



Pengaruh Iradiasi Sinar-X terhadap Produksi Antibodi Mencit Galur BALB/c dengan Pemberian Vaksin Toksoid Tetanus

The effect of X-irradiation on the BALB/c mice antibody production with tetanus toxoid vaccine gift

ERNA WIDYASARI, SHANTI LISTYAWATI[♥],
ARTINI PANGASTUTI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126.

Diterima: 15 Agustus 2005. Disetujui: 2 Nopember 2005.

ABSTRACT

X-irradiation is a kind of immunosuppression which dangerous for health. X-ray can disturb limfosit's capability to cleavage then reduce the infection immune response. Decreasing immune response, caused by X-irradiation, can be shown in the decrease of antibodies production. The aims of this research were to know significant difference's antibodies production among the doses of 0.0 Gy, 0.5 Gy, 1.5 Gy, and 3.0 Gy X-ray and the effect of X-irradiation on the BALB/c mice antibodies production after tetanus toxoid immunization. Mice were grouped into four groups with the treatments of 0.0 Gy dose, 0.5 Gy dose, 1.5 Gy dose, 3.0 Gy dose X-ray for 1st, 2nd, 3rd, and 4th group respectively. External irradiation was applied once on the whole body of mice. Tetanus toxoid immunization was done 24 hours after X-irradiation. Indirect ELISA was used to determine the presence of antibodies in serum samples as the quantitative data. Its were analyzed by one way ANOVA and regression. One way of ANOVA was done to know significant difference's antibodies production among the doses of 0.0 Gy, 0.5 Gy, 1.5 Gy, and 3.0 Gy X-ray then continued with DMRT on 5% significant rate if there was any marked difference. Regression was done to know the effect of X-irradiation on the BALB/c mice antibodies production after tetanus toxoid immunization. Qualitative observations were done on poisoned symptom, the changes of physical and behavior, and mortality. The result of the research showed that there weren't significant difference's antibodies production with tetanus toxoid vaccine gift among the dose of 0.0 Gy, 0.5 Gy and 1.5 Gy as the same as 0.5 Gy, 1.5 Gy, and 3.0 Gy dose of X-ray. There was a significant difference at 3.0 Gy and 0.0 Gy dose of X-ray. X-irradiation influenced the antibodies production with tetanus toxoid vaccine gift by caused antibody rate degradation along with the increasing of X-ray dose.

[♥] Alamat korespondensi:
Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126
Tel. & Fax.: +62-271-663375.
e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Keywords: X-ray irradiation, antibodies, BALB/c mice, tetanus toxoid.

PENDAHULUAN

Sinar-X merupakan salah satu bentuk dari radiasi ionisasi buatan. Dalam kegiatan medik, sinar-X dapat dimanfaatkan untuk diagnosis maupun terapi (Suyati dan Akhadi, 1998). Penempatan sinar-X sebagai suatu keuntungan

atau kerugian bergantung pada pengontrolan dosis dan proteksi. Dosis yang digunakan harus berada dalam tingkat yang aman dan proteksi perlu dilakukan untuk mengurangi resiko yang berbahaya bagi kesehatan. Hal ini perlu mendapat perhatian khusus mengingat pada

umumnya sinar-X adalah salah satu bentuk immunosupresi (Baratawidjaja, 2004).

Telah diketahui secara luas bahwa sel-sel darah putih merupakan sel yang paling peka terhadap radiasi atau radiosensitivitasnya paling tinggi (Darussalam, 1989; Wardhana, 1996). Sel darah putih merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh. Berdasarkan penelitian, penyinaran dengan sinar-X pada mencit dewasa merusak kemampuan limfosit mencit untuk membelah dan dengan demikian merusak pula respon imunologik mencit tersebut (Roitt, 1990). Kerusakan respon imun dapat mengakibatkan penurunan sistem kekebalan tubuh. Penurunan sistem kekebalan tubuh tersebut akan sangat berpengaruh terhadap mekanisme pertahanan tubuh terhadap penyakit infeksi.

Penyakit infeksi terjadi karena sistem kekebalan tubuh tidak mampu memberikan perlindungan terhadap infeksi. Infeksi ataupun penyakit akibat infeksi telah menyebabkan kematian 13 juta orang di seluruh dunia setiap tahun, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Empat puluh tiga persen kematian di negara-negara berkembang disebabkan oleh penyakit infeksi (Syarifudin, 2003).

Vaksin toksoid tetanus (TT), seperti vaksin toksoid lainnya, mengandung bentuk tidak aktif dari bakteri sebagai pemicu paparan sistem imun. Vaksin toksoid tetanus merupakan bentuk tidak aktif dari toksin *Clostridium tetani*. Tujuan penggunaan vaksin untuk merangsang tubuh menghasilkan antibodi melawan bakteri sehingga bila penyakit yang sebenarnya menyerang, sistem kekebalan tubuh sudah siap merespon. Respon antibodi terhadap vaksin merupakan contoh model untuk mengetahui respon imun terhadap infeksi (Born, 2003).

Semakin banyaknya penggunaan radiasi sinar-X dalam bidang kedokteran yang apabila dosisnya melebihi dosis yang dianjurkan akan berakibat buruk terhadap sistem kekebalan tubuh, ditambah dengan semakin tingginya kasus penyakit infeksi, mendorong untuk dilakukannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi mencit galur BALB/c dengan pemberian vaksin toksoid tetanus serta mengetahui adanya perbedaan signifikan pada produksi antibodi mencit galur BALB/c di antara dosis sinar-X yaitu 0,0 Gy, 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: mencit (*Mus musculus* L.) galur BALB/c umur 12 minggu, pakan dan air minum mencit, imunogen: *Adsorbed Tetanus Vaccine* produksi BioFarma Bandung, serum antibodi, alkohol 70%, dan bahan untuk uji ELISA: *coating buffer, blocking buffer, washing buffer, incubation buffer, substrat buffer, dan conjugate*.

Cara kerja

Pemeliharaan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 mencit jantan (*Mus musculus* L.) galur BALB/c, berumur kurang lebih 12 minggu, yang diperoleh dari Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Mencit sebelum digunakan untuk percobaan terlebih dahulu diadaptasikan dalam kandang pemeliharaan di Sub Laboratorium Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta. Selama perlakuan mencit diberi makan pelet jenis BR 2 dan minum air putih setiap hari secara *ad libitum*.

Perlakuan hewan uji

Pemberian sinar-X. Hewan uji dikelompokkan dalam empat perlakuan dosis radiasi yaitu: 0,5 Gy, 1,5 Gy, 3,0 Gy, dan 0,0 Gy sebagai kontrol (Ekawati, 2002; Gridley *et al.*, 2002). Setiap perlakuan diiradiasi satu kali seluruh tubuh.

Pemberian imunogen. Imunisasi dilakukan 24 jam setelah pemberian sinar-X. Dosis yang digunakan untuk setiap mencit adalah 2 Lf vaksin TT (Woo *et al.*, 1999). Injeksi dilakukan secara subkutan (Woo *et al.*, 1999) di kuduk (Mangkoewidjojo, 2003; Scalzo, 1995) yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alkohol 70%, dengan menggunakan spet dan jarum 26 Gauge.

Pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan tiga kali yaitu sebelum imunisasi serta hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi (Woo *et al.*, 1999) dari *medial canthus sinus orbitalis* dengan menggunakan hematokrit. Darah disentrifuge pada 5000 rpm selama 10 menit dan supernatan (serum) diambil dan disimpan pada lemari es (-20°C) (Kerr dan Thorpe, 1994) sampai pengukuran antibodi siap untuk dilakukan.

Uji ELISA

Uji ELISA dilakukan dua kali pada hari ke-7 dan 21 dengan dua kali ulangan berdasarkan metode Caligan *et al.* (1996), dan Woo *et al.* (1999), dengan urutan kerja sebagai berikut: setiap sumur dilapisi dengan 100 μ L antigen dengan komposisi 50 μ L toksoid tetanus dalam 50 μ L 0,05 M *carbonate-bicarbonate buffer* (pH 9,6). *Plate* diinkubasi 4^oC semalam. *Plate* dicuci dengan PBS-0,05% Tween 20 (*washing buffer*) tiga kali. Setiap sumur ditambahkan dengan 200 μ L PBS-1% *bovine serum albumin* (BSA) (*Blocking buffer*). *Plate* diinkubasi pada 37^oC selama 1 jam. *Plate* dicuci dengan *washing buffer* tiga kali, kemudian ditambahkan serum mencit yang dicairkan dengan aquabidest. *Plate* diinkubasi 37^oC selama 1 jam. *Plate* dicuci dengan *washing buffer* tiga kali. *Peroxidase-conjugated goat anti-mouse antibodi* yang dicairkan dengan PBS-2% BSA sebanyak 100 μ L ditambahkan pada setiap sumur. *Plate* diinkubasi pada 37^oC selama 1 jam. *Plate* dicuci dengan *washing buffer* tiga kali. Sebanyak 100 μ L *ortho-phenylenediamine* (OPD) *substrate* ditambahkan dalam setiap sumur. *Plate* diinkubasi pada temperatur ruangan selama 30 menit. Setiap sumur ditambahkan dengan 100 μ L 1 M H₂SO₄. Absorbansi setiap sumur diukur pada 492 nm.

Analisis data

Data kadar antibodi dianalisis dengan regresi untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi setelah pemberian vaksin toksoid tetanus. ANAVA (Analisis Varian) satu arah digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan pada produksi antibodi di antara dosis sinar-X yaitu 0,0 Gy, 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy, kemudian dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5% bila ada perbedaan yang nyata. Data kualitatif seperti gejala keracunan, perubahan fisik maupun tingkah laku hingga kematian pada mencit dijadikan data pendukung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi antibodi setelah iradiasi sinar-X

Produksi antibodi pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode ELISA tidak langsung, yang merupakan rancangan paling sederhana untuk mengukur kadar antibodi. Reaksi yang terjadi dalam metode ELISA tidak langsung berlangsung melalui beberapa tahap.

Antibodi yang dihasilkan akan mengikat antigen berupa vaksin toksoid tetanus. Antibodi sekunder berlabel enzim peroksidase yang disebut *conjugate* akan bereaksi dengan antibodi yang terikat antigen. Reaksi enzimatik menimbulkan perubahan warna oranye kekuningan karena antigen telah bergabung dengan antibodi dalam sampel.

Kerapatan optik atau OD diukur dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 492 nm. Semakin banyak antibodi yang terdapat dalam serum, semakin banyak enzim peroksidase yang bereaksi dengan substrat OPD sehingga intensitas warna semakin tinggi. Intensitas warna tersebut sebanding dengan harga OD, sedangkan harga OD berbanding lurus dengan kadar antibodi dalam serum.

Kadar antibodi yang diukur pada *ELISA reader* meliputi kadar antibodi sebelum imunisasi, hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol yang tidak diiradiasi. Pengukuran kadar antibodi sebelum imunisasi digunakan untuk mengetahui adanya produksi antibodi sebelum dilakukan imunisasi. Pengukuran kadar antibodi pada hari ke-7 dilakukan untuk mengetahui produksi antibodi awal setelah imunisasi dan hari ke-21 untuk mengetahui produksi antibodi akhir setelah imunisasi. Masing-masing kadar antibodi tersebut disajikan pada Tabel 1.

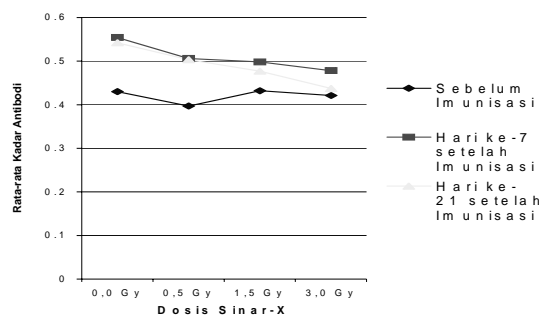
Tabel 1. Rata-rata kadar antibodi hasil pengukuran dengan menggunakan metode ELISA tidak langsung.

Kelompok	Sebelum imunisasi	Hari ke-7 setelah imunisasi	Hari ke-21 setelah imunisasi
0,0 Gy (kontrol)	0,430	0,554	0,542
0,5 Gy	0,397	0,506	0,503
1,5 Gy	0,432	0,498	0,477
3,0 Gy	0,421	0,478	0,437

Pada rata-rata kadar antibodi sebelum imunisasi (Tabel 1.) terlihat adanya perbedaan rata-rata kadar antibodi antara dosis kontrol dengan dosis perlakuan sinar-X 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy. Pada dosis 0,5 Gy rata-rata kadar antibodi sebesar 0,397 di bawah dosis sinar-X 1,5 Gy dan 3,0 Gy yaitu 0,432 dan 0,421. Pada dosis 1,5 Gy rata-rata kadar antibodi sebesar 0,432 justru lebih tinggi dari pada kontrol yang sebesar 0,430, data tersebut hanya dapat menunjukkan keadaan awal mencit setelah iradiasi sinar-X dan tidak dapat menunjukkan adanya suatu peningkatan respon imun.

Pada hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi terlihat bahwa rata-rata kadar antibodi semakin menurun sesuai dengan meningkatnya dosis sinar-X. Rata-rata kadar antibodi dosis perlakuan sinar-X yang meliputi 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy berada di bawah rata-rata kadar antibodi kontrol yang tidak diiradiasi (0,0 Gy). Dari hasil perlakuan iradiasi sinar-X didapat rata-rata kadar antibodi dosis 1,5 Gy berada di bawah rata-rata kadar antibodi 0,5 Gy. Rata-rata kadar antibodi dosis 3,0 Gy berada di bawah rata-rata kadar antibodi dosis 1,5 Gy dan 0,5 Gy. Penurunan rata-rata kadar antibodi apabila dibandingkan dengan kontrol tersebut dikarenakan semakin besar dosis sinar-X yang diterima maka kerusakan limfosit akan semakin besar, sehingga mempengaruhi produksi antibodi. Menurut penelitian Fujikawa *et al.* (2000), kerusakan limfosit terjadi karena adanya apoptosis.

Rata-rata kadar antibodi dari Tabel 1. dapat dibuat Gambar 1. untuk mengetahui gambaran rata-rata kadar antibodi mencit sebelum imunisasi, hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol.



Gambar 1. Rata-rata kadar antibodi mencit sebelum imunisasi, hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol.

Berdasarkan Gambar 1. diketahui bahwa rata-rata kadar antibodi sebelum imunisasi di bawah rata-rata kadar antibodi hari ke-7 dan hari ke-21 setelah imunisasi pasca iradiasi sinar-X. Hal ini sesuai dengan tujuan imunisasi yaitu meningkatkan jumlah limfosit B sehingga produksi antibodi juga meningkat. Rata-rata kadar antibodi pada hari ke-7 setelah imunisasi berada di atas rata-rata kadar antibodi hari ke-21 setelah imunisasi. Hal ini dikarenakan hari ke-7 merupakan respon awal terhadap imunogen sehingga diproduksi antibodi dalam jumlah yang besar, sedangkan hari ke-21 merupakan respon

akhir terhadap imunogen sehingga produksi antibodi semakin menurun.

Hasil analisis statistik uji ANAVA satu arah untuk mengetahui adanya perbedaan kadar antibodi antar dosis iradiasi sinar-X. Berdasarkan hasil uji ANAVA didapat harga probabilitas 0,025 ($P < 0,05$) sehingga terdapat perbedaan produksi antibodi yang signifikan di antara dosis iradiasi sinar-X yaitu 0,0 Gy, 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy. Untuk mengetahui kelompok yang mempunyai perbedaan yang signifikan, maka data tersebut dianalisis dengan uji DMRT (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis uji DMRT rata-rata kadar antibodi pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol.

Kelompok	Rata-rata kadar antibodi
0,0 Gy (kontrol)	0,508667 ^b
0,5 Gy	0,468933 ^{ab}
1,5 Gy	0,468867 ^{ab}
3,0 Gy	0,445533 ^a

Keterangan: huruf yang beda di belakang angka menunjukkan berbeda signifikan huruf yang sama di belakang angka menunjukkan tidak beda secara signifikan.

Hasil analisis pada Tabel 2. menunjukkan bahwa antara dosis 0,0 Gy, 0,5 Gy, dan 1,5 Gy tidak berbeda secara signifikan dalam hal produksi antibodi, demikian pula dengan dosis 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy juga tidak berbeda secara signifikan. Perbedaan produksi antibodi yang signifikan hanya terjadi pada dosis 0,0 Gy dan 3,0 Gy. Perbedaan yang signifikan antara dosis 0,0 Gy dengan 3,0 Gy disebabkan dosis 0,0 Gy merupakan dosis kontrol yang tidak diberi perlakuan iradiasi sehingga tidak ada efek iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi, sedangkan dosis 3,0 Gy merupakan dosis tertinggi iradiasi sinar-X.

Pengaruh iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi anti-toksoid tetanus

Antibodi anti-toksoid tetanus didapatkan dari imunisasi toksoid tetanus. Apabila rata-rata kadar antibodi sebelum imunisasi dianggap sebagai keadaan awal mencit maka nilainya dinyatakan dengan nol, sehingga selisih antara rata-rata kadar antibodi hari ke-7 dan hari ke-21 setelah imunisasi terhadap rata-rata kadar antibodi sebelum imunisasi dinyatakan sebagai rata-rata kadar antibodi karena imunisasi. Selisih kadar antibodi tersebut merupakan antibodi

yang spesifik untuk vaksin toksoid tetanus yang disebut antibodi anti-toksoid tetanus.

Berdasarkan pembacaan ELISA tidak langsung dapat diketahui bahwa iradiasi sinar-X juga mempengaruhi produksi antibodi anti-toksoid tetanus. Rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol.

Kelompok	Hari ke-7 setelah imunisasi	Hari ke-21 setelah imunisasi
0,0 Gy (kontrol)	0,124	0,112
0,5 Gy	0,109	0,106
1,5 Gy	0,066	0,045
3,0 Gy	0,057	0,016

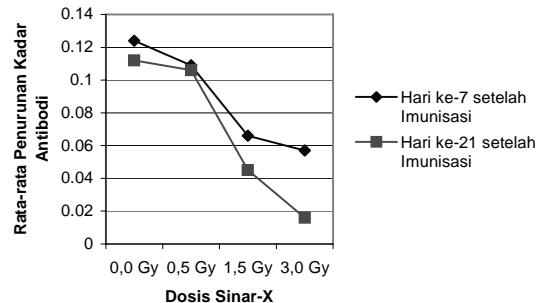
Tabel 3. tersebut menunjukkan bahwa mencit yang diiradiasi mengalami penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus bila dibandingkan dengan mencit kontrol. Semakin besar dosis yang diterima, maka penurunan rata-rata kadar antibodi semakin besar berurutan dari dosis 0,5 Gy, 1,5 Gy kemudian 3,0 Gy.

Pada data hari ke-7 setelah imunisasi terlihat adanya penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus sesuai dengan semakin besarnya dosis sinar-X. Pada dosis kontrol (0,0 Gy) didapat rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus sebesar 0,124. Pada dosis 0,5 Gy didapat rata-rata kadar antibodi sebesar 0,109, dosis 1,5 Gy sebesar 0,066, dan dosis 3,0 Gy sebesar 0,057 sehingga menunjukkan adanya penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus.

Pada data hari ke-21 setelah imunisasi juga terjadi penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus. Pada dosis kontrol (0,0 Gy) didapat rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus sebesar 0,112, dan menurun pada dosis yang lebih besar (0,5 Gy) menjadi sebesar 0,106. Penurunan secara tajam terjadi dari dosis 0,5 Gy ke 1,5 Gy yaitu sebesar 0,106 ke 0,045. Pada dosis 1,5 Gy ke 3,0 Gy juga terdapat penurunan rata-rata kadar antibodi yang tajam yaitu sebesar 0,045 ke 0,016.

Penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus disebabkan adanya efek immunosupresor dari iradiasi sinar-X. Efek immunosupresor dari iradiasi sinar-X dapat terlihat pada penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus. Efek immunosupresor ini dapat terjadi karena sinar-X merusak

kemampuan limfosit untuk membelah sehingga menurunkan respon imun. Penurunan respon imun ini mempengaruhi sistem kekebalan tubuh ketika menghadapi infeksi.



Gambar 2. Penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus pasca iradiasi sinar-X dan dosis kontrol.

Gambar 2. menunjukkan bahwa terjadi penurunan rata-rata kadar antibodi anti-toksoid tetanus seiring dengan meningkatnya dosis sinar-X. Pada dosis sinar-X 0,5 Gy terlihat rata-rata kadar antibodi antara hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi menurun dari dosis kontrol dan berada pada titik yang hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa efek dari sinar-X pada dosis 0,5 Gy cenderung sama baik pada hari ke-7 maupun hari ke-21 setelah imunisasi. Dari gambar tersebut terlihat penurunan yang tajam pada dosis 0,5 Gy ke 1,5 Gy dan 1,5 Gy ke 3,0 Gy hari ke-21 setelah imunisasi bila dibandingkan penurunan pada hari ke-7 setelah imunisasi pada dosis yang sama.

Kadar antibodi terhadap vaksin toksoid tetanus (Tabel 3. dan Gambar 2.) tergolong rendah karena merupakan respon primer yang sebelumnya belum terbentuk sel-sel memori. Kadar antibodi yang rendah juga disebabkan imunisasi dilakukan pada 24 jam setelah iradiasi sinar-X ketika jumlah limfosit menurun secara maksimal sehingga produksi antibodi juga berkurang secara maksimal.

Pada penelitian ini injeksi dilakukan secara subkutan sehingga menghasilkan kadar antibodi yang rendah. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Kahl *et al.* (1989) bahwa imunisasi secara subkutan menghasilkan kadar antibodi lebih rendah dibandingkan dengan intraperitoneal. Kadar antibodi anti-toksoid tetanus tersebut memang tergolong rendah, namun antibodi tersebut dapat terdiri dari bermacam-macam kelas antibodi (Kodo *et*

al.,1984; Kroon *et al.*, 1999). Antibodi dalam penelitian ini tidak diketahui secara spesifik kelasnya, namun untuk respon primer antibodi yang mendominasi adalah IgM dan IgG. IgM adalah antibodi yang muncul pertama kali kemudian diikuti dengan IgG. IgG merupakan antibodi utama dalam serum normal, banyaknya 70-75%. *Conjugate* yang digunakan dalam penelitian ini khusus untuk mendeteksi IgG, IgM, dan IgA. Kemungkinan untuk mendapatkan IgA kecil karena IgA lebih banyak terdapat pada sekresi mukosa, seperti kolostrum, sedangkan dalam penelitian ini spesimen yang digunakan adalah serum.

Analisis statistik regresi digunakan untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi anti-toksoid tetanus pada hari ke-7 dan 21 setelah imunisasi. Hasil analisis statistik regresi pada hari ke-7 setelah imunisasi tersebut menunjukkan bahwa nilai R adalah 0,933 ($R > 0,5$) maka hubungan antara rata-rata kadar antibodi hari ke-7 setelah imunisasi dengan dosis iradiasi sinar-X kuat karena dosis iradiasi sinar-X menurunkan produksi antibodi anti-toksoid tetanus dengan persamaan garis regresi $y = -0,023x + 0,118$.

Hasil analisis statistik regresi hari ke-21 setelah imunisasi menunjukkan bahwa nilai R adalah 0,968 ($R > 0,5$), maka hubungan antara rata-rata kadar antibodi hari ke-21 setelah imunisasi dengan dosis iradiasi sinar-X kuat karena dapat menurunkan produksi antibodi anti-toksoid tetanus. Persamaan regresinya adalah $y = -0,0343x + 0,113$.

Efek langsung dan tidak langsung iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara dosis 0,0 Gy dan 3,0 Gy dan ada pengaruh dari iradiasi sinar-X terhadap produksi antibodi. Iradiasi sinar-X mempengaruhi produksi antibodi dengan cara menurunkan produksi antibodi melalui efek langsung maupun efek tidak langsung. Kemungkinan terjadinya efek tidak langsung lebih besar dari pada efek langsung mengingat tubuh sebagian besar terdiri dari air.

Efek langsung radiasi terjadi bila partikel-partikel ionisasi langsung berinteraksi dengan molekul-molekul biologi seperti DNA. Proses ionisasi terhadap DNA dapat berlangsung mengingat limfosit dan sel plasma memiliki inti sel dan mitokondria yang berisi materi genetik. Fujikawa *et al.* (2000) mengatakan bahwa proses ionisasi tersebut mengakibatkan apoptosis pada

sebagian limfosit dan terjadinya perpanjangan interfase antara mitosis satu dengan mitosis berikutnya sehingga menghambat proses pembelahan limfosit.

Edwards *et al.* (1990) mengatakan bahwa ionisasi pada semua komponen sel yang memiliki DNA mengakibatkan putusannya ikatan fosfat-gula. Kontak lebih lanjut dari DNA terhadap radiasi ionisasi dapat menambah kerusakan pada ikatan molekul DNA. Apabila terdapat lebih dari satu ikatan fosfat-gula yang putus maka dapat menyebabkan kerusakan total dari kromosom. Bila kromosom yang rusak membelah, tiap sel baru akan menerima bahan genetik yang tidak sesuai sehingga sel baru akan mati atau terganggu fungsinya.

Interaksi antara radiasi dan darah dapat terjadi secara tidak langsung karena darah terdiri atas 90% air. Limfosit dan sel plasma mengandung air dalam sitoplasmanya. Efek tidak langsung dari radiasi terjadi akibat pengaruh senyawa radikal-radikal bebas OH^* dan H^* dan peroksida. Senyawa-senyawa radikal-radikal bebas dan peroksida merupakan hasil peristiwa pengaktifan molekul air (radiolisis) dalam plasma akibat radiasi. Radikal bebas (OH^* dan H^*) maupun peroksida dapat menyebabkan peningkatan kerusakan kromatid pada limfosit secara tidak langsung (Sanford *et al.*, 1992).

Pengamatan fisiologis dan morfologis terhadap mencit BALB/c

Pengamatan fisiologis dan morfologis meliputi gejala keracunan, perubahan fisik maupun tingkah laku hingga kematian. Dalam penelitian ini, tidak ditemukan mencit yang mengalami gejala keracunan. Mencit setelah diiradiasi juga tidak mengalami perubahan fisik dan tingkah laku.

KESIMPULAN

Produksi antibodi mencit BALB/c dengan pemberian vaksin toksoid tetanus pada dosis sinar-X antara 0,0 Gy, 0,5 Gy, dan 1,5 Gy tidak berbeda secara signifikan, demikian pula antara dosis 0,5 Gy, 1,5 Gy, dan 3,0 Gy. Terdapat perbedaan produksi antibodi yang signifikan di antara dosis sinar-X 0,0 Gy dan 3,0 Gy; meningkatnya dosis radiasi sinar-X menyebabkan penurunan kadar antibodi mencit BALB/c.

DAFTAR PUSTAKA

- Baratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar*. Edisi keenam. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.
- Born, J., T. Lange, B. Perras, and H.L. Fehm. 2003. Sleep enhances the human antibody response to hepatitis a vaccination. *Psychosom Medicine* 65: 831-835.
- Caligan, J.E. 1996. *Current Protocols in Immunology*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Darussalam, M. 1989. *Radiasi dan Radioisotop*. Bandung: Penerbit Tarsito.
- Edwards, C., M.A. Statkiewicz, and E.R. Ritenour. 1990. *Perlindungan Radiasi bagi Pasien dan Dokter Gigi* Penerjemah: Yowono, L. Jakarta: Widya Medika.
- Ekawati, R. 2002. *Struktur dan Perkembangan Embrio Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Wistar setelah Pemberian Radiasi Sinar-X*. [Skripsi]. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas MIPA UNS.
- Fujikawa, K., Y. Hasegawa, S. Matsuzawa, A. Fukunaga, T. Itoh, and S. Kondo. 2000. Dose and dose-rate effects of X rays and fission neutrons on lymphocyte apoptosis in p53 (+/+) and p53 (-/-) Mice. *Journal of Radiation Research* 41: 113-127.
- Gridley, D.S., M.J. Pecaut, R. Dutta-Roy, and G.A. Nelson. 2002. Dose and dose rate effects of whole-body proton irradiation on leukocyte populations and lymphoid organs: part I. *Immunology Letter* 80 (1): 55-66.
- Kahl, L.P., C.A. Scott, R. Lelchuck, G. Gregoriades, F.Y. Liew. 1989. Vaccination against murine cutaneous leishmaniasis by using leishmania major antigen/liposomes, optimization and assessment of the requirement for intravenous immunization. *Journal of Immunology* 142 (12): 4448.
- Kerr, M.A., and R. Thorpe. 1994. *Immunochemistry LabFax*. London: BIOS Scientific Publishers Limited.
- Kodo, H., R.P. Gale, and A. Saxon. 1984. Antibody synthesis by bone marrow cells in vitro following primary and booster tetanus toxoid immunization in humans. *Journal of Clinical Investigation* 73: 1377-1384.
- Kroon, F.P., M.J.D. Tol, C.M.J. Zijde, R. Furth, and J.T. Dissel. 1999. Immunoglobulin G (IgG) subclass distribution and IgG1 avidity of antibodies in human immunodeficiency virus-infected individuals after revaccination with tetanus toxoid. *Clinical Diagnostic Laboratory of Immunology* 6 (3): 352-355.
- Mangkoewidjojo, S. 2003. *Hewan Laboratorium dalam Teknik Antibodi Monoklonal*. Yogyakarta: Laboratorium Ilmu Hayati UGM.
- Roitt, I.M. 1990. *Pokok-pokok Ilmu Kekebalan*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia..
- Sanford, K.K., R. Parshad, F.M. Price, R.E. Tarone, and K.H. Kraemer. 1992. Retinoid protection against X-ray-induced chromatid damage in human peripheral blood lymphocytes. *Journal of Clinical Investigation* 90: 2069-2074.
- Scalzo, A.A., S.L. Elliott, J. Cox, J. Gardner, D.J. Moss, and A. Suhrbier. 1995. Induction of protective cytotoxic T cells to murine cytomegalovirus by using a nonapeptide and a human-compatible adjuvant (Montanide ISA 720). *Journal of Virology* 69 (2): 1306-1309.
- Suyati dan M. Akhadi. 1998. Mengukur kualitas radiasi keluaran pesawat sinar-X. *Buletin Alara* 2 (2): 7-12.
- Syaifudin, M. 2003. Peranan teknik nuklir dalam pemberantasan penyakit infeksi. *Buletin Alara* 5 (1): 15-22.
- Wardhana, W.A. 1996. *Radioekologi*. Edisi pertama. Yogyakarta: Penerbit Andi Offset.
- Woo, P.C.Y., H.W. Tsoi, L.P. Wong, H.C.H. Leung, and K.Y. Yuen. 1999. Antibiotics modulate vaccine-induced humoral immune response. *Clinical Diagnostic Laboratory of Immunology* 6 (6): 832-837.