



**WAKTU *OPTIMAL RECOVERY* SEL NEUTROFIL TIKUS
WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) SETELAH
PAJANAN RADIASI DOSIS RENDAH
1,54 mGy**

SKRIPSI

Oleh

**Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya
NIM 151610101086**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**WAKTU *OPTIMAL RECOVERY* SEL NEUTROFIL TIKUS
WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) SETELAH
PAJANAN RADIASI DOSIS RENDAH
1,54 mGy**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

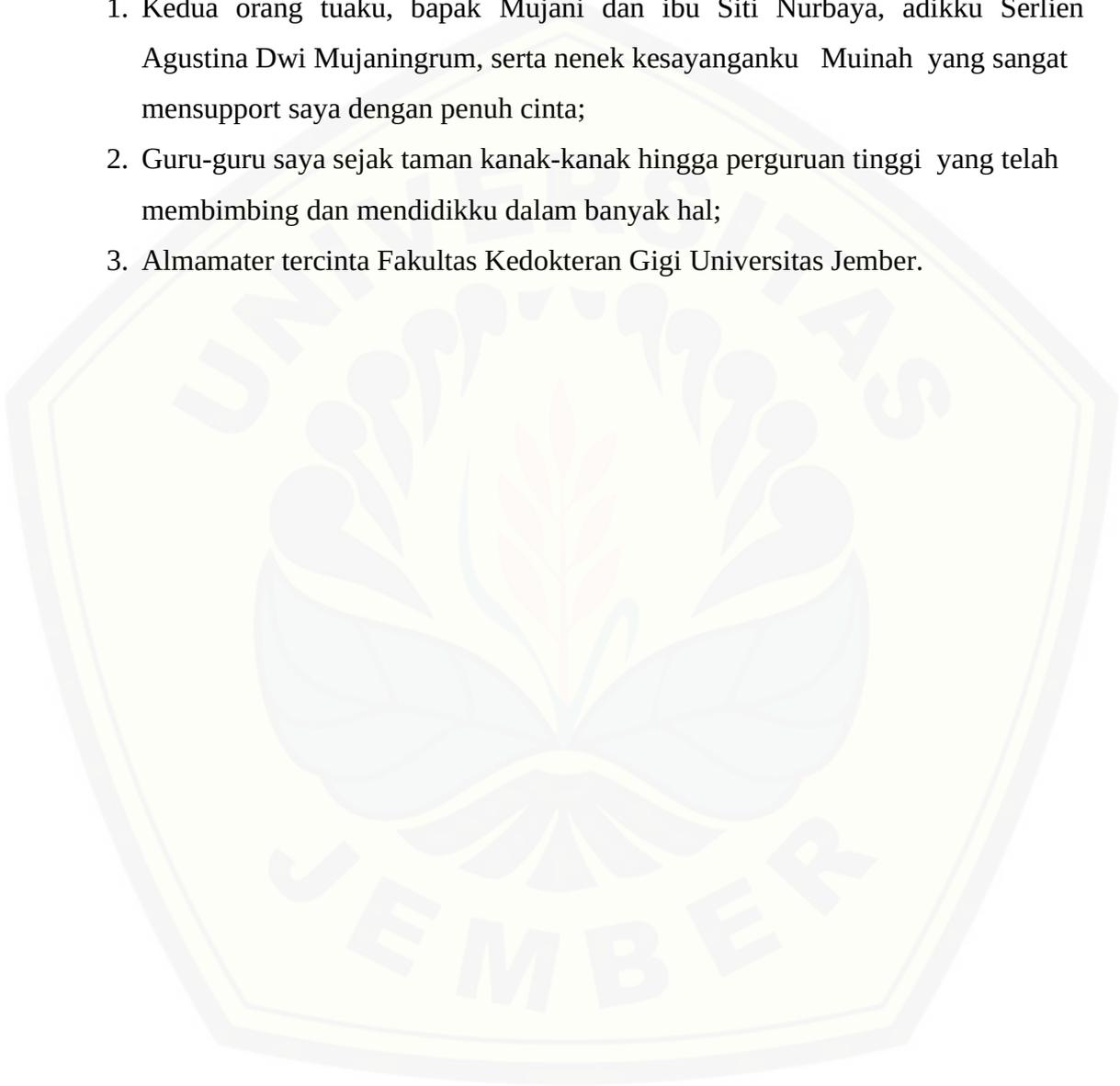
**Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya
NIM 151610101086**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Dengan segenap kerendahan hati skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tuaku, bapak Mujani dan ibu Siti Nurbaya, adikku Serlien Agustina Dwi Mujaningrum, serta nenek kesayanganku Muinah yang sangat mensupport saya dengan penuh cinta;
2. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah membimbing dan mendidikku dalam banyak hal;
3. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



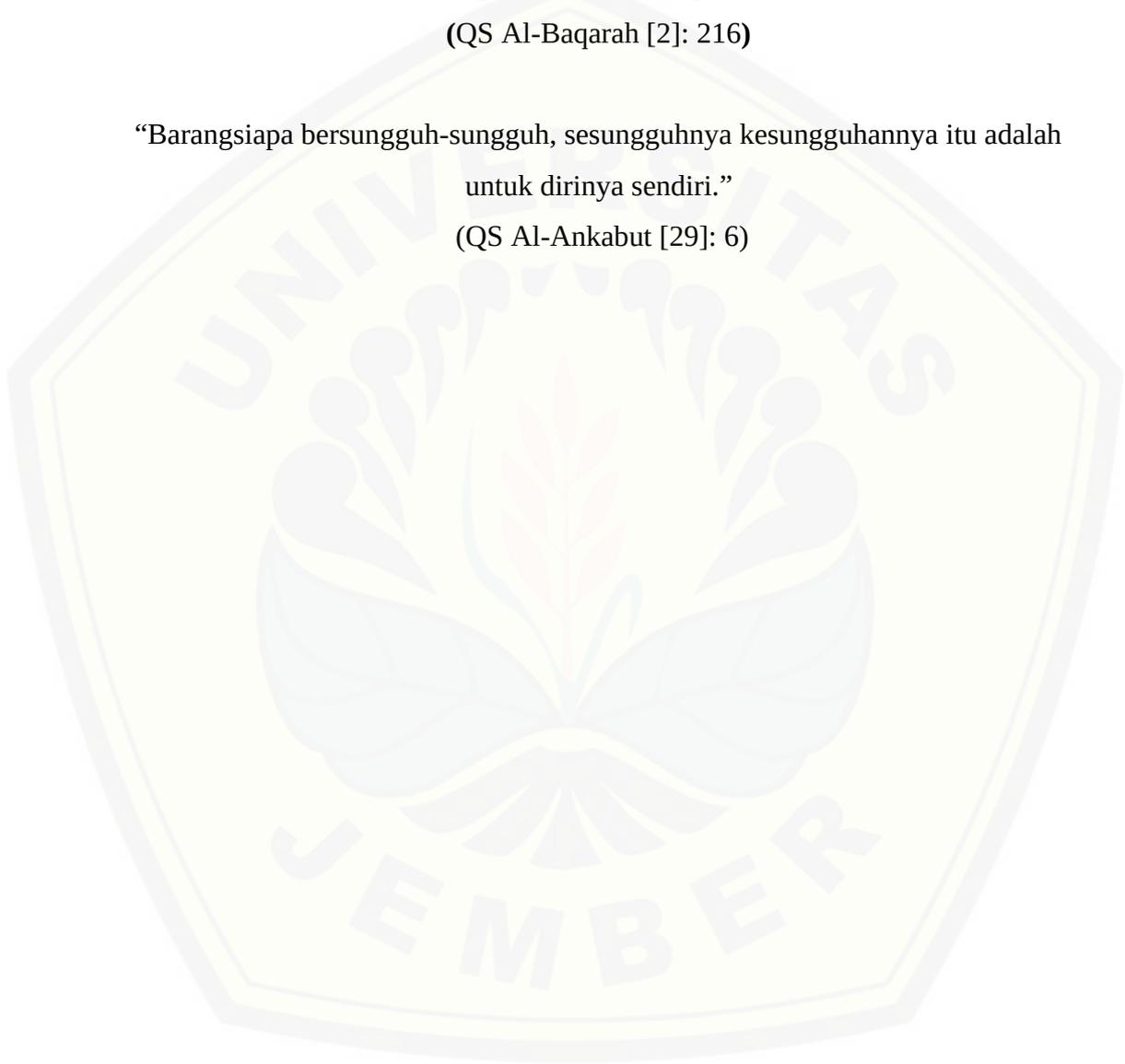
MOTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi pula kamu menyukai sesuatu padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui sedang kamu tidak mengetahui”

(QS Al-Baqarah [2]: 216)

“Barangsiapa bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhannya itu adalah untuk dirinya sendiri.”

(QS Al-Ankabut [29]: 6)



Departemen Agama RI. 2009. *Al-qur`an dan Terjemahnya* . Solo: PT. Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya

NIM : 151610101086

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Waktu *Optimal Recovery* Sel Neutrofil Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Setelah Paparan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 Mei 2019

Yang menyatakan

(Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya)

NIM 151610101086

SKRIPSI

**WAKTU *OPTIMAL RECOVERY* SEL NEUTROFIL TIKUS
WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) SETELAH
PAJANAN RADIASI DOSIS RENDAH
1,54 mGy**

Oleh

Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya

NIM 151610101086

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Winny Adriatmoko, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul " Waktu *Optimal Recovery* Sel Neutrofil Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Setelah Paparan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy " telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : 2 Mei 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

drg. Kiswaluyo, M.Kes

NIP. 196708211996011001

drg. Sulistiyani, M.Kes

NIP. 196601311996012001

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes

NIP. 198103212005012003

drg. Winny Adriatmoko, M.Kes

NIP. 195610121984031002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Waktu *Optimal Recovery* Sel Neutrofil Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Setelah Paparan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy; Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya; 151610101086; 2018; 71 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pemeriksaan radiografi merupakan salah satu metode untuk menegakkan diagnosa yang digunakan pada pelayanan kesehatan. Radiasi sinar x dosis rendah intraoral yang sering digunakan adalah radiografi periapikal dengan *effective dose equivalent* 1,54 mGy. Radiasi ionisasi dapat menimbulkan kerusakan bahkan kematian terhadap sel, jaringan atau organ dalam tubuh selain memberikan manfaat untuk menegakkan diagnosa. Radiasi ionisasi dapat mengakibatkan apoptosis sel neutrofil yang sensitif terhadap radiasi ionisasi. Neutrofil mampu melakukan *recovery* (regenerasi) untuk kembali ke jumlah normal dalam sirkulasi darah setelah paparan radiasi ionisasi seperti sebelum paparan radiasi. Waktu *optimal* yang dibutuhkan sel neutrofil untuk *recovery* tergantung pada dosis radiasi ionisasi yang diberikan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui waktu *optimal recovery* sel neutrofil setelah paparan radiasi sinar x dosis rendah 1,54 mGy.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Bagian biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember, dan Instalasi Radiologi Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember pada bulan September hingga Oktober 2018.

Sampel penelitian adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) dengan kriteria jenis kelamin jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram dan dalam keadaan sehat. Besar sampel ditentukan dengan rumus Federrer dan didapatkan $n \geq 4$. Sampel dibagi menjadi 6 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol yang tidak diberi paparan radiasi dan 5 kelompok perlakuan yang diberi paparan radiasi dosis

1,54 mGy dengan waktu pengambilan darah yang berbeda. Masing-masing kelompok berjumlah 4 ekor tikus, sehingga total sampel yaitu 24 ekor tikus. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah untuk dilakukan isolasi neutrofil pada 12 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam setelah pajanan radiasi, kemudian dilakukan isolasi sel neutrofil dan dilihat presentase viabilitasnya.

Analisis data menggunakan uji statistik non-parametrik *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal dan homogen. Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna presentase jumlah sel neutrofil antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0,05$). Dilakukan uji lanjutan *Mann-Whitney U* dan diketahui hasil uji *Mann-Whitney U* menunjukkan bahwa perbedaan bermakna terdapat pada beberapa kelompok dengan $p = 0,014$ dan $p = 0,018$. Hasil yang tidak bermakna berdasarkan urutan waktu pengambilan darah dari jangka waktu terpendek setelah pajanan radiasi dengan $p = 1,000$ terdapat pada kelompok 4 (kelompok perlakuan 3) dengan pengambilan darah 48 jam setelah pajanan radiasi. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah neutrofil antara kelompok kontrol dan kelompok 4 (kelompok perlakuan 3). Hasil analisis ini menunjukkan bahwa waktu *optimal recovery* terjadi 48 jam setelah pajanan radiasi.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas anugerah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Waktu *Optimal Recovery* Sel Neutrofil Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Setelah Pajanan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy”, sebagai salah satu syarat penyelesaian program sarjana (S1) Jurusan Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku, bapak Mujani dan ibu Siti Nurbaya yang telah menyayangi dengan tulus, mendidik, memberi semangat, dan selalu mengiringku dalam doa selama ini hingga kapanpun;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya dalam membimbing dan menuntun saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih yang tak terhingga atas kesabaran dan bimbingannya selama ini;
4. drg. Winny Adriatmoko, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi bagi hidup saya. Terima kasih yang tak terhingga untuk kesabaran dan perhatiannya selama ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. drg. Kiswaluyo, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Sulistiyani, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran serta telah memberikan waktu, perhatian, bimbingan, dan motivasinya hingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Depi Praharani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi yang tak terhingga dalam perjalanan studi penulis selama menjadi mahasiswa;
7. Staf Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yaitu mas Agus yang banyak membantu selama jalannya penelitian;

8. Staf Instalasi Radiologi RSGM Universitas Jember yaitu mas Nanang atas waktu dan bantuan yang diberikan selama jalannya penelitian;
9. Staf Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember yaitu mas Erwan, Mbak Ning, dan Mbak azizah atas waktu dan bantuan yang diberikan selama jalannya penelitian;
10. Seluruh dosen dan staf akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas dukungan, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
11. Adikku tersayang Serlien Agustina Dwi Mujaningrum serta keluarga besar alm. Kasmidi atas segala kasih sayang, dukungan, semangat, dan doa yang diberikan;
12. Organisasi dan komunitas selama masa kuliah : Dentine FKG Unej, Insisiv FKG Unej, dan ID FKG Unej;
13. Teman-teman angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
14. Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang turut mendukung dalam doa dan memberikan motivasi.

Penulis juga menerima semua kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk melengkapi dan menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 2 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sinar x	4
2.1.1 Definisi Sinar X	4
2.1.2 Proses Terjadinya Sinar X	4
2.1.3 Interaksi Sinar X dengan Materi	5
2.2 Radiasi Ionisasi	6
2.2.1 Radiasi Dosis Rendah	7
2.3 Efek Biologis Radiasi Ionisasi	8
2.4 Neutrofil	9
2.4.1 Morfologi Neutrofil	9
2.4.2 Pembentukan Neutrofil	11
2.4.3 Efek Radiasi Terhadap Neutrofil	12

2.4.4 Proses <i>Recovery</i> Sel Neutrofil	13
2.5 Radikal Bebas	14
2.5.1 Definisi dan Jenis Radikal Bebas	14
2.5.2 Struktur Kimia Radikal Bebas	15
2.6 Apoptosis	17
2.6.1 Definisi Apoptosis	17
2.6.2 Mekanisme Apoptosis.....	17
2.7 Kerangka Konsep Penelitian	21
2.8 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian	22
2.9 Hipotesa	22
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.3 Variabel Penelitian.....	23
3.4 Definisi Operasional.....	24
3.5 Populasi, Sampel, Besar Sampel, Penggolongan Sampel Penelitian	25
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.7 Prosedur Penelitian	28
3.8 Analisis Data	31
3.9 Alur Penelitian	32
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil Penelitian.....	33
4.2 Pembahasan	39
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Presentase Viabilitas Neutrofil Kelompok Kontrol dan Perlakuan	37
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> pada Jumlah Neutrofil	38
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Mann Whitney U</i> pada Jumlah Neutrofil	39

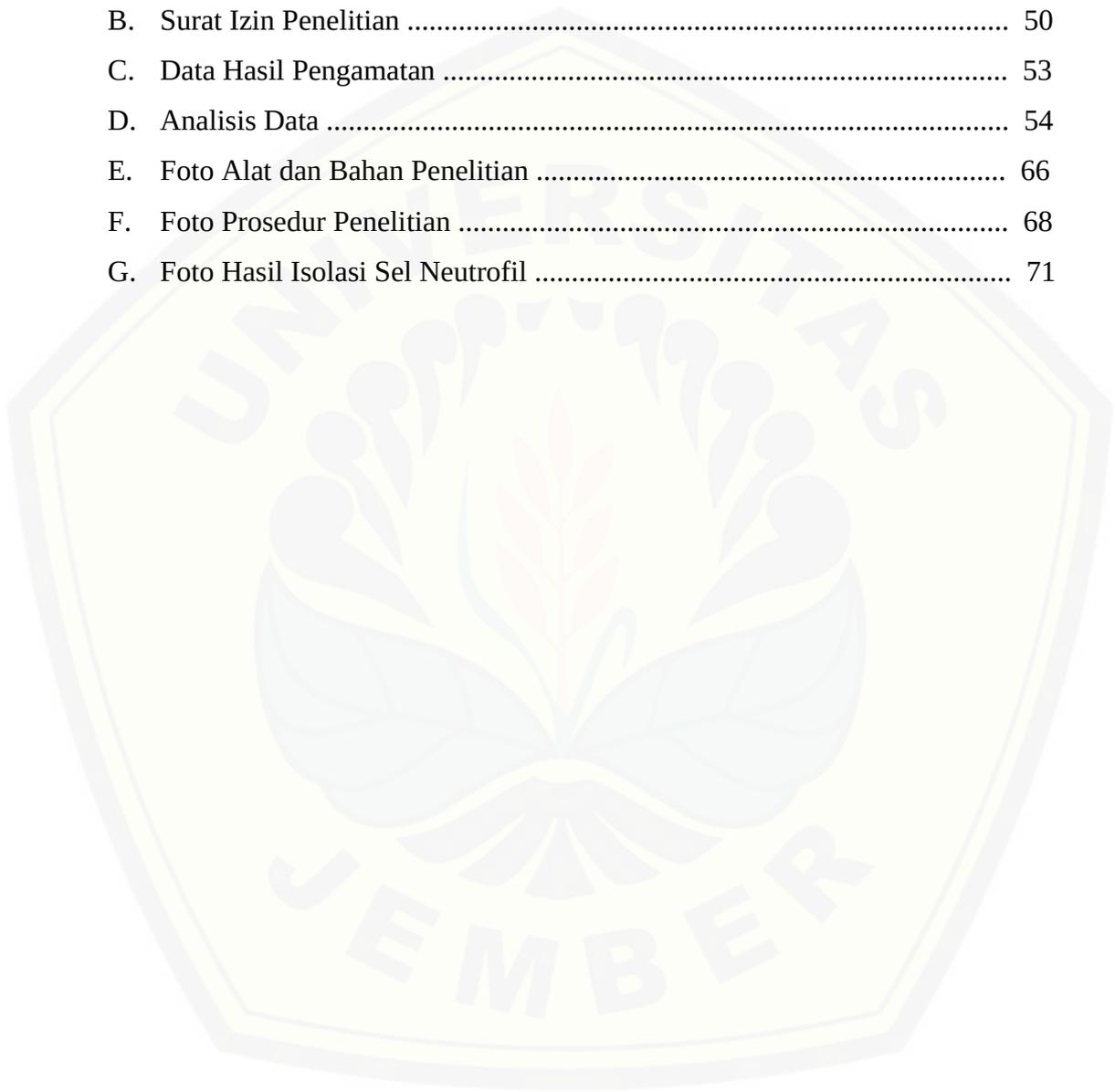


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Proses Interaksi Sinar X dengan Materi	5
Gambar 2.2 Neutrofil Batang	10
Gambar 2.3 Neutrofil Segmen	11
Gambar 2.4 Proses Pembentukan Neutrofil	12
Gambar 2.5 Efek G-CSF Pada <i>Recovery</i> Sel Neutrofil.....	14
Gambar 2.6 Struktur Radikal Bebas	16
Gambar 2.7 Apoptosis Intrinsik	19
Gambar 2.8 Apoptosis Ekstrinsik	19
Gambar 2.9 Mekanisme apoptosis	20
Gambar 2.10 Skema Kerangka Konseptual	21
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian	32
Gambar 4.1 Gambaran Mikroskopis Sel Neutrofil	33
Gambar 4.2 Gambaran Kelompok 1(Kontrol)	34
Gambar 4.3 Gambaran Kelompok 2 (Perlakuan 1)	34
Gambar 4.4 Gambaran Kelompok 3 (Perlakuan 2)	35
Gambar 4.5 Gambaran Kelompok 4 (Perlakuan 3)	35
Gambar 4.6 Gambaran Kelompok 5 (Perlakuan 4)	36
Gambar 4.7 Gambaran Kelompok 6 (Perlakuan 5)	36
Gambar 4.8 Diagram Hasil Perhitungan Viabilitas.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Etichal Clearance	49
B. Surat Izin Penelitian	50
C. Data Hasil Pengamatan	53
D. Analisis Data	54
E. Foto Alat dan Bahan Penelitian	66
F. Foto Prosedur Penelitian	68
G. Foto Hasil Isolasi Sel Neutrofil	71



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan radiografi merupakan salah satu metode untuk menegakkan diagnosa yang digunakan pada pelayanan kesehatan (Nishizawa, 2004). Penggunaan proteksi tubuh dan pertimbangan jarak operator dari sumber radiasi sangat penting untuk meminimalisir masuknya pajanan radiasi ke dalam tubuh. Faktor keselamatan ini sering diabaikan oleh operator maupun pasien di klinik atau instalasi radiologi. Hal ini perlu diwaspadai oleh seluruh praktisi yang bekerja di bidang radiologi (Putra, 2012; Hiswara, 2015), karena penggunaan radiasi ionisasi selain memberikan manfaat juga memberikan dampak yang merugikan. Radiasi ionisasi adalah agen yang kuat dalam menimbulkan kerusakan bahkan kematian terhadap sel, jaringan atau organ dalam tubuh (Supriyadi, 2008). Kematian sel akibat radiasi dapat berupa nekrosis atau apoptosis, tergantung pada dosis dan lama radiasi diberikan serta tergantung dari kecepatan proses kematian sel (Cotran *et al.*, 2014).

Radiasi sinar x dosis rendah yang sering digunakan berada dalam rentang 0,1-10 mGy (Saputra *et al.*, 2012). Radiografi periapikal adalah salah satu contoh penggunaan radiasi sinar x dosis rendah yang merupakan radiografi intraoral paling sering digunakan, dimana *effective dose equivalent* (dosis yang ditetapkan International Commission on Radiological Protection/ICRP berdasarkan sensitivitas jaringan yang terkena radiasi untuk meminimalisir efek radiasi ionisasi) yang digunakan adalah 1,54 mGy (Erna and Supriyadi, 2012; Banun, 2015).

Pajanan radiasi ionisasi dapat menyebabkan gangguan pada sel darah dengan menghambat mitosis pada sel induk dalam sumsum tulang dan sistem limfatik, selain dapat menyebabkan apoptosis secara langsung pada sel darah. Pengaruh radiasi dengan dosis 250 mGy dapat mengakibatkan anemia, leukopenia, dan trombositopenia (Adlina, 2012). Radiasi ionisasi dapat mengakibatkan apoptosis sel neutrofil dan sel neutrofil diketahui sebagai sel darah yang paling sensitif terhadap pajanan radiasi (Akleyev, 2014). Apoptosis yang

berulang pada sel karena pajanan radiasi ionisasi yang terus menerus dapat menyebabkan mutasi yang dapat berkembang menjadi kanker (Syaifudin, 2012).

Neutrofil merupakan sel darah putih yang berfungsi sebagai sistem imun bawaan yang mempunyai daya antiinfeksi dan fungsi proinflamasi (Borregaard, 2010). Pertahanan tubuh akan menurun ketika jumlah neutrofil dalam tubuh menurun karena neutrofil merupakan pertahanan pertama terhadap infeksi yang kadarnya paling banyak dalam tubuh (50-70%) dibandingkan sel darah putih yang lain (Abram and Lowell, 2009).

Neutrofil mampu melakukan *recovery* (regenerasi) untuk kembali ke jumlah normal dalam sirkulasi darah setelah pajanan radiasi ionisasi seperti sebelum pajanan radiasi (Ibrahim *et al.*, 2018). Waktu *optimal* yang dibutuhkan sel neutrofil untuk *recovery* tergantung pada dosis radiasi ionisasi yang diberikan (El-Shanshoury *et al.*, 2016). Produksi neutrofil baru ketika proses *recovery* terjadi karena neutrofil yang apoptosis menyebabkan sel makrofag, sel monosit, sel endotel, dan sel fibroblas menghasilkan G-CSF yang akan menstimulasi pembentukan neutrofil baru di sumsum tulang belakang (Syaifudin, 2012).

Waktu yang dibutuhkan untuk *optimal recovery* dari sel neutrofil setelah radiasi ionisasi dengan dosis 2-3 mGy adalah 3-4 hari, dengan presentase 98,6% pada pajanan tunggal dan 95,9 % pada pajanan ganda (Ibrahim *et al.*, 2018). Waktu *recovery* dengan dosis 3-4 mGy adalah 3-4 hari, padahal operator instalasi radiologi terkena pajanan radiasi setiap bekerja, dimana dosis radiasi yang diterima besarnya sebanding dengan lamanya operator berada di instalasi radiologi (BATAN, 2013).

Uraian di atas menjadi dasar bagi peneliti untuk melakukan pengkajian terhadap waktu *optimal recovery* sel neutrofil setelah pajanan radiasi sinar x dosis rendah 1,54 mGy.

1.2 Rumusan Masalah

Berapa lama waktu *optimal recovery* sel neutrofil setelah pajanan radiasi sinar x dosis rendah 1,54 mGy?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui waktu *optimal recovery* sel neutrofil setelah pajanan radiasi sinar x dosis rendah 1,54 mGy.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Melengkapi informasi ilmiah tentang pengaruh radiasi sinar x dosis rendah terhadap sel darah khususnya sel neutrofil sehingga diharapkan lebih berhati-hati dalam pemakaian radiasi untuk keperluan pemeriksaan radiografi.
- 1.4.2 Melengkapi informasi mengenai waktu *optimal recovery* sel neutrofil setelah pajanan radiasi sinar x dosis rendah sehingga dapat menjadi pertimbangan pemilihan waktu dalam melakukan eksposur ulang.
- 1.4.3 Sebagai pertimbangan dalam meningkatkan pelayanan pemeriksaan radiografi kedokteran gigi terutama meningkatkan sistem proteksi terhadap pasien dan operator dalam melakukan pemeriksaan radiografi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sinar X

2.1.1 Definisi Sinar X

Sinar x adalah energi elektromagnetik yang disebut foton. Sinar ini sejenis dengan energi elektromagnetik lainnya seperti cahaya, inframerah, ultraviolet, gelombang radio, atau sinar gamma. Perbedaannya hanya terdapat dalam frekuensi dan panjang gelombangnya (Chen *et al.*, 2011).

Penggunaan sinar x merupakan bagian yang penting dalam kedokteran gigi, karena berguna sebagai pemeriksaan penunjang dalam bentuk pemeriksaan radiografi (Whaites, 2003). Sinar x ditemukan secara tidak sengaja oleh seorang ilmuwan berkebangsaan Jerman bernama Wilhelm Conrad Roentgen pada tahun 1895 sewaktu ia melakukan eksperimen dengan sinar katoda. Pada saat itu ia melihat adanya sinar fluoresensi yang berasal dari kristal barium platino-sianida dalam tabung Crookes-Hittorf yang dialiri listrik. Penelitian tersebut seharusnya tidak menemukan cahaya yang keluar dari tabung, namun hipotesis tersebut salah dan menjadi awal ditemukannya sinar x (Suminar, 2004). Dinamakan sinar x karena sifat sinar tersebut saat itu tidak diketahui (Whaites, 2003).

Sinar x yang digunakan dalam radiologi diagnostik terdiri dari jutaan foton tunggal. Berdasarkan spektrum elektromagnetik mulai dari energi rendah (panjang gelombang panjang) ke energi tinggi (panjang gelombang pendek), sinar x mempunyai panjang gelombang 10 nm to 0.01 nm dan energi foton 124 eV-124 MeV (Whaites, 2003).

2.1.2 Proses Terjadinya Sinar X

Sinar x dihasilkan di dalam tabung sinar x (Whaites, 2003). Radiasi elektromagnetik ini dapat diproduksi dengan berbagai cara. Salah satunya adalah dengan akselerasi elektron. (Chen *et al.*, 2011).

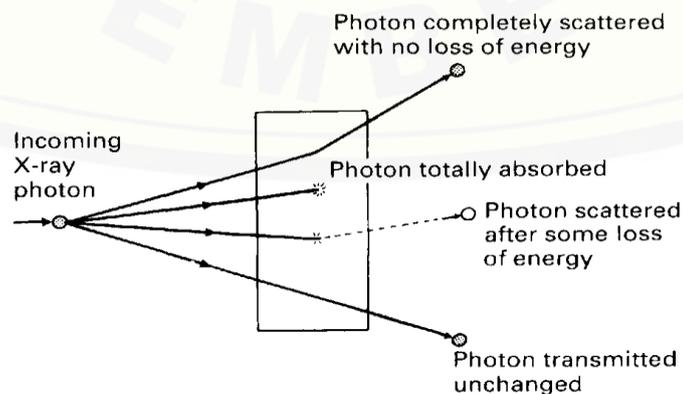
Proses terbentuknya sinar x adalah sebagai berikut:

- Katoda (filamen) yang bermuatan negatif dipanaskan sampai menyala dengan mengalirkan listrik yang berasal dari transformator, sehingga elektron-elektron dari katoda (filamen) terlepas.
- Elektron-elektron yang telah terlepas akan dipercepat gerakannya menuju anoda yang bermuatan positif.
- Elektron-elektron tersebut selanjutnya akan mengenai target (anoda) dan mendadak berhenti pada target (anoda) sehingga terbentuk panas (>99%) dan sinar x.
- Pelindung (perisai) timah akan mencegah keluarnya sinar x dari tabung, sehingga sinar x yang terbentuk hanya dapat keluar melalui jendela.
- Panas yang tinggi pada sasaran (target) akibat benturan elektron ditiadakan oleh radiator pendingin. (Whaites, 2003)

2.1.3 Interaksi Sinar X dengan Materi

Sinar x memiliki empat kemungkinan proses ketika berinteraksi dengan suatu materi, seperti jaringan pada manusia atau hewan yang ditunjukkan diagram di gambar 2.1 :

- Benar-benar tersebar tanpa kehilangan energi
- Diserap dengan total kehilangan energi
- Tersebar dengan beberapa penyerapan dan hilangnya energi
- Ditransmisikan tidak berubah (Whaites, 2003).



Gambar 2.1 Proses interaksi sinar x dengan materi (Whaites, 2003)

Sinar x berinteraksi dengan materi melalui interaksi medan listrik dengan elektron atom di bahan. Karena tidak ada muatan listrik, sinar x lebih banyak menembus suatu materi daripada jenis radiasi pengion lainnya (seperti partikel alfa atau beta) dan karena itulah sinar x sangat berguna untuk *imaging* tubuh manusia. Sinar x dapat diserap atau tersebar oleh elektron dalam atom. Sinar x sepenuhnya diserap dalam proses penyerapan (penyerapan fotolistrik), yaitu memberikan semua energi ke elektron atom lapisan dalam yang kemudian dikeluarkan dari atom dan melanjutkan untuk mengionisasi atom lain secara langsung di sekitar interaksi awal dan menyebabkan kerusakan biologis (Chen *et al.*, 2011).

2.2 Radiasi Ionisasi

Radiasi ionisasi adalah radiasi yang membawa cukup energi yang dapat mengionisasi atom atau molekul (yaitu strip elektron atom tersebut) saat melewati materi (Angela, 2017).

Dosis radiasi ionisasi diukur dalam beberapa unit radiasi, diantaranya *rad*, *gray* (Gy), *roentgen* (R), *sievert* (Sv), dan *rem* (Rem) (Edwards *et al.*, 1990; Esjahriar, 2005).

1. Rad

Satuan *rad* adalah satuan dosis serap energi radiasi, yang secara biologis adalah parameter yang penting. *Rad* adalah singkatan dari *radiation absorbed dose*. *Rad* menetapkan energi, dinyatakan sebagai *ergs*. Satu *rad* adalah radiasi yang diperlukan untuk melepaskan tenaga 100 *ergs* dalam 1 gram bahan yang disinari ($1 \text{ rad} = 100 \text{ ergs/gram}$).

2. Gray

Satuan *gray* adalah unit dosis absorpsi pada SI dan dapat didefinisikan sebagai perpindahan energi 1 joule (J) per kilogram (Kg) obyek radiasi.

$$1 \text{ Gray} = 1 \text{ Sv} = 1000 \text{ mSv}$$

$$1 \text{ Gray} = 100 \text{ rad}$$

3. *Roentgen*

Satuan *roentgen* adalah ukuran emisi energi radiasi dari sebuah sumber, satuan ini menunjuk pada sejumlah ionisasi yang diproduksi di udara. Merupakan satuan pemajanan radiasi yang memberikan muatan $2,58 \times 10^{-4}$ coulomb per kilogram (C/Kg) udara kering.

4. *Sievert*

Sievert adalah satuan radiasi sinar tembus yang diserap oleh tubuh manusia. *Sievert* adalah dosis dalam *gray* dikalikan dengan kualitas faktor Q yang tepat. Bila dosis dinyatakan dalam *rem*, *sievert* dapat ditentukan dengan membagi 100.

$$1 \text{ Sievert} = 1 \text{ Gray}$$

$$1 \text{ Sievert} = 100 \text{ rem}$$

5. *Rem*

Satuan *rem* adalah satuan dosis ekuivalen atau dosis keseimbangan. *Rem* adalah singkatan dari *roentgen equivalent-man*. *Rem* merupakan ukuran efek biologis akibat radiasi. Satuan *rem* adalah sama dengan dosis serap dikalikan dengan faktor kualitas (Q F). $\text{Rem} = \text{rad} \times \text{faktor kualitas}$. Karena faktor kualitas untuk sinar x dan gamma adalah satu, maka dapat dianggap $1 \text{ Roentgen} = 1 \text{ rad} = 1 \text{ rem}$.

2.2.1 Radiasi Dosis Rendah

Penggunaan radiasi dosis rendah dalam kedokteran gigi untuk *dental radiodiagnosis* (Erna dan Supriyadi, 2012). Dosis rendah radiasi sinar x yang sering digunakan berada dalam rentang 0,1-10 mSv (Saputra et al., 2012). Terdapat dua jenis teknik radiografi dalam kedokteran gigi yaitu intraoral dan ekstraoral. Teknik radiografi intraoral yang paling sering digunakan yaitu radiografi periapikal. Radiografi periapikal adalah teknik proyeksi intraoral radiografi untuk menggambarkan beberapa gigi dan jaringan pendukung disekitarnya yang dapat memberikan informasi mengenai keadaan gigi dan tulang alveolar (Erna dan Supriyadi, 2012). Dosis radiasi sinar x yang digunakan untuk pembuatan satu radiografi periapikal dengan semakin berkembangnya teknologi

semakin kecil yaitu dengan dosis 0,09-9,14 mGy atau 0,009-0,91 rad (Carestream, 2009). Dosis radiografi intraoral dengan 70 kV dan 16 inci adalah 250 mrad (Edwards *et al.*, 1990). *Effective dose equivalent* pada pemeriksaan radiografi periapikal adalah 1,54 mGy atau 0,154 rad (Banun, 2015).

Uraian di atas berarti bahwa radiasi pada dosis serendah apapun dapat menimbulkan efek kesehatan karena sebuah reaksi ionisasi dapat menyebabkan kerusakan DNA. Dosis kecil 10-100 mSv, meningkatkan sekitar 1% laju awal kerusakan DNA yang terjadi secara alamiah (Alatas, 2007).

2.3 Efek Biologis Radiasi Ionisasi

Radiasi sinar x berinteraksi dengan molekul air dalam tubuh manusia menghasilkan radikal bebas (Hall and Giaccia, 2006). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang relatif tidak stabil yang mengandung setidaknya satu elektron tidak berpasangan. Produksi mereka dapat menghasilkan patahan DNA yang bisa terjadi pada satu untai DNA maupun kedua untai DNA. Sel mamalia memiliki kapasitas yang signifikan untuk memperbaiki kerusakan akibat radiasi, namun kerusakan DNA dalam bentuk untai ganda lebih sulit (Arief, 2006; Syaifudin, 2012).

Efek biologis dari radiasi sinar x terjadi karena recoiling elektron yang dihasilkan oleh penyerapan atau penyebaran sinar x. Elektron-elektron ini memiliki energi kinetik yang cukup untuk ionisasi ratusan atom di sepanjang lintasan mereka. Elektron-elektron ini dapat merusak molekul DNA secara langsung atau tidak langsung dengan menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan kimia pada materi genetik. Efek lain adalah dapat menyebabkan kematian sel atau mutasi (Chen *et al.*, 2011).

Efek langsung dan tidak langsung dari radiasi ionisasi pada sel dapat dibedakan. Kerusakan langsung disebabkan oleh interaksi langsung dari biomakromolekul dan partikel radiasi ionisasi. Efek langsung menyebabkan kerusakan pada DNA dengan mengganggu ikatan hidrogennya. Efek tidak langsung terhubung dengan radiolisis air dan pembangkitan ROS (Kudr *et al.*, 2015).

Radiasi ionisasi dapat menyebabkan kerusakan spektrum luas NAs (kerusakan nukleotida, single-strand dan double-strand break). Terbentuknya ROS adalah salah satu konsekuensi dari radiasi sel dengan radiasi ionisasi. Interaksi ROS dengan protein dalam oksidasi residu asam amino bisa menyebabkan fragmentasi protein atau radiolisis total. Sistein, histidin dan residu metionin sangat rentan terhadap oksidasi (Kudr *et al.*, 2015).

2.4 Neutrofil

Neutrofil merupakan polimorfonuklear leukosit (PMNs), tipe sel darah putih pada manusia dan dikenal dengan segmen inti spesifik dan granulnya. Neutrofil adalah komponen utama seluler tubuh manusia sebagai sistem imun bawaan yang mempunyai daya antiinfeksi dan fungsi proinflamasi (Borregaard, 2010).

Neutrofil merupakan pertahanan pertama yang berperan sebagai sistem kekebalan tubuh bawaan untuk bermigrasi ke tempat terjadinya peradangan ketika terjadi infeksi. Pertahanan tubuh akan menurun ketika jumlah neutrofil dalam tubuh menurun karena neutrofil merupakan pertahanan pertama terhadap infeksi yang kadarnya paling banyak dalam tubuh (50-70%) dibandingkan sel darah putih yang lain (Abram and Lowell, 2009). Mereka dapat menelan dan membunuh mikroorganisme yang menginvasi secara intraseluler dengan fagositosis dan penggabungan fagosom selanjutnya dengan lisosom yang mengandung protein antimikroba, enzim dan intermediet oksigen reaktif (ROI). Neutrofil juga dapat membunuh mikroba secara ekstraseluler dengan melepaskan peptida dan enzim antimikroba yang disimpan dalam granulanya (Borregaard, 2010). Neutrofil mampu mengekspresikan gen yang mengkode mediator inflamasi seperti faktor pertumbuhan, kemokin dan sitokin selain fungsi antimikrobanya. Peran neutrofil sangat penting untuk pertahanan jaringan tubuh terhadap infeksi mikroba (Abram and Lowell, 2009).

2.4.1 Morfologi Neutrofil

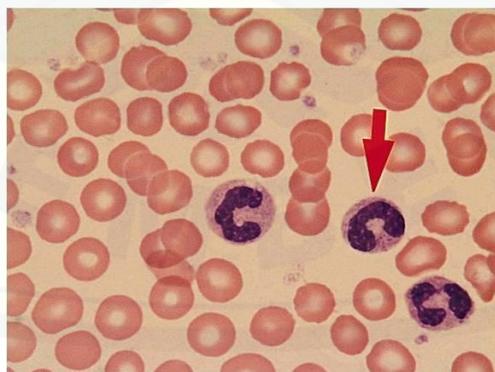
Neutrofil merupakan leukosit bergranula berumur pendek yang mempunyai nukleus dengan tiga hingga lima lobus yang dihubungkan dengan benang

kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus (Dorland, 2006). Sel neutrofil memiliki diameter 12–15 μm (Hoffbrand *et al.*, 2016).

Sel neutrofil memiliki inti padat berkarakter yang terdiri dari dua hingga lima lobus dengan sitoplasma pucat yang berisi granula warna merah muda halus hingga biru (azurophilic) atau butiran abu-abu-biru. Granula terbagi menjadi granula primer yang muncul pada stadium promielosit, dan sekunder yang muncul pada stadium mielosit dan terbanyak pada neutrofil matang. Kedua granula berasal dari lisosom. Granula primer mengandung mieloperoksidase, fosfatase asam dan asam hidrolase lain. Granula sekunder mengandung fosfatase lindi dan lisosom. Masa hidup neutrofil di darah hanya 6-10 jam (Hoffbrand *et al.*, 2016).

Neutrofil adalah jenis sel leukosit yang paling banyak yaitu sekitar 50-70% diantara sel leukosit yang lain. Ada dua macam neutrofil yaitu neutrofil batang (stab) dan neutrofil segmen (polimorfonuklear) (Kiswari, 2014). Perbedaan dari keduanya yaitu neutrofil batang merupakan bentuk muda dari neutrofil segmen, sering disebut sebagai neutrofil tapal kuda karena mempunyai inti berbentuk seperti tapal kuda yang dapat dilihat pada gambar 2.2.

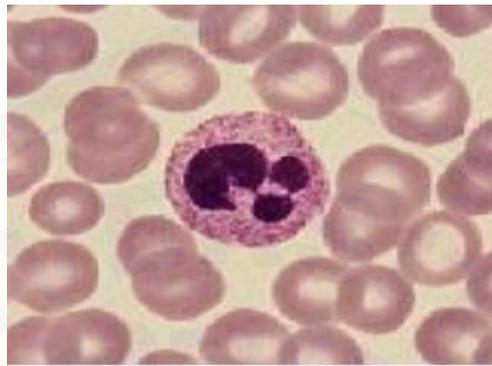
Memasuki proses pematangan, bentuk intinya akan bersegmen dan akan menjadi neutrofil segmen, gambaran mikroskopis sel neutrofil berbentuk segmen dapat dilihat pada gambar 2.3 (Riswanto, 2013).



Gambar 2.2 Neutrofil batang (Fidiananf, 2014)

Neutrofil segmen mempunyai granula sitoplasma yang tampak tipis (pucat), sering disebut neutrofil polimorfonuklear karena inti selnya terdiri atas 2-5 segmen (lobus) yang bentuknya bermacam-macam dan dihubungkan dengan

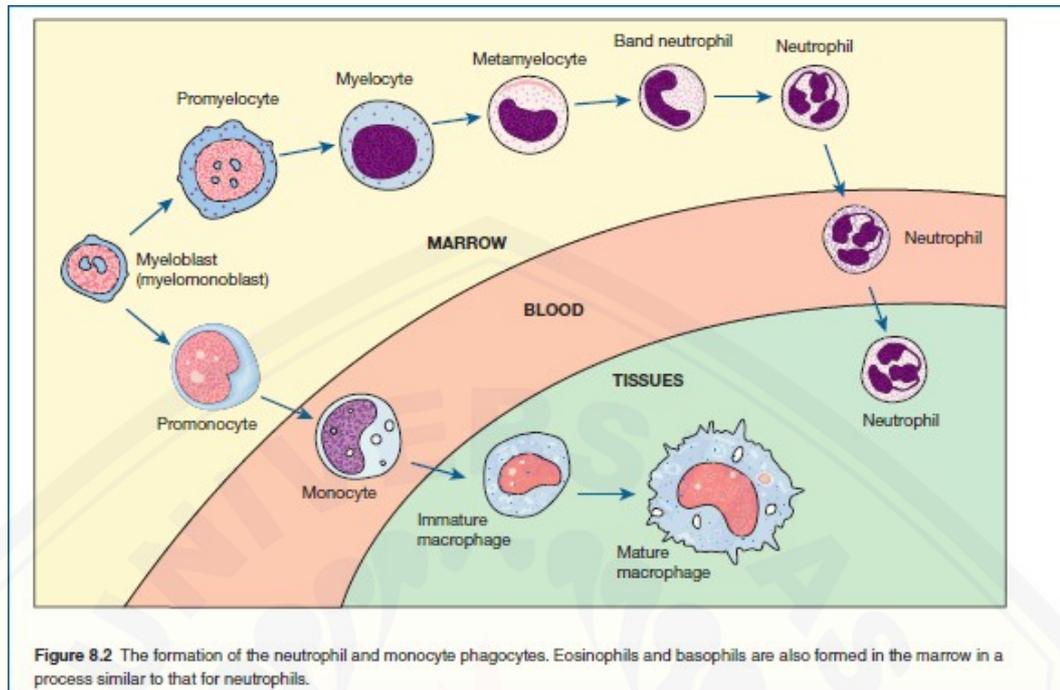
benang kromatin. Jumlah segmen inti neutrofil segmen yaitu sebanyak 3-6 segmen, bila lebih dari 6 jumlahnya disebut dengan neutrofil hipersegmen, gambaran mikroskopis sel neutrofil berbentuk segmen dapat dilihat pada gambar 2.3 (Kiswari, 2014; Adianto, 2013).



Gambar 2.3 Neutrofil segmen (Adianto, 2013)

2.4.2 Pembentukan Neutrofil

Sel neutrofil di produksi di sumsum tulang belakang dan selanjutnya akan migrasi ke jaringan. Setiap hari 10^{11} neutrofil diproduksi pada sumsum tulang belakang. *Radionucleid study* mengungkapkan bahwa neutrofil berasal dari sel progenitor yang disebut *myeloblast*. Waktu yang dibutuhkan untuk perubahan dari *myeloblast* menjadi *myelocyte* memakan waktu 135 h. Transisi dari *myelocyte* menjadi *neutrofil blood* sekitar 131-158 h. Total waktu yang diperlukan untuk transisi dari *precursor* menjadi *neutrofil blood* adalah 12 hari. Waktu terjadi infeksi, transisi dari *myelocyte* menjadi *neutrofil blood* dapat memendek menjadi 48 jam. *Post mitotic neutrofil mature* akan tetap di sumsum tulang selama 4-6 hari selama produksi neutrofil baru. Simpanan neutrofil *mature* di sumsum tulang akan digunakan sebagai sumber untuk *neutrofilia blood* sebagai respon terhadap infeksi. Hal di atas menjelaskan bahwa sebelum neutrofil meninggalkan sumsum tulang, membutuhkan waktu 17 hari untuk produksi hingga pematangan. Proses pembentukannya dapat dilihat pada gambar 2.4 (Bekkering *et al.*, 2013; Hoffbrand *et al.*, 2016).



2.4.3 Efek Radiasi Terhadap Neutrofil

Radiasi ionisasi merupakan sinyal proinflamasi yang dapat menginduksi produksi reaktif oksigen spesies / nitrat dan induksi apoptosis. Radiasi ionisasi sangat berpengaruh terhadap sel darah yang merupakan jaringan hemopoetik. Jaringan hemopoetik merupakan jaringan yang sensitif terhadap radiasi pengion (Akleyev, 2014). Pengaruh radiasi dengan dosis 25 rem (2,5 *seivert*) dapat mengakibatkan anemia, leukopenia, dan trombositopenia (Edwards *et al.*, 1990; Adilina, 2012).

Proses apoptosis dari neutrofil dimulai dengan adanya sinyal intraseluler berupa radiasi ionisasi. Sinyal ini mengakibatkan radiolisis molekul air dalam sel neutrofil sehingga menghasilkan radikal bebas berupa H^* , HOO^* , dan H_2O_2 . Radikal bebas ini memicu stress intraseluler yang dapat menyebabkan BAX yang merupakan pro-apoprotein dalam sitoplasma akan melekat pada membran luar mitokondria dan memicu pengeluaran mitokondrial 59 dan *sitokrom-c* untuk merespons sebuah sinyal *stress*. *Sitokrom-c* selanjutnya akan membentuk kompleks dengan ATP dan Apaf-1 di dalam sitoplasma. Hal tersebut mengaktifkan *caspase-9* yang bergabung dalam kompleks dan membentuk

apoptosom yang mengaktifkan *caspase-3* untuk menginisiasi degradasi seluler (Kumar *et al.*, 2007; Rajamani, 2009). Sel yang telah menerima sinyal untuk apoptosis, dilanjutkan dengan proses degradasi organela-organela sel yang diaktifasi oleh *caspase proteolitik* (Lumongga, 2008).

Neutrofil akan mengalami penekanan dalam aktivitas, penurunan jumlah dan beberapa perubahan morfologis ketika memulai peristiwa *caspase* dari apoptosis (Al-Hamadany, 2014). Perubahan morfologi yang didapatkan setelah pewarnaan giemsa adalah kondensasi inti dan perubahan segment neutrofil (Kuijpers, 2003). Perubahan karakteristik morfologi neutrofil yang apoptosis selain kondensasi inti adalah *membran blebbing*, *cell body shrinkage*, dan vokualisasi sitoplasma (McCracken, 2014). Apoptosis yang berulang pada sel karena pajanan radiasi ionisasi terus menerus dapat menyebabkan mutasi yang dapat berkembang menjadi kanker (Syaifudin, 2012).

2.4.4 Proses *Recovery* Sel Neutrofil

Sel darah putih mampu melakukan *recovery* untuk kembali jumlah normal setelah pajanan radiasi. Suatu studi mengungkapkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel neutrofil pasca pajanan radiasi. Hal ini disebabkan karena sel neutrofil mengalami apoptosis. Penurunan tajam dari jumlah sel neutrofil setelah radiasi dosis 2-3 mGy adalah 30 menit pertama dan turun persisten hingga 2 hari pasca radiasi. Jumlah sel neutrofil akan kembali normal 3 atau 4 hari setelah radiasi karena terjadinya proses *recovery* sel neutrofil (Ibrahim *et al.*, 2018).

Pemeriksaan pada gen p53 mencit menunjukkan bahwa infiltrasi neutrofil bukan merupakan efek langsung dari radiasi ionisasi, tetapi merupakan feedback positif setelah pembersihan sel apoptosis yang diinduksi radiasi (Capitano *et al.*, 2012).

Proses *recovery* terjadi ketika populasi sel progenitor terbentuk kembali dan mampu menghasilkan jumlah sel-sel fungsional yang cukup (Dainiak *et al.*, 2003). Bekkering *et al.* menunjukkan bahwa fagositosis neutrofil yang apoptosis memberikan signal yang menstimulasi produksi G-CSF yang pada gilirannya menginduksi produksi neutrofil di sumsum tulang sehingga jumlah neutrofil dapat

kembali normal (Bekkering *et al.*, 2013). Mekanisme *recovery* dari sel neutrofil terjadi karena sel neutrofil yang apoptosis menyebabkan sel makrofag, sel monosit, sel endotel, dan sel fibroblas menghasilkan G-CSF (*Granulocyte-colony stimulating factor*). G-CSF yang dihasilkan akan menempel pada reseptor G-CSF (G-CSFR) pada sumsum tulang belakang. Ikatan G-CSF ke G-CSFR akan menstimulasi terbentuknya protein tirosin fosforilasi dan memicu mekanisme pemberian signal multipel yaitu aktivasi JAK tirosin kinase dan transduksi signal dan aktivasi protein transkripsi (STAT), aktivasi kinase ras-MAP. Mekanisme inilah yang menginduksi transkripsi gen untuk pembentukan neutrofil baru di sumsum tulang belakang. Hal ini ditunjukkan melalui efek G-CSF pada *recovery* sel neutrofil seperti pada gambar 2.5 (Cetean *et al.*, 2015; Hoffbrand *et al.*, 2016).

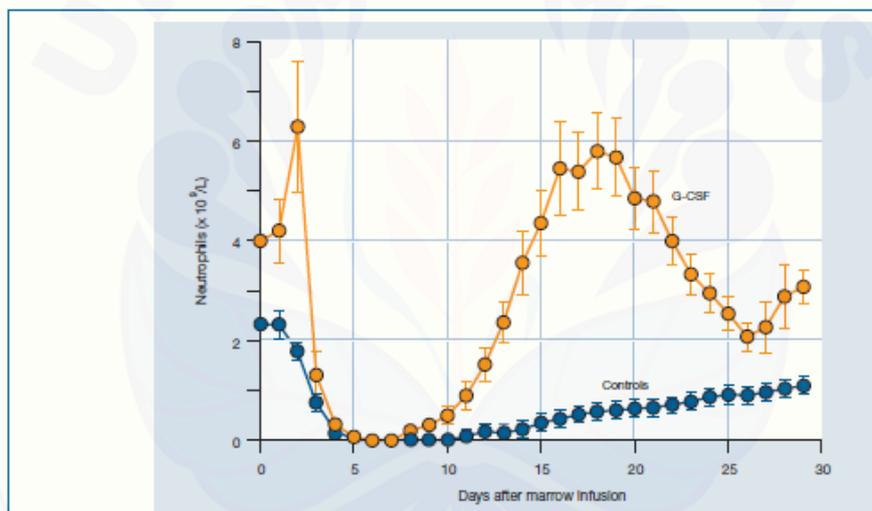


Figure 8.5 Typical effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on recovery of neutrophils following autologous bone marrow transplantation.

Gambar 2.5 Efek G-CSF pada *recovery* sel neutrofil (Hoffbrand *et al.*, 2016)

2.5 Radikal Bebas

2.5.1 Definisi dan Jenis Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini merupakan suatu kelompok bahan kimia dengan reaksi jangka pendek yang memiliki satu atau lebih elektron bebas sehingga cenderung mengadakan reaksi

berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus (Khaira, 2010; Arief, 2006). Radikal bebas dalam konsentrasi yang tinggi akan membentuk *stress* oksidatif, yaitu suatu proses penghancuran yang dapat merusak seluruh sel tubuh. Proses penghancuran tersebut mempengaruhi berbagai struktur sel seperti protein, lipid, lipoprotein, dan DNA (Droge, 2002).

Ada 2 jenis radikal bebas yaitu:

a. Radikal Bebas Internal

Radikal bebas internal berasal dari oksigen yang kita hirup. Oksigen merupakan sumber energi bagi tubuh namun dapat hasil samping dari reaksi pembentukan energi tersebut yaitu Reactive Oxygen Species (ROS).

b. Radikal bebas eksternal

Radikal bebas eksternal merupakan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh makhluk hidup. Bisa berasal dari polusi udara, rokok, radiasi sinar ultraviolet, obat-obatan, pestisida, sinar x, dan kemoterapi (Khaira, 2010).

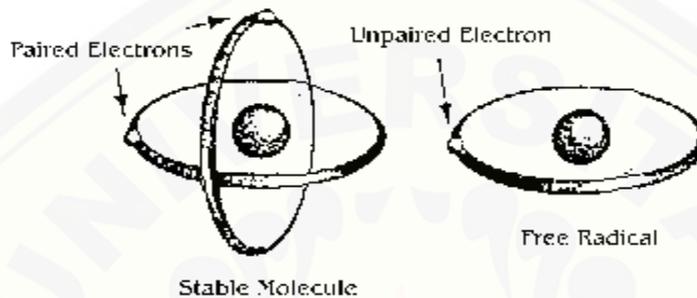
2.5.2 Struktur Kimia Radikal Bebas

Suatu atom terdiri dari nukleus, proton, dan elektron. Elektron berperan dalam reaksi kimia dan merupakan bahan yang menggabungkan atom-atom untuk membentuk suatu molekul. Elektron mengelilingi atau mengorbit suatu atom dalam satu atau lebih lapisan. Atom akan berusaha mencapai stabilitas maksimum untuk melengkapi lapisan terluarnya jika dalam suatu lapisan, elektron tidak memiliki pasangan dengan cara:

- a. Menambah atau mengurangi elektron untuk mengisi maupun mengosongkan lapisan luarnya.
- b. Membagi elektron-elektronnya dengan cara bergabung bersama atom yang lain dalam rangka melengkapi lapisan luarnya. Struktur kimia radikal bebas dapat dilihat pada gambar 2.6 (Arief, 2006).

Proses inilah yang menyebabkan suatu atom dinamakan radikal bebas. Radikal bebas yang sangat reaktif ini mempunyai spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain seperti protein, lemak,

karbohidrat, dan DNA. Radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan atau unsur disekitarnya untuk mendapatkan stabilitas kimia. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron. Zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas pula sehingga akan memulai suatu reaksi berantai (Droge, 2002).



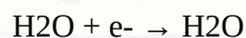
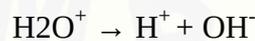
Gambar 2.6 : Struktur Radikal Bebas (Arief, 2006)

Droge (2002) menjelaskan ada beberapa tahap pembentukan radikal bebas:

- 1) Reaksi pembentukan radikal bebas diawali dengan absorpsi energi radiasi pengion yang menyebabkan terjadinya eksitasi dan ionisasi pada molekul atau atom penyusun sel. Reaksi ionisasi ini dapat ditulis dengan :



- 2) Atom atau molekul yang terionisasi mengalami reaksi reaksi, sehingga terbentuk radikal bebas yang tidak stabil. Reaksi kimia yang terjadi pada tahap kedua interaksi ini adalah:



- 3) Radikal bebas OH^\cdot dapat membentuk peroksida (H_2O_2) yang bersifat oksidator kuat melalui reaksi berikut:



Molekul H_2O_2 atau hidrogen peroksida inilah yang mempunyai sifat toksik dan dapat menyebabkan kerusakan DNA/RNA pada sel. Apabila kerusakan tidak

segera dapat diperbaiki, maka otomatis akan menginduksi sel untuk memulai proses kematian sel (Arief, 2006).

2.6 Apoptosis

2.6.1 Definisi Apoptosis

Apoptosis merupakan kematian sel yang terjadi melalui digesti enzimatik oleh dirinya sendiri. Apoptosis merupakan suatu mekanisme yang efisien untuk mengeliminasi sel yang tidak diperlukan dan mungkin berbahaya (Nurhayati and Lusiyanti, 2006). Apoptosis memiliki peranan penting, proses apoptosis yang tidak sempurna dapat menyebabkan timbulnya penyakit yang sangat bervariasi. Terlalu banyak apoptosis menyebabkan sel mengalami kekacauan, sebagaimana terlalu sedikit apoptosis juga menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol (kanker) (Pratiwi, 2012). Kajian ilmiah menunjukkan bahwa apoptosis adalah program bunuh diri intraseluler yang dilaksanakan dengan cara mengaktifkan caspase (suatu keluarga sistein protease). Jalur utama apoptotik terbagi menjadi dua yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur intrinsik meliputi pemberian kode yang memicu proses mitokondria-dependent pelepasan sitokrom c dan mengaktifkan caspase 9, dan jalur ekstrinsik meliputi pengaktifan reseptor kematian (death receptor, DR) seperti Fas (reseptor 1 tumor necrotic factor), DR4 dan DR5 (Newmeyer dan Ferguson, 2003).

2.6.2 Mekanisme Apoptosis

Apoptosis dari sel terbagi menjadi tiga mekanisme yang berbeda. Ketiga mekanisme apoptosis tersebut adalah :

- a. Dipicu oleh sinyal yang muncul dalam sel itu sendiri.
- b. Dipicu oleh pengaktif kematian di luar sel yang terikat pada suatu reseptor pada permukaan sel seperti TNF- α , limfotoksin dan ligand Fas (FasL).
- c. Dipicu oleh spesies oksigen reaktif yang membahayakan sel (Nurhayati dan Lusiyanti, 2006)

Mekanisme apoptosis sangat kompleks dan rumit. Mekanisme apoptosis sangat kompleks dan rumit. Secara garis besarnya apoptosis dibagi menjadi 4 tahap, yaitu (Pratiwi, 2012) :

1) Adanya sinyal penginduksi apoptosis

Sinyal yang menginduksi apoptosis bisa berasal dari ekstraseluler dan intraseluler. Sinyal ekstraseluler contohnya hormon. Apoptosis juga bisa dipicu oleh kurangnya sinyal yang dibutuhkan sel untuk bertahan hidup seperti *growth factor*. Sel lain, sel berhubungan dengan sel yang berdekatan juga bisa memberikan sinyal untuk apoptosis. Sinyal intraseluler misalnya radiasi ionisasi, kerusakan karena oksidasi radikal bebas, dan gangguan pada siklus sel (Kumar *et al.*, 2007).

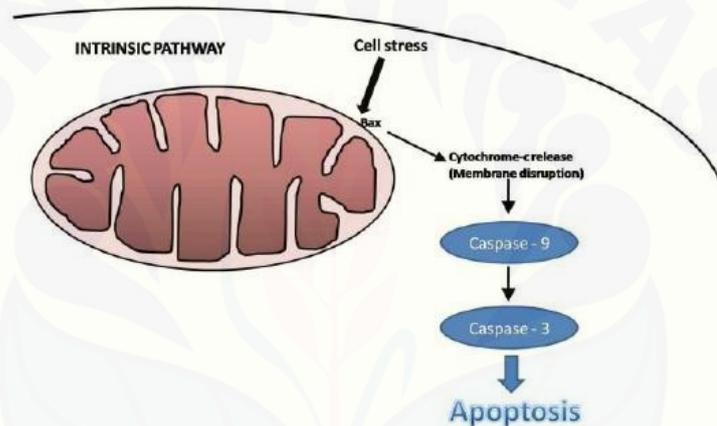
2) Tahap integrasi dan pengaturan

Sinyal kematian dihubungkan dengan pelaksanaan apoptosis oleh tahap integrasi atau pengaturan. Pada tahap ini terdapat molekul regulator positif atau negatif yang dapat menghambat, memacu, mencegah apoptosis sehingga menentukan apakah sel tetap hidup atau mengalami apoptosis (kematian) (Pratiwi, 2012).

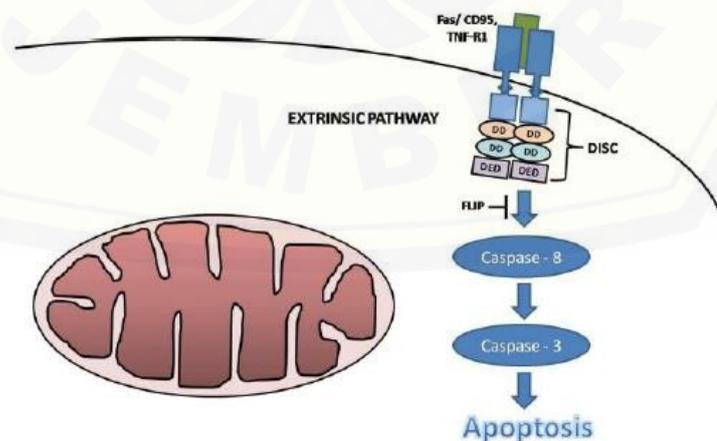
3) Tahap pelaksanaan apoptosis

Pelaksanaan proses apoptosis dapat terjadi melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik, proses pembentukannya dapat dilihat pada gambar 2.7 dan 2.8. Apoptosis intrinsik dipicu oleh *stress* intraseluler, khususnya *stress* pada mitokondria. Bax yang merupakan pro-apoprotein dalam sitoplasma akan melekat pada membran luar mitokondria dan memicu pengeluaran mitokondrial 59 dan *sitokrom-c* untuk merespons sebuah sinyal *stress*. *Sitokrom-c* selanjutnya akan membentuk kompleks dengan ATP dan Apaf-1 di dalam sitoplasma sehingga mengaktifkan *caspase-9* yang bergabung dalam kompleks dan membentuk apoptosom yang mengaktifkan *caspase-3* untuk menginisiasi degradasi seluler. Jalur intrinsik ini terjadi karena adanya permeabilitas mitokondria dan pelepasan molekul pro-apoptosis ke dalam sitoplasma, tanpa memerlukan reseptor kematian (Rajamani, 2009; Lumongga, 2008).

Proses apoptosis ekstrinsik dipicu oleh sinyal molekuler (*ligand*) yang dipancarkan oleh sel lain. Jalur ekstrinsik diperantarai reseptor kematian (*death receptors*) misalnya reseptor TNF (*Tumour Necrosis Factor*), TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL) atau CD95 yang mengakibatkan *activator caspases*. Sebagai contoh ligand Fas (FasL) yang melekat pada reseptor *transmembran* sel target dan mempengaruhi berbagai reseptor untuk beragregasi pada permukaan sel membentuk *Death Domain* (DD) yang mengaktifkan *caspase-8*. *Caspase-8* yang merupakan protein inisiator yang selanjutnya mengaktifkan *Caspase-3* yang merupakan eksekutor akhir sel (Rajamani, 2009).



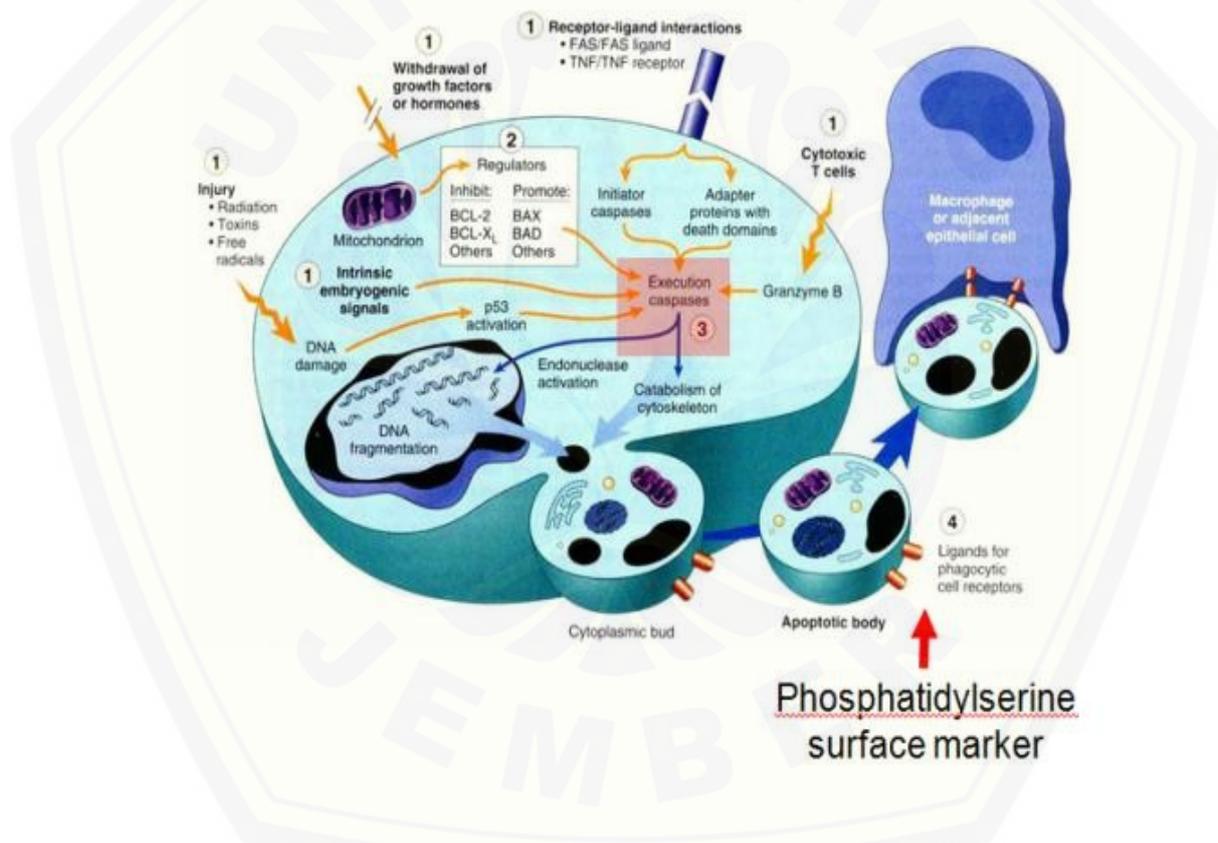
Gambar 2.7 : Apoptosis Intrinsik (Rajamani, 2009)



Gambar 2.8 : Apoptosis Ekstrinsik (Rajamani, 2009)

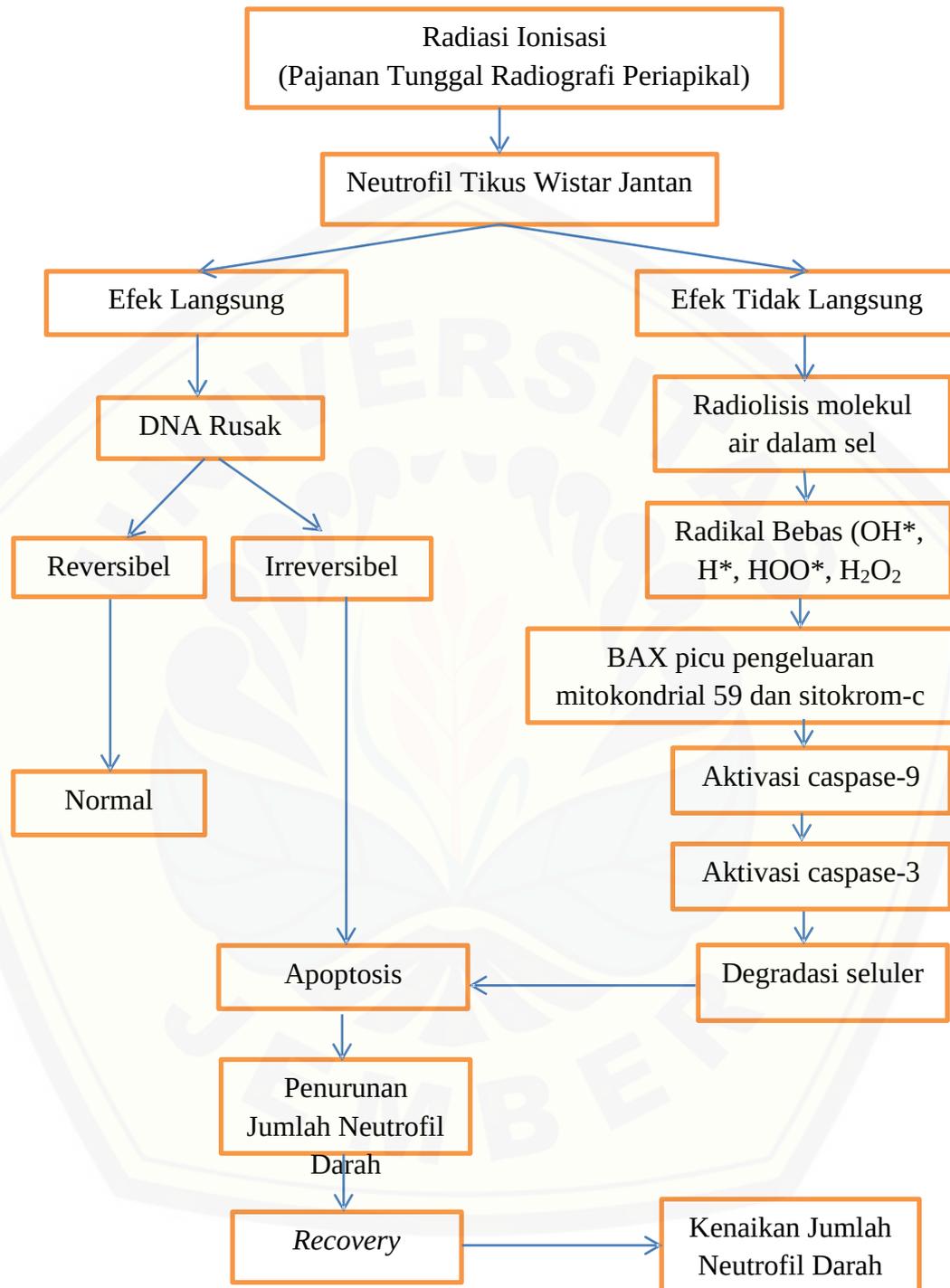
4) Fagositosis

Sel yang mengalami apoptosis akan mengalami perubahan pada membran yang akan mempromosikan fagositosis. Pada sel normal terdapat fosfatidilserine di bagian dalam dari membran plasma. Hanya saja pada sel yang mengalami apoptosis, fosfatidilserine ini terbalik sehingga berada di sisi luar. Akibatnya molekul ini akan dikenali oleh fagosit. Makrofag dan sel fagosit itu sendiri kemudian dapat menghasilkan protein yang mengikat sel-sel apoptosis dan menarget sel yang sudah mati untuk difagositosis, proses apoptosis dapat dilihat pada gambar 2.9 (Kumar *et al.*, 2007).



Gambar 2.9. Mekanisme apoptosis (Kumar *et al.*, 2007)

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.10 Skema Kerangka Konseptual

2.8 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Radiasi sinar x digunakan untuk *dental radiodiagnosis* dan radioterapi dalam bidang kedokteran gigi. Pemeriksaan radiasi (radiodiagnosis) dilakukan menggunakan pajanan radiasi sinar x dengan kategori dosis rendah. Dosis rendah juga dapat menimbulkan efek terhadap sel dan jaringan hidup yang terpajan.

Radiasi sinar x merupakan salah satu bentuk radiasi ionisasi yang dapat merusak sel secara langsung maupun tidak langsung. Kerusakan langsung terjadi pada target spesifik yaitu DNA/RNA pada nukleus. Kerusakan secara tidak langsung adalah kerusakan akibat radikal bebas yang dihasilkan dari proses radiolisis molekuler, dalam hal ini senyawa yang terbentuk adalah H₂O₂ (Hidrogen peroksida). H₂O₂ ini mempunyai sifat toksik yang menyebabkan DNA/RNA pada sel rusak dengan cara memecah molekulnya karena mengakibatkan stress intraseluler. Bax yang merupakan pro-apoptoprotein dalam sitoplasma akan melekat pada membran luar mitokondria dan memicu pengeluaran mitokondrial 59 dan *sitokrom-c* untuk merespons sebuah sinyal *stress*. *Sitokrom-c* selanjutnya akan membentuk kompleks dengan ATP dan Apaf-1 di dalam sitoplasma. Hal tersebut mengaktifkan *caspase-9* yang bergabung dalam kompleks dan membentuk apoptosom yang mengaktifkan *caspase-3* untuk menginisiasi degradasi seluler. Degradasi (kerusakan) yang tidak dapat diperbaiki lagi, secara otomatis akan menginduksi sel untuk memulai proses apoptosis. Pada penelitian ini ditandai dengan peningkatan jumlah apoptosis sel neutrofil. Proses *recovery* dari sel neutrofil akan terjadi setelah apoptosis sel neutrofil yang ditandai dengan penurunan dari apoptosis sel neutrofil.

2.9 Hipotesa

Hipotesis dari penelitian ini adalah waktu *optimal recovery* sel neutrofil setelah pajanan radiasi sinar x dosis rendah 1,54 mGy terjadi sekitar 48-72 jam setelah pajanan.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah *Eksperimental Laboratoris*. Jenis penelitian ini dipilih karena lebih terkendali, terkontrol dan pengaruh perlakuan lebih dipercaya (Notoatmodjo, 2012).

Rancangan penelitian ini adalah *The Post Test Only Control Group Design*. Pemilihan rancangan ini didasarkan pada pertimbangan bahwa setiap sampel mempunyai karakteristik yang sama sehingga tidak perlu dilakukan perhitungan awal dimana nantinya akan dilakukan pengukuran terhadap variabel yang diteliti setelah mendapatkan perlakuan kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoadmojo, 2012).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember, dan Instalasi Radiologi Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September - Oktober 2018.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Waktu pengambilan sampel darah tikus.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah sel neutrofil yang hidup.

3.3.3 Variabel Terkendali

a. Hewan coba (jenis kelamin, berat badan, umur).

- b. Makanan dan minuman hewan coba (standar).
- c. Cara pemeliharaan hewan coba.
- d. Metode pajanan sinar x (lokasi, jarak).

3.3.4 Variabel Tak Terkendali

Kemampuan/hasil pengamatan

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Waktu Pengambilan Sampel Darah

Waktu pengambilan sampel darah tikus dilakukan 12 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam pasca pemajanan radiasi sinar x. Waktu 12 jam dipilih disesuaikan dengan masa hidup sel neutrofil dalam darah yaitu 6-10 jam. Waktu selanjutnya dipilih mengikuti waktu pemilihan sesuai penelitian sebelumnya.

3.4.2 Sel Neutrofil

Sel neutrofil yang hidup berbentuk bulat, akan terlihat tampak terang dan jernih karena tidak menyerap pewarnaan *trypan blue*. Jumlah sel neutrofil hidup pada penelitian ini adalah jumlah sel neutrofil yang tidak apoptosis dalam isolat neutrofil yang diamati dan dihitung menggunakan mikroskop *inverted* dengan pewarnaan *trypan blue*. (Djajanegara and Wahyudi, 2010; Stober, 1997).

3.4.3 Radiasi Dosis Rendah

Radiasi dosis rendah yang digunakan adalah radiografi periapikal dari *dental radiography unit* yang berada di Instalasi Radiologi Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember dengan pengaturan umum untuk regio molar pertama rahang bawah, pasien dewasa, tegangan 70 kV, arus 7 mA, dan jarak sumber radiasi terhadap obyek (SOD) = 8 inci/20cm. Dosis radiasi yang diberikan sesuai dengan penyetaraan terhadap waktu pajanan. Kelompok perlakuan diberi pajanan tunggal radiasi dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy (*effective dose equivalent*)

3.5 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Penggolongan Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar* dengan berat badan 150-200 gram dan berumur 2-3 bulan.

3.5.2 Sampel

Sampel yang diambil dari populasi memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi pada penelitian ini :

- a. sehat (bergerak aktif),
- b. tidak memiliki kelainan anatomis,
- c. memiliki berat badan antara 150-200 gram,
- d. jenis kelamin jantan,
- e. berusia sekitar 2-3 bulan.

Kriteria eksklusi pada penelitian ini :

- a. sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus atau genital).

3.5.3 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federrer (Supranto, 2000) :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan

t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel dalam perlakuan.

Maka hasil perhitungan besar sampel :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Hasil perhitungan menunjukkan besar sampel minimal yang digunakan dalam penelitian adalah 4 sampel untuk setiap kelompok, sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus wistar jantan.

3.5.4 Pengelompokan Sampel

Pengelompokan sampel dengan menggunakan teknik *simple random sampling* (Notoatmodjo, 2012). Pada penelitian ini sampel secara acak (random) dibagi menjadi 6 kelompok dan diberi perlakuan sebagai berikut.

- a. Kelompok I : merupakan kelompok kontrol yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba tidak diberi pajanan radiasi dan dilakukan pengambilan darah.
- b. Kelompok II : merupakan kelompok perlakuan 1 yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba difiksasi, lalu diberi pajanan tunggal radiasi sinar x dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy dan dilakukan pengambilan darah setelah 12 jam pasca radiasi.
- c. Kelompok III : merupakan kelompok perlakuan 2 yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba difiksasi, lalu diberi pajanan tunggal radiasi sinar x dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy dan dilakukan pengambilan darah setelah 24 jam pasca radiasi.
- d. Kelompok IV : merupakan kelompok perlakuan 3 yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba difiksasi, lalu diberi pajanan tunggal radiasi sinar x dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy dan dilakukan pengambilan darah setelah 48 jam pasca radiasi.
- e. Kelompok V : merupakan kelompok perlakuan 4 yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba difiksasi, lalu diberi pajanan tunggal radiasi sinar x dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy dan dilakukan pengambilan darah setelah 72 jam pasca radiasi.
- f. Kelompok VI : merupakan kelompok perlakuan 5 yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba difiksasi, lalu diberi pajanan tunggal radiasi sinar x dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy dan dilakukan pengambilan darah setelah 96 jam pasca radiasi.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

- a. Kandang pemeliharaan
- b. Tempat makan dan minum
- c. Timbangan (neraca Ohaus, Jerman)
- d. Pisau skalpel (Terumo, Jepang)
- e. *Laminar flow cabinet* (Dwyer mark II, USA)
- f. *Autoclave* (ALP CL-32L, Jepang)
- g. Sarung tangan (Senseglove, Amerika Serikat)
- h. Masker (Diapro, Indonesia)
- i. Mikroskop inverted (Olympus IX51, Jepang)
- j. Gelas obyek (Sail Brand, Cina)
- k. Gelas penutup / *cover glass* (Sail Brand, Cina)
- l. Mikro pipet (Human, Jerman)
- m. Centrifuge 5810 R (Eppendorf, Jerman)
- n. Tabung *centrifuge* 2 ml (NUNCTM, USA)
- o. Rak tabung
- p. Tissue (Indomaret, Indonesia)
- q. Plester bening (Kingco Premium, Indonesia)
- r. *Dental Radiography Unit* (Siemens Heliodont, Jerman)
- s. Kertas label (Kojico, Jepang)
- t. Kain lap
- u. Spidol marker (Artline, Jepang)
- v. *Disposable syringe*

3.6.2 Bahan

- a. Tikus wistar jantan
- b. Makanan tikus yang beredar dipasar yaitu standart konsentrat produksi Feedmill Malindo, Gresik - Indonesia dan jagung.
- c. Sekam
- d. Air minum (Aqua, Indonesia)

- e. eter (Makmur Sejati, Indonesia)
- f. Tabung antikoagulan heparin (BD Franklin Lakes NJ, USA)
- g. Medium RPMI
- h. HBSS (GIBCO, USA)
- i. *Lymphoprep* 1.077
- j. *Tryphan blue* (GIBCO, USA)
- k. Giemsa stain (Lab. Bioanalitika, Indonesia)
- l. *Hystopage* 1119 (Mp Biomedicals, USA)
- m. *Aquadest* (Otsuka, Indonesia)
- n. Metanol absolut

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan *Ethical Clearance*

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan etik atau *ethical clearance*. Peneliti mengajukan permohonan persetujuan etik pada komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.2 Persiapan Hewan Coba (Pemeliharaan dan Adaptasi)

Tikus wistar yang digunakan sebagai sampel ditempatkan dalam kandang plastik dengan tutup terbuat dari kawat ram dan dialasi sekam selama 7 hari. Tikus diberi makan *standart* konsentrat dan minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya). Lingkungan kandang dijaga tidak lembab, suhu kandang dijaga sekitar 25°C, dan terdapat pertukaran gelap-terang setiap 12 jam. Berat badan sampel tikus ditimbang dan diupayakan agar sesuai dengan kriteria inklusi. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan kandang selama minimal 7 hari. Proses ini bertujuan untuk memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian pada hewan coba (Carlos dan Baumans, 2009).

3.7.3 Sterilisasi Alat

Semua alat penelitian dicuci bersih kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121⁰C. Hal ini dilakukan agar alat-alat yang digunakan terbebas dari invasi bakteri.

3.7.4 Fiksasi Hewan Coba

Tikus wistar diambil dari kandang satu persatu lalu badan tikus dibebat menggunakan kain untuk meminimalkan gerakan dan tidak lepas dengan posisi tengkurap (posisi dada menghadap ke bawah) sebelum dilakukan pajanan radiasi.

3.7.5 Pajanan Radiasi

Tikus yang telah dibebat dengan kain diberi pajanan radiasi sinar x dari *dental radiography unit* yang diarahkan melalui *cone* yang mempunyai luas permukaan 100 mm³ (Erna dan Supriyadi, 2012). Pajanan radiasi dilakukan dengan mengarahkan *cone* ke sumsum tulang belakang pada hewan coba. Pajanan radiasi menggunakan radiografi periapikal dari *dental radiography unit* yang berada di Instalasi Radiologi Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember. Kelompok perlakuan diberikan pajanan tunggal radiasi sinar x dosis periapikal yaitu sebesar 1,54 mGy (Carestream, 2009).

3.7.6 Pengambilan darah tikus

- a. Sampel darah diambil melalui vena jantung tikus wistar jantan.
- b. Tikus dianastesi inhalasi dengan eter hingga hilang kesadaran.
- c. Letakkan tikus di meja kerja.
- d. Bedah mulai dari perut sampai rongga dada sampai jantung terlihat.
- e. Ambil darah intrakardinal menggunakan *disposable syringe* sampai 2 ml (tikus mati karena pengambilan darah lewat jantung setelah hilang kesadaran).
- f. Masukkan darah pada tabung heparin antikoagulan sampai 2 ml darah masuk dalam tabung, lalu tabung digoyangkan agar tidak menggumpal.
- g. Tahapan pengambilan darah pada 12 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam pasca pajanan radiasi dilakukan sesuai kelompok sampel (Ibrahim *et al.*, 2018).

3.7.7 Prosedur Isolasi Neutrofil

Prosedur yang dilakukan dalam isolasi neutrofil adalah sebagai berikut :

- a. Siapkan sampel darah sebanyak 1 ml dalam tabung *centrifuge* yang telah berisi 500 µl histopaque 1119 dan 500 µl lymphoprep 1077.
- b. Setrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit pada suhu 37°C.
- c. Setelah disentrifus akan terbentuk 4 lapisan.
- d. Ambil lapisan ketiga dari atas yang merupakan lapisan polimorfonuklear (neutrofil) dan tampung dalam tabung *centrifuge* 2 ml dengan ditambahkan 500 µl RPMI.
- e. Setrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 20 menit pada suhu 37°C
- f. setelah disentrifigasi akan terbentuk 2 lapisan, ambil lapisan supernatan (lapisan terbawah) dan tempelkan 100 µl pada coverslip yang berada dalam wellplate.
- g. Tambahkan 500 µl RPMI lalu inkubasi selama 25 menit.
- h. Setelah itu tambahkan 500 µl RPMI lagi dan inkubasi selama 20 menit.
- i. Cuci sebanyak 2 kali menggunakan RPMI.
- j. lakukan pengecatan giemsa dengan prosedur sebagai berikut :
 - 1) Ambil 50 µl isolat neutrofil lalu letakkan pada *object glass*.
 - 2) diamkan sampai kering, lalu difiksasi dengan metanol absolut.
 - 3) keringkan, cat dengan giemsa dan dibiarkan selama 7 menit.
 - 4) Buang giemsa menggunakan air mengalir.
 - 5) Dicuci dengan *aquadest*.
 - 6) Amati dibawah mikroskop inverted.

Isolat neutrofil murni yang telah didapatkan lalu dilakukan pewarnaan dengan *trypan blue* (Susilawati, 2008).

3.7.8 Penghitungan Jumlah Neutrofil

- a. Amati hasil isolat neutrofil yang telah dilakukan pewarnaan *trypan blue* dibawah mikroskop inverted dengan perbesaran 400x. Sel neutrofil yang hidup tampak terang, jernih, dan berbentuk bulat, sedangkan sel neutrofil yang mati akan terlihat berwarna lebih gelap karena menyerap pewarnaan *trypan blue* dan bentuknya tidak bulat atau menyusut (Djajanegara and Wahyudi, 2010).

- b. Jumlah sel neutrofil yang hidup dihitung secara manual menggunakan 4 lapang pandang yang didapat melalui mikroskop inverted. Hal ini berdasarkan jumlah daerah perhitungan yang terdapat pada kamar hitung hemositometer yang berjumlah 4. Jumlah sel neutrofil yang hidup dibagi dengan jumlah total neutrofil lalu dikalikan 100%. Perhitungan jumlah neutrofil yang hidup (Strober, 1997):

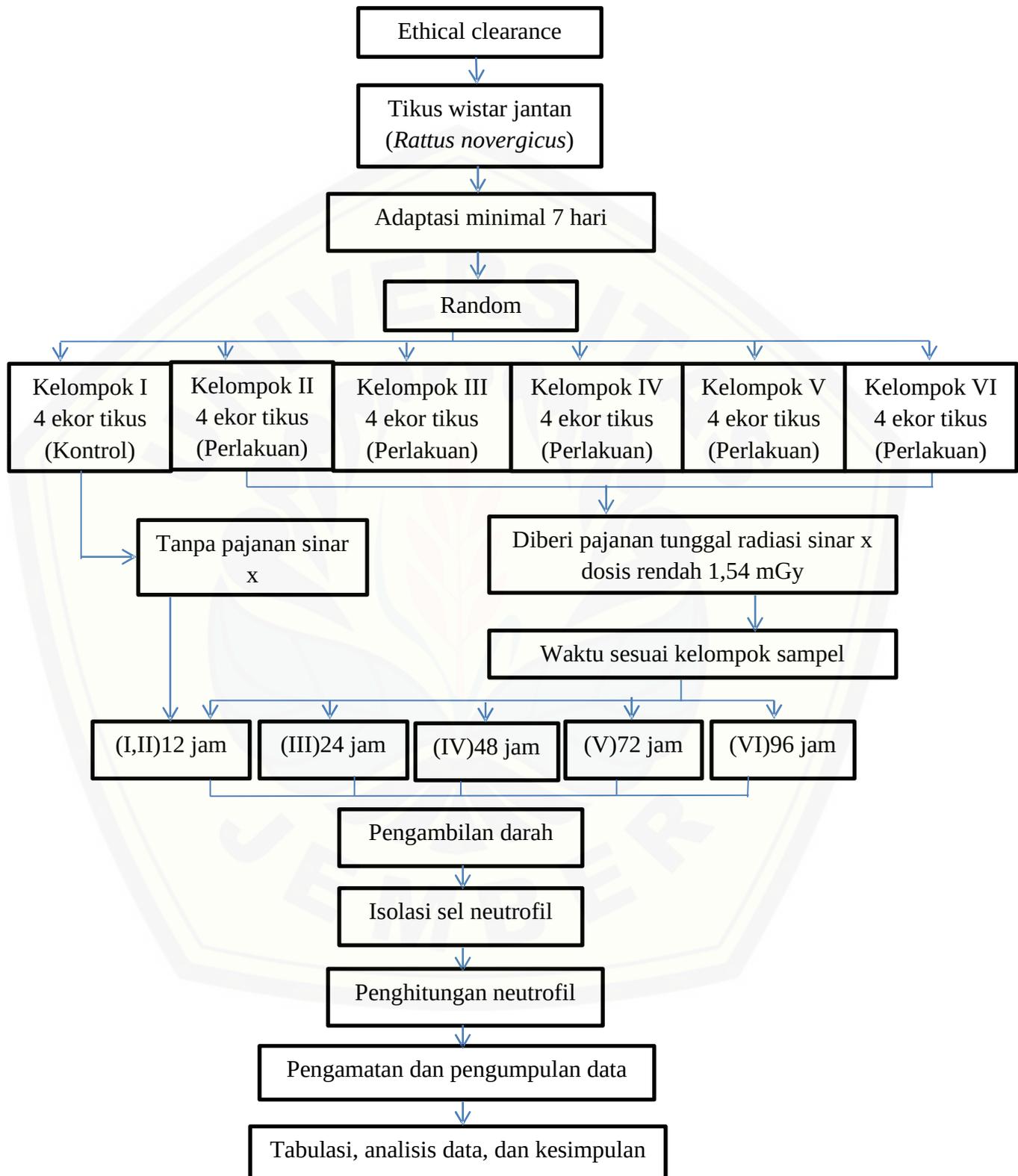
$$\Sigma \text{ Neutrofil: } \frac{\text{Jumlah neutrofil hidup}}{\text{Total Jumlah neutrofil}} \times 100\%$$

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan uji statistik sebagai berikut :

- a. Normalitas distribusi data dianalisis dengan uji *Saphiro-Wilk* (karena besar sampel dalam penelitian termasuk sampel kecil yaitu kurang dari 50) dan homogenitasnya diuji dengan *Levene Statistic*.
- b. Hasil uji menunjukkan bahwa data yang diperoleh tidak berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji statistik non-parametrik *Kruskal Wallis*, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian (Santoso, 2010).

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa waktu *optimal recovery* sel neutrofil tikus wistar jantan setelah pajanan radiasi dosis rendah 1,54 mGy terjadi pada 48 jam setelah pajanan.

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai waktu *optimal recovery* sel neutrofil tikus wistar jantan setelah pajanan radiasi dosis rendah dengan pemilihan interval waktu pengambilan darah yang lebih pendek.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai waktu *optimal recovery* sel neutrofil tikus wistar jantan setelah pajanan radiasi dengan beberapa dosis yang berbeda.
- 5.2.3 Meminimalisasi penggunaan sinar x hanya pada kasus yang benar-benar membutuhkan pemeriksaan penunjang untuk meminimalisasi kerusakan sel.
- 5.2.4 Perlu peningkatan sistem proteksi diri dari radiasi baik untuk operator maupun pasien.
- 5.2.5 Perlu penelitian lebih lanjut mengenai waktu *optimal recovery* sel neutrofil dengan sampel operator instalasi radiologi yang setiap harinya terkena pajanan radiasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abram CL., dan Lowell CA. 2009. Leukocyte adhesion deficiency syndrome: a controversy solved. *Immunol Cell Biol.* 87(6): 440-442.
- Adianto, M. 2013. Perbedaan Morfologi Sel Darah pada Pengecatan Giemsa yang Diencerkan Menggunakan Aquadest dan Buffer pH 6,8. *Thesis*. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan UNIMUS.
- Adlina A., dan Wasilah. 2012. The decrease in number of blood polymorphonuclear (PMN) to periapical radiographs dose of radiation exposure. *Insiva Dental Journal.* 1(1): 27-32.
- Akleyev, A. 2014. *Chronic Radiation Syndrome*. London: Springer science.
- Alatas, Z. 2007. Efek Kesehatan Pajanan Radiasi Dosis Rendah. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 154.
- Al-Hamadany, W.S. 2014. Effects of irradiation on neutrophil activity using α particles radiation and human blood samples. *Int. J. curr. Microbiol. App. Sci.* 3(3): 242-245.
- Arief, S. 2006. *Radikal Bebas*. Surabaya: Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK Unair/RS. Dr. Sutomo.
- Banun, S. 2015. Jumlah Sel Monosit Setelah Pajanan Radiasi Sinar x Dari Radiografi Periapikal Secara In Vivo. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- BATAN. 2013. *Dasar Fisika Radiasi Medik*. Pusdiklat BATAN: Jakarta
- Bekkering, S., dan R. Torensma. 2013. Another look at the life of a neutrophil. *World Journal of Hematology.* 2(2): 44-58.
- Borregaard, N. 2010. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity.* 33(5): 57-670.
- Capitano M. L., Maegan L. Capitano, Michael J. Nemeth, Thomas A. Mace, Christi Salisbury-Ruf, Brahm H. Segal, Philip L. McCarthy, dan Elizabeth A. Repasky. 2012. Elevating Body Temperature Enhances Hematopoiesis And Neutrophil Recovery After Total Body Irradiation in an IL-1-, IL-17-, and G-CSF-dependent manner. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3460682/>. [Diakses pada 5 Agustus 2018].

- Carestream Health. 2009. *Kodak 2200 Intraoral X-Ray System, User Guide*. Croissy-Beaubourgh. Carestream Health.
- Carlos, C. M. J., dan V. Baumans. 2009. The impact of light, noise, cage cleaning, and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Laboratory Animals*. 43(4): 311-327.
- Cetean, Sinziana, Calin Cainan, Anne M.C., Simona C., Alexandra G., Luminita O., Andriana Hangan, Radu O. 2015. The Importance of the granulocyte-colony stimulating factor in oncology. *Clujul Medical*. 88(4): 468-472.
- Chen Y.M. Michael, Pope L. Thomas, Ott J. David. 2011. *Basic Radiology*. 2nd ed. New York: Lange.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins. 2014. *Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunder Company.
- Dainiak N., Waselenko J.K., Armitage J.O., Mac Vittie T.J., dan Farese A.M. 2003. The hematologist and radiation casualties. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2003(1): 473-496.
- Djajanegara, I. dan Wahyudi, P. 2010. Uji toksisitas ekstrak etanol herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn) terhadap sel T47D secara in vitro. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 8(1): 41-47.
- Dorland, W. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82(1): 47-95.
- Edwards, C., S. Statkiewiez, dan R. Ritenour. 1990. *Perlindungan Radiasi bagi Pasien dan Dokter*. Jakarta: Widya Medika.
- Erna, K. dan Supriyadi. 2012. Penurunan jumlah eritrosit darah tepi akibat paparan sinar x dosis radiografi periapikal. *Stomatognatic (Jurnal Kedokteran Gigi Unej)*. 9(3): 140-144.
- Esjahriar, R. 2005. *Radiologi Diagnostik*. Jakarta: EGC.
- El-Shanshoury H., El-Shanshoury G., dan Abaza A. 2016. Evaluation of low dose ionizing radiation effect on some blood components in animal model. *J Radiat Res Appl Sci*. 9(3): 282-293.
- Hall E, Giaccia A. 2006. *Radiobiology for Radiologist*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

- Hiswara, Eri. 2015. *Buku Pintar Proteksi dan Keselamatan Radiasi di Rumah Sakit*. Jakarta Selatan : BATAN Press.
- Hoffbrand, A.V., Pettit, J. E., dan Moss, P. A. H. 2016. *Hofbrand's Essential Haematology*. USA: Blackwell Pub Ltd.
- Ibrahim M. A., Abu Bakar M., G. Chigozie N. I., dan Lunsti G. Bura P. 2018. Postirradiation white blood cell recovery in rats: following single and double (repeated) x-ray exposure. *West Afr J Radiol*. 25(1): 39-44.
- Khaira, K. 2010. Menangkal radikal bebas dengan oksidan. *Jurnal Saintek*. 2(2): 183-187.
- Kiswari, Rukman. 2014. *Hematologi dan Tranfusi*. Jakarta: Erlangga
- Kudr, J., dan Z. Heger. 2015. Effects of ionizing radiation on nucleic acids and transcription factors. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*. 4: 22-29.
- Kuijpers T. W., Maianski N. A., Tool A. T. J., Smit Peter A., Rake J. P., Roos D., dan Visser G. 2003. Apoptotic neutrophils in the circulation of patients with glycogen storage disease type 1b (GSD1b). *Blood*. 101(12): 5021-5024.
- Kumar, V., A. K. Abbas, N. Fausto, dan R. N. Mitchell. 2007. *Robbins Basic Pathology: Cell Injury, Cell Death, and Adaptation*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Lumongga, F. 2008. Apoptosis. Medan: Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Hal: 2-4.
- McCracken J. M., dan Allen L. A. 2014. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J. Cell Death*. 8(7): 15-23.
- Newmeyer, D. D., dan Ferguson, M. S. 2003. Mitochondrial releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell*. 112(4): 481-490.
- Nurhayati, S., dan Lusiyanti, Y. 2006 Apoptosis dan respon biologik sel sebagai faktor prognosa. *Iptek Ilmiah Populer*. 7(3): 57-66.
- Pratiwi, R. 2012. Mekanisme dan Regulasi Apoptosis. *Makalah Kesehatan*. Yogyakarta: CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center) Farmasi – Universitas Gadjah Mada.
- Putra, Krisna Perdana. 2012. Pengaruh Perbedaan Tegangan Alat Radiografi Gigi Terhadap Kualitas Densitas Gambar Radiografi Periapikal. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- Rajamani, U. 2009. Hyperglycemia-induced activation of the Hexosamine Biosynthetic Pathway causes Myocardial Cell Death. in: Essop. M.F. "Dissertation presented for the Degree of Doctor of philosophy". Physiological Sciences, Stellenbosch University. Hal: 1-215.
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Lab Hematologi*. Yogyakarta : Alfabedia dan Kanal Medika.
- Santoso, S. 2010. *Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 17*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Saputra, D., E. R. Astuti, dan T. I. Budhy. 2012. Apoptosis dan nekrosis sel mukosa rongga mulut akibat radiasi sinar x dental radiografik konvensional. *Radiology Dent J*. 3(1): 36-40.
- Strober, W. 1997. *Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability*. Maryland: National Institute of Allergy and Infectious: Bethesda.
- Suminar, P. 2004. *Difraksi Sinar x*. Jakarta: EGC.
- Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling Untuk Survei dan Eksperimen*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Supriyadi. 2008. Evaluasi apoptosis sel odontoblas akibat paparan radiasi ionisasi. *Indonesian J. Dent*. 5(1): 71-76.
- Susilawati, I.D.A. 2008. Induksi Porphyromonas gingivalis terhadap aktivitas Kolagenolisis Neutrofil pada Kolagen Tipe IV (Studi in vitro Mekanisme Kolagenolisis Plak Aterosklerotik. Tidak diterbitkan. *Disertasi*. Malang: Program Doktor Ilmu Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Syaifudin, M. 2012. Perubahan molekuler gen penekan tumor p-53 akibat paparan radiasi pengion. *Jurnal Forum Nuklir*. 6(1): 20-28.
- Nishizawa K., Matsumoto M., Iwai K., dan Maruyama T. 2004. Survey of CT practice in Japan and collective effective dose estimation. *Nippon Acta Radiol*. 64(3): 151-158.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi Cetakan Kedua. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Whaites, E. 2003. *Essentials of Dental Radiography and Radiology*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone-Elsevier.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Etichal Clearance

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
	<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No. 128/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>
<p>Title of research protocol : "Optimal Recovery Time Neutrophil Cell of Male Wistar Rat (<i>Rattus norvegicus</i>) after 1.54 mGy Low Dose Radiation Exposure"</p>	
<p>Document approved : Research Protocol</p>	
<p>Principal investigator : Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya</p>	
<p>Member of research : 1. drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes 2. drg. Winny Adriatmoko, M.Kes</p>	
<p>Responsible Physician : Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya</p>	
<p>Date of approval : August 10th, 2018</p>	
<p>Place of research : 1. Laboratory of Physiology, Biomedic Section Faculty of Dentistry Universitas Jember 2. Laboratory of Bioscience Faculty of Dentistry Universitas Jember 3. Radiology Installation RSGM Universitas Jember</p>	
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, August 14th, 2018</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>	<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>
 <p>(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)</p>	 <p>(Prof. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)</p>

LAMPIRAN B. Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 3594 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Direktur RSGM Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya |
| 2 | NIM | : 151610101086 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip II No. 29 B Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Waktu Optimal Recovery Neutrofil Tikus Wistar Jantan (<i>Rattus Norvegicus</i>) Setelah Pajanan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience Rumah sakit Gigi Dan Mulut Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Inkubator, tabung falcon, dll |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Waktu Optimal Recovery Neutrofil Tikus Wistar Jantan (<i>Rattus Norvegicus</i>) Setelah Pajanan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg Swasthi Prasetyarini, M.Kes.
2. drg Winny Adriatmoko, M.Kes. |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

Jember 20 SEP 2018
an Dekan
Wakil Dekan I

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 2591 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Direktur RSGM Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini.

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya |
| 2 | NIM | : 151610101086 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip II No. 29 B Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Waktu Optimal Recovery Neutrofil Tikus Wistar Jantan (<i>Rattus Norvegicus</i>) Setelah Paparan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Instalasi Radiologi Kedokteran Gigi Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : alat x-ray |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Waktu Optimal Recovery Neutrofil Tikus Wistar Jantan (<i>Rattus Norvegicus</i>) Setelah Paparan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg Swasthi Prasetyarini, M.Kes.
2. drg Winny Adriatmoko, M.Kes. |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

Jember 20 SEP 2018
an Dekan
Wakil Dekan I

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes.
NIP. 196109031986022001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 3.599/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- 1 Nama : Ditha Rizky Ika Putri Nurbaya
- 2 NIM : 151610101086
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Mastrip II No. 29 B Jember
- 6 Judul Penelitian : Waktu Optimal Recovery Neutrofil Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Setelah Pajanan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : Timbangan BB tikus, kandang tikus, dll
- 9 Waktu : September 2018 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Menganalisis Waktu Optimal Recovery Neutrofil Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Setelah Pajanan Radiasi Dosis Rendah 1,54 mGy
- 11 Dosen Pembimbing : 1. drg Swasthi Prasetyarini, M.Kes.
2. drg Winny Adriatmoko, M.Kes.

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

Jember 20 SEP 2018
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

LAMPIRAN C. Data Hasil Pengamatan

Kelompok		Presentase Viabilitas	Rata-rata presentase viabilitas per kelompok (%)
Kelompok 1 (kontrol)	1	100	100
	2	100	
	3	100	
	4	100	
Kelompok 2	1	87,37	84,895
	2	89,77	
	3	81,91	
	4	80,53	
Kelompok 3	1	62,25	66,3875
	2	57,29	
	3	74,32	
	4	71,69	
Kelompok 4	1	100	100
	2	100	
	3	100	
	4	100	
Kelompok 5	1	100	100
	2	100	
	3	100	
	4	100	
Kelompok 6	1	98,29	99,5725
	2	100	
	3	100	
	4	100	

LAMPIRAN D. Analisis Data**D.1 Uji Normalitas Shapiro Wilk****Tests of Normality^{b,c,d}**

kelompo k	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumla neutrofil	kel 2	.252	4	.911	4	.486
	kel 3	.247	4	.923	4	.553
	kel 6	.441	4	.630	4	.001

a. Lilliefors Significance Correction

b. jumla neutrofil is constant when kelompok = kel 1. It has been omitted.

c. jumla neutrofil is constant when kelompok = kel 4. It has been omitted.

d. jumla neutrofil is constant when kelompok = kel 5. It has been omitted.

D.2 Uji Homogenitas Levene Statistic**Test of Homogeneity of Variances**

jumla neutrofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
27.016	5	18	.000

D.3 Uji Non-Parametrik Kruskal Wallis**Ranks**

kelompo k	N	Mean Rank	
jumla neutrofil	kel 1	4	17.00
	kel 2	4	6.50
	kel 3	4	2.50
	kel 4	4	17.00
	kel 5	4	17.00
	kel 6	4	15.00
Total	24		

Test Statistics^{a,b}

	jumlah neutrofil
Chi-Square	21.467
df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

D.4 Uji Man-Whitney

Kelompok (1 2)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (1 3)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (1 4)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (1 5)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (1 6)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (2 1)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (2 3)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (2 4)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (2 5)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (2 6)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (3 1)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (3 2)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (3 4)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (3 5)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (3 6)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (4 1)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (4 2)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (4 3)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (4 5)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (4 6)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (5 1)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (5 2)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (5 3)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (5 4)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (5 6)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (6 1)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (6 2)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (6 3)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok (6 4)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

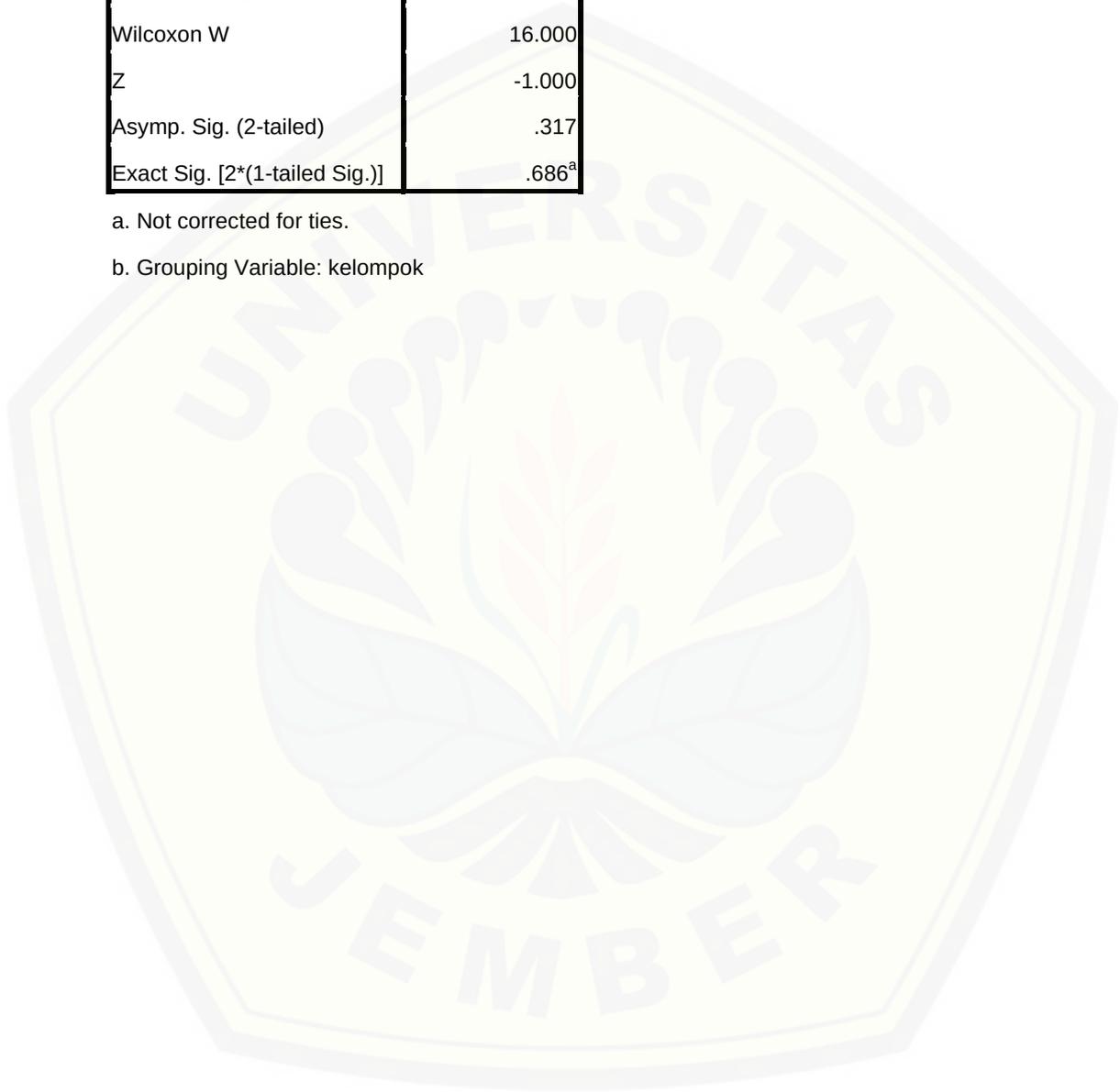
Kelompok (6 5)

Test Statistics^b

	jumlah neutrofil
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok



LAMPIRAN E. Foto Alat dan Bahan Penelitian**E.1 Alat dan Bahan Penelitian****a. Pemeliharaan dan Adaptasi Hewan Coba**

Tempat pemeliharaan dan adaptasi hewan coba

b. Paparan Radiasi (Perlakuan)

Dental Radiography Unit



Apron



Lap

c. Proses Pengambilan Darah dan Dekapitasi

Toples (inhalasi eter)



Tabung heparin



syringe

d. Isolasi Sel Neutrofil



Mikropipet 50 DAN 100 ml



Autoclave



Inkubator



Media RPMI



Aquadest



Tabung sentrifugasi



Pewarna Giemza



Pewarna Trypan blue

LAMPIRAN F. Foto Prosedur Penelitian

Gambar F.1 : Pemeliharaan dan adaptasi hewan coba dengan lingkungan kandang



Gambar F.2 : Proses perlakuan hewan coba yaitu pajanan tunggal radiasi sinar x dengan dosis periapikal (1,54 mGy).



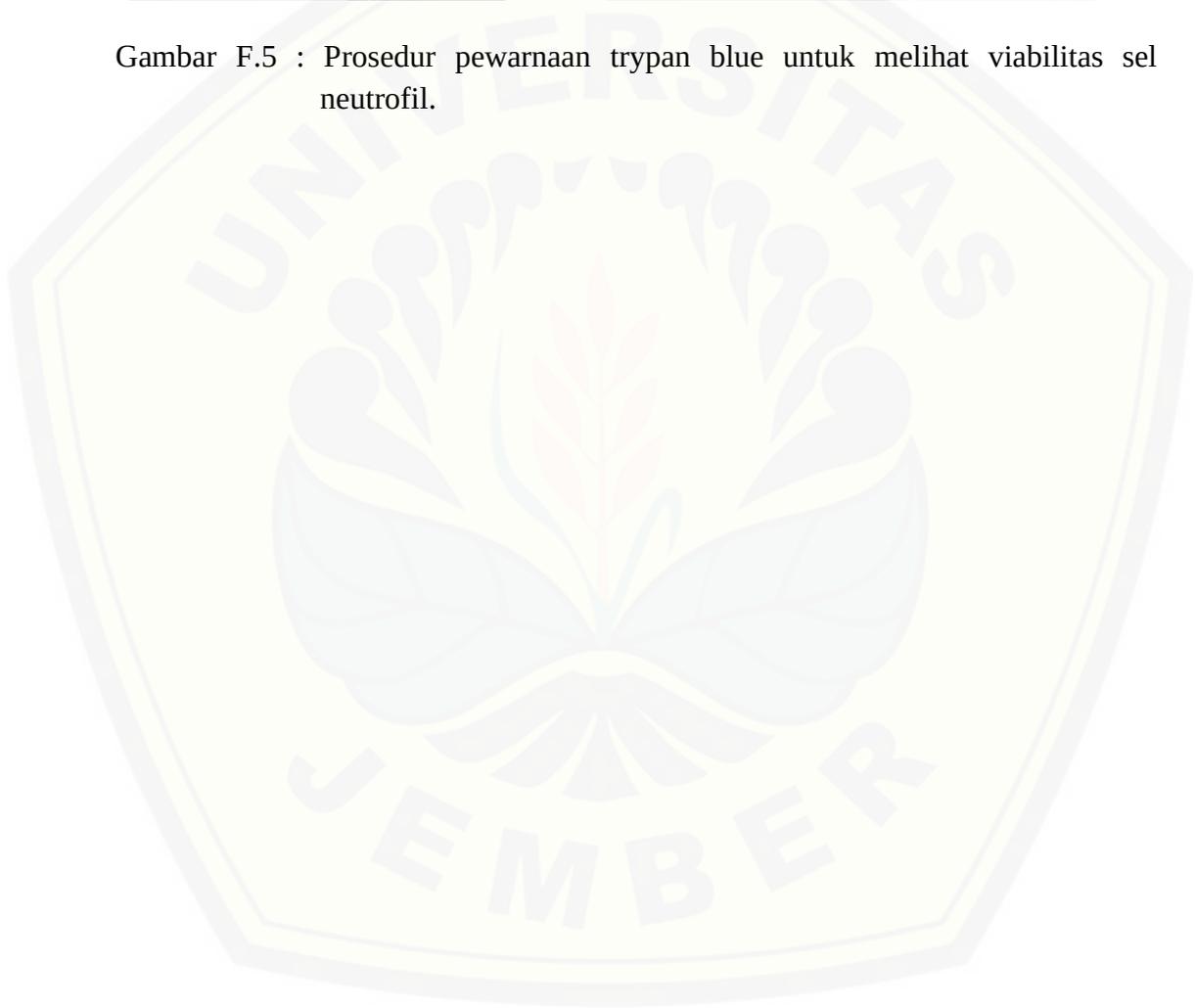
Gambar F.3 : Prosedur pengambilan darah sekaligus dekapitasi.



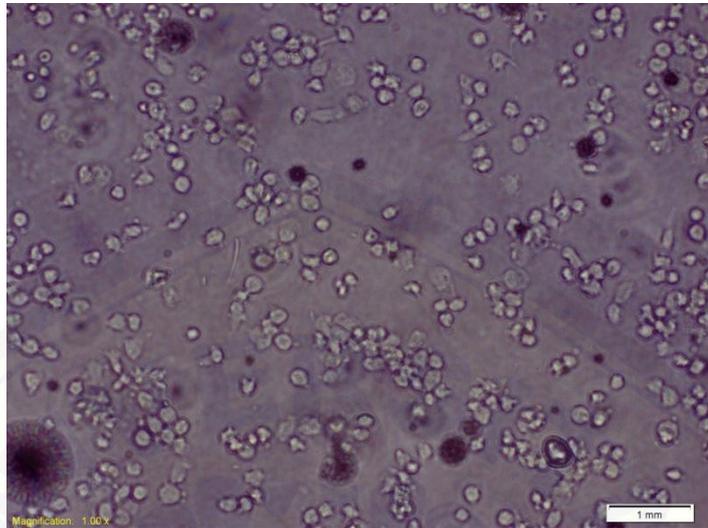
Gambar F.4 : Prosedur Isolasi Sel Neutrofil. Darah dari tabung heparin di ambil menggunakan mikropipet untuk dimasukkan ke ke tabung sentrifugasi, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit. Hasil sentrifugasi tenbentuk menjadi 4 lapisan, lalu lapisan ketiga dari atas diambil menggunakan mikropipet untuk dimasukkan ke tabung sentrifugasi. Sentrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit. Ambil lapisan supernatan, tempelkan di wellplate lalu inkubasi.



Gambar F.5 : Prosedur pewarnaan trypan blue untuk melihat viabilitas sel neutrofil.



LAMPIRAN G. Foto Hasil Isolasi Sel Neutrofil



Kumpulan sel neutrofil dari hasil isolasi