahi oleh eter. Setelah memasukkan tikus, toples ditutup dan ditunggu selama kira-kira 5 menit. Euthanasia pada tikus dilakukan 24 jam setelah pemberian radiasi.



- **Pembedahan, Pengambilan, dan Penyimpanan Organ**

Tikus dibedah oleh tenaga ahli dari Laboratorium Farmakologi FKUB, kemudian organ kelenjar adrenal diambil. Kelenjar adrenal disimpan dalam wadah plastik berisi formalin 10% dan diberi label sesuai kelompoknya. Selanjutnya disimpan pada suhu ruang (25°C). Setelah kira-kira 1 bulan, organ dikirim ke Laboratorium Histologi FKUB untuk pembuatan slide.



Pembedahan Hewan Coba



Wadah Penyimpanan Organ

Proses Pengerjaan Preparat Histopatologi

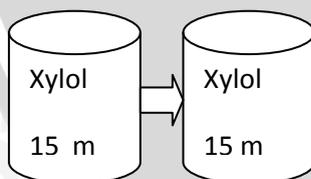
I. Proses Pemotongan Jaringan Berupa Makros

1. Gross hasil bedah dimasukan ke larutan formalin 10% (fiksasi) semalam.
2. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan di teliti.
3. Jaringan dipotong kurang lebih ketebalan 2-3 mm.
4. Dimasukkan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross peneliti.
5. Dimasukkan ke larutan formalin 10 % sebelum diproses/dimasukkan ke alat Tissue Tex Prosesor.
6. Diproses menggunakan alat/mesin Tissue Tex Prosesor selama 90 menit.
7. Alarm bunyi tanda selesai.

II. Proses Pengeblokan & Pemotongan Jaringan

1. Jaringan diangkat dari mesin Tissue Tex Prosesor.
2. Jaringan diblok dengan parafin sesuai kode jaringan.
3. Jaringan dipotong menggunakan alat microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.

III. Proses Deparafinisasi



Setelah disayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, jaringan diletakkan dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80°C, kemudian dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit. Setelah itu dimasukkan ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (hidrasi), dan yang terakhir dimasukkan air mengalir selama 15 menit.

IV. Proses Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin)

1. Cat utama Harris Hematoksilin 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

V. Dehidrasi

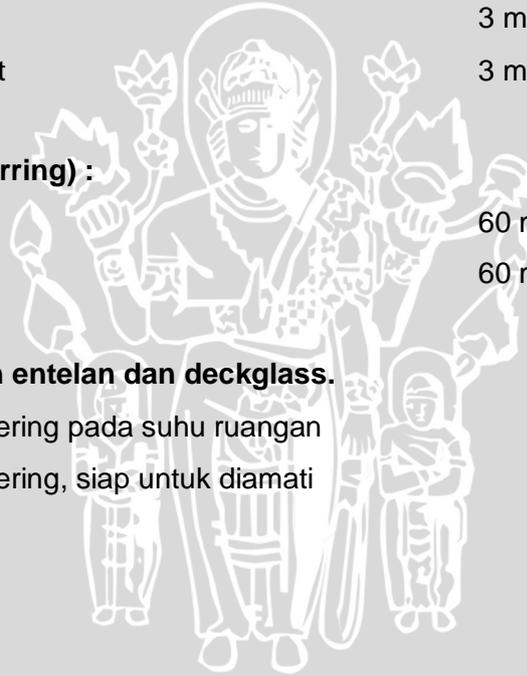
- Alkohol 70% 3 menit
- Alkohol 80% 3 menit
- Alkohol 96% 3 menit
- Alkohol Absolut 3 menit

VI. Penjernihan (Clearring) :

- Xylol 60 menit
- Xylol 60 menit

VII. Mounting dengan entelan dan deckglass.

- Biarkan slide kering pada suhu ruangan
- Setelah slide kering, siap untuk diamati



Proses Pemeriksaan dan Perhitungan Sel Kelenjar Adrenal

- **Pemeriksaan Morfologi Sel Apoptosis**

Slide yang telah jadi dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran mikroskop cahaya dengan perbesaran okuler 10 kali dan obyektif 100 kali. Sel kelenjar adrenal yang dilihat adalah sel kelenjar adrenal yang mengalami apoptosis (selanjutnya disebut sel X) dan sel kelenjar adrenal yang tidak mengalami apoptosis atau sel normal (selanjutnya disebut sel Y). Sel kelenjar adrenal ini dilihat dengan menghususkan sel-sel yang berada di medula adrenal tanpa membedakan sel yang ada di dalamnya.

Penghitungan sel apoptosis dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Dalam setiap lapang pandang dihitung jumlah sel yang mengalami apoptosis (X) yang selanjutnya menjadi pembilang dan jumlah sel yang tidak mengalami apoptosis (Y). Perbandingan sel apoptosis di antara sel normal dapat dibandingkan sebagai berikut:

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

2. Selanjutnya poin nomor 1 dikerjakan untuk lapang pandang yang lain sampai jumlah keseluruhan sel di seluruh bagian medula kelenjar adrenal mencapai 1000 sel.
3. Masing-masing perhitungan untuk tiap lapangan pandang dijumlah dan hasil akhirnya dibuat dalam bentuk persentase.

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

dimana X_1 = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapang pandang ke-1

X_2 = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapang pandang ke-2

X_3 = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapang pandang ke-3

X_n = jumlah sel yang mengalami apoptosis pada lapang pandang ke-n

Selanjutnya dari hasil tersebut dilakukan analisis data.

- **Hasil Perhitungan Sel Apoptosis Medula Kelenjar Adrenal**

SLIDE KELENJAR ADRENAL KONTROL

Slide	Σ sel apoptosis	Σ sel normal	Σ sel total	Indeks Apoptosis
1	4	1113	1117	0,4
2	3	1104	1107	0,3
3	5	1033	1038	0,5
4	10	1098	1108	1
5	7	1106	1113	0,7
6	39	1034	1073	3,9
7	6	1044	1050	0,6
8	7	1007	1014	0,7
9	3	1009	1012	0,3

SLIDE KELENJAR ADRENAL DOSIS TUNGGAL

Slide	Σ sel apoptosis	Σ sel normal	Σ sel total	Indeks Apoptosis
1	6	1013	1019	0,6
2	19	1000	1019	1,9
3	3	1055	1058	0,3
4	5	1046	1051	0,5
5	8	1018	1026	0,8
6	11	1044	1055	1,1
7	10	1115	1125	1
8	13	1005	1018	1,3
9	13	1014	1027	1,3

SLIDE KELENJAR ADRENAL DOSIS FRAKSINASI

Slide	Σ sel apoptosis	Σ sel normal	Σ sel total	Indeks Apoptosis
1	20	1000	1020	2
2	15	1030	1045	1,5
3	16	1025	1041	1,6
4	7	998	1005	0,7
5	20	1058	1078	2
6	13	1068	1081	1,3
7	12	1071	1083	1,2
8	14	1052	1066	1,4
9	17	1052	1069	1,7



Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, dan Analisis One Way ANOVA

Tests Of Normality

Radiasi		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Apoptosis	Kontrol	,157	8	,200*	,928	8	,496
	Tunggal	,143	8	,200*	,936	8	,569
	Fraksinasi	,166	8	,200*	,927	8	,493

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Descriptives

Apoptosis

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kontrol	8		
Tunggal	8	,8625	,37393	,13220	,5499	1,1751	,30	1,30
Fraksinasi	8	1,5875	,29970	,10596	1,3369	1,8381	1,20	2,00
Total	24	1,0042	,52954	,10809	,7806	1,2278	,30	2,00

Test of Homogeneity of Variances

Apoptosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,350	2	21	,281

ANOVA

Apoptosis

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4,443	2	2,222	23,255	,000
Within Groups	2,006	21	,096		
Total	6,450	23			

Hasil Analisis Uji Post Hoc Tukey

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Apoptosis
Tukey HSD

(I) Radiasi	(J) Radiasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Tunggal	-,30000	,15454	,152	-,6895	,0895
	Fraksinasi	-1,02500*	,15454	,000	-1,4145	-,6355
Tunggal	Kontrol	,30000	,15454	,152	-,0895	,6895
	Fraksinasi	-,72500*	,15454	,000	-1,1145	-,3355
Fraksinasi	Kontrol	1,02500*	,15454	,000	,6355	1,4145
	Tunggal	,72500*	,15454	,000	,3355	1,1145

*. The mean difference is significant at 0.05 level

Homogeneous Subsets

Apoptosis

Tukey HSD^a

Radiasi	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol	8	,5625	
Tunggal	8	,8625	
Fraksinasi	8		1,5875
Sig.		,152	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8,000.