

DETEKSI KROMOSOM DISENTRIK DAN TRANSLOKASI DALAM LIMFOSIT PEKERJA RADIASI

Yanti Lusiyanti, Zubaidah Alatas, dan Iwiq Indrawati

ABSTRAK

DETEKSI KROMOSOM DISENTRIK DAN TRANSLOKASI PADA PEKERJA RADIASI. Program pemantauan radiasi diterapkan secara rutin pada semua pekerja radiasi dengan menggunakan dosimeter fisik. Sedangkan pemantauan dari aspek dosimeter biologi dapat didasarkan pada indikator biologik berupa kerusakan sitogenetik yang diakibatkan oleh pajanan radiasi pada tubuh. Tujuan penelitian ini untuk melakukan deteksi kromosom disentrik dan translokasi dalam sel limfosit pekerja radiasi masing-masing dengan teknik pewarnaan giemsa dan teknik *Fluorescence in situ hybridization* (FISH). Sampel darah tepi yang diperoleh dari 10 pekerja radiasi dibiakkan pada suhu 37°C selama 72 jam dan dipanen dengan prosedur standar. Larutan sel diteteskan pada gelas preparat dan diwarnai pewarna giemsa dan *chromosome painting* FISH menggunakan *whole chromosome probe* nomor 1,2,5, atau 8 yang berlabel FITC dan diamati dengan mikroskop epifluoresen. Hasil pengamatan pada 2 pekerja radiasi dengan masing-masing masa kerja 6 tahun dan 22 tahun, dengan dosis pajanan ≤ 50 mSv dan ≥ 50 mSv, ditemukan kromosom disentrik dan patahan yang diindikasikan sebagai kromosom translokasi pada kromosom no 1 dan no 5, dengan 1 dan 2 disentrik. Perlu pengembangan lebih lanjut untuk mendeteksi aberasi kromosom translokasi dengan teknik FISH yang mampu memvisualisasikan 2 kromosom dengan 2 macam probe yang berbeda warna sehingga pertukaran bagian kromosom yang mengalami translokasi akan lebih nyata.

Kata kunci : Sel limfosit, aberasi kromosom stabil, translokasi, FISH, *chromosome painting*

ABSTRACT.

DETECTION OF DICENTRIC AND TRANSLOCATION CHROMOSOMES IN LYMPHOCYTE OF RADIATION WORKERS. Radiation monitoring program routinely was applied for all radiation workers using physical dosimetry such as TLD, film badge Etc. Although dosimeter biology monitoring based on biological parameter of cytogenetics damages due to radiation exposure of the body. The aim of this study is to carry out examination of dicentric and translocation in lymphocytes of radiation workers using giemsa staining and *Fluorescence in situ hybridization* (FISH) technique. Blood samples obtained from 10 radiation workers were cultured in enriched media and harvested after being incubated at 37°C for 72 hours. The cell suspension was dropped onto slides and stained by giemsa staining and chromosome painting FISH. The chromosome painted with FITC-labeled whole chromosome probe no. 1, 2, 5, or 8 and observed with a fluorescence microscope. The result showed in 2 radiation workers with respectively 6 years and 22 years working time with ≤ 50 mSv and ≥ 50 mSv absorbed dose had dicentric and fragment which indicated translocations in chromosome number 1 and 5 with 1 and 2 dicentric respectively. Further evaluation must be done to detect the real translocation with developing FISH technique that could visualised 2 chromosome with 2 different probes and different colour so that the exchange region of chromosome can be seen obviously

I. PENDAHULUAN.

Pekerja radiasi berpotensi menerima pajanan radiasi akibat kerja dengan besaran dosis ekivalen yang dapat melebihi atau mendekati nilai batas dosis yang diizinkan, bila terjadi suatu kecelakaan yang dikarenakan tata kerja yang salah. Program pemantauan radiasi diterapkan secara rutin pada semua pekerja radiasi menggunakan dosimeter fisik, berupa TLD, film badge dan lainnya. Sedangkan pemantauan dari aspek biologi didasarkan pada parameter biologi berupa biomarker sebagai indikator kerusakan pada tubuh akibat pajanan radiasi.

Pengkajian terhadap kerusakan radiasi pada sistem biologi mempunyai dua aspek. Pertama, kuantifikasi awal terhadap kerusakan secara fisik-kimia dan kedua adalah respon dari sistem biologi terhadap kerusakan yang ditimbulkan oleh radiasi. Radiasi akan menginduksi perubahan awal fisik pada molekul biologi dan selanjutnya perubahan tersebut meluas dan mungkin akan mempengaruhi molekul disekitarnya. Kerusakan yang ditimbulkan berupa ekspresi gen terhadap radiasi [1].

Kromosom manusia berjumlah 23 pasang mengandung kurang lebih 150 ribu gen yang merupakan suatu rantai pendek dari DNA yang membawa kode informasi genetik tertentu dan spesifik. Kerusakan pada kromosom merupakan indikator penting adanya kerusakan pada DNA dan ketidakstabilan genom [2].

Lebih dari dua dekade analisis aberasi kromosom digunakan sebagai *biomonitoring* pada pekerja radiasi dan masyarakat umum yang terpajan radiasi pengion. Metode ini digunakan untuk mendeteksi aberasi kromosom pada sel limfosit perifer sebagai sel yang paling sensitif terhadap radiasi. Aberasi kromosom terbentuk akibat interaksi pajanan radiasi terhadap molekul DNA secara langsung atau melalui interaksi tak langsung antara DNA dengan radikal bebas yang dihasilkan dari radiasi di sekitar molekul. Kerusakan pada DNA yang mengakibatkan aberasi kromosom adalah *double strand break* (DSB) dan *clustered damage* yang mengakibatkan terjadinya patahan kromosom [3,4]. Pada kondisi tertentu selama proses perbaikan DNA, kromosom yang mengalami patahan saling berinteraksi dan membentuk kromosom disentrik (kromosom dengan dua sentromer) dan kromosom cincin yang disertai patahan kromosom fragmen asentrik. Bentuk aberasi ini dikategorikan sebagai aberasi kromosom tak stabil [3].

Pada kondisi tertentu radiasi pengion dapat menyebabkan perubahan molekuler rantai DNA dan nukleotida yang dimanifestasikan dalam bentuk kromosom translokasi yang dikategorikan sebagai aberasi kromosom bentuk stabil. Kerusakan atau perubahan molekuler tersebut dapat diperbaiki melalui mekanisme sistem pertahanan tubuh yang disebut sistem imun. Namun Apabila kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki atau diperbaiki tidak dengan sempurna, maka berpotensi sebagai pemicu perubahan pada materi genetik berupa mutasi yang mengarah ke pembentukan kanker [3,5].

Perubahan struktur kromosom dapat merupakan hasil dari pertukaran atau penggabungan patahan atau fragmen lengan kromosom yang bersifat tak stabil maupun stabil. Aberasi jenis pertukaran ini dapat terjadi interkromosom (seperti kromosom disentrik dan translokasi) atau intrakromosom (seperti kromosom cincin dan inversi parasentrik). Aberasi interkromosom merupakan hasil penggabungan DSB pada dua kromosom yang berbeda, sedangkan intrakromosom terjadi jika penggabungan DSB terjadi pada satu kromosom yang sama, baik pada lengan kromosom yang berbeda (antar lengan kromosom) maupun pada lengan kromosom yang sama (intralengan) [6].

Pengamatan terhadap aberasi kromosom disentrik dan translokasi merupakan biomarker dan telah digunakan sebagai indikator adanya kerusakan sitogenetik yang disebabkan oleh pajanan radiasi pengion. Kromosom disentrik pada sel limfosit perifer dengan teknik pewarnaan giemsa (*giemsa staining*), secara rutin digunakan sebagai dosimeter biologi pada kasus kedaruratan nuklir, misalnya kasus Chernobyl, bom atom Hiosima maupun untuk mendeteksi kerusakan kromosom untuk jangka pendek, sebagai efek segera. Deteksi disentrik telah dilakukan terhadap anggota awak pesawat udara penerbangan international yang terpapar radiasi secara alamiah dari tabrakan partikel, berdasarkan pengamatan kerusakan sitogenetiknya memperlihatkan peningkatan yang nyata dari kromosom disentrik ($14,5 \pm 0,76$ per 1000 sel)[7].

Kromosom translokasi tetap ada pada sel darah tepi selama beberapa tahun, sehingga dapat digunakan secara retrospektif untuk mengkaji dosis radiasi atau pajanan kronis. Karena jenis aberasi kromosom stabil khususnya translokasi tidak menimbulkan abnormalitas pada struktur kromosom, maka kromosom translokasi hanya dapat dideteksi dengan teknik *Fluoresence in situ hybridization* (FISH) yang mampu untuk

memvisualisasikan perbedaan bagian kromosom yang mengalami perpindahan lengan kromosom [3,8].

Teknik ini berdasarkan hybridisasi pada molekul DNA pendek yang spesifik, probe yang dilengkapi dengan *complementari sequence* pada genom. Probe selanjutnya dilabel dengan *fluorescent dye* yang akan menunjukkan warna pendar pada fragmen kromosom yang mengalami translokasi. Penggunaan probe dengan urutan genom yang spesifik memungkinkan untuk memperoleh informasi mengenai sejumlah gambaran dan lokasi kromosom. Dengan proses hibridisasi yang simultan dengan probe yang dilabel dan *fluorescent dye* yang berbeda dapat memungkinkan mendeteksi beberapa lokasi dengan urutan yang berbeda pada satu genom dalam waktu yang sama. Hal ini dapat memberikan informasi mengenai amplifikasi “sequence”, delesi atau translokasi beserta lokasinya pada genom[9,10,11].

Teknik FISH telah digunakan untuk mengevaluasi kerusakan kromosom stabil pada awak pesawat udara penerbangan internasional yang terpapar radiasi alamiah . Rerata total translokasi adalah $14,33 \pm 0,87 \times 10^{-3}$ per genom ”equivalent” telah diamati sekitar $2,90-70,67 \times 10^{-3}$ per genom ”equivalent” [12]. Di samping itu frekuensi translokasi pada pekerja radiasi yang terpajan radiasi dosis rendah yang telah diterima dalam kurun waktu beberapa tahun adalah 7 kali lebih tinggi dari frekuensi disentrik kromosom [13].

Di Laboratorium sitogenetik Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN, teknik pewarna giemsa telah diaplikasikan untuk mendeteksi aberasi kromosom disentrik pada para pekerja radiasi sedangkan tehnik FISH masih dalam tahap pengembangan untuk mendeteksi kromosom translokasi pada para pekerja radiasi khususnya yang telah menerima akumulasi dosis dalam jangka yang lama. Tujuan penelitian ini adalah melakukan analisis aberasi kromosom disentrik dan translokasi pada sel limfosit. Diharapkan hasil penelitian dapat digunakan untuk memprediksi efek radiasi segera dan tertunda pada pekerja radiasi.

II. TATA KERJA

II. 1. Subjek Penelitian

Sampel darah diperoleh dari 10 pekerja radiasi laki-laki dengan rentang usia antara 25 – 59 tahun dan masa kerja 1 – 47 tahun. Data setiap pekerja radiasi, meliputi usia, masa kerja serta sumber radiasi yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data pekerja radiasi sebagai donor sampel darah

Nomor pekerja radiasi	Umur (tahun)	Masa kerja (tahun)	Sumber Radiasi
1.	59	27	^{60}Co
2.	54	22	^{60}Co
3.	32	4	^{192}Ir
4.	25	5	^{192}Ir , ^{131}I
5.	54	22	^{192}Ir , ^{131}I
6.	32	5	^{192}Ir , ^{131}I , ^{32}P , ^{99}Tc
7.	26	1	^{192}Ir
8.	29	8	^{192}Ir
9.	32	4	^{192}Ir , ^{131}I
10.	37	11	^{60}Co

II.2. Pembiakan dan pemanenan sel darah limfosit

Dari setiap pekerja radiasi diambil sekitar 5 ml darah tepi menggunakan *syringe* dan segera ditambah 0,03 ml heparin sebagai anti koagulan. Sampel darah ini dibiakkan secara duplo. Ke dalam tabung kultur, dimasukkan media pertumbuhan 7,5 ml RPMI-1640, 0,1 ml L-Glutamin, 1 ml Fetal Bovine Serum, 0,2 ml Penicillin Streptomycin, 1 ml darah dan 0,06 ml Phytohaemagglutinin. Tabung kemudian ditutup disimpan dalam inkubator 37°C selama 72 jam. Pada 3 jam sebelum pemanenan, ke dalam biakan ditambahkan 0,1 ml colchisin untuk menghentikan proses pembelahan untuk memperoleh sel tahap metafase.

Darah yang telah dibiakkan, disentrifus dengan kecepatan 1300 rpm selama 10 menit. Pada endapan darah ditambahkan 10 ml KCl 0,56%, diaduk dengan pipet Pasteur dan disimpan pada *waterbath* 37° C selama 13 menit. Larutan selanjutnya disentrifuse kembali dengan kecepatan yang sama selama 5 menit. Pada endapan ditambahkan 4 ml

larutan carnoy (metanol : asam asetat = 3 : 1), divortex, dan kemudian ditambahkan lagi larutan carnoy sampai volume total mencapai 10 ml. Larutan tersebut disentrifus kembali beberapa kali sampai diperoleh endapan sel limfosit yang berwarna putih.

II.3. Pembuatan preparat dan pengecatan kromosom dengan teknik FISH

Endapan sel limfosit ditetaskan di atas gelas preparat pada tiga tempat yang berbeda dan dikeringkan di atas *hot plate* 65° C selama 1½ jam. Dengan mikroskop, dilakukan seleksi terhadap preparat yang mempunyai sebaran kromosom yang baik pada sel tahap metafase. Preparat tersebut didehidrasi dengan dimasukkan ke dalam seri *coplin jar* yang berisi etanol 70% sebanyak 2x masing-masing selama 2 menit, etanol 90% 2x selama 2 menit dan etanol 100% sebanyak 1x selama 5 menit. Preparat kemudian dikeringkan di atas *hot plate* 65°C selama 1½ jam. Kromosom pada preparat selanjutnya di denaturasi dengan dimasukkan ke dalam larutan formamida dan diinkubasi pada *waterbarh* 65°C selama 1½ menit. Preparat dicuci secara berturutan dengan alkohol 70% dingin selama 4 menit, 70% selama 2 menit, 90% sebanyak 2 x masing-masing selama 2 menit dan 100% selama 5 menit. Kromosom pada preparat telah siap untuk dilakukan hibridisasi dengan *whole chromosome probe* (WCP) nomor 1, 2, 4, 5, atau 8. WCP yang digunakan merupakan produksi *ID Labs*. USA.

Dibuat campuran 1 µl WPC berlabel *Fluorescent isothiocyanate* (FITC) dengan 4 µl *buffer*, disentrifus selama 1-3 detik, didenaturasi pada suhu 65° C selama 10 menit, dan kemudian diinkubasi pada *waterbath* 37 °C selama 45 menit. Proses hibridisasi (pengecatan) dilakukan dengan meneteskan larutan *probe* pada preparat yang telah di denaturasi, kemudian ditutup dengan *coverslip* dan dilem untuk mencegah terjadi penguapan. Preparat diletakkan dalam wadah plastik dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16 jam. Setelah proses hibridisasi *coverslip* dibuka, secara berturutan preparat direndam dalam seri *coplin jar* yang berisi larutan pencuci *stringency* 45 °C sebanyak 2x masing-masing selama 5 menit, larutan 1 x SSC sebanyak 2 x selama 5 menit, dan larutan detergen sebanyak 1x selama 4 menit. Preparat dikeringkan, ditetaskan 10 µl 4,6 *diamidino-2-phenylindole* (DAPI), ditutup, dan didiamkan selama 10 menit. DAPI yang merupakan *counterstain* terhadap kromosom yang tidak dihibridisasi dengan WCP, diperoleh dari VYSIS (VX-32804830). Preparat segera diamati dengan mikroskop *epi-*

fluorescent yang dilengkapi dengan filter biru, dan dilakukan pemotretan terhadap kromosom yang memiliki pendaran *probe* kromosom.

II.4. Pembuatan preparat dan pewarnaan kromosom dengan Giemsa

Endapan sel limfosit diteteskan di atas gelas objek pada tiga tempat yang berbeda. Setelah kering, pada preparat diberi pewarnaan Giemsa 4% selama 5 menit. Setelah dicuci dan dikeringkan, preparat ditutup dan siap untuk dilakukan pengamatan dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali terhadap jenis aberasi kromosom tak stabil. Penghitungan dilakukan terhadap jumlah kromosom pada setiap sel metafase. Bila kromosom berjumlah 45 atau 47, maka dilakukan penghitungan dan pencatatan jumlah kromosom disentrik, cincin dan atau fragmen/potongan kromosom terhadap 200 – 1000 sel metafase.

III. PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini sampel darah diperoleh dari 10 pekerja radiasi yang mempunyai masa kerja bervariasi. Pemeriksaan terhadap aberasi kromosom dilakukan untuk jenis aberasi kromosom stabil yaitu disentrik, fragmen dan cincin sedangkan aberasi kromosom tidak stabil yaitu translokasi. Data pemeriksaan untuk aberasi kromosom disentrik, cincin, dan fragmen dan serta data pengecatan kromosom ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan aberasi kromosom stabil dan tidak stabil pada 10 pekerja radiasi.

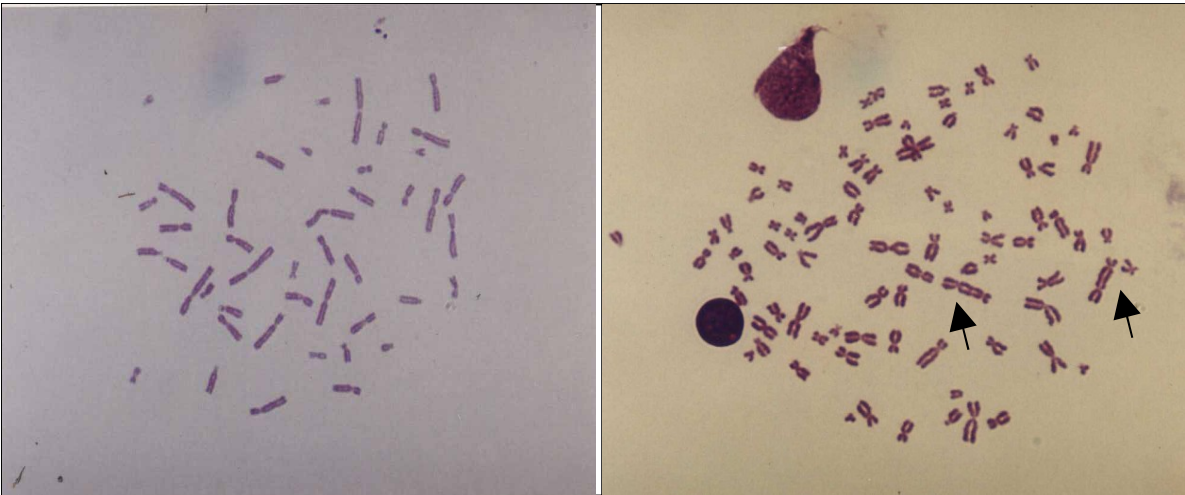
No Pekerja radiasi	Lama Kerja (tahun)	Aberasi kromosom stabil (translokasi)		Aberasi kromosom tidak stabil			
		No. wcp	Translokasi	Jumlah sel metafase	Disentrik	Fragment asentrik	Cincin
1.	13	2 dan 8	-	500	-	-	-
2.	8	1 dan 8	-	500	-	-	-
3	Helper *)	5 dan 8	-	1000	7	6	-
4.	6	2	-	300	-	-	-
5.	22	5 dan 2	5	1000	2	4	-
6	6	1	1	500	1	1	-
7.	Freelance **)	2 dan 8	-	500	-	-	-
8.	freelance	2	-	500	-	-	-
9.	4	1	-	500	-	-	-
10	11	8	-	500	-	-	-

*) Pekerja radiasi pembantu

**) Pekerja radiasi musiman

Kromosom disentrik bersifat tidak permanen, dengan frekuensinya akan menurun bersamaan dengan waktu karena sel dengan kromosom disentrik ini akan mati dalam proses pembelahan sel. Dengan demikian analisis disentrik digunakan untuk mendeteksi efek segera pajanan radiasi. Sedangkan sel yang mengandung kromosom translokasi tetap ikut dalam pembelahan sel sehingga kromosom ini dapat digunakan sebagai indikator kerusakan yang tetap ada meskipun dalam jangka waktu yang lama setelah terkena paparan atau sebagai akibat akumulasi penerimaan dosis pada pajanan radiasi jangka panjang [10,14,15].

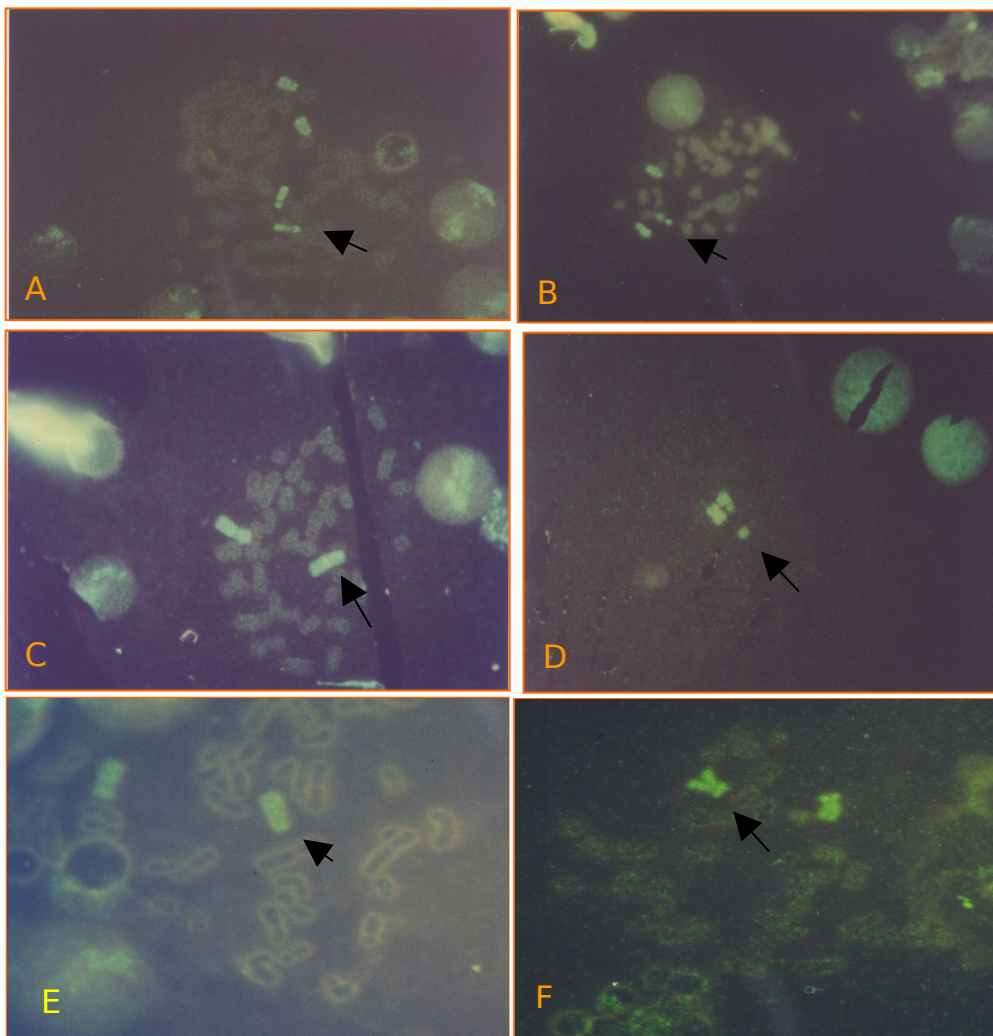
Aberasi kromosom tak stabil yaitu kromosom disentrik, kromosom cincin dan fragmen asentrik hanya terdapat pada 3 sampel darah pekerja radiasi (Tabel 2). Frekuensi disentrik pada sampel darah pekerja no. 5 dan 6 masih dikategorikan normal yakni 1-2 dalam 500 -1000 sel. Pada sampel darah pekerja no 3 yang merupakan kasus kedaruratan ditemukan 7 disentrik dalam 1000 sel metafase. Hal ini disebabkan karena pajanan radiasi yang diterima cukup besar untuk menginduksi terbentuknya aberasi kromosom. Gambaran kromosom disentrik dan kromosom normal ditampilkan pada Gambar 1. Pajanan radiasi latar dari alam dapat menginduksi kromosom disentrik sekitar 1/1000 sel [10].



Gambar1. (A) Kromosom normal pada pada pekerja no 1. (B) kromosom disentrik(tanda panah) pada pekerja no 3

Frekuensi aberasi kromosom stabil seperti translokasi muncul mulai dari beberapa tahun pasca pajanan atau sebagai akibat dari efek tertunda. Pada penelitian ini,

pengecatan kromosom dilakukan terhadap satu pasang kromosom saja yang disebut dengan pengecatan tunggal menggunakan *whole chromosome probe* (WCP) nomor 1, 2, 4, 5 atau 8 yang berlabel FITC. Sebagian dari hasil pemeriksaan yang diperoleh terhadap adanya aberasi translokasi pada 10 sampel darah pekerja radiasi dengan tehnik FISH ditunjukkan pada Gambar 2. Dari hasil pengecatan yang dilakukan pada sepasang kromosom no 1,2, 5 dan 8. hanya 2 sampel pekerja yang menunjukkan adanya sinyal patáhan yaitu masing-masing untuk pekerja no 5 dan 6, dengan indikasi patáhan pada kromosom 1 (Gambar 2B) dan kromosom 5 (Gambar 2D). Pada kedua pekerja ini juga ditemukan kromosom disentrik hal ini diduga terdapat korelasi kerusakan kromosom stabil dan tak stabil, Namun adanya indikasi patáhan (translokasi) tersebut dapat diasumsikan sebagai aberasi kromosom stabil apabila dilakukan pengecatan dengan 2 probe kromosom yang berbeda.



Gambar 2 . Hasil *Chromosome painting* dengan teknik FISH pada sel limfosit pekerja radiasi yang dihibridisasi dengan WCP yang berbeda. (A) Kromosom pekerja radiasi 4 dengan WCP no. 2; (B) Kromosom pekerja radiasi no 6 dengan WCP no. 1 dengan patahan (tanda panah); (C) Kromosom pekerja radiasi no 7 dengan WCP no. 2; (D) Kromosom pekerja radiasi 5 dengan WCP no. 5 dengan patahan (tanda panah); (E) Kromosom pekerja radiasi 3 dengan WCP no. 8; dan (F) Kromosom pekerja radiasi 10 dengan WCP no. 5.

Dari tabel 2 dosis penerimaan pekerja yang menunjukkan adanya indikasi translokasi maupun disentrik, adalah pekerja radiasi dengan masa kerja yang cukup lama (22 tahun) dimana penerimaan dosis film badge yang tercatat terakhir adalah masih dalam batas dosis yang diperkenankan untuk pekerja (≤ 50 mSv). Sedangkan untuk pekerja radiasi yang juga menunjukkan dugaan patahan/translokasi adalah pekerja radiasi dengan masa kerja (6 tahun) namun dari rekap dosis penerimaannya pernah tercatat menerima paparan yang melebihi dosis yang diperbolehkan untuk pekerja untuk periode 3 bulan terakhir yakni ≥ 50 mSv per tahun. Sedangkan untuk kasus pekerja no 3 dengan jumlah 7 disentrik (Gambar 1) per 1000 sel adalah pekerja yang diduga menerima dosis berlebih atau akibat penerimaan dosis akut tapi tanpa diketahui dosisnya. Artinya kemungkinan terjadi kromosom translokasi pada kasus tersebut sangat kecil, karena umumnya untuk aberasi kromosom stabil akan lebih efisien untuk mengevaluasi adanya kerusakan kromosom akibat paparan dosis rendah yang sudah terakumulasi lama. Untuk itu penguasaan teknik analisis dengan tehnik FISH masih perlu pengembangan lebih lanjut dengan melakukan pengamatan aberasi kromosom stabil menggunakan 2 probe.

Aspek penting dari pengamatan aberasi kromosom dengan FISH adalah seleksi kromosom yang akan dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sejumlah kromosom tertentu ternyata lebih sensitif terhadap radiasi dibanding dengan kromosom lainnya sehingga lebih sering terinduksi kerusakan pertukaran fragmen kromosom. Distribusi patahan kromosom ternyata bersifat tidak random pada genom manusia [15]. Berdasarkan ukuran panjang fisik kromosom pada genom manusia, kromosom nomor 1, 4, 5 dan 8 masing-masing mempunyai panjang sekitar 8,29%, 6,28%, 5,97%, dan 4,75% dari genom [16]. Kromosom 1 dan 4 mempunyai lebih banyak patahan pada bagian tengah lengan p dan q, sementara patahan relatif merata sepanjang kromosom nomor 2 [17]. Dengan teknik FISH telah diketahui bahwa DNA "strand break" yang disebabkan oleh radiasi pengion tidak bersifat random (terdistribusi dalam genom). Kebanyakan terjadi pada bagian eukromatin. Namun demikian efisiensi perbaikan (*repair*) pada

patahan tersebut cukup tinggi dibanding daerah pada heterokromatin. Karena disebabkan karakteristik pada *sequence base pair* (pasangan basa) pada daerah telomerik, kromosom 8 lebih "susceptible" mudah terpengaruh terhadap radiasi pengion dibanding kromosom lain [18].

Berdasarkan data terakhir yang diperoleh dari hasil pembacaan dosimeter fisik yang digunakan para pekerja, dosis ekuivalen seluruh tubuh (Hp10 per Juni 2005) yang diterima berkisar antara 5,58 - 545,68 mSv yang merupakan akumulasi dosis dari paparan radiasi yang diterima dalam waktu sekitar 3 bulan. Nilai Batas Dosis per tahun untuk Hp(10) adalah 50 mSv. Waktu paro translokasi bervariasi pada setiap individu. Dilaporkan bahwa waktu paro translokasi berkisar 3 – 11 tahun akibat paparan radiasi secara parsial pada tubuh dengan dosis tinggi [13].

Untuk mengaplikasikan teknik FISH yang digunakan untuk mengevaluasi kerusakan kromosom stabil khususnya translokasi, perlu pengembangan teknik analisis FISH yang mampu memvisualisasikan 2 jenis kromosom dengan 2 macam probe dengan kemampuan warna yang berbeda atau menggunakan 2 probe, sehingga adanya pertukaran bagian kromosom yang mengalami translokasi akan lebih nyata, hal tersebut perlu menggunakan fasilitas mikroskop yang dilengkapi filter ganda yang mampu memvisualisasikan 2 warna. Fasilitas mikroskop yang digunakan saat ini adalah mikroskop Nikon-Labophot yang hanya dilengkapi dengan satu filter warna biru. Kondisi ini menyebabkan *chromosome painting* hanya dapat dilakukan dengan menggunakan FITC, *Immunofluorescence*, atau auramine. Penggunaan pewarna berpendar lain harus disertai dengan penggunaan filter yang sesuai. Kondisi ideal untuk pengamatan kromosom adalah dengan menggunakan sistem *automated fluorescence metaphase finder* yang dapat mendeteksi dan melokalisasi sel metafase secara otomatis dan cepat. Gambar sel yang mengandung aberasi kromosom akan segera dapat diidentifikasi, didigitasi dan disimpan menggunakan "ISIS System" (*MetaSystems*) [16].

Sejumlah studi pada kromosom manusia menunjukkan keretakan kromosom yang berbeda terhadap patahan akibat paparan radiasi *in vitro*. Hal ini mengindikasikan bahwa terjadinya translokasi pada kromosom tidak berhubungan dengan kandungan DNA [17,19,20]. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa perubahan struktur kromosom nomor 1, 3 dan 10 yang diinduksi oleh sinar-X dengan dosis 0,25 – 1 Gy

terdistribusi secara tidak random [21]. Fraksi aberasi kromosom pada kromosom nomor 10 ternyata lebih besar bila dibandingkan dengan kromosom nomor 1 atau 3. Data ini menunjukkan bahwa, bila dibandingkan dengan kromosom 1 dan 3, keterlibatan kromosom 10 dalam pembentukan aberasi kromosom ternyata lebih besar dari yang diperkirakan berdasarkan kandungan DNANYa. Studi lain dengan tehnik FISH mengindikasikan keterlibatan berbagai kromosom dalam pembentukan aberasi tidak selalu berhubungan dengan kandungan DNA dari setiap kromosom [22,23]. Semua ini membuktikan bahwa probabilitas induksi patahan pada kromosom oleh radiasi tidak terdistribusi secara random dan tidak bergantung pada kandungan DNA kromosom.

IV. KESIMPULAN

Dalam hal proses penggunaan secara normal maupun saat terjadi kedaruratan nuklir maka pekerja radiasi maupun masyarakat umum akan menerima sejumlah dosis. Pengamatan terhadap aberasi kromosom disentrik dan translokasi merupakan biomarker yang digunakan sebagai indikator adanya kerusakan sitogenetik yang disebabkan oleh pajanan radiasi pengion. Kromosom disentrik pada sel limfosit perifer dengan teknik pewarnaan giemsa, telah secara rutin digunakan sebagai dosimeter biologi pada kasus kecelakaan maupun untuk mendeteksi kerusakan kromosom yang tak stabil untuk jangka pendek, sebagai efek radiasi segera. Kromosom translokasi dengan teknik pengecatan kromosom FISH merupakan aberasi kromosom stabil yang secara umum diyakini tetap ada pada sel darah tepi untuk beberapa tahun, sehingga dapat digunakan secara retrospektif untuk mengkaji dosis radiasi atau pajanan kronik. Hasil pengamatan terhadap pekerja radiasi dengan masing-masing masa kerja 22 tahun dan 6 tahun dengan kisaran dosis penerimaan ≤ 50 mSv dan ≥ 50 mSv terdeteksi adanya kromosom disentrik dan patahan yang diindikasikan sebagai kromosom translokasi pada kromosom no 5 dan no 1 dengan 2 dan 1 disentrik. Perlu evaluasi lebih lanjut untuk mendeteksi aberasi kromosom translokasi dengan pengembangan tehnik analisis FISH yang mampu memvisualisasikan 2 jenis kromosom dengan 2 macam probe dengan kemampuan warna yang berbeda atau dengan menggunakan 2 probe, sehingga adanya pertukan bagian kromosom yang mengalami translokasi akan lebih nyata.

V. DAFTAR PUSTAKA

1. SUTHERLAND. B.M., BENNETT, P.V., SAPARBAEV., M., SHUTHERLAND., J.C And LAVAL,J. Clustered DNA Damages As Dosemeters for Ionising Radiation Exposure And Biological Responses, *Radiation Protection Dosymetry* 97, no 1 33-38, 2001
2. HALL, E. J. Radiobiology for the Radiobiologist. JB Lippincott Company. Philadelphia, 5th Edition, 2000.
3. ZELJEZIC, D And GARAJVRHOVAC,V, Fluorescence In Situ Hibridisation in Detecting Chromosome Aberrations Caused By Occupational Exposure to Ionising Radiation, Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Croatia, *Arh Hig Rada Toksikol*, 57.65-68, 2006
4. PLEIFFER. P., GOEDCKE, A., OBE. G. Mechanisms of DNA Double Strand Break Repair and Potential To Induce Chromosomal aberrations. *Mutagenesis* 15, 289-302, 2000
5. KONDO. S. Health Effects of Low Level Radiation, Kinki University Press, Osaka, Japan and Medical Physics Publishing, Madison USA, 1993
6. BRENNER, D.J., OKLADNIKOVA, N., HANDE, P. BURAK, L., GEARD, C.R. and AZIZOVA, T. Biomarkers Specific to Densely-Ionizing (High LET) Radiations. *Radiation Protection Dosimetry*. 97(1), 69-73. 2001.
7. PICCO, S.J., DE LUCA, J.C., MACINTYTE And DULOUT, F.N. Cromosomal Damage in Air Crew Members of International Flights A Preliminary Report. *Genetic And Molecular Biology*, 23 (4), 1117-1120, 2000
8. NATARAJAN, AT. Chromosome Abberations: Past, Present And Future, *Mutation Research*, 504. 3-16, 2002
9. CAMPAROTO, M.L., RAMALHO, A.T., NATARAJAN, A.T., CURADO, M.P., and SAKAMOTO-HOJO, E.T. Translocation Analysis by the FISH-Painting Methode for Retrospective Dose Construction in Individuals Exposed to Ionizing Radiation 10 Years After Exposure. *Mutation Research* 530, 1-7, 2003.
10. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Cytogenetic Analysis For Radiation Dose Assessment. A Manual Series No. 405, IAEA-Vienna, 2001.
11. RIED. T., BALDINI. A., RAND. TC., WARD. DC. Simultaneous Visualization of seven Different DNA Probes by in Situ Hibridization Using Combinatorial Fluorescence And Digital Imaging Microscopy. *Proc.Natl Acad Sci USA*, 89, 1388-1392, 1992
12. BOTHWELL, AM, WHITEHOUSE,CA and TAWN,EJ. The Application of FISH for chromosome aberration analysis in relation to Radiation exposure. *Radiation Protection Dosymetry* 88:7-14,2000
13. KHNER, S., HUBER. R., BRASELMAN.H., SCHRAUBE. H., BAUCHINGER.M. Multicolor FISH Painting for The Analysis of Chromosomal Aberration Induced by 22o KV X-Rays and Fission Netrons.*International Journal Radiation Biologi* , 75, 407-4018, 1999
14. Stable Chromosome Aberrations in The Recontruction of Radiation Doses. *Radiation And Nuclear Safety Authority* STUK-A 176. 55-57, Helsinki, 2000

15. LUCAS, J.N., HILL, F., BURK, C., FESTER, T. and STRAUME, T. Dose-Response Curve for Chromosome Translocations Measured in Human Lymphocytes Exposed to ⁶⁰Co Gamma Rays. *Health Physics* 68(6), 761-765, 1995.
16. BOUCHINGER, M., SCHMID, E., and BRASELMANN, H. Time-Course of Translocation and Dicentric Frequencies in A Radiation Accident Case. *International Journal of Radiation Biology* 77(5), 553-557, 2001.
17. LUOHAMAARA, S., LINDHOLM, C., MUSTONEN,R. and SLOMAA, S. Distribusi of Radiation-Induced Exchange Aberrations in Human Chromosome 1,2 and 4. *International Journal of Radiation Biology* 75(12), 1551-1556, 1999.
18. MORTON, N.E. Parameters of the Human Genome. *Proceeding of National Academy Science USA* 88, 7474-7476, 1991.
19. SIMPSON, P.J., PAPWORTH. DG., SAVAGE, JR. X –Ray Induced simple, Pseudosimple And Complex Exchanges Involving two distingly Painted Chromosomes. *International Journal of Radiation Biology* 75, 8-11, 1999
20. STEPHAN, G. and PRESSL, S. Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes Analised by Fluorescence *in situ* Hybridization after in vitro Irradiation, and in Radiation Workers, 11 Years after an Accidental Radiation Exposure. *International Journal of Radiation Biology* 71, 293-299, 1997.
21. KNEHR, S., ZITZELSBERGER, H., BRASELMANN, H., and BAUCHINGER, M. Analysis for DNA-Proportional Distribution of Radiation-Induced Chromosome Aberrations in Various Triple Combinations of Human Chromosomes using Fluorescence *in situ* Hybridization. *International Journal of Radiation Biology* 65,683-690, 1994.
22. GRANATH, F., GRIGOREVA, M. and NATARAJAN, A.T. DNA Content Proportionality and Persistence of Radiation-Induced Chromosome Aberrations Studied by FISH. *Mutation Research*, 366,145-152, 1996.
23. SCARPATO,R., LORIA., TOMEIA., CIPOLLINI,M., and BARALE,R. High Prevalence of Chromosome 10 Rearrangements in Human Lymphocytes after in vitro X-ray Irradiation. *International Journal of Radiation Biology* 76(5), 661-666, 2000.