

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, menggunakan radiasi pengion jenis sinar gamma yang diberikan secara eksternal berjenis Cobalt-60 yang dibagi menjadi dua kelompok dosis, yaitu dosis tunggal sebesar 10 Gy dan dosis fraksinasi yang diberikan setiap hari sebesar 2 Gy selama 5 hari dengan total 10 Gy. Pemberian dua macam radiasi ini bertujuan melihat perbedaan respon caspase-3 terhadap sel retina hewan coba yang mati secara apoptosis. Dosis 10 Gy dipilih karena merupakan dosis sedang dan pada dosis ini perubahan respon caspase-3 dapat terlihat. Dosis 2 Gy diberikan selama 5 hari karena pada praktiknya terapi radiasi untuk sel kanker diberikan dengan rentang dosis 1,8 Gy sampai dengan 2 Gy selama 5 hari. Proses kematian sel atau apoptosis terjadi 6 sampai 24 jam pasca pajanan radiasi, sehingga pembedahan dan pengambilan mata dilakukan 17-24 jam pasca radiasi untuk melihat perubahan morfologi sel.

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus Norvegicus* varian wistar karena tikus jenis ini memiliki berat badan yang ringan dan perawatan yang tidak sulit. *Rattus norvegicus* varian wistar juga memiliki ukuran badan yang sedang sehingga tidak terlalu sulit mengambil organ dan mengamati ekspresi caspase-3 setelah perlakuan. Berdasarkan rumus jumlah sampel, didapatkan 9 sampel pada setiap kelompok perlakuan, sehingga karena jumlah kelompok perlakuan ada 3, maka jumlah tikus yang diperlukan 27 ekor. Namun dikarenakan keterbatasan penelitian yang menyebabkan hilangnya organ saat proses pewarnaan, maka jumlah sediaan histo PA yang dapat dipakai hanya 24.

6.1 Efek Radiasi Sinar Gamma terhadap Ekspresi Caspase-3 Sel Retina

Berdasarkan analisis data, diperoleh rata-rata sel retina yang mengekspresikan caspase-3 pada setiap kelompok perlakuan. Jelas terlihat peningkatan respon caspase-3 yang terjadi pada kelompok radiasi dosis tunggal maupun dosis fraksinasi dibandingkan kelompok tanpa radiasi atau kontrol. Pada kelompok radiasi dosis tunggal terlihat peningkatan rata-rata jumlah ekspresi caspase-3 yang lebih besar dibandingkan jumlah ekspresi caspase-3 pada kelompok radiasi dosis fraksinasi. Saat dilakukan uji statistik *One-Way ANOVA*, dapat terlihat bahwa peningkatan rata-rata sel retina yang mengekspresikan caspase-3 berbeda secara signifikan, dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hasil penelitian tersebut sesuai dengan teori bahwa radiasi berupa sinar gamma dapat meningkatkan apoptosis sel yang dalam prosesnya erat kaitannya dengan respon caspase-3. Telah dijelaskan bahwa radiasi sinar gamma dapat merusak DNA sel yang kemudian menyebabkan apoptosis.

Pada kelompok kontrol yang dibandingkan dengan kelompok radiasi dosis tunggal menunjukkan perbedaan respon caspase-3 yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian radiasi sinar gamma menyebabkan peningkatan jumlah ekspresi caspase-3 sel yang sangat besar, tingginya respon apoptosis ini sesuai dengan hipotesis yang diambil. Semakin besar dosis radiasi yang diberikan, semakin besar kemungkinan sel akan mengalami kematian. Jika melewati ambang batas kemampuan regenerasi, sel akan segera mengalami apoptosis dan tidak mampu melakukan perbaikan diri.

Hasil penelitian pada kelompok kontrol dan kelompok fraksinasi menunjukkan bahwa jumlah respon caspase-3 sel retina pada pemberian radiasi

sinar gamma dosis fraksinasi berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan sel retina tanpa diberi radiasi.

Pada kelompok tunggal yang dibandingkan dengan kelompok fraksinasi menunjukkan respon caspase-3 yang berbeda secara nyata dimana gambaran sel retina yang mengekspresikan caspase-3 yang mengarah ke jalur apoptosis lebih banyak terlihat pada kelompok radiasi dosis tunggal. Fenomena ini terjadi karena pada radiasi dosis tunggal diberikan dosis yang cukup untuk membuat sel mengalami apoptosis, karena tingginya dosis maka sel tidak mampu bertahan dan mengaktifkan jalur apoptosis. Pada kelompok radiasi dosis fraksinasi respon caspase-3 lebih sedikit karena dengan pemberian dosis 2 Gy, sel masih mampu untuk bertahan dan memperbaiki diri, sedangkan jeda waktu antar dua radiasi adalah satu hari, hal ini memungkinkan sel melakukan *self healing* sehingga meskipun jumlah radiasi total sama dengan 10 Gy, namun adanya jeda waktu setiap pemberian 2 Gy radiasi menyebabkan sel mampu bertahan lebih baik.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran

Radioterapi adalah salah satu dari tiga prinsip modalitas yang digunakan dalam pengobatan penyakit keganasan (kanker), selain pembedahan dan kemoterapi (Podgorsak, 2005). Para pakar medis telah mengobati pasien dengan radioterapi secara aman dan efektif selama lebih dari 100 tahun (ASTRO, 2011). Sekitar 70 persen pasien kanker akan mendapatkan radioterapi pada beberapa stadium selama perjalanan penyakitnya. Radioterapi berperan penting dalam pengobatan kanker, diupayakan dapat memberikan efek yang signifikan dengan efek samping dan komplikasi sekecil mungkin (Martinez-Rovira, 2012).

Pada aplikasi medis, terapi radiasi pada sel kanker dengan cara mengarahkan sinar radiasi ke sel target, namun pada kenyataannya pasti ada sel normal di sekelilingnya yang terkena radiasi. Hal inilah yang akan menyebabkan sel normal mengalami apoptosis dan pembentukan radikal bebas yang bertindak sebagai prekursor kanker baik di organ target maupun di tempat lain. Sebagai contoh adalah terapi radiasi gamma knife surgery bagi penanganan melanoma choroidal. Radiasi diarahkan pada bagian mata saja namun organ disekelilingnya seperti retina juga akan terkena sinar, hal ini yang menyebabkan sel normal pada retina juga mengalami apoptosis. Semakin tinggi dosis radiasi, semakin tinggi jumlah sel kanker yang mati, namun semakin tinggi juga dampak kerusakan sel normal yang berada di sekitar target organ. Pernyataan tersebut sesuai dengan hipotesis dan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa radiasi dosis tunggal menyebabkan apoptosis sel yang lebih besar dibandingkan dengan radiasi dosis fraksinasi (Jeon, et all, 2010).

Radiasi yang ditujukan pada organ tubuh makhluk hidup memberikan beragam pengaruh. Pengaruh radiasi pada terhadap organ tubuh tergantung pada jumlah/dosis radiasi, lamanya pemaparan, kecepatan pemaparan, banyaknya bagan tubuh yang terkena radiasi, dan pernyebarluasan radiasi di dalam tubuh. Jika radiasi disebarluaskan ke seluruh permukaan tubuh, radiasi yang besar dapat menyebabkan kematian. Tetapi jika hanya diarahkan pada sebagian kecil permukaan tubuh (contohnya pada terapi kanker), maka 3-4 kali jumlah tersebut bisa diberikan tanpa menimbulkan efek yang berbahaya bagi tubuh. Beberapa perubahan yang berpotensi terjadi akibat paparan radiasi terhadap organ tubuh adalah kerusakan dasar nukleotida, kerusakan *strand* DNA, maupun kerusakan *cross-linkage* (Noviana, 2011).

Pada klinis, radiasi terapi hanya diberikan sekitar 1,8 Gy sampai dengan 2 Gy dalam sekali penyinaran dan dosis total yang diberikan tergantung stadium dan tingkat keparahan kanker. Terapi radiasi diberikan dalam beberapa kali penyinaran dengan dosis maksimal 2 Gy dalam sekali penyinaran bertujuan untuk memberikan kesempatan bagi tubuh untuk regenerasi sel. Target terapi berjalan lebih lama namun efek samping kerusakan sel normal disekeliling target organ lebih ringan meskipun tetap ada apoptosis sel normal dan memungkinkan menyebabkan masalah baru pasca radiasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa sel retina yang diberi radiasi dosis fraksinasi mengalami apoptosis sel yang lebih banyak dibandingkan dengan sel normal tanpa radiasi (Diaz *et al.*, 2011).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam proses penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan antara lain:

- a. Penyinaran terhadap hewan coba yang mengenai dorsal sehingga menyebabkan radiasi tidak optimal mengenai bagian kepala tikus. Hal ini disebabkan terbatasnya alat fiksasi terhadap hewan coba.
- b. Antrian pembuatan slide yang menyebabkan organ mata direndam formalin terlalu lama. Kondisi ini menyebabkan ekspresi caspase 3 dan kondisi organ tidak optimal.
- c. Tidak diberikan makanan yang mengandung anti oksidan sehingga sama seperti proses radiasi yang dilakukan pada manusia.