



## **ANALISIS KERUSAKAN DNA PADA SEL LIMFOSIT PASIEN PASCA-RADIOTERAPI**

### **Analyses of DNA Damage in the Patient's Lymphocyte Cells Post-Radiotherapy**

**Darlina<sup>1</sup>, Devita Tetriana<sup>1</sup>, Tur Rahardjo<sup>1</sup>, Teja Kisananto<sup>1</sup>, Yanti Lusyanti<sup>1</sup>, Dyah Erawati<sup>2</sup>, Nastiti Rahajeng<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Pusat Teknologi Keselamatan, Metrologi dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional  
Jln Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta 12440

<sup>2</sup>Instalasi Radioterapi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo.  
Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 6-8 Surabaya 60286

\*Email: [mdarlina@batan.go.id](mailto:mdarlina@batan.go.id)

#### **ABSTRACT**

*Radiotherapy given in high doses to kill cancer cells can also induce DNA damage in surrounding normal cells. The radiation dose is divided into smaller doses called fractionation to decrease the effect of radiation on normal tissue. For this reason, it is necessary to monitor the peripheral blood lymphocytes to evaluate the patient's DNA damage. The alkaline comet test is a simple and sensitive technique for detecting DNA instability. This study involved 11 patients who underwent radiotherapy up to 20 Gy, and 11 healthy subjects as controls. This study aims to see how much DNA damage is caused by a 20 Gy fractionated radiation dose in patients with various cancers. The results showed that the mean frequency of damaged cells in patients was  $80.54 \pm 12.52\%$  with a mean comet tail length of  $49.98 \pm 12.93 \mu\text{m}$ . There was a significant difference in both the frequency of damaged cells and the mean value of the comet tail length against the control group ( $p < 0.001$ ). It was concluded that high doses of radiation can cause DNA damage to peripheral blood lymphocytes.*

**Keywords:** cancer, comet assay, DNA damage, fractionation dosage, radiotherapy

#### **ABSTRAK**

Radioterapi yang diberikan dalam dosis tinggi untuk mematikan sel kanker juga dapat menginduksi kerusakan DNA pada sel normal di sekitarnya. Dosis radiasi dibagi menjadi dosis yang lebih kecil yang disebut fraksinasi untuk menurunkan efek radiasi pada jaringan normal. Untuk itu perlu pemantauan pada limfosit darah tepi untuk mengevaluasi kerusakan DNA pasien. Uji komet alkali merupakan teknik yang sederhana dan sensitif untuk mendeteksi ketidakstabilan DNA. Penelitian ini melibatkan 11 pasien yang menjalani radioterapi hingga 20 Gy, dan 11 subyek sehat sebagai kontrol. Penelitian ini bertujuan untuk melihat seberapa besar kerusakan DNA akibat dosis radiasi fraksinasi 20 Gy pada pasien dengan variasi kanker. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata frekuensi sel yang rusak pada pasien  $80,54 \pm 12,52\%$  dengan rerata panjang ekor komet  $49,98 \pm 12,93 \mu\text{m}$  terdapat perbedaan nyata baik pada frekuensi sel yang rusak maupun nilai rerata panjang ekor komet terhadap kelompok kontrol ( $p < 0,001$ ). Penelitian ini menyimpulkan bahwa radiasi dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan DNA sel limfosit darah tepi.

**Kata Kunci:** dosis fraksinasi, kanker, kerusakan DNA, radioterapi, uji komet

## PENDAHULUAN

Radiasi pengion adalah jenis radiasi energi tinggi yang mampu melepaskan elektron dari atom dan menghasilkan ion positif dan negatif. Radiasi pengion dapat menyebabkan kerusakan DNA secara langsung maupun tidak langsung. Kerusakan DNA secara langsung bila penyerapan energi langsung pada DNA. Sedangkan kerusakan secara tidak langsung bila terjadi interaksi radiasi dengan molekul air dalam sel yang menghasilkan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS). Interaksi radiasi dengan DNA dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur molekul gula atau basa, putusannya ikatan hidrogen antar basa, hilangnya basa dan lainnya. Kerusakan yang lebih parah adalah putusannya salah satu untai DNA yang disebut *single strand break* (SSB), atau putusannya kedua untai DNA yang disebut *double strand breaks* (DSB) (Lomax et al. 2013; Baskar et al. 2014; Borrego-Soto et al. 2015; UNEP 2016). Semua perubahan ini dapat menyebabkan kematian sel dan kegagalan mitosis. Sel-sel yang diam dan membelah lambat kurang sensitif terhadap radiasi sedangkan sel-sel dengan tingkat proliferasi tinggi lebih sensitif. Alasan dasar untuk pengembangan terapi dengan radiasi adalah karena sel kanker yang berkembang pesat sehingga lebih sensitif terhadap pengobatan radiasi dari pada sel normal (Lomax et al. 2013; Baskar et al. 2014; Borrego-Soto et al. 2015).

Radiasi pengion telah digunakan lebih dari satu abad untuk pengobatan kanker. Penggunaan klinis radiasi untuk perawatan kanker pertama kali dilakukan pada akhir abad ke-19 (Connell dan Hellman 2009; Liauw et al. 2013). Radioterapi adalah terapi yang ditujukan untuk mengecilkan massa tumor atau menghilangkan residual sel-sel tumor (Rehman et al. 2018). Terapi ini bekerja dengan cara merusak DNA sel kanker yang kemudian menghentikan pertumbuhannya. Sebagian besar radioterapi menggunakan radiasi sinar X dan gamma. Daya rusak terhadap DNA dari kedua sinar hampir sama. Kerusakan DNA tergantung pada dosis dan kecepatan dosis (Faraj et al. 2011; Masuda dan Kamiya 2012) Terapi radiasi bertujuan memberikan dosis optimal untuk volume tumor serta menyelamatkan jaringan normal. Dalam studi kanker, Martin dan D'Amico

(2014) melaporkan bahwa perusakan atau penghancuran sel tumor yang terjadi dengan cepat dapat menyebabkan penumpukan dari sisa materi dan/atau sel-sel utuh kanker yang tidak hancur, yang akan memasuki limfatik dan membentuk tumor di organ yang jauh (Martin dan D'Amico 2014). Mekanisme ini memungkinkan pembentukan metastasis terkait terapi. Radioterapi diberikan dalam dosis tinggi agar dapat mematikan sel kanker, namun sel-sel normal yang ada di sekitar bagian yang diberi perlakuan radioterapi terkadang ikut rusak. Dosis radiasi yang tinggi dapat menghasilkan toksisitas dan mengurangi prediksi kesembuhan pasien (De Ruyscher et al. 2019).

Dosis radiasi dibagi menjadi dosis yang lebih kecil yang disebut fraksinasi. Fraksinasi dalam terapi radiasi ditujukan untuk meningkatkan efek radiasi pada jaringan tumor dan untuk menurunkan efek radiasi pada jaringan normal (Yarnold 2018). Radiasi pengion tak akan terhindarkan mengenai juga jaringan normal, sehingga menginduksi sel-sel normal di sekitar tumor yang dapat menginduksi kerusakan DNA dan memungkinkan berkontribusi pada kelainan kromosom dan meningkatkan risiko keganasan baru (Moller et al. 2000; Borrego-Soto et al. 2015; Yarnold 2018). Dengan demikian, penting untuk mengembangkan teknik diagnostik untuk memprediksi respons terhadap pengobatan kanker dan untuk mengidentifikasi pasien yang rentan terhadap toksisitas radiasi.

Uji komet alkali digunakan untuk mengukur kerusakan DNA. Uji ini merupakan metode elektroforesis sel tunggal yang dikembangkan oleh Ostling dan Johanson pada tahun 1984, dan kemudian dimodifikasi oleh Narendra P. Singh dari *National Institute on Aging* Baltimore USA pada tahun 1988 (Nandhakumar et al. 2011). Teknik ini sederhana, visual, dan sensitif untuk mendeteksi ketidakstabilan DNA yang diakibatkan oleh putusannya untai tunggal, untai ganda, maupun rusaknya ikatan alkali labil. Prinsip teknik ini adalah untai ganda DNA yang rusak, ikatannya mengalami pengenduran atau putus, akan bergerak menuju kutub positif (anoda) pada saat elektroforesis (Nandhakumar et al. 2011; Lu et al. 2017). Teknik uji komet disebut juga sebagai *single cell gel electrophoresis*

(SCGE). Teknik ini banyak digunakan untuk melihat efek genotoksik pada penelitian lingkungan, farmasi, medis (Moller et al. 2000; Kumavarel et al. 2006; Vodicka et al. 2019). Beberapa penelitian telah menggunakan teknik komet untuk mengevaluasi kerusakan DNA pada pasien kanker yang menjalani radioterapi (Kaur et al. 2017; Adamczyk et al. 2018; Yusuf et al. 2020; Schmeiser et al. 2019). Mayoritas penelitian mengindikasikan adanya kerusakan DNA pada sel darah tepi pasien kanker yang memakai radioterapi. Konsekuensi dari kerusakan DNA bisa dapat menyebabkan kematian sel, perubahan pada materi genetik sel sehingga terbentuk sel baru yang bersifat abnormal. Sel seperti ini berpotensi untuk mengarah pada pembentukan kanker atau kerusakan genetik (Sculz et al. 2017; Toulany 2019; Vodicka et al. 2019).

Penelitian kerusakan DNA yang kami lakukan menggunakan uji komet alkali, bertujuan untuk melihat kerusakan DNA akibat radiasi dosis tinggi akut pada pasien radioterapi. Penelitian ini melibatkan 11 pasien yang menjalani radioterapi, dan 11 subyek sehat sebagai kontrol.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Radiobiologi Molekuler dan Laboratorium *Flourescence In Situ Hybridization*, Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi (PTKMR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Pasar Jumat, Jakarta Selatan. Waktu penelitian adalah Maret–Desember 2017. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, nomor LB 02.01/5.2.KE.051/2017.

### Bahan

Bahan yang digunakan berupa sampel darah yang diambil dari pasien pada RSUD DR. Soetomo Surabaya dan pekerja administrasi. Bahan kimia yang digunakan *histopaque*, EDTA, sodium hidoksida, *Trizma-Base*, sodium klorida, triton X-100, DMSO, aquades, tablet *phospate buffer saline* (PBS) tanpa  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$ , *normal melting point* (NMA) agarose, *low melting point* (LMA) agarose, ethidium bromida

(EtBr). Alat yang digunakan elektroforesis, sentrifus, mikroskop *flourescence*.

### Pengambilan sampel darah

Responden penelitian terdiri dari 11 pasien yang menjalani radioterapi, dan 11 subyek sehat yang tidak pernah terpajan sebagai kelompok kontrol. Sebelum pengambilan darah, para responden mengisi kuesioner untuk mendapat informasi lengkap tentang jenis kelamin, usia, dan riwayat penyakit yang pernah diderita. Setiap responden diberi pengarahan tentang protokol, informasi spesifik tentang uji komet, tujuan penelitian dan informasi yang ditandatangani persetujuan. Sampel darah diambil sebanyak 10 mL dengan menggunakan *syringe* dan ditampung dalam tabung heparin (Gambar 1A). Darah yang diperoleh dari responden, dibawa ke Laboratorium Radiobiologi Molekuler, PTKMR BATAN, Jakarta untuk dianalisis lebih lanjut. Isolasi limfosit dilakukan menggunakan metoda sentrifugasi bertingkat dengan histopak. Kelompok pasien terdiri dari subyek yang sedang melakukan terapi radiasi parsial dengan dosis akumulasi 20 Gy. Data dosis diperoleh dari RSUD DR. Soetomo, Surabaya.

### Isolasi sel limfosit

Isolasi sel limfosit dilakukan menggunakan metode sentrifugasi bertingkat. Darah diencerkan 1:1 dengan PBS kemudian dituangkan secara perlahan ke dalam tabung yang berisi 3 mL *histopaque* dan disentrifugasi pada 1.500 rpm selama 30 menit (Gambar 1B). Setelah itu dilakukan pencucian pelet limfosit dengan 3–5 mL PBS. Konsentrasi sel limfosit dihitung menggunakan *Haemocytometer* (Nandhakumat et al. 2011; Yusuf et al. 2018).

### Uji komet

Sekitar  $10^4$  sel limfosit dimasukkan ke dalam 150  $\mu\text{L}$  *low melting agarose* (LMA) 0,5% kemudian dilakukan uji komet sesuai dengan prosedur Singh (Nandhakumar et al. 2011) Sebanyak 70  $\mu\text{L}$  campuran tersebut diteteskan di atas gelas preparat yang dilapisi agar 1% kemudian disimpan dalam suhu 5 °C selama 10 menit. Setelah campuran agar mengeras, *coverslips* dilepaskan kemudian dilapisi kembali dengan LMA dan ditutup dengan *coverslips*

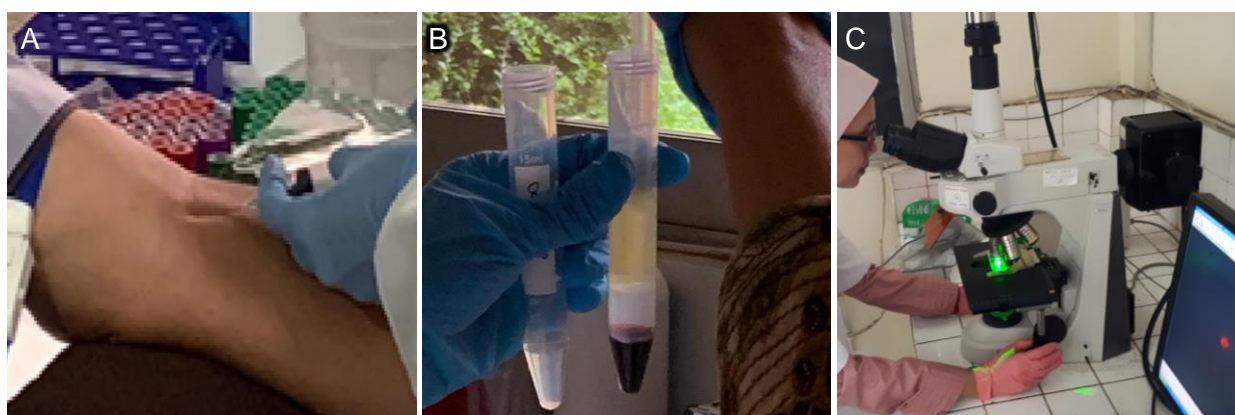
kembali dan disimpan pada suhu 5 °C selama 15 menit. Setelah itu coverslips dilepaskan dan preparat direndam dalam larutan bufer lisis (2,5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris HCl, pH 10 dan ditambahkan 1% triton X-100 (Sigma) dan 10% dimethyl sulfoxide (Sigma), kemudian disimpan kembali pada suhu 5 °C selama 1 jam. Preparat dipindahkan dalam *humidity chamber* dan direndam dalam bufer alkali (0,3 M NaOH, 1 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH > 13) pada suhu 5 °C selama 40 menit. Elektroforesis dilakukan pada 25 volt dan 300 mA selama 20 menit dengan menggunakan larutan alkali. Setelah elektroforesis preparat sampel dinetralkan dengan mencuci 3 kali dalam larutan netral (0,4 M Tris HCl, pH 7,5). Sampel diwarnai dengan ethidium bromide.

Sampel yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop *flourescence* Nikon. Komet diamati pada 50–100 sel dari setiap perlakuan menggunakan

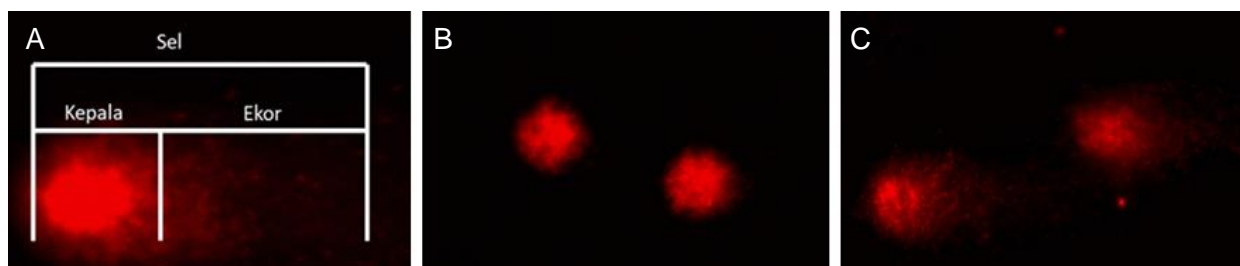
*digital imaging system* (Gambar 1C). Sel yang bertumpuk tidak dihitung. Citra komet dianalisa dengan menggunakan *CASPLab comet assay software* (Gyori et al. 2014). Sel yang tidak rusak menyerupai nukleus, utuh tanpa ekor dan sel yang rusak memiliki ekor sehingga penampilan seperti komet. Kerusakan dinilai dengan mempertimbangkan dua parameter yaitu, panjang ekor komet (*tail length*, TL) dan frekuensi sel yang rusak. Panjang ekor komet (TL) menunjukkan tingkat kerusakan. Frekuensi sel yang rusak dihitung dari rasio antara sel komet terhadap total sel yang diamati (Kaur et al. 2017).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pencitraan yang diperoleh dari uji kerusakan DNA pada pasien kanker dan pekerja administrasi ditampilkan pada Gambar 2. Visualisasi sel limfosit hasil uji komet pada Gambar 2A menunjukkan citra



**Gambar 1.** Kegiatan pengambilan darah (A), isolasi limfosit (B), dan pengamatan preparat (C)



**Gambar 2.** Gambar bagan komet (A), sel limfosit pada kelompok kontrol (B), dan sel limfosit pasien kanker (C)

**Tabel 1.** Kerusakan DNA pada kontrol, pekerja, dan pasien kanker

Group	Total Subyek	Subyek Dengan Kerusakan	Frekuensi Kerusakan Sel (%)	Rerata TL (µm)
Kontrol	11	3	27,27 ± 11,42	17,54 ± 4,15
Pasien kanker	11	11	80,54 ± 12,52	49,98 ± 12,93

**Tabel 2.** Data anamnestik dan klinis pada pasien kanker yang terlibat dalam penelitian

Sampel	Umur (tahun)	Jenis Kelamin	Tipe Kanker	Frekuensi kerusakan sel	Nilai TL ( $\mu\text{m}$ )
1	52	Wanita	<i>Cervix</i>	71%	40,66
2	57	Wanita	Lidah	85%	54,3
3	32	Wanita	<i>Mammae</i>	73%	32,54
4	47	Wanita	<i>Cervix</i>	76%	39,82
5	49	Wanita	Nasofaring	70%	37,68
6	26	Wanita	Rektum	60%	40,04
7	53	Wanita	Basal cell	80%	49,04
8	60	Pria	<i>Sinonasal</i>	81%	56,8
9	38	Wanita	<i>Cervix</i>	100%	64,76
10	22	Wanita	Nasofaring	100%	72,48
11	51	Wanita	<i>Thyroid</i>	90%	61,76

sel limfosit setelah uji komet, panjang ekor komet menunjukkan tingkat kerusakan DNA sel. Pada kelompok kontrol hampir semua sel limfosit berbentuk bulat yang menunjukkan hampir tidak ada kerusakan DNA (2B), sedangkan pada sel limfosit pasien pasca-radioterapi terlihat ekor komet yang panjang yang menunjukkan terjadi kerusakan DNA (2C).

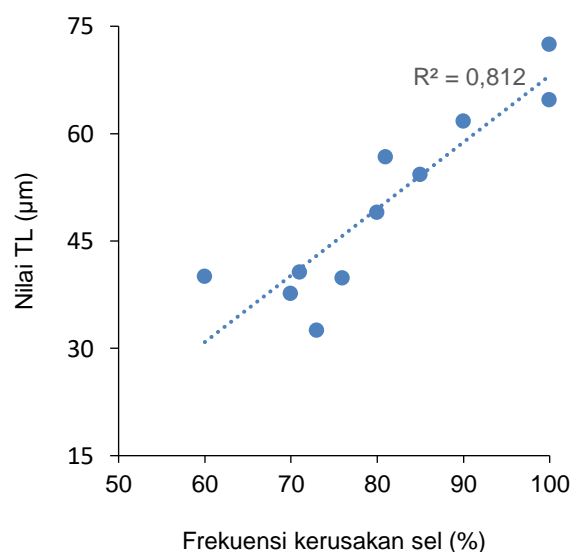
Dari pengukuran panjang ekor (TL) dengan program Casplap dan hasil perhitungan frekuensi sel yang rusak disajikan pada Tabel 1. Perbandingan frekuensi sel yang rusak antara kelompok kontrol dengan kelompok pasien menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,01$ ). Demikian juga rerata panjang ekor komet (TL) kelompok kontrol berbeda signifikan dengan kelompok pasien. Hal ini menunjukkan bahwa paparan dosis 20 Gy walaupun dilakukan fraksinasi tetap menyebabkan kerusakan terhadap DNA. Pada kelompok kontrol terdapat sel yang rusak walaupun rendah, hal ini bisa disebabkan oleh radikal bebas dari lingkungan, makanan, obat-obatan atau air yang dikonsumsi (Kopjar et al. 2006; Darlina et al. 2018).

Data hasil uji komet yang diperoleh dari 11 sampel pasien yang hampir semua wanita dengan kisaran umur 22 hingga 60 tahun dengan variasi jenis kanker ditampilkan pada Tabel 2. Tampak bahwa variasi frekuensi sel yang rusak berkisar antara 60 sampai 100% dengan panjang ekor yang dinyatakan dengan TL berkisar antara 32,54 sampai 72,48  $\mu\text{m}$ . Sel dinyatakan rusak bila

membentuk ekor komet. Panjang ekor komet (TL) menunjukkan tingkat kerusakan yang terjadi.

Hubungan tingkat kerusakan dengan frekuensi sel yang rusak diilustrasikan dengan kurva korelasi pada Gambar 3. Terdapat korelasi antara frekuensi sel yang bermigrasi dengan panjang migrasi ( $R^2 = 0,812$ ). Hal ini menunjukkan ada korelasi positif antara panjang ekor komet dengan frekuensi kerusakan DNA. Sampel dengan frekuensi kerusakan sel yang tinggi akan menghasilkan rerata nilai TL yang tinggi.

Kemajuan terbaru dalam biologi radiasi dan onkologi telah menunjukkan bahwa radiasi adalah cara terapi yang efektif untuk mengendalikan tumor yang terlokalisasi

**Gambar 3.** Korelasi frekuensi sel yang bermigrasi dan panjang migrasi (ekor komet) pada pasien

(Liau et al. 2013). Namun dalam beberapa tahun terakhir penelitian membuktikan bahwa radiasi dapat merusak tidak hanya sel-sel yang berdekatan dengan tumor, tetapi juga sel yang berada jauh dari jalur radiasi oleh toksisitas seluler yang dimediasi sitokin dan berbagai pensinyalan seluler (Baskar et al. 2014; Vilalta et al. 2014; Borrego-Soto et al. 2015).

Kerusakan DNA yang diinduksi oleh radiasi pengion dapat dideteksi dengan menggunakan komet alkali (Vodicka et al. 2019). Metode elektroforesis sel tunggal ini dapat digunakan untuk mengukur semua jenis kerusakan DNA. Fragmen DNA yang berjalan ke anoda membentuk gambar seperti komet bila dilihat dengan mikroskop fluoresens (Nandhakumar et al. 2011). Kepala komet menggambarkan kandungan DNA dan ekor menunjukkan kerusakan DNA. Panjang ekor komet berkorelasi dengan tingkat kerusakan DNA. Program perangkat lunak yang dirancang untuk menganalisis gambar komet memungkinkan pengukuran konten DNA dan panjang ekor (Kiziltan dan Yurtcu 2015). Uji komet telah digunakan pada beberapa penelitian untuk mengevaluasi kerusakan DNA pada pasien kanker yang menjalani radioterapi dan pada pekerja yang terpapar radiasi. Beberapa studi telah mengindikasikan bahwa radiasi menginduksi kerusakan DNA pada berbagai lini sel kanker dan limfosit darah tepi pasien radioterapi (Islam dan Kabir 2019; Yusuf et al. 2020).

Limfosit darah sering digunakan dalam biodosimetri karena radiosensitivitasnya tinggi dan aksesibilitas mudah. Biodosimetri merupakan suatu proses prediksi dosis radiasi pengion yang diterima seseorang berdasarkan perubahan materi biologis dalam tubuh (Zedginidze et al. 2016). Sebuah korelasi terbalik ditemukan antara kelangsungan hidup sel dan panjang ekor komet (Bowman et al. 2014). Bahkan ketika sel limfosit darah perifer individu sehat terpapar berbagai dosis sinar-X atau radiasi dan komet terbentuk, menunjukkan kerusakan DNA yang berkorelasi dengan besarnya dosis. Dosis yang lebih tinggi dapat menginduksi kerusakan DNA yang lebih besar (Lu et al. 2017).

Dari hasil uji komet pada pasien kanker menunjukkan rerata frekuensi sel yang rusak adalah 80% dengan kisaran 60–100%.

Tingkat kerusakan DNA pada sel pasien ditunjukkan oleh rerata panjang ekor komet (TL) yaitu  $49,98 \pm 12,93 \mu\text{m}$ , dengan kisaran  $32,54\text{--}72,48 \mu\text{m}$ . Hasil yang serupa diperoleh oleh Kaur et al. (2017), yang melakukan penelitian yang mirip pada 20 pasien tipe kanker dan dosis terapi yang bervariasi. Hasilnya menunjukkan bahwa frekuensi kerusakan sel pada pasien  $87,6 \pm 10,02\%$  dengan rerata panjang ekor komet  $48 \pm 11,21 \mu\text{m}$  (Kaur et al. 2017).

Kisaran nilai frekuensi sel rusak maupun panjang ekor komet pada pasien kanker cukup besar, hal ini menunjukkan kerusakan DNA yang bervariasi pada pasien dengan jenis kanker yang bervariasi walaupun diberikan dosis radiasi yang sama. Hal ini terjadi karena jenis sel yang berbeda mempunyai radiosensitivitas yang berbeda, demikian pula sel dari individu yang berbeda. Beberapa jaringan lebih toleran terhadap radiasi dan beberapa jaringan lain sensitif karena memiliki tingkat proliferasi yang lebih tinggi. Selain itu setiap individu juga bervariasi dalam radiosensitivitas dan hal ini dapat dikaitkan dengan radiosensitivitas seluler atau ketidakstabilan genom. Radiosensitivitas individu merupakan penanda penting dari ketidakstabilan genom individu, serta penanda risiko yang baik terhadap efek paparan dari radiasi pengion (Guerci et al. 2011). Selain itu, radiosensitivitas dapat digunakan untuk memprediksi respons individu terhadap radioterapi, yang merupakan faktor penting ketika merencanakan dosis yang akan diterapkan dalam protokol terapeutik. Wawasan baru ke dalam mekanisme molekuler yang mendasari radiosensitivitas ini terjadi dari studi yang menilai hubungan antara polimorfisme umum dalam deteksi kerusakan DNA dan gen perbaikan, dan perkembangan efek samping radioterapi (Fernet dan Hall 2004). Walaupun tidak bisa dikesampingkan kemungkinan penyakit (kanker) itu sendiri yang menyebabkan kerusakan DNA. Beberapa penelitian mengungkapkan hubungan antara tingkat kerusakan DNA pada sel limfosit darah tepi dan risiko kanker (Vilalta et al. 2014; O'Connor et al. 2015; Yarnold 2018; Vodicka et al. 2019). Peningkatan kerusakan DNA limfosit mungkin disebabkan oleh pengaruh faktor genotoksik lingkungan serta zat yang dilepaskan selama proses metabolisme pada

pasien kanker. Genotoksik merupakan kerusakan DNA yang disebabkan oleh agen kimia atau fisika (Moller et al. 2000; UNEP 2016). DNA mempunyai kemampuan untuk memperbaiki diri disebut DNA *repair*. Penelitian Silva et al. (2016) menunjukkan bahwa frekuensi kerusakan DNA berkurang 20% pada pekerja yang terpajan setelah istirahat (tanpa paparan) selama 48 jam. Hal ini menunjukkan adanya proses DNA *repair* (Silva et al. 2016).

Kerusakan DNA umumnya dapat diperbaiki, tetapi kerusakan yang tidak diperbaiki akan menyebabkan kematian sel melalui nekrosis atau apoptosis. Secara umum, sel tidak segera mati setelah terkena radiasi, namun kematian terjadi setelah tiga atau empat kali pembelahan sel (Lomax et al. 2013). Kerusakan DNA yang tidak diperbaiki dapat menyebabkan ketidakstabilan genom dan menginduksi kanker setelah beberapa tahun kemudian. Sel-sel yang aktif berkembang biak lebih sensitif terhadap radiasi daripada sel yang diam, karena mereka memiliki waktu lebih sedikit untuk memperbaiki kerusakan (Baskar et al. 2014). Genom dari beberapa orang lebih tidak stabil dibandingkan yang lain dan individu dengan kondisi rawan kanker yang terkait dengan ketidakstabilan genom, cenderung radiosensitif (Masuda dan Kamiya 2012). Sel tumor lebih rentan terhadap efek radiasi DNA yang merusak karena sel-selnya berkembang biak lebih cepat dibandingkan dengan jaringan normal di sekitarnya. Juga, karena banyak perubahan genetik yang terjadi pada tumor, mereka umumnya kurang mampu memperbaiki kerusakan DNA yang disebabkan oleh radiasi (Masuda dan Kamiya 2012; Silva et al. 2016; Schulz et al. 2017).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan frekuensi sel yang rusak antara kelompok pasien (80,54%) lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0,01$ ) terhadap kelompok kontrol (27,27%). Tingkat kerusakan pada kelompok pasien (49,98  $\mu\text{m}$ ) lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0,01$ ) terhadap kelompok kontrol (17,54  $\mu\text{m}$ ). Disimpulkan bahwa dosis radiasi fraksinasi berpotensi menimbulkan kerusakan DNA. Dosis radiasi yang sama menyebabkan potensi kerusakan DNA yang bervariasi. Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi

untuk memberi wawasan baru dalam menyusun strategi penata-laksanaan radioterapi. Penelitian ini merupakan studi awal dengan jumlah sampel terbatas. Dengan demikian diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak untuk mendapatkan data yang representatif.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung penuh oleh Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional Indonesia. Kami mengucapkan terima kasih kepada rekan kerja di Instalasi Radioterapi dan Radiologi Rumah Sakit Umum Daerah DR. Soetomo, Surabaya, dan kelompok Biologi Radiasi, Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional Indonesia (BATAN), Jakarta atas dukungan teknisnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adamczyk A, Biesaga B, Klimek M, Mucha-Malecka (2018) Comet assay is not useful to predict normal tissue response after radiochemotherapy in cervical and larynx cancer patients. *Pol J Pathol* 69: 410–421. doi: 10.5114/pjp.2018.81230
- Baskar R, Dai J, Wenlong N, Yeo R, Yeoh KW (2014) Biological response of cancer cells to radiation treatment. *Front Mol Biosci* 1: 24. doi: 10.3389/fmolb.2014.00024
- Borrego-Soto G, Ortiz-López R, Rojas-Martínez A (2015) Ionizing radiation-induced DNA injury and damage detection in patients with breast cancer. *Genet Mol Biol* 38: 420–432. doi: 10.1590/S1415-475738420150019
- Bowman KJ, Al-Moneef MM, Sherwood BT, Colquhoun AJ, Goddard JC, Griffiths TRL, Payne D, Singh S, Butterworth PC, Khan MA, Summerton DJ, Steward WP, McKelvey-Martin VJ, McKeown SR, Kockelbergh RC, Mellon JK, Symonds RP, Jones GDD (2014) Comet assay measures of DNA damage are predictive of bladder cancer cell treatment sensitivity in vitro and outcome in vivo. *Int J Cancer* 134: 1102–1111. doi: 10.1002/ijc.28437
- Connell PP, Hellman S (2009) *Advances in*

- radiotherapy and implications for the next century: A historical perspective. *Cancer Res* 69: 383–392. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6871
- Darlina, Tur R, Teja K, Wiwin M, Yanti L (2018) Efek jenis pekerjaan, usia dan gender terhadap kerusakan DNA sel limfosit pekerja radiasi medis. *J Biotek Medisiana Indones* 7: 45–55
- De Ruyscher D, Niedermann G, Burnet NG, Siva S, Lee AWM, Hegi-Johnson F (2019) Radiotherapy toxicity. *Nat Rev Dis Primers* 5: 15. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004
- Faraj KA, Elias MM, Al-Mashhadani AH, Baatout S (2011) Effect of X- and gamma rays on DNA in human cells. *Eur J Sci Res* 53: 470–476
- Fernet M, Hall J (2004) Genetic biomarkers of therapeutic radiation sensitivity. *DNA Repair* 3: 1237–1243. doi: 10.1016/j.dnarep.2004.03.019
- Güerci A, Zúñiga L, Marcos R (2011) Construction and validation of a dose-response curve using the comet assay to determine human radiosensitivity to ionizing radiation. *J Toxicol Environ Health A* 74: 1087–1093. doi: 10.1080/15287394.2011.582318
- Gyori BM, Venkatachalam G, Thiagarajan PS, Hsu D, Clement MV (2014) OpenComet: An automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biol* 2: 457–465. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.020
- Islam J, Kabir Y (2019) Measurement of DNA damage in bladder cancer patients by alkaline comet assay. *Ann Urol Oncol* 2: 64–70. doi: 10.32948/auo.2019.12.26
- Kaur S, Sangeeta, Galhna KK, Gautam N (2017) Assessment of radiation induced DNA damage in human peripheral blood lymphocytes using COMET assay. *Int J Life Sci Scienti Res* 3: 1208–1214. doi: 10.21276/ijlssr.2017.3.4.17
- Kiziltan E, Yurtcu E (2015) Semi-automatic scoring tool for comet assay. *J Serbian Soc Comput Mech* 9: 27–33. doi: 10.5937/jsscm1502027K
- Kopjar N, Zeljezić D, Garaj-Vrhovac V (2006) Evaluation of DNA damage in white blood cells of healthy human volunteers using the alkaline comet assay and the chromosome aberration test. *Acta Biochim Pol* 53: 321–336. PMID: 16582984
- Kumaravel TS, Jha AN (2006) Reliable comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Mutat Res* 605: 7–16. doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.03.002
- Liau SL, Connell PP, Weichselbaum RR (2013) New paradigms and future challenges in radiation oncology: An update of biological targets and technology. *Sci Transl Med* 5: 173sr2. doi: 10.1126/scitranslmed.3005148
- Lomax ME, Folkes LK, O'Neill P (2013) Biological consequences of radiation-induced DNA damage: Relevance to radiotherapy. *Clin Oncol* 25: 578–585. doi: 10.1016/j.clon.2013.06.007
- Lu Y, Liu Y, Yang C (2017) Evaluating in vitro DNA damage using comet assay. *J Vis Exp* 2017: 56450. doi: 10.3791/56450
- Martin NE, D'Amico AV (2014) Progress and controversies: Radiation therapy for prostate cancer. *CA Cancer J Clin* 64: 389–407. doi: 10.3322/caac.21250
- Masuda Y, Kamiya K (2012) Molecular nature of radiation injury and DNA repair disorders associated with radiosensitivity. *Int J Hematol* 95: 239–245. doi: 10.1007/s12185-012-1008-y
- Moller P, Knudsen LE, Loft S, Wallin H (2000) The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 1005–1015. PMID: 11045781
- Nandhakumar S, Parasuraman S, Shanmugam MM, Rao KR, Chand P, Bhat BV (2011) Evaluation of DNA damage using single-cell gel electrophoresis (comet assay). *J Pharmacol Pharmacother* 2: 107–111. doi: 10.4103/0976-500X.81903
- O'Connor MJ (2015) Targeting the DNA damage response in cancer. *Mol Cell* 60: 547–560. doi: 10.1016/j.molcel.2015.10.040
- Rehman JU, Zahra, Ahmad N, Khalid M, Khan Asghar HMNH, Gilani ZA, Ullah I, Nasar G, Akhtar MM, Usmani MN (2018) Intensity modulated radiation therapy: A review of current practice and future outlooks. *J Radiat Res Appl Sci* 11: 361–367. doi: 10.1016/j.jrras.2018.07.006



- Schmeiser HH, Muehlbauer KR, Mier W, Baranski AC, Neels O, Dimitrakopoulou-Strauss A, Schmezer P, Kratochwil C, Bruchertseifer F, Morgenstern A, Kopka K (2019) DNA damage in human whole blood caused by radiopharmaceuticals evaluated by the comet assay. *Mutagenesis* 34: 239–244. doi: 10.1093/mutage/gez007
- Schulz N, Chaachouay H, Nytko KJ, Weyland MS, Roos M, Fuchsli RM, Guscetti F, Scheidegger S, Bley CR (2017) Dynamic in vivo profiling of DNA damage and repair after radiotherapy using canine patients as a model. *Int J Mol Sci* 18: 1176. doi: 10.3390/ijms18061176
- Silva RG, Alencar MVOB, Teixeira JS, e Silva RR, Paz MFCJ, de Castro JM, de Aguiar RPS, de Carvalho RM, Júnior ALG, da Mata AMOF, de Oliveira JV, Islam MT, Ferreira PMP, Melo-Cavalcante AAC, Picada JN (2016) Genotoxicity and DNA repair indicative in blood cells after occupational exposure to ionizing radiation. *Int Arch Med* 9: 1–13. doi: 10.3823/1992
- Toulany M (2019) Targeting DNA double-strand break repair pathways to improve radiotherapy response. *Genes (Basel)* 10: 25. doi: 10.3390/genes10010025
- UNEP (2016) Radiation Effects and Sources: What is radiation? What does radiation do to us? Where does radiation come from? United Nations Environment Programme, United Nations, New York. doi: 10.18356/b1749f17-en
- Vilalta M, Rafat M, Giaccia AJ, Graves EE (2014) Recruitment of circulating breast cancer cells is stimulated by radiotherapy. *Cell Rep* 8: 402–409. doi: 10.1016/j.celrep.2014.06.011
- Vodicka P, Vodenkova S, Opattova A, Vodickova L (2019) DNA damage and repair measured by comet assay in cancer patients. *Mutat Res* 843: 95–110. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.05.009
- Yarnold J (2018) Changes in radiotherapy fractionation – breast cancer. *Br J Radiol* 92: 20170849. doi: 10.1259/bjr.20170849
- Yusuf D, Tur R, Syaifudin M (2018) Evaluasi hubungan dosis radiasi terhadap kerusakan DNA sel limfosit dengan menggunakan tes comet. *J Sains Teknol Nuklir Indones* 19: 13–20. doi: 10.17146/jstni.2018.19.1.3658
- Yusuf D, Tur R, Suvivan VA (2020) A preliminary study on DNA damage in peripheral blood of cancer patients after radiotherapy with comet assay. The proceedings of the 2nd Bakti Tunas Husada-Health Science International Conference (BTH-HSIC 2019), Series Adv Health Sci Res 26: 228–32. doi: 10.2991/ahsr.k.200523.056
- Zedginidze A, Namchevadze E, Ormocadze G, Kapanadze A, Nikuradze T, Lomidze D (2016) Biodosimetry of persons chronically exposed to low and therapeutic doses of ionizing radiation. *Genome Integr* 7: 12. doi: 10.4103/2041-9414.197169