

**FREKUENSI MIKRONUKLEUS DAN DISTRIBUSI
POLIMORFISME GEN XRCC3 PEKERJA RADIASI DI
PUSAT REAKTOR SERBA GUNA (PRSG), BATAN**

*MICRONUCLEUS FREQUENCIES AND DISTRIBUTION OF
XRCC3 GENE POLYMORPHISM IN RADIATION WORKERS
OF CENTER FOR MULTI PURPOSE REACTOR, BATAN*



Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2

Magister Ilmu Biomedik

Dwi Ramadhani

22010113420019

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2016

LEMBAR PENGESAHAN

Tesis

**FREKUENSI MIKRONUKLEUS DAN DISTRIBUSI
POLIMORFISME GEN XRCC3 PEKERJA RADIASI
DI PUSAT REAKTOR SERBA GUNA, BATAN**

*MICRONUCLEUS FREQUENCIES AND DISTRIBUTION OF
XRCC3 GENE POLYMORPHISM IN RADIATION WORKERS
OF CENTER FOR MULTIPURPOSE REACTOR, BATAN*

Oleh:

Dwi Ramadhani

NIM: 22010113420019

Telah dipertahankan di depan penguji pada tanggal 25 Juli 2016

Dan disetujui oleh,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. dr. Sultana MH Faradz.,Ph.D
NIP. 19520202 197901 2 001

Dr. Mukh Syaifudin
NIP. 19650601 198901 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. RA. Kisdjamiatun RMD,M.Sc
NIP. 19640130 199003 2 001

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No. 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 23 Juni 2016

Dwi Ramadhani

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Dwi Ramadhani

Tempat/Tanggal lahir : Jakarta, 8 Maret 1983

Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Sagerat : Lulus tahun 1995
2. SMP Islam PB Soedirman : Lulus tahun 1998
3. SMAN 99 Jakarta : Lulus tahun 2001
4. Departemen Biologi FMIPA UI : Lulus tahun 2007
5. Magister Ilmu Biomedik UNDIP : 2014 hingga 2016

C. Riwayat Pekerjaan

1. Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN

D. Kegiatan Penelitian

1. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Pimpinella pruatjan* Molkenb.
(Purwoceng) Fraksi Kloroform Secara Oral Terhadap Kualitas
Spermatozoa *Mus musculus* L. (Mencit) jantan Galur DDY - Skripsi –
2007.

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT karena atas nikmat serta karunianya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Shalawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Rasullulah SAW beserta para pengikutnya yang tetap berada di jalan Nya. Pekerja radiasi berisiko menerima paparan radiasi secara kronis dalam pekerjaannya. Radiasi pengion dosis rendah dapat menyebabkan kerusakan pada materi genetik suatu individu. Polimorfisme pada gen yang terlibat dalam proses perbaikan kerusakan untai ganda asam deoksiribonukleat (DNA) dapat mempengaruhi tingkat kerusakan materi genetik akibat paparan radiasi pengion. Hingga kini penelitian tentang kerusakan materi genetik dan polimorfisme pada gen terkait perbaikan kerusakan DNA pekerja radiasi di Indonesia belum pernah dilakukan. Oleh karena itu dilakukan penelitian yang melatarbelakangi disusunnya tesis **“Frekuensi Mikronukleus Dan Distribusi Polimorfisme Gen XRCC3 Pekerja Radiasi Di Pusat Reaktor Serba Guna (PRSG), BATAN”**

Penulis menyampaikan terima kasih atas dukungan dan bantuan dari banyak pihak selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini. Penulis menyampaikan terimakasih yang tak terhingga kepada Prof. dr. Sultana MH Faradz, PhD selaku pembimbing I sekaligus Ketua Konseling Genetika Program Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro serta Dr Mukh Syaifudin selaku pembimbing II sekaligus Kepala Kelompok Radiobiologi Bidang Teknik Nuklir Kedokteran dan Biologi Radiasi. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med dan Prof. Dr. Wahyu

Setia Budi atas masukan beliau sebagai penguji tesis. Penulis juga berterima kasih kepada orang tua, istri dan anak anak penulis, rekan-rekan sejawat S2, rekan-rekan analis CEBIOR, dan pihak lain yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis berharap semoga tesis dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu biologi radiasi dan genetika.

Semarang, 23 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR ISTILAH.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
I. PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	5
I.3 Orisinalitas Penelitian.....	6
I.4 Tujuan Penelitian.....	7
I.5 Manfaat Penelitian.....	8
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
II.1 Radiasi Ionisasi.....	9
II.2 Interaksi Radiasi Dengan Materi Biologi.....	11
II.3 Efek Stokastik Paparan Radiasi Dosis Rendah.....	15
II.3 Mekanisme Perbaikan <i>Double Strand Breaks</i> (DSB) DNA	17
II.4 Gen <i>XRCC3</i>	18
II.5 Mikronukleus.....	19
II.6 Gen <i>XRCC3</i> Dan Mikronukleus.....	23
II.7 Mikronukleus Dan Kanker.....	24

II.8 Pusat Reaktor Serba Guna (PRSG), BATAN.....	28
II.9 Kerangka Teori.....	30
II.10 Kerangka Konsep.....	31
III. HIPOTESIS.....	31
IV. METODOLOGI.....	32
IV.1 Rancangan Penelitian.....	32
IV.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
IV.3 Sampel Penelitian.....	32
IV.4 Besar Sampel.....	33
IV.5 Cara Kerja.....	34
IV.6 Variabel.....	39
IV.7 Definisi Operasional.....	40
IV.8 Pengolahan dan Analisis Data.....	40
IV.9 Alur Penelitian.....	41
V. HASIL.....	42
VI. PEMBAHASAN.....	48
VI.1 Diskusi.....	48
VI.2 Keterbatasan Penelitian.....	56
VII. SIMPULAN SARAN.....	57
VII. 1 Simpulan.....	57
VII. 2 Saran.....	58
RINGKASAN.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	70

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
II.1.	Daya tembus sinar Alfa, Beta, Gamma dan Neutron.....	10
II.2.	Efek langsung dan tak langsung terhadap DNA.....	14
II.3.	Beberapa jenis kerusakan DNA akibat paparan radiasi pengion.....	15
II.4.	Skema mekanisme perbaikan HR dan NHEJ.....	18
II.5.	Peta lokasi gen <i>XRCC3</i> pada kromosom 14.....	19
II.6.	Mekanisme proses pembentukan mikronukleus.....	20
II.7.	Sel binukleus normal, memiliki satu mikronukleus dan dua mikronukleus.....	21
II.8.	Sel binukleus dengan satu mikronukleus yang tidak memiliki sentromer didalamnya dan sel binukleus dengan mikronukleus yang memiliki sentromer.....	23
II.9.	Skema terjadinya <i>chromothripsis</i> yang diinisiasi oleh mikronukleus.....	26
II.10.	Skema proses <i>chromothripsis</i> yang diakibatkan oleh paparan radiasi pengion.....	27
V.1.	Karakteristik usia sampel pekerja radiasi PRSG.....	42
V.2.	Sel binukleus dengan satu (kiri), dua (tengah) dan tiga (kanan) mikronukleus.....	44
V.3.	Visualisasi produk PCR yang dijalankan pada gel agarose 3% elektroforesis.....	45
V.4.	Hasil visualisasi RFLP yang dijalankan pada gel agarose 3% elektroforesis.....	45

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
IV.1.	Reaksi PCR dan kondisi siklus termal gen <i>XRCC3</i>	38
V.1.	Frekuensi mikronukleus pada kelompok kontrol dan pekerja radiasi.....	43
V.2.	Distribusi genotip kelompok kontrol dan pekerja radiasi.....	46
V.3.	Distribusi kelompok mutan dan <i>wildtype</i> pada kelompok kontrol dan pekerja radiasi.....	46
V.4.	Frekuensi alel C dan T.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Posisi primer pada sekuens gen <i>XRCC3</i>	70
2.	Referensi gel elektroforesis PCR-RFLP.....	71
3.	Informed Consent.....	72
4.	<i>Ethical Clearance</i>	75
5.	Jumlah Binukleus dan Frekuensi Mikronukleus Pekerja Radiasi PRSG.....	76
6.	Jumlah Binukleus dan Frekuensi Mikronukleus Kelompok Kontrol.....	77
7.	Hasil uji Mann-Whitney terhadap data frekuensi mikronukleus antara kelompok pekerja radiasi dan kelompok kontrol.....	78
8.	Hasil uji Mann-Whitney terhadap data frekuensi mikronukleus antara laki-laki dan perempuan.....	78
9.	Hasil uji Mann-Whitney terhadap data frekuensi mikronukleus antara kelompok usia diatas dan dibawah 50 tahun	78
10.	Hasil uji Mann-Whitney terhadap data frekuensi mikronukleus antara kelompok perokok dan kelompok tidak merokok.....	78
11.	Hasil penghitungan risiko prevalensi.....	79
12.	Hasil penghitungan <i>Hardy Weinberg Equilibrium</i>	79
13.	Dosis rerata bidang operasi reaktor (BOR) setiap tahun periode 2007 s/d 2011.....	79

DAFTAR ISTILAH

Asentrik	: Fragmen kromosom yang tidak memiliki sentromer
<i>Base excision repair</i>	: Mekanisme perbaikan DNA yaitu dengan cara membuang basa yang rusak
Binukleus	: Memiliki dua nukleus
Deterministik	: Efek yang langsung timbul akibat paparan radiasi pengion Umumnya memiliki dosis ambang dan efek akan semakin tinggi seiring dengan peningkatan dosis
Disentrik	: Kromosom abnormal yang memiliki dua sentromer
<i>Double strand breaks</i>	: Tipe kerusakan DNA yang berupa patahnya kedua untai pada DNA
Eksitasi	: Proses penyerahan energi radiasi kesuatu atom atau molekul tanpa mengakibatkan ionisasi
Genotipe	: Susunan genetik suatu organisme
<i>Homolog recombination</i>	: Proses perbaikan kerusakan DNA dengan menggunakan menggunakan <i>sister chromatid</i> yang tidak mengalami kerusakan sebagai cetakan
In vitro	: Terjadi dalam kultur jaringan atau sel
In vivo	: Terjadi dalam organisme hidup
Ionisasi	: Peristiwa lepasnya elektron dari ikatannya karena menyerap energi eksternal
Mikronukleus	: Fragmen kecil nukleus yang memiliki membran nukleus sendiri
<i>Non homolog end joining</i>	: Proses perbaikan kerusakan DNA yang tidak menggunakan <i>sister chromatid</i> dan dapat berlangsung pada seluruh tahapan dalam siklus sel
PCR	: Proses enzimatik untuk memperbanyak sekuens DNAmelalui replikasi berulang menggunakan DNA polimerase
Polimorfisme	: Variasi sekuens basa DNA dan memiliki frekuensi cukup tinggi (>1%) di populasi umum
Radikal bebas	: Molekul yang kehilangan satu elektron dari pasangan elektron bebasnya
RFLP	: Perbedaan sekuens DNA homolog yang dapat dideteksi dengan keberadaan panjang fragment yang berbeda setelah sampel DNA dicerna oleh enzim endonuklease restriksi spesifik.
<i>Spindle</i>	: Gelendong inti
Stokastik	: Efek radiasi yang keparahannya tidak bergantung pada besarnya dosis
Sentromer	: Lokasi pada kromosom yang menjadi tempat perlekatan benang plasma dari gelendong inti
<i>Susceptibility gene</i>	: Peningkatan kemungkinan untuk menderita penyakit tertentu akibat memiliki satu atau lebih gen yang mengalami mutasi

DAFTAR SINGKATAN

BER	: Base Excision Repair
BNC	: Binucleated Cell
CBMN	: Cytokinesis Block Micronucleus Assay
CLL	: Chronic Lymphocytic Leukemia
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DSB	: Double Strand Breaks
FBS	: Fetal Bovine Serum
HL	: Hodgkin Lymphoma
HR	: Homolog Recombination
HVS	: Houtvrij Schrijf Papier
Hz	: Hertz
KCl	: Kalium Chlorida
Met	: Methionine
MW	: Megawatts
MN	: Micronucleus
NHEJ	: Non Homolog End Joining
NHL	: Non-Hodgkin Lymphoma
OGG	: Oxoguanine Glycosylase
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PHA	: Phytohaemagglutinin
PLTN	: Pembangkit Listrik Tenaga Nuklir
PRSG	: Pusat Reaktor Serba Guna
PUSPITEK	: Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RPMI	: Rosewell Park Memorial Institute
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
Thr	: Threonine
TLD	: Thermoluminescence Dosimeter
WBC	: Whole Body Counter
XRCC	: X-ray Repair Cross Complementing

ABSTRAK

Latar belakang : Pekerja radiasi berisiko menerima paparan radiasi secara kronis dalam pekerjaannya. Radiasi pengion dosis rendah dapat menyebabkan kerusakan pada materi genetik suatu individu. Polimorfisme pada gen yang terlibat dalam proses perbaikan kerusakan untai ganda asam deoksiribonukleat (DNA) dapat mempengaruhi tingkat kerusakan materi genetik akibat paparan radiasi pengion. Hingga kini penelitian tentang kerusakan materi genetik dan polimorfisme pada gen terkait perbaikan kerusakan DNA pekerja radiasi di Indonesia belum pernah dilakukan. Studi ini bertujuan untuk mengetahui frekuensi mikronukleus dan distribusi polimorfisme T241M gen *XRCC3* pada pekerja radiasi PRSG, BATAN.

Metode : Sampel darah tepi dan DNA dari 60 sampel (30 pekerja radiasi PRSG dan 30 kontrol) dianalisis menggunakan teknik mikronukleus dan PCR – RFLP untuk mendeteksi kerusakan materi genetik dan polimorfisme pada gen *XRCC3* kodon 241. Data frekuensi mikronukleus pada pekerja radiasi dan kelompok kemudian diolah secara statistik untuk mengetahui apakah perbedaannya signifikan atau tidak.

Hasil : Hasil uji statistik memperlihatkan tidak terdapat perbedaan signifikan frekuensi mikronukleus antara kelompok pekerja radiasi dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,695$). Pada penelitian tidak ditemukan pengaruh faktor usia, jenis kelamin dan kebiasaan merokok terhadap frekuensi mikronukleus pada seluruh sampel penelitian. *Prevalence ratio* alel mutan (alel T) vs *WT* (alel C) adalah sebesar 0.4828; 95% CI: 0.04141 – 5.6282, dengan nilai $p = 0,5611$. Frekuensi alel C lebih tinggi dari alel T pada keseluruhan sampel yaitu 0,98 dan 0,02, berturut-turut.

Kesimpulan : Tidak ditemukan perbedaan yang signifikan pada frekuensi mikronukleus antara kelompok pekerja radiasi dengan kelompok kontrol. Tidak dapat disimpulkan bahwa mutan alel (alel T) berpengaruh terhadap peningkatan frekuensi mikronukleus pada pekerja radiasi dikarenakan individu dengan genotip CT dan TT yang ditemukan tidak cukup banyak.

Kata kunci : Limfosit, Mikronukleus, Radiasi Pengion, Polimorfisme, *XRCC3*

ABSTRACT

Background : Radiation worker has a risk to receive occupational radiation exposure chronically. Low ionizing radiation dose can induce a genetic material damage in organism. Polymorphism in gene that involved in DNA damage repair system can affected the increased degree of genetic material damage induced by ionizing radiation. Until now in Indonesia, a study about genetic material damage and DNA damage repair gene of radiation worker has never been conducted. Aims of this study were to assess the micronucleus frequencies and distribution of *XRCC3* gene polymorphism T241M in radiation workers at Center for Multi Purpose Reactor, BATAN.

Method : Peripheral blood lymphocytes and DNA of 60 samples (30 radiation workers samples and 30 normal control) were analyzed using micronucleus assay and PCR – RFLP to detect the T241M polymorphisms in *XRCC3* gene at codon 241. Micronucleus frequencies data then was statistically analyzed to know the difference between both of the groups was significant.

Result : Statistical analyzes revealed that the micronucleus frequencies in radiation workers was not significant different compared to control samples ($p=0,549$). In this study, there was no correlation between micronucleus frequencies with age, gender and smoking habits factors. Prevalence ratio of mutant allele (allele C) vs WT (allele T) was 0.4828; 95% CI: 0.04141 – 5.6282, p value = 0.5611 (not significant). C allele frequency was higher than G allele in all samples, 0.92 and 0.02, respectively.

Conclusion : The micronucleus frequencies in radiation workers was not significantly different compared to that of control samples. It cannot be concluded that mutant allele (T allele) was correlated with increase of micronucleus frequencies in radiation workers since only a small number of individual that have CT and TT genotype found in this study.

Keywords: Ionizing radiation, Lymphocytes, Micronucleus, Polymorphism, *XRCC3*