

USUL PENELITIAN KEMITRAAN

EFEK RADIASI SINAR ULTRAVIOLET TERHADAP SISTEM IMUN
(HISTOLOGI LIMPA) DAN INDEKS MITOTIK PADA MENCIT



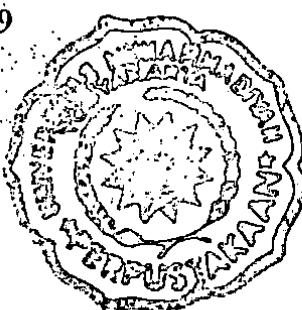
Oleh :

Sri Nabawiyati Nurul Makiyah, S.Si.,M.Kes NIK : 173 005

Program Studi Kedokteran Umum
Fakultas Kedokteran
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Diajukan untuk Memperoleh Dana Bantuan dari LP3M UMY
Tahun Anggaran 2009

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
2009



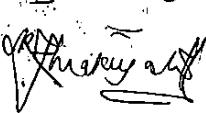
HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Efek Radiasi Sinar Ultra Violet terhadap Sistem Imun (Histologi Limpa) dan Indeks Mitotik pada Mencit
2. Waktu Pelaksanaan : 6 bulan
3. Ketua Tim Pengusul :
 - a. Nama Lengkap : Sri Nabawiyati Nurul Makiyah, S.Si., MKes
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. NIP : 173 005
 - d. Pangkat/Golongan : Lektor Kepala / III D
 - e. Jabatan : Penata
 - f. Fakultas/Jurusan : Kedokteran / Kedokteran Umum
 - g. Alamat : Jalan Lingkar Barat, Tamantirto, Kasihan, Bantul
 - h. Telp/Faks/E-mail : (0274) 387656 / (0274) 387646
 - i. Alamat Rumah : Betakan, Sumberrahayu, Moyudan, Sleman
 - j. Telp/Faks/E-mail : 08157949069 / email : nurul_mkyh@yahoo.co.id
4. Mahasiswa yang terlibat :
 - a. Desti Pasmawati, NIM : 20060310185
 - b. Rainy Iszamriach, NIM : 20060310189
 - c. Arie Nofariyandi, NIM : 20060310055
5. Anggaran yang diusulkan : Rp 3.500.000,00

Yogyakarta, 25 Pebruari 2009

Mengetahui
Wakil Dekan FK

Ketua Tim Pengusul,


SN Nurul Makiyah, S.Si.,M.Kes.
NIK : 173 005


Dr. Hj. Ekorini Listewanti
NIK: 173039

Judul Penelitian :

Efek radiasi sinar ultraviolet terhadap sistem imun (histologi limpa) dan indeks mitotik pada mencit.

The effects of ultraviolet radiation on immune system (histology of spleen) and mitotic index on mice

Tema : Penyakit Tropis

1. Pendahuluan

Allah SWT telah mencukupi segala kebutuhan kita, salah satunya adalah diciptakanNya sinar matahari. Sinar matahari yang mengandung radiasi ultraviolet B (UVB) dalam jumlah kecil sewaktu mengenai kulit dan diabsorbsi, akan merangsang proses pembentukan vitamin D. Oleh karena itu, pada waktu musim semi (panas) di Eropa, orang pada berjemur untuk menyehatkan tubuh. Namun semenjak dua dekade terakhir ini, sinar matahari yang awal mulanya bersahabat saat ini merupakan ancaman tidak langsung terhadap kesehatan.

Ini terjadi akibat ulah kita sendiri sehingga lapisan ozon di stratosphere yang berfungsi untuk menyaring (memfilter) radiasi ultraviolet dari tahun ke tahun semakin menipis akibat polusi kimia chlorofluoro carbon (CFC) yang berasal dari mesin pendingin (AC, kulkas) dan industri. Menipisnya lapisan ozon, akan mengakibatkan radiasi ultraviolet yang sampai di bumi intensitasnya semakin tinggi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa setiap dekade (semenjak tahun 1970) lapisan ozon berkurang 3% akan menaikkan pajanan radiasi ultraviolet sebesar 12% pada permukaan bumi. Kenaikan tingkat intensitas radiasi ultraviolet khususnya UVB, akibat penipisan lapisan ozon di stratosphere akan berdampak cukup serius terhadap makhluk hidup di bumi (Bunawas, 1999).

Dibidang kesehatan, radiasi ultra violet (uv) digunakan sebagai alat pencoklat kulit seperti pada orang kulit putih yang berjemur (*sun tanning*), disinfeksi, sebagai terapi sinar pada bayi hiperbilirubin agar produksi bilirubin dapat diperkecil. Selain itu, uv digunakan juga di bidang lain untuk proses polimerisasi, penjebak serangga, litografi dan reprografi, serta fotometri. Disamping dapat digunakan untuk memperbaiki kesehatan, uv juga dapat membahayakan kesehatan, sehingga menyebabkan terjadinya gangguan pada kulit secara langsung bahkan sampai terjadi kanker kulit, katarak mata, dan menurunnya kekebalan tubuh, sehingga orang akan

lebih mudah terserang penyakit (Suprayitno & Messmer, 1996). Selain itu, paparan sinar UV-B secara kronis dapat menyebabkan keganasan limfoid oleh karena efek dari penekanan sistem imun tersebut (Jiang *et al.*, 2001). Oleh karena pajanan radiasi ultra violet dapat mengakibatkan penurunan fungsi pertahanan tubuh (imunosupresan). Menurut Matsumura & Ananthaswamy (2004) efek akut utama oleh radiasi sinar UV pada kulit yang normal adalah eritema, luka bakar, serta menekan lokal sistem imun.

Beberapa faktor yang menyebabkan radiasi ultra violet berbahaya diantaranya adalah intensitas radiasi, panjang gelombang, waktu, dan bagian tubuh yang terkena radiasi (Muhamin, 2001 dalam Suhartono *et al.*, 2004).

Pertahanan tubuh penting dalam menentukan apakah suatu infeksi akan terjadi atau tidak. Mekanisme pertahanan mencakup barier alami (kulit dan membran mukosa), faktor respon imun nonspesifik (sel fagositik dan produknya) dan respon imun spesifik (antibodi) (Berkow & Fletcher, 1998 dalam Susilo & Mulyono, 2002)

Definisi imunitas pada masa kini mencakup semua mekanisme fisiologis yang membantu manusia dan binatang untuk mengenal benda-benda asing pada dirinya, untuk menetralkan, menyisihkan (eliminasi) serta memetabolisme benda asing tersebut dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri (Bellanti, 1993). Dengan kata lain imunitas atau kekebalan adalah sistem dimana suatu sel atau organ melindungi suatu organisme terhadap pengaruh biologis luar. Jika sistem kekebalan berfungsi secara benar, organisme akan melindungi tubuh terhadap infeksi bakteri dan virus, serta menghancurkan zat-zat asing lain. Jika sistem kekebalan melemah, kemampuannya untuk melindungi tubuh juga berkurang.

Tubuh manusia mengembangkan mekanisme yang cukup canggih untuk menghadapi mikroorganisme patogen yang memiliki potensi menyerbu ke dalam tubuh. Mekanisme tersebut merupakan bentuk dasar dari pertahanan alami yang merupakan gabungan dari kemampuan perlindungan penghalang-penghalang anatomik, fagositosis, pencernaan dalam fagositosis (Subowo, 1993).

Salah satu organ yang berperan dalam mempertahankan kekebalan tubuh adalah limpa. Limpa adalah komponen sistem limfoid perifer menghasilkan limfosit dan sel plasmă yang penting untuk menengahi peristiwa-peristiwa imunologik spesifik. Pengambilan limpa telah dibuktikan berkaitan dengan bertambahnya infeksi bakteri, tidak hanya pada bayi dan anak-anak, tetapi juga pada orang dewasa muda

(Bellanti, 1993). Limpa mempunyai banyak sel-sel fagositik dan hubungan yang erat antara darah yang beredar dan sel-sel ini. Limpa merupakan pertahanan tubuh yang penting terhadap mikroorganisme yang menembus sirkulasi dan juga merupakan tempat destruksi banyak sel-sel darah merah. Seperti halnya dengan organ-organ limfatik yang lain, limpa bereaksi cepat terhadap antigen yang dibawa darah dan merupakan organ penting pembentuk antibodi. Kalau nodus limfatis berperan sebagai filter imunologik dari cairan limfe, limpa merupakan filter imunologik dari sistem sirkulasi (Roitt & Delves, 2001). Untuk mengetahui adanya peningkatan aktivitas dari sistem imun pada limpa, maka dilakukan pengukuran diameter pulpa alba limpa. Apabila diameter pulpa alba limpa lebih besar pada mencit yang diberi paparan radiasi sinar ultra violet, maka berarti terjadi peningkatan aktivitas sistem imun pada limpa.

Kulit adalah bagian tubuh yang paling sering terpapar oleh bahan asing dari lingkungan sekitar kita. Paparan radiasi ultra violet menyebabkan kulit normal menjadi teraktifasi untuk mempertahankan kondisi normalnya salah satunya dengan cara meningkatkan aktivitas mitosis yang pada kondisi normal berjalan lebih lambat.

2. Perumusan Masalah

Dari uraian di atas dirumuskan permasalahan bagaimana efek radiasi sinar ultra violet terhadap sistem imun dengan mengamati parameter diameter pulpa alba limpa dan indeks mitotik pada mencit.

3. Tinjauan Pustaka

a. Sinar ultraviolet

Matahari memancarkan energi dengan panjang gelombang yang bermacam-macam, sebagian besar tidak kasat mata. Semakin pendek panjang gelombang sinar, semakin besar energi radiasinya, dan akan semakin berbahaya (Allen, 2001). Salah satu yang dipancarkan oleh matahari adalah sinar ultraviolet.

Radiasi sinar ultraviolet adalah radiasi elektromagnetis dengan panjang gelombang yang lebih pendek dari sinar tampak, namun lebih panjang dari pada sinar X yang kecil. Radiasi sinar UV yang mencapai permukaan bumi mempunyai panjang gelombang antara 290-400 nm (nanometer, atau persemilyar meter). Ini lebih pendek

daripada sinar cahaya tampak yang mempunyai panjang gelombang 400-700 nm (Anonim, 2006).

Sinar UV dapat digolongkan menjadi UV pendek (panjang gelombang 380-200 nm), UV vakum atau UV jauh (panjang gelombang 200-10 nm), dan UV ekstrim (panjang gelombang 1-31 nm). Penggolongan lain berdasarkan efek yang ditimbulkan terhadap kesehatan lingkungan dan manusia, sinar UV digolongkan menjadi UVA (400-315 nm), disebut juga gelombang panjang atau "blacklight"; UVB (315-280 nm), disebut juga gelombang sedang; dan UVC (< 280 nm), disebut juga gelombang pendek atau "germicidal" (Anonim, 2006). Semakin pendek panjang gelombang, semakin besar energi yang terkandung di dalamnya. Dengan kata lain di antara tiga bagian sinar ultraviolet, UV-C mempunyai energi paling tinggi dan UV-A mempunyai energi paling rendah (Suprayitno *et al.*, 1996). Dari ketiga jenis ini, radiasi UV-B paling sering menyebabkan terjadinya kanker kulit, sedangkan radiasi UV-A sebagian besar telah diserap ozon sehingga jumlahnya yang mencapai permukaan bumi relatif kecil dan radiasi UV-C secara keseluruhan telah diserap oleh lapisan ozon di atmosfer (Kripke, 1974).

Radiasi ultraviolet adalah radiasi elektromagnit pada panjang gelombang antara 100 nm (setara dengan energi foton sekitar 12 eV) sampai 400 nm (nanometer). Radiasi ultraviolet yang dipancarkan oleh matahari dibagi dalam 3 daerah yaitu UVA ($\lambda = 315$ -400 nm), UVB ($\lambda = 280$ -315 nm) dan UVC ($\lambda = 100$ -280 nm) bergantung pada panjang gelombang dan efek biologi. Radiasi ultraviolet UVR sewaktu melewati lapisan ozon di stratosphere sebagian besar diabsorbsi oleh ozon, sehingga tinggal UVA dan UVB yang sampai di permukaan bumi dalam jumlah yang sedikit. Sedang UVC berinteraksi secara fotolisis dengan oksigen menghasilkan ozon. Mengingat efek biologi radiasi ultraviolet B lebih besar dibandingkan radiasi ultraviolet A, maka konsentrasi pan pakar lingkungan dan epidemiologi lingkungan dikhususkan untuk mengamati UVB dari waktu ke waktu, meskipun prosentase radiasi ultraviolet A jauh lebih tinggi dibandingkan UVB dengan perbandingan 95% dan 5%. Radiasi ultraviolet yang sampai di permukaan bumi bergantung pada garis lintang, ketinggian dan adanya awan atau partikel aerosol. Daerah dekat equator, mempunyai intensitas tertinggi dibandingkan belahan bumi utara maupun selatan (Bunawas, 1999).

Efek positif sinar UV antara lain membantu produksi vitamin D pada kulit. Diperkirakan sepuluh dari seribu kematian bayi prematur setiap tahunnya di Amerika Serikat disebabkan karena kurangnya paparan UV sehingga bayi kekurangan vitamin D. Efek lain dari kekurangan vitamin D adalah penyakit osteomalasia, yaitu keadaan dimana tulang-tulang menjadi lunak dikarenakan gangguan kalsifikasi. Radiasi sinar UV juga mempunyai manfaat medis antar lain pada penanganan penyakit kulit seperti psoriasis dan vitiligo. Biasanya menggunakan radiasi UVA atau UVB yang digabungkan dengan psoralens. Pada jenis penyakit ini terapi paling efektif pada panjang gelombang 311 nm (Anonim, 2006).

Sinar ultraviolet dalam jumlah kecil diperlukan oleh tubuh manusia untuk membantu pembentukan vitamin D oleh tubuh, tetapi sinar ultraviolet dalam jumlah banyak juga dapat menyebabkan kanker kulit, kerusakan mata dan menurunkan kekebalan tubuh (Suprayitno & Messmer, 1996). Efek akut utama oleh radiasi sinar UV pada kulit yang normal adalah eritema, luka bakar, serta menekan lokal sistem imun (Matsumura & Ananthaswamy, 2004).

Efek radiasi sinar UV adalah sebagai berikut:

- Eritema : kasus seperti ini ditandai oleh kulit yang memerah, melepuh, dan rasanya sakit sekali. Kasus yang hebat juga ditandai oleh mual, demam atau meriang, takikardi, dan dehidrasi. Radiasi sinar UV diduga memicu peningkatan prostaglandin dan histamin, kedua bahan ini berperan dalam proses peradangan (Fisher, 1977).
- Katarak : terjadi perubahan struktur lensa yang mengakibatkan kehilangan kemampuan transparansi. Selain disebabkan oleh paparan sinar UV, katarak juga dapat disebabkan oleh karena usia lanjut, kebiasaan merokok, penyakit gula, obat steroid, dan dehidrasi berat (Ilyas, 1997).
- Kanker kulit : tiga jenis kanker kulit yang diakibatkan oleh paparan sinar UV, yaitu basal sel karsinoma, squamous sel karsinoma, dan melanoma. Dari ketiga jenis ini 75-90 % adalah basal sel karsinoma (Fisher, 1977).
- Kekebalan tubuh (imunitas) : paparan sinar UV dapat menekan sistem imun dengan berbagai cara antara lain menghambat presentasi antigen, merangsang pengeluaran sitokin imunosupresif, dan mengaktifasi limfosit (Schwarz, 2005).

b. Histologi Limpa

Limpa adalah organ yang terdapat di antara fundus lambung dan diafragma, di kuadran kiri atas rongga perut. Bentuknya agak memanjang, tidak teratur, dengan berat sekitar 150 gram. Ia dibungkus peritoneum dan berhubungan dengan lambung, diafragma, dan ginjal kiri oleh lipatan peritoneum yang disebut ligamen gastrolienal, frenikoliens, dan lienorenal. Limpa berfungsi sebagai penyaring rumit yang disisipkan dalam peredaran untuk membersihkan darah dari zat renik dan sel-sel darah tua. Ia juga terlibat dalam pertahanan imun terhadap antigen yang terbawa darah (Bloom & Fawcet, 2002). Limpa memiliki jenis pembuluh darah khusus yang memungkinkan darah berkontak langsung dengan sejumlah besar makrofag. Ia juga mengandung banyak jaringan limfoid yang melaksanakan fungsi imunologiknya.

Gambaran makroskopis limpa tampak daerah-daerah bulat atau lonjong berwarna kelabu dengan diameter 0,2-0,7 mm. Bersama-sama, daerah terang ini menyusun pulpa putih limpa. Pada pemeriksaan makroskopis dari potongan permukaan, limpa tampak terdiri dari nodul-nodul putih tersebar disebut pulpa putih, terpendam dalam matriks merah yang disebut pulpa merah, pulpa putih terdiri dari kumpulan jaringan limfoid dan pulpa merah membentuk bagian terbesar organ, menjadi jaringan kaya pembuluh darah (Burkit *et al.*, 1995).

Limpa dikelilingi oleh kapsula jaringan ikat padat yang mengirimkan trabekula-trabekula yang membagi parenkim atau pulpa merah menjadi ruang-ruang yang tidak sempurna. Permukaan medial limpa terdapat hilus, dimana pada tempat ini kapsula memberikan lebih banyak trabekula yang menembus saraf-saraf dan arteri-arteri. Vena-vena yang berasal dari parenkim dan pembuluh-pembuluh limfe yang berasal dari trabekula mehingga galkan melalui hilus. Pulpa limpa tidak mempunyai pembuluh-pembuluh limfa (Junqueira *et al.*, 2005).

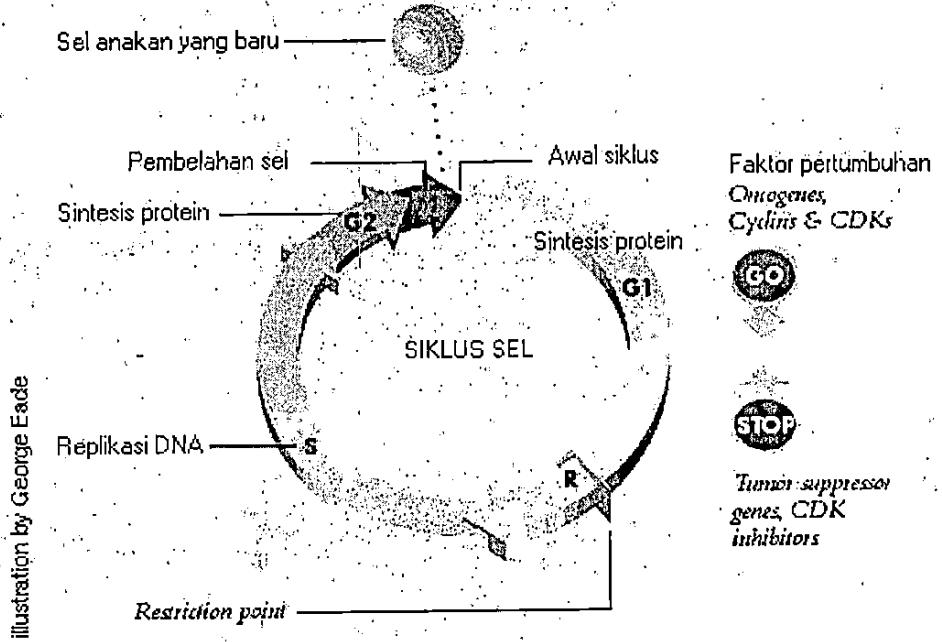
Pulpa putih pada potongan tampak sebagai daerah kelabu jaringan pulpa yang padat. Pulpa putih membentuk selubung limfosit periarterial sekitar arteri yang tunika adventisianya sebagian besar digantikan oleh jaringan retikular. Jaringan retikular disebut oleh limfosit yang membentuk daerah-daerah jaringan limfatik yang difus dan nodular. Sel-sel yang terdapat dalam jaringan limfoid ini terutama limfosit kecil, akan tetapi ditemukan juga limfosit sedang dan besar, monosit dan sel plasma (Leeson *et al.*, 1996).

Pulpa merah merupakan masa mirip pasta dan dapat dikerok dari permukaan yang baru dipotong. Susunan pulpa merah lebih rongga dari pulpa putih dan disebuk oleh semua unsur dalam darah yang beredar. Pulpa merah menempati semua ruang yang tidak diisi trabekula dan pulpa putih. Pulpa merah mengandung banyak sekali sinus venosus. Diantara sinus-sinus, pulpa tampak sebagai corda selular (corda limpa atau corda Billroth) yang membentuk jalinan jaringan limfatisik yang mengalami modifikasi. Berlubang-lubang seperti bunga karang, yang berangsurngsur menyatu dengan pulpa putih. Penyokong pulpa adalah retikulum yang khas dengan sel retikularnya yang primitif dan yang fagositik. Dalam anyaman kerangka ini terdapat limfosit, makrofag bebas dan semua unsur darah yang beredar. Pada banyak mamalia dan embrionya, pulpa merah limpanya mengandung megakariosit, mielosit dan eritroblas. Unsur-unsur mielosit ini tidak terdapat lagi dalam limpa orang dewasa kecuali pada keadaan patologik tertentu bilamana limpa mengalami metaplasia mieloid (Leeson *et al.*, 1996).

c. Indeks mitotik

Makhluk hidup terdiri dari bagian-bagian yang terkecil yang disebut sel. Sel hidup akan selalu mengalami perubahan, bisa membesar, memperbanyak (proliferasi), menua atau bahkan mengalami kematian. Semua peristiwa tersebut dapat terjadi karena adanya siklus sel. Pada dasarnya siklus sel bertujuan untuk mempertahankan keseimbangan dan keselarasan fungsi tubuh (homeostasis), pertumbuhan, regenerasi, berkembang biak atau untuk mengganti sel yang mati (Rizali and Auerkari, 2003).

Umumnya sel eukariotik yang sedang tumbuh, mempunyai siklus pembelahan sel yang secara keseluruhan memerlukan waktu 16-24 jam, tetapi ada sebagian yang hanya memerlukan waktu 6-8 jam dan sebagian yang lain memerlukan waktu lebih dari 100 hari. Perbedaan ini terjadi karena variasi dari fase G1 (Meiyanto, 2002).



Gambar 2. Siklus sel (Robens, 2000)

Perjalanan daur sel dimulai dari adanya *signal* ekstraselular yang berupa faktor pertumbuhan akan memacu pertumbuhan sel melalui proses signal transduksi. Aktivitas *signal* transduksi melalui proses fosforilasi yang melibatkan ATP sebagai sumber fosfat. Suatu protein akan mengambil fosfat dari ATP dan dilekatkan pada protein vektornya, begitu seterusnya dalam suatu rangkaian yang berakhir didalam nukleus (Weinberg, 1996).

Di dalam nukleus, suatu aktivator transkripsi akan merespon dengan mengaktifkan sekelompok gen yang diperlukan sel untuk melakukan siklus pertumbuhan. Adanya aktivator transkripsi akan menyebabkan sel yang semula berada pada fase G₀ masuk ke fase G₁. Pada fase ini sel akan mensintesis protein khusus antara lain Cyc. (*cyclin*) dan Cdk (*cyclin dependent kinase*). CycD membentuk kompleks dengan Cdk4 atau Cdk6 dan memfosforilasi pRb. Fosforilasi pRb menyebabkan pelepasan E2F, suatu faktor transkripsi yang menginduksi transkripsi CycE dan CycA. Fosforilasi pRb dilanjutkan oleh kompleks CycE-Cdk2 dan kemudian oleh CycA-Cdk2 dan menjadi pRb yang sangat terfosforilasi. Protein E2F menginduksi gen-gen yang esensial untuk sintesis, mitosis dan terjadinya cell

cycle progression. Pada tiap tahap dari *cell cycle* baik G1, S, G2 atau M ada mekanisme kontrol/*check point* yang melibatkan p53, pRb, INK4 (*Cdk-inhibitor*) dan ARF. Mekanisme ini menyebabkan *delay*, *arrest* atau kematian sel bila ada hal yang tidak sesuai, misalnya ada DNA yang rusak atau tidak tereplikasi (King, 2000).

Sel hidup harus selalu dalam keadaan seimbang, bila ada pertumbuhan yang berlebih maka akan dikompensasi dengan adanya kematian sel sehingga keadaan akan kembali seimbang. Kematian sel bisa berupa nekrosis yaitu kematian sel yang disertai peradangan atau apoptosis yang tidak menimbulkan peradangan (Rizali and Auerkari, 2003).

Apoptosis adalah kematian seluler yang bersifat aktif dan terprogram yang terjadi sebagai tanggapan terhadap stimulus tertentu (TNF- α atau Fas L) atau diaktifasi oleh kerusakan sel. Selama apoptosis terjadi kondensasi dan fragmentasi nukleus, pemisahan membran sel dan organela interna serta fragmentasi DNA (MacDonald and Ford, 1997; Hannun, 1997).

Sebagian besar peristiwa apoptosis didahului oleh pelepasan *citokrom C* dari mitokondria. Pelepasan *citokrom C* dari mitokondria diatur oleh protein proapoptosis (Bad, Bax, Bid) serta protein antiapoptosis (Bcl-2 dan Bcl-XL) (Desagher and Martinou, 2000). *Citokrom C* akan mengaktifkan caspase 9 dan caspase-caspase lainnya. Caspase merupakan efektor utama apoptosis (Hanahan and Weinberg, 2000).

Keseimbangan proliferasi sel dan apoptosis sangat penting dalam pertumbuhan dan homeostasis jaringan normal. Pada sel kanker keseimbangan ini sudah tidak berjalan (Guo and Hay, 1999). Sel kanker mempunyai kemampuan dalam memenuhi kebutuhan terhadap *signal* pertumbuhan, tidak sensitif terhadap *signal* antiproliferatif, mampu menghindar dari mekanisme apoptosis dan mempunyai kemampuan replikasi yang tak terbatas (Hanahan and Weinberg, 2000). Hal ini mengakibatkan sel kanker akan berproliferasi terus menerus, sehingga untuk mengetahui aktivitas sel tumor dapat ditentukan dengan aktivitas proliferasi selnya (Rizali and Auerkari, 2003).

Teknik penentuan aktivitas proliferasi sel pada sel tumor, antara lain :

1. Teknik monoclonal Ki-67

Teknik ini sangat baik dalam mengenali kehadiran antigen dalam inti sel pada semua fase siklus sel kecuali G0 sehingga teknik ini dapat digunakan untuk menentukan aktivitas proliferasi sel.

2. Teknik BLI (*Bromodeoxyuridine Labeling Index*)

Digunakan antibody monoklonal BrdU yang dapat mengevaluasi fase S pada siklus sel baik pada sel tumor primer maupun yang sudah mengalami metastasis.

3. Teknik pewarnaan silver (AgNOR)

Nuclear Organizer Regions (NOR) adalah loop DNA pada tangan pendek kromosom akrosentrik (13, 14, 15, 21 dan 22) dalam nukleoli sel dan berhubungan dengan aktivitas gen ribosomal RNA sintesa protein dan proliferasi sel. Jumlah AgNOR per nukleus berkorelasi positif dengan aktifitas proliferasi sel (Lee *et al.*, 1999 ; Rizali and Auerkari, 2003).

4. Indeks mitotik

Tehnik ini merupakan tehnik yang memanfaatkan hasil pengecatan preparat dengan Hematoksillin Eosin. Pada kondisi normal, mitosis terjadi sangat lambat. Sedangkan pada kondisi karsinogenesis, mitosis berlangsung sangat tinggi. Dengan menghitung prosentase sel yang sedang bermitosis (inti sel lebih dari satu) terhadap sel fase G0 menunjukkan tingkat proliferasi sel. Semakin tinggi indeks mitotik semakin tinggi pula tingkat proliferasinya.

Hipotesis

Paparan radiasi sinar ultra violet meningkatkan aktivitas sistem imun mencit melalui peningkatan ukuran diameter pulpa putih limpa dan meningkatnya aktivitas mitosis mencit sehingga indeks mitotik juga meningkat.

4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek radiasi sinar ultra violet dengan mengamati parameter diameter pulpa alba limpa dan indeks mitotik pada mencit:

5. Kontribusi Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat diambil manfaatnya untuk pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan kaitannya dengan radiasi sinar ultraviolet,

juga sebagai wacana bagi peneliti lain yang mempunyai minat untuk meneliti radiasi sinar ultra violet di bidang kesehatan sehingga dapat dimanfaatkan untuk penelitian lebih lanjut dengan memberikan intervensi tanaman obat misalnya.

6. Metode Penelitian

a. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat untuk radiasi sinar ultra violet meliputi lampu ultra violet merek Chiyoda Seiki 2 x 15 Watt, range 280-320 nm, peak 312 nm (*medium wave*) dalam *dark room* dari *box* alumunium ukuran 60x40x30cm. Objek gelas, micrometer, mikroskop cahaya, seperangkat alat untuk pembuatan preparat histologi limpa dan indeks mitotik pada mencit.

b. Bahan

Seperangkat bahan kimia untuk pembuatan preparat histologi limpa dan menghitung indeks mitotik mencit dengan teknik pewarnaan HE.

c. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit galur Balb C, betina, berjumlah 20 ekor, umur 2 bulan dan berat badan 20-30g.

d. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post-test only control group design*. Metode penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental laboratorium *in vivo* pada hewan uji mencit.

e. Variabel penelitian

1. Variabel bebas adalah radiasi sinar ultra violet.
2. Variabel tergantung adalah histologi limpa mencit dengan mengukur diameter pulpa putih, dan indeks mitotik pada mencit.
3. Variabel luar yang dikendalikan adalah umur mencit yang sama, berat badan mencit rata-rata sama, faktor genetik dengan menggunakan mencit jenis kelamin betina, faktor lingkungan tempat pemeliharaan mencit yang sama dan waktu pengambilan sampel pada saat yang sama diantara kelompok hewan uji.

f. Cara Kerja

Kegiatan penelitian ini dibagi menjadi 6 tahapan, yaitu :

i. Tahap persiapan.

Meliputi persiapan alat dan bahan penelitian, serta persiapan hewan uji. Hewan uji diadaptasikan selama 1 minggu sebelum penelitian di Laboratorium Penelitian Biomedik Fakultas Kedokteran UMY. Hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok yaitu :

Kelompok 1: Kelompok Perlakuan I, diberi paparan sinar uv 3 mnt/hari

Kelompok 2: Kelompok Perlakuan II, diberi paparan sinar uv 6 mnt/hari

Kelompok 3 : Kelompok Perlakuan III, diberi paparan sinar uv 12 mnt/hari

Kelompok 4 : Kontrol negatif yang tidak mendapat perlakuan

ii. Paparan radiasi dengan sinar ultra violet

Pada kulit punggung mencit kelompok perlakuan (P1-PIII), diberi paparan sinar ultra violet dengan lampu ultra violet merek Chiyoda Seiki 2 x 15 Watt, secara akut selama 3 mnt/hr; 6 mnt/hr dan 12 mnt/hr sebanyak 30 kali (modifikasi Suhartono *et al.*, 2004).

iii. Tahap pelaksanaan penelitian.

Selama 30 hari berturut-turut, hewan uji kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) diberi perlakuan radiasi ultraviolet pada pagi hari selama 3 menit/hari (kelompok P1), 6 menit/hari (kelompok P2) dan 12 menit/hari (kelompok P3), sedangkan kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apa-apa. Pada hari ke-31, mencit dikorbankan untuk diambil organ limpa dan kulit punggungnya dan dibuat preparat histologi.

iv. Pembuatan preparat histologi limpa mencit

Preparat histologi limpa dibuat di laboratorium Histologi FK UGM dengan metode paraffin dan teknik pewarnaan HE (Hematoksilin Eosin). Preparat limpa diamati secara umum dan diukur diameter pulpa putih dengan micrometer diletakkan di lensa okuler dengan perbesaran 10x10, hasilnya dikalikan 14x untuk satuan micron.

v. Pengukuran indeks mitotik mencit

Pada preparat kulit punggung mencit, diamati sel-sel pada stratum basale epidermis. Diamati aktivitas mitosis sel-sel tersebut dari 100 sel yang ada. Sel

yang sedang dalam keadaan mitosis ditandai dengan kromosom tersebar pada bagian inti (profase), kromosom di bidang tengah (metafase), kromosom di ujung (masing-masing kutub) (anafase), atau terbentuk 2 inti baru (telofase).

vi. Analisis Data

Data yang diperoleh adalah diameter pulpa alba limpa dan indeks mitotik mencit mempunyai tingkat pengukuran interval 4 kelompok sehingga dianalisis dengan *One Way Anava* dan jika terdapat perbedaan yang bermakna diteruskan dengan uji t untuk mengetahui letak perbedaan antar kelompok (Pratiknya, 2003).

7. Jadwal Pelaksanaan

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan dalam waktu 6 bulan dengan perincian sebagai berikut :

NO	KEGIATAN	BULAN KE					
		1	2	3	4	5	6
1	Pengurusan perijinan						
2	Persiapan alat dan bahan						
3	Pelaksanaan penelitian, paparan sinar ultra violet						
4	Pembuatan preparat histologi limpa dan kulit mencit						
5	Pembacaan hasil, pengamatan diameter pulpa alba limpa dan indeks mitotik kulit mencit						
6	Analisis data						
7	Pembuatan laporan						

8. Personalia Penelitian

Jika peneliti merupakan kelompok, maka susunan tim peneliti disusun sebagai berikut:

- a. Ketua Peneliti
- b. Nama Lengkap dan Gelar : SN Nurul Makiyah,S.Si.,M.Kes
- c. Golongan Pangkat dan NIP : Penata/IID/173005
- d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- e. Jabatan Struktural : Kabag Histologi FK UMY
- f. Fakultas/Program Studi : FK/KU
- g. Perguruan Tinggi : UMY
- h. Bidang Keahlian : Histologi
- i. Waktu untuk Penelitian ini : 7 jam/minggu
- j. Susunan Tim Peneliti : Desti Pasmawati, NIM : 20060310185
Rainy Iszamriach, NIM : 20060310189
Arie Nofariyandi, NIM : 20060310055
- k. Tenaga Laboran/Teknisi : Ajun Ahmad Kurniawan

9. Perkiraan Biaya Penelitian

Rincian	Jumlah (Rp)
1. Honorarium	1.000.000,-
2. Peralatan dan bahan (<i>Material Penelitian</i>)	2.300.000,-
3. Biaya Pengeluaran Lain-lain; meliputi □ Pembuatan Laporan	200.000,-
Total perkiraan biaya penelitian =	3.500.000,-

Rincian :

1. Honorarium (Rp,-)

Nama	Jabatan	Jumlah
SN Nurul Makiyah, S.Si.,M.Kes	Peneliti Utama	450.000,-
Desti Pasmawati	Anggota Peneliti 1	200.000,-
Rainy Issamriach	Anggota Peneliti 2	200.000,-
Ajun Ahmad Kurniawan	Laboran	150.000,-
TOTAL		1.000.000,-

2. Peralatan dan bahan

Nama Komponen	Volumé	Harga Satuan	Jumlah (Rupiah)
Mencit 2 bulan	20 ekor	25.000	500.000,-
Pakan tikus	20 kg	5.000	100.000,-
Sekam	1 karung	25.000	25.000,-
Sewa kandang	lsm	lsm	100.000,-
Sewa alat uv	30 kali	5.000	150.000,-
Pembuatan preparat limpa	20 sampel	50.000	1.000.000,-
Alat bedah	lsm	lsm	50.000,-
Masker	1 dos	75.000	75.000,-
Handscoen	1 dos	50.000	50.000,-
Formalin 40%	1 liter	150.000	150.000,-
Dokumentasi	lsm	lsm	100.000,-
JUMLAH			2.300.000,-

11. Lampiran-lampiran

a. Daftar Pustaka

Allen, J. 2001. *Ultraviolet Radiation : How It Affects Life On Earth*. Available on Earth Observatory Library retrieved at Sept 6th 2001.

Bellanti, J.A. 1993. *Immunology III*. W.B. Saunders Company, Philadelphia

Bloom & Fawcet. 2002. *Histologi*, 12th ed. Jakarta. EGC

Bunawas, 1999. Radiasi Ultraviolet dari Matahari dan Risiko Kanker Kulit. *Cermin Dunia Kedokteran* (122): 9-12

Fisher MS, Kripke ML(1977). Systemic alteration induced in mice by ultraviolet light irradiation carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:1688.

Hanahan, D.,and Weinberg, R.A.,2000, The Hallmarks of Cancer, *Cell*, 100,57-70

Ilyas S. (1997). *Ilmu Penyakit Mata*. Jakarta. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Jiang, W., Ananthaswamy, HN., Müller, HK., Ouhtit, A., Bolshakov, S., Ullrich, SE., et al., (2001). UV irradiation augments lymphoid malignancies in mice with one functional copy of wild-type p53. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9790

Junqueira, L.C., Carneiro J: (2005). *Histologi Dasar*, jakarta. EGC.

King, R.J.B., 2000; *Cancer Biology*, 2nd edition, Pearson Education Ltd., London

Kripke ML.(1974) antigenicity of murine skin tumors induced by ultraviolet light. *J Natl Cancer Inst* 53:1333.

Lee, Y-C., Chern, J-H., Pan, C-C., Chang, S-C. and Perng, R-P., 1999, Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions in Cells of Thymoma and Thymic Carcinoma "Correlation with DNA Ploidy and Clinicoopathologic Characteristic", *Chest* 115, 1115-1119.

Leeson, C.R., Leeson, T.S., Paparo A.A.(1996). Buku Ajar Histologi., Ed. 5.. Jakarta. EGC

Matsumura, Y. & Ananthaswamy H. N. (2004). "Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin". Toxicology and Applied Pharmacology Volume 195, Issue 3, pp. 298-308.

Meiyanto, E.; 2002, Kurkumin sebagai anti-kanker; menelusuri mekanisme aksinya (Review), *MFI*, 10 (4),224-23

Pratiknya A.W, 2003. Statistik dalam Bidang Kedokteran dan Kesehatan. Edisi 7. Penerbit Bina Irisani. Jakarta.

Rizali Ervin dan Auerkari Elza I., 2003, Teknik Pewarnaan Silver (AgNOR) Sebagai Salah Satu Cara Menentukan Aktivitas Proliferasi Sel Tumor dan Apoptosis, *Jurnal Kedokteran Gigi Indonesia*, 10 (3), 41-45

Roitt, IM & Delves, PJ. (2001). *Essential Immunology*. (10th ed.). Blackwell Science Ltd.

Schwarz. (2005). Ultraviolet radiation--immune response. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2005 Sep;3 Suppl 2:S11-8.

Subowo, 1993. Imunologi Klinik. Penerbit Angkasa Bandung.

Suprayitno & Messmer, M. (1996). *Perusakan Lapisan Ozon*. PPPGT / VEDC. Malang.

b. Riwayat Hidup Peneliti

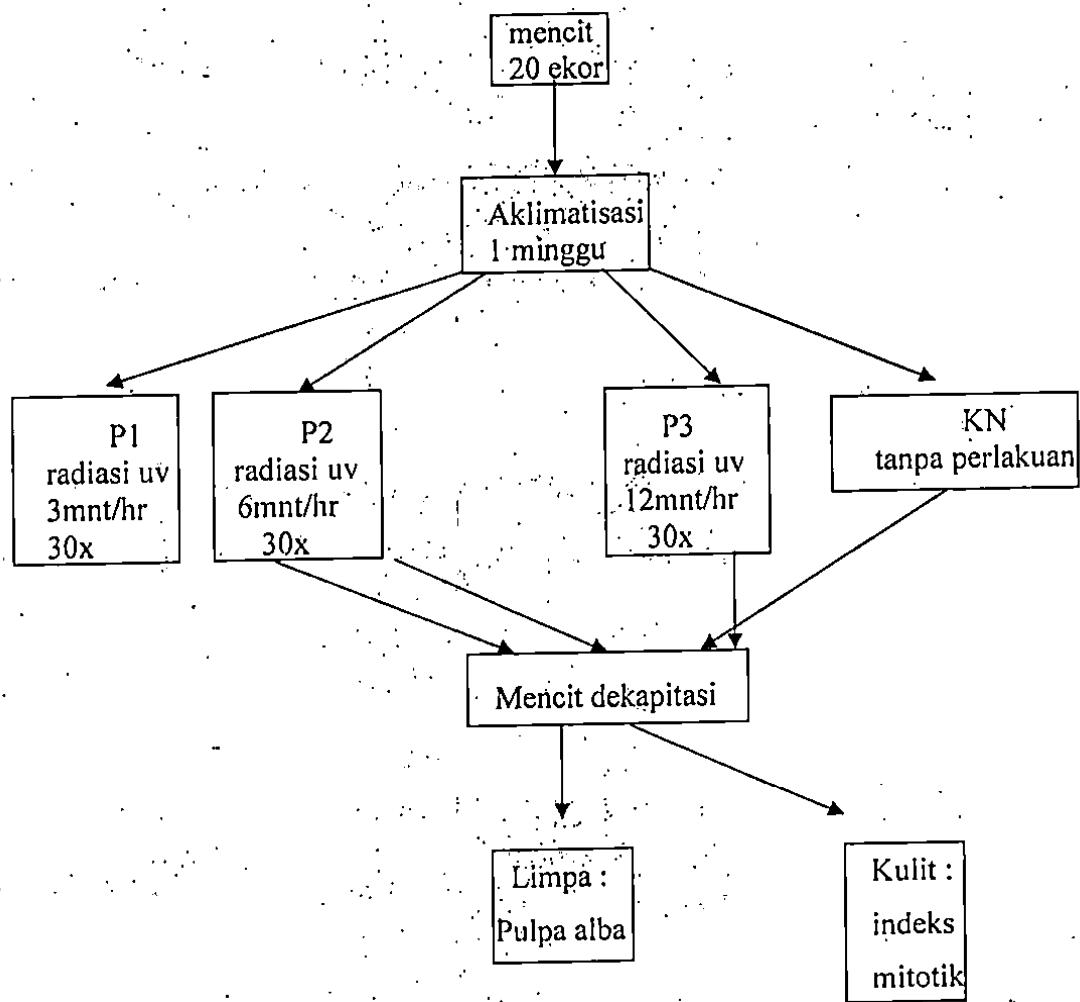
1. Nama : Sri Nabawiyati Nurul Makiyah, S.Si.,M.Kes
2. Tempat, tanggal lahir : Sala, 4 Agustus 1969
3. Jenis Kelamin : Perempuan
4. Fakultas : Kedokteran
5. Pangkat/Golongan/NIK : Lektor Kepala / III D / 173 005
6. Bidang Keahlian : Histologi & Biologi Sel
7. Alamat Kantor : Jln Lingkar Barat, Taman Tirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta
8. Alamat Rumah : Betakan, Sumberrahayu, Moyudan, Sleman
Telepon : 08157949069
9. Pendidikan

Jenjang Pendidikan	Tempat	Tahun selesai	Gelar
S-1	Fak. Biologi UGM	1994	S.Si
S-2	Fak. Kedokteran UGM Minat Utama Histologi	1999	M.Kes

10. Pengalaman dalam bidang Penelitian

No.	Judul Penelitian	Tahun
1	Efek Kemopreventif Ekstrak etanolik Biji Jinten Hitam (<i>Nigella sativa</i>) pada terjadinya kanker kulit terinduksi ultraviolet	2006
2	Efek Paparan Sinar Ultra Violet secara Kronis terhadap Gambaran Histologi Limpa pada Mencit	2005
3	Gambaran histologis limpa setelah paparan madu pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	2004
4	Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek dan Rokok Putih terhadap Hitung Jenis Leukosit pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	2003

c. Bagan Alir Jalannya Penelitian :





Jl. Lingkar Barat, Tamanrto, Kasihan, Yogyakarta 55183
Telp. (0274) 387656 (Hunting) Fax. (0274) 387646

KARTU MAHASISWA AKTIF SEMESTER GENAP 2008/2009

Desti Pasmawati

N P M : 20060310185
Tempat, tgl lahir : Palembang, 27 Mar 1989
Fakultas : KEDOKTERAN
Program Studi : S1. PENDIDIKAN DOKTER
Alamat : Kepuh GK.III/1139 Yogyakarta 55222



Berlaku sampai dengan
31 Agustus 2009

UMY

A Learning and Enlightenment University

- Kartu ini harus selalu dibawa selama mengikuti kegiatan di lingkungan kampus
- Kartu ini tidak dapat digunakan sebagai agunan transaksi dalam bentuk apapun
- Kartu ini dan penggunaannya tidak dapat dipindah tanggalkan dengan cara apapun
- Penggantian kartu karena hilang, harus ada surat keterangan dari kepolisian

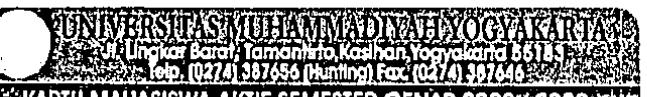
Yogyakarta, 2 Februari 2009

Rector

H.M. Dasron Hamid, M.Sc.

BAIRO AKADEMIK

Telp. (0274) 387656 Pesawat 138158, Fax. (0274) 387646



Jl. Lingkar Barat, Tamanrto, Kasihan, Yogyakarta 55183
Telp. (0274) 387656 (Hunting) Fax. (0274) 387646

KARTU MAHASISWA AKTIF SEMESTER GENAP 2008/2009

Arie Nofariyandi

N P M : 20060310055
Tempat, tgl lahir : Pagatan, 29 Nop 1988
Fakultas : KEDOKTERAN
Program Studi : S1. PENDIDIKAN DOKTER
Alamat : Jl.Gambir no.4 RT.32/9 Baciro 55225



Berlaku sampai dengan
31 Agustus 2009

UMY

A Learning and Enlightenment University

- Kartu ini harus selalu dibawa selama mengikuti kegiatan di lingkungan kampus
- Kartu ini tidak dapat digunakan sebagai agunan transaksi dalam bentuk apapun
- Kartu ini dan penggunaannya tidak dapat dipindah tanggalkan dengan cara apapun
- Penggantian kartu karena hilang, harus ada surat keterangan dari kepolisian

Yogyakarta, 2 Februari 2009

Rector

H.M. Dasron Hamid, M.Sc.

UMY

A Learning and Enlightenment University

- Kartu ini harus selalu dibawa selama mengikuti kegiatan di lingkungan kampus
- Kartu ini tidak dapat digunakan sebagai agunan transaksi dalam bentuk apapun
- Kartu ini dan penggunaannya tidak dapat dipindah tanggalkan dengan cara apapun
- Penggantian kartu karena hilang, harus ada surat keterangan dari kepolisian

Yogyakarta, 2 Februari 2009

Rector

BAIRO AKADEMIK

Telp. (0274) 387656 Pesawat 138158, Fax. (0274) 387646



Jl. Lingkar Barat, Tamanrto, Kasihan, Yogyakarta 55183
Telp. (0274) 387656 (Hunting) Fax. (0274) 387646

KARTU MAHASISWA AKTIF SEMESTER GENAP 2008/2009

Rainy Iszamriach

N P M : 20060310189
Tempat, tgl lahir : Jakarta, 5 Des 1986
Fakultas : KEDOKTERAN
Program Studi : S1. PENDIDIKAN DOKTER
Alamat : Komp Kolombo No. 60 Yogyakarta 55281



Berlaku sampai dengan
31 Agustus 2009

UMY

A Learning and Enlightenment University

- Kartu ini harus selalu dibawa selama mengikuti kegiatan di lingkungan kampus
- Kartu ini tidak dapat digunakan sebagai agunan transaksi dalam bentuk apapun
- Kartu ini dan penggunaannya tidak dapat dipindah tanggalkan dengan cara apapun
- Penggantian kartu karena hilang, harus ada surat keterangan dari kepolisian

Yogyakarta, 2 Februari 2009

Rector

H.M. Dasron Hamid, M.Sc.

BAIRO AKADEMIK

Telp. (0274) 387656 Pesawat 138158, Fax. (0274) 387646

Inv / Prey.	15-2-2013
Class/Fitnes	FKIK.12 - 2013 e2
Jml Paket	60
	00