

Pengaruh Radiasi Pengion terhadap Kerusakan DNA pada Sel Limfosit Pekerja Medis dengan Menggunakan Uji Komet

The Effect of Ionizing Radiation to DNA Damage in Medical Worker Lymphocytes Using Comet Assay

Teja Kisnanto*, Darlina, dan Tur Rahardjo

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440, Indonesia

* E-mail : kisnanto@batan.go.id

ABSTRAK

Pengaruh Radiasi Pengion terhadap Kerusakan DNA pada Sel Limfosit Pekerja Medis dengan Menggunakan Uji Komet. Pemanfaatan teknologi nuklir di bidang medis sudah banyak digunakan untuk diagnosa maupun terapi. Pasien maupun pekerja radiasi yang bertindak sebagai operator yang membantu pasien berisiko terpapar radiasi. Paparan radiasi pengion dapat menginduksi mutasi dan transformasi sel terutama sebagai konsekuensi dari kerusakan pada DNA (*deoxyribonucleic acid*). Dengan demikian perlu dievaluasi kerusakan DNA pada pekerja radiasi dibandingkan dengan kontrol. Uji Komet merupakan salah satu biomarker untuk mengevaluasi kerusakan DNA akibat paparan radiasi dengan mengukur tingkat migrasi DNA limfosit darah tepi dengan metode elektroforesis. Sampel darah diperoleh dari 37 orang pekerja medis yang terpapar radiasi dan 11 orang kontrol. Kemudian sampel darah diisolasi limfositnya dengan histopaque. Isolat limfosit diproses uji komet pada slide dalam kondisi alkali dan hasil pencitraan dianalisis dengan *software* Casplab_1.2.3b2. Salah satu parameter yang umum digunakan pada uji komet adalah panjang ekor komet (*Tail Length/TL*). Pada penelitian ini dilakukan analisis TL pada citra komet dari sampel pekerja radiasi medis suatu Rumah Sakit di Jakarta. Hasil penelitian menunjukkan bahwa TL kelompok pekerja radiasi medis lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok pekerja radiasi medis memiliki rerata TL sebesar $14.75 \pm 3.24 \mu\text{m}$ sedangkan kelompok kontrol sebesar $12.70 \pm 1.58 \mu\text{m}$. Nilai TL pada pekerja radiasi medis pria lebih tinggi dibandingkan wanita. Dengan demikian aspek proteksi dan keselamatan radiasi terhadap paparan radiasi dosis rendah tidak dapat diabaikan lagi dan harus mulai untuk diprioritaskan.

Kata kunci: Radiasi pengion, Kerusakan DNA, Pekerja medis, Uji komet

ABSTRACT

The Effect of Ionizing Radiation to DNA Damage in Medical Worker Lymphocytes Using Comet Assay. The use of nuclear technology in the medical field has been widely used for diagnosis and therapy. Patients and radiation workers as operators has a risk of radiation exposure. Radiation exposure can induce cell mutations and transformations primarily as a consequence of damage to DNA (*deoxyribonucleic acid*). Thus it is necessary to evaluate DNA damage in radiation workers compared to controls. Comet Assay is one of the biomarkers to evaluate DNA damage due to radiation exposure by measuring the level of migration of peripheral blood lymphocyte DNA by electrophoresis method. Blood samples were obtained from 37 medical workers exposed to radiation and 11 control people. Then the blood sample was isolated by histopaque lymphocytes. Lymphocyte isolates were processed by comet test on slides in alkaline conditions and the imaging results were analyzed by Casplab_1.2.3b2 software. One of the parameters commonly used in comet assay is comet tail length (*Tail Length / TL*). In this study TL analysis of comet images from samples of medical radiation workers in a hospital in Jakarta was carried out. The results showed that the TL group of medical radiation workers was significantly higher than the control group. The group of medical radiation workers had a mean TL of $14.75 \pm 3.24 \mu\text{m}$ while the control group was $12.70 \pm 1.58 \mu\text{m}$. The TL value of male medical radiation workers is higher than that of women. Thus the radiation protection and safety aspects of low-dose radiation exposure cannot be ignored anymore and must begin to be prioritized.

Keywords: Ionizing radiation, DNA damage, Medical worker, Comet assay

PENDAHULUAN

Pemanfaatan teknologi nuklir untuk kesejahteraan manusia telah merambah ke berbagai bidang kehidupan seperti kesehatan, industri, riset kebumihan, energi pangan dan pertanian. Di bidang kedokteran, radiasi memberikan manfaat yang sangat besar. Radiasi dapat digunakan untuk mendeteksi secara awal terkait penyakit atau kelainan tertentu, sementara itu terapi dengan radiasi dapat memperpanjang usia penderita kanker (1).

Salah satu manfaat teknologi radiasi di bidang medis adalah penggunaan sinar-X. Sinar-X dapat memberikan informasi tertentu mengenai tubuh manusia tanpa perlu dilakukan operasi bedah. Karena daya tembusnya itu, maka sinar-X memegang peranan yang sangat besar dalam kegiatan medis. Disamping bermanfaat sinar-X juga menimbulkan gangguan kesehatan bagi pekerja radiasi maupun masyarakat sekitar (2).

Paparan radiasi dapat menginduksi kerusakan sel dan subselular pada organisme. Radiasi terutama sinar gamma dapat diserap langsung oleh asam deoksiribonukleat (DNA), akan mengionisasi dua nukleobasa dan gula sehingga menyebabkan kerusakan pada untai tunggal dan ganda DNA (3).

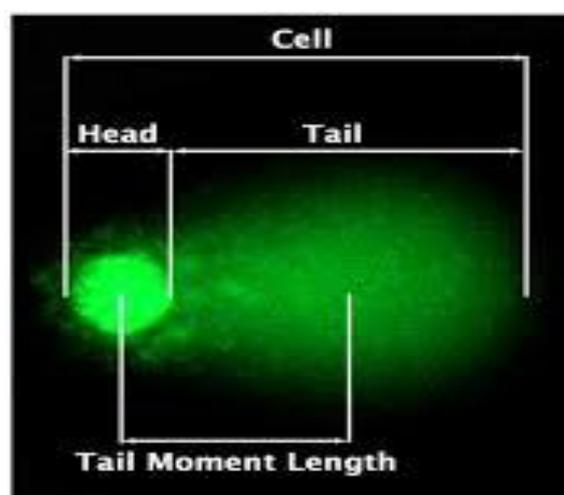
Sel limfosit darah tepi merupakan sel yang paling sensitif terhadap radiasi sehingga mudah mengalami kerusakan pada DNA. Sel limfosit darah tepi merupakan sel yang paling umum digunakan sebagai biosimetri. Biosimetri adalah proses prediksi dosis radiasi pengion yang diterima seseorang berdasarkan perubahan materi biologis dalam tubuh (4).

Kerusakan DNA akibat paparan radiasi pengion dapat dideteksi dengan menggunakan uji komet (*Comet Assay*). Prinsip analisis tes komet adalah berdasarkan besarnya fragmen DNA terdenaturasi yang bermigrasi keluar dari inti sel selama proses elektroforesis [5,6]. Elektroforesis DNA merupakan teknik yang digunakan untuk memisahkan sampel DNA berdasarkan ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekulnya. Molekul DNA bermuatan negatif (katoda) sehingga akan bermigrasi melalui matriks gel menuju kutub positif (anoda). Makin besar ukuran molekulnya, makin rendah laju migrasinya (7).

Konsep utama dari uji komet adalah DNA yang sehat merupakan rangkaian yang terikat kuat dengan matriks protein inti. Ketika DNA rusak, rangkaian ini menjadi lemah. Rantai DNA

kehilangan kekuatannya dan ketika berada di bawah pengaruh medan elektrik, fragmen DNA yang bermuatan negatif akan menuju anoda yang bermuatan positif. DNA yang tidak rusak, tetap utuh dengan kekuatan struktur DNA, dan terlalu berat untuk bergerak mengikuti pengaruh medan elektrik, sedangkan fragmen DNA yang rusak, semakin kecil fragmen, semakin cepat dan jauh bergerak menuju anoda (8).

Komet yang terbentuk diwarnai dengan menggunakan pewarna fluorescent atau pewarna perak. Pewarna yang banyak digunakan adalah ethidium bromide, propidium iodide dan 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (4).



Gambar 1. Citra hasil uji komet (8)

Citra hasil uji komet dapat dianalisis secara manual atau menggunakan perangkat lunak pengolahan citra digital. Jumlah minimal yang harus diamati pada suatu penelitian dengan menggunakan tes komet adalah sebanyak 50 komet dari tiap preparat (8). Tes komet dapat digunakan untuk mengukur tingkat kerusakan DNA pada sel limfosit darah tepi. Penelitian uji komet pada sel limfosit dilakukan sebagai evaluasi awal untuk mengetahui efek radiasi terhadap kerusakan DNA sel. Percobaan terhadap sel limfosit manusia dilakukan secara *in vitro* (9).

Pada penelitian sebelumnya, Martinez dkk melakukan penelitian uji komet pada pekerja medis sebelum dan setelah bekerja, menunjukkan adanya peningkatan fragmentasi DNA yang signifikan setelah hari kerja bagi mereka yang memiliki status paparan radiasi kerja bila dibandingkan dengan pegawai administratif yang tidak terpapar (10).

Pada makalah ini akan dibahas kerusakan DNA pada limfosit darah tepi pekerja medis suatu rumah sakit di Jakarta dengan menggunakan uji komet.

BAHAN DAN METODE

Metode percobaan

Subjek penelitian

Sampel darah diperoleh dari 37 orang pekerja medis yang terpapar radiasi dan 11 orang kontrol. Usia pekerja berkisar antara 26 hingga 57 tahun. Setiap donor telah mengisi kuesioner terkait biodata riwayat paparan dan kesehatan serta menandatangani *informed consent*. Pengambilan sampel ini telah mendapatkan persetujuan etik (*Ethical approval*) dengan nomor LB.02.01/5.2/KE 171/2016.

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah dH₂O, NaCl (*Sigma -Aldric*), NaOH (*Merck*), HCl (*Sigma -Aldric*), Triton X-100 1%, DMSO 10%, EDTA (*Merck*), Etidium Bromida, PBS, LMP Agarose 0.5%, NMP Agarose 1%.

Sedangkan alat-alat yang digunakan terdiri dari *magnetic stirrer*, pH meter, gelas kimia, labu erlenmeyer, *microwave*, gelas preparat, *cover glass*, seperangkat alat elektroforesis.

Tata kerja

Pembuatan larutan lisis sel

NaCl 146,1 gr, EDTA 37,2 gr dilarutkan ke dalam 700 mL dH₂O diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. NaOH ditambah sebanyak 8 gr dan diaduk. pH diatur menjadi 10 dengan ditambahkan HCL. dH₂O ditambahkan hingga volume mencapai 890 mL. Simpan pada 4°C. Sebelum digunakan, 1% Triton X-100 dan 10% DMSO ditambahkan dan dinginkan selama 30 menit.

Pembuatan *unwinding buffer*

Larutan stok disiapkan 10 N NaOH (200gr/500 mL dH₂O) dan 200 mM EDTA (14,89/200 mL dH₂O, pH 10), disimpan pada suhu kamar. Untuk 1X Buffer ditambahkan 30 mL NaOH dan 5 mL EDTA kemudian ditambahkan dH₂O hingga mencapai volume 1000 mL diaduk rata. Sebelum digunakan, pH buffer diukur untuk memastikan >13.

Pembuatan dapar netral

Sebanyak 0,4 M Trisma baze 48,5 gr ditambahkan 800 mL dH₂O, diatur pH 7,5 dengan HCL kemudian disimpan disuhu kamar.

Pembuatan larutan warna

Ethidium Bromida (EtBr 10X Stock 20 µg/mL) ditambahkan 10 mg dalam 50 mL dH₂O, disimpan pada suhu kamar. Untuk pemakaian 1X dicampurkan 1 mL larutan EtBr dengan 9 mL dH₂O.

Pembuatan lapisan dasar *slide* dengan NMP agarose 1%

Sebanyak 0,6 gr agarose ditimbang menggunakan neraca digital, kemudian dimasukkan ke dalam beker glas. Pelarut aqua bidestilat steril dilarutkan hingga volume mencapai 60 ml. Agarose 1% dipanaskan menggunakan *microwave* selama 3 menit hingga homogen. *Slide* steril dicelupkan ke dalam agarose 1% untuk membuat lapisan dasar. *Slide* dikering anginkan beberapa menit hingga agarose pada *slide* terlihat mengering. *Slide* yang sudah terlihat mengering, disimpan di dalam desikator selama minimal semalam atau lebih dari 24 jam.

Isolasi limfosit

Sebanyak 2,5 ml sampel darah limfosit dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian ditambahkan 2,5 ml PBS tanpa Ca²⁺ dan Mg²⁺ (dPBS), kocok pelan-pelan dan dimasukkan campuran darah ke 2 ml histopaque secara pelan-pelan. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit sampai terbentuk 3 lapisan (plasma dan PBS, cincin limfosit, sel darah). Lapisan pertama dibuang menggunakan mikropipet. Cincin limfosit yang terbentuk pada lapisan kedua diambil dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge baru. 5 ml PBS ditambahkan dan dikocok sampai homogen dan disentrifuge dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Supernatan hasil sentrifuge dibuang, kemudian pelet disuspensi dengan ditambahkan 75µL RPMI ke dalam tabung.

Uji kerusakan DNA dengan uji komet

Sebanyak 10 µL suspensi hasil isolasi dicampurkan dengan 90 µL (LMP) Agarose 0,5%. 75µL suspense sel (LMP dan sel) diteteskan pada *slide* diatas gel lapisan pertama dan menutupnya dengan *cover glass*. *Slide* disimpan di dalam pendingin pada suhu 4°C selama 10 menit. *Cover*

glass dilepas terlebih dahulu dari lapisan kedua pada *slide*. Sebanyak 75 μ L LMP Agraose 5% diteteskan pada *slide*, diatas gel lapisan kedua dan menutupnya dengan *cover glass*. *Slide* disimpan di dalam pendingin pada suhu 4°C selama 15 menit. *Cover glass* dilepas terlebih dahulu dan dimasukkan ke larutan lisis. *Slide* disimpan di dalam pendingin pada suhu 4°C selama 1 jam. *Slide* dikeringanginkan sebelum memasuki tahapan *unwinding* DNA. *Slide* dimasukkan ke larutan *unwinding* DNA. *Slide* disimpan di dalam pendingin pada suhu 4°C selama 40 menit. Larutan *unwinding* dimasukkan ke dalam bak elektroforesis. *Slide* dimasukkan dengan posisi terlentang ke dalam bak elektroforesis. *Slide* disusun sedemikian rupa dalam bak elektroforesis, agar semua *slide* dapat terendam sempurna dalam larutan *unwinding*. Voltase elektroforesis diatur pada voltase 25 Volt dan 300 A (proses elektroforesis dilakukan pada suhu 4°C selama 20 menit). *Slide* diangkat dari bak elektroforesis dan dimasukkan ke larutan netralisasi 0,4 M Tris-basa pH 7,5. *Slide* dicuci dengan cara mencelupkannya ke dalam beker glas yang berisi larutan 0,4 M tris-basa (pencucian dilakuakn 3 kali pengulangan dengan jarak waktu 5 menit). Larutan etanol 100% disiapkan dan dimasukkan ke dalam beker glas untuk proses fiksasi. *Slide* difiksasi dengan cara dicelupkan ke dalam gelas kimia yang berisi larutan etanol 100% selama 3 detik. *Slide* diletakkan di dalam desikator dan didiamkan selama semalam.

Pewarnaan dan pengamatan

Sebanyak 75 μ L pewarna EtBr diteteskan diatas *slide* preparat. Preparat ditutup menggunakan *cover glass* dan didiamkan terlebih dahulu selama 15 menit sebelum dilakukan pengamatan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop fluorescent dengan perbesaran 100 X.

Analisis citra komet

Perangkat lunak pengolahan citra khusus bidang biologi yaitu Casplab_1.2.3b2 untuk mengolah citra digital hasil tes komet dengan menghitung *Tail Length* (TL).

HASIL DAN PEMBAHASAN

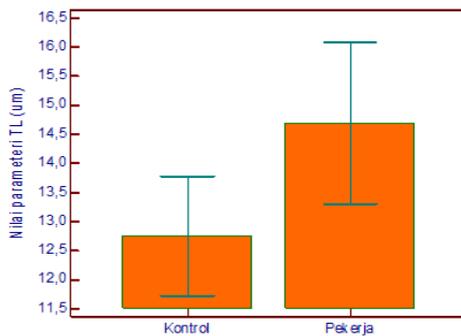
Pengujian kerusakan DNA sel limfosit akibat paparan radiasi sinar gamma dengan menggunakan uji komet alkali. Dengan uji komet alkali (pH 13), putusya salah satu untai maupun kedua untai DNA pada posisi yang berhadapan dapat diukur. Penggunaan uji komet mempunyai kelebihan karena jumlah sel yang dibutuhkan sedikit, sensitif dalam mendeteksi tingkat kerusakan DNA dan mampu mengukur berbagai jenis kerusakan DNA dengan menambahkan enzim spesifik lesi (7).

Pada penelitian ini sel limfosit diperoleh dari sampel 37 orang pekerja medis yang terpapar radiasi dan 11 orang kontrol. Usia pekerja berkisar antara 26 hingga 57 tahun. Parameter yang digunakan untuk uji komet ini yaitu panjang ekor komet (TL) dengan dianalisis menggunakan software CaspLab.

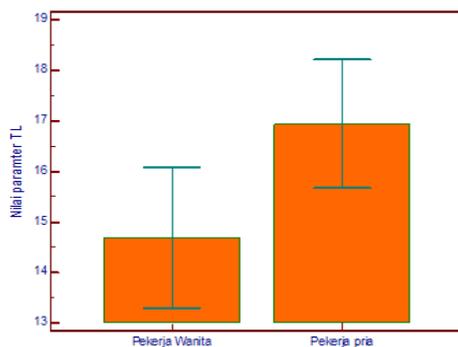
TL adalah panjang ekor komet diukur dari batas paling kanan kepala komet hingga ujung ekor komet (11). TL merupakan parameter yang umum digunakan dalam melakukan analisis citra komet selain persentase DNA ekor (%T) dan momen ekor (4).

Hasil pengukuran TL komet sel limfosit pekerja radiasi medis dan kelompok kontrol menunjukkan bahwa kelompok pekerja radiasi medis memiliki TL yang lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol (Gambar 2). Kelompok pekerja radiasi medis memiliki rerata TL sebesar 14.75 ± 3.24 sedangkan kelompok kontrol sebesar 12.70 ± 1.58 μ m. Hal ini mengindikasikan bahwa pekerja radiasi medis sangat rentan mengalami kerusakan DNA DSB.

Selain itu, diperoleh hasil juga bahwa perbedaan gender berpengaruh pada penerimaan dosis radiasi yang menyebabkan kerusakan DNA. Pengukuran TL komet pada pekerja radiasi medis pria lebih tinggi jika dibandingkan pekerja radiasi medis wanita. Rerata TL pada pekerja pria sebesar 16.90 ± 2.3 , sedangkan pada pekerja wanita sebesar $14.60 \pm 1,58$ (Gambar 3). Hal ini kemungkinan ada beberapa pekerja pria yang perokok. Hasil penelitian Faust dkk. menunjukkan bahwa nilai TL pada kelompok perokok lebih tinggi dibandingkan kelompok non perokok (12). Kerusakan DNA akibat rokok disebabkan oleh radikal bebas yang dihasilkan dari asap rokok (13).

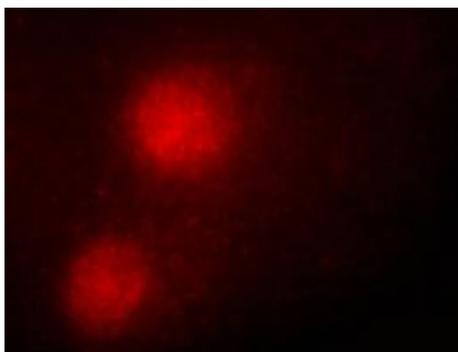


Gambar 2. Nilai TL pada kelompok pekerja radiasi medis dan kelompok kontrol

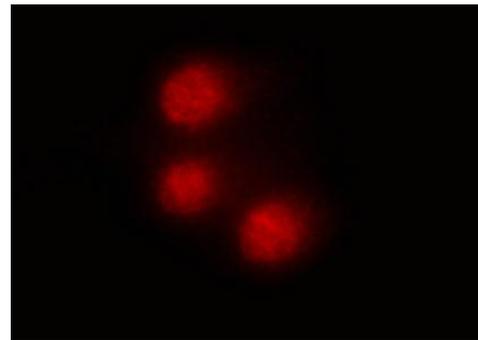


Gambar 3. Nilai TL pada pekerja radiasi medis pria dan wanita

Beberapa penelitian menggunakan tes komet untuk mengetahui kerusakan DNA pada sel limfosit darah tepi manusia akibat paparan radiasi pengion. Tes komet dapat digunakan untuk mendeteksi kerusakan DNA pada pekerja medis di rumah sakit yang terpapar radiasi pengion dosis rendah secara terus menerus selama bekerja (14).



Gambar 4. Hasil citra komet sampel pekerja radiasi medis pria



Gambar 5. Hasil citra komet sampel pekerja radiasi medis wanita

Pada penelitian Martinez dkk yang melakukan penelitian uji komet pada pekerja medis sebelum dan setelah bekerja, menunjukkan adanya peningkatan fragmentasi DNA yang signifikan setelah hari kerja bagi mereka yang memiliki status paparan radiasi kerja bila dibandingkan dengan pegawai administratif yang tidak terpapar (10).

Vrhovac dan Kopjar melakukan penelitian dengan tes komet alkali untuk mengetahui tingkat kerusakan DNA pada 50 pekerja medis pada enam rumah sakit di Kroasia. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada panjang ekor komet maupun panjang momen ekor pada kelompok pekerja medis rumah sakit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol rerata panjang ekor komet adalah sebesar $14,05 \pm 0,13 \mu\text{m}$, sedangkan pada kelompok pekerja medis rumah sakit adalah $7,49 \pm 0,23 \mu\text{m}$ (8).

Pada beberapa penelitian sebelumnya dilaporkan adanya indikasi efek gender pada tingkat kerusakan DNA *Single Strand Breaks* (SSBs) endogen dalam PBMC manusia, dan indikasi efek gender pada DSBR juga dilaporkan dalam sebuah penelitian kecil terhadap 20 subjek penelitian (15). Beberapa laporan penelitian tersebut menyimpulkan efek gender terjadi pada jalur perbaikan DNA (16,17).

Teknik uji komet yang cepat dan sederhana ini terbukti dapat dipergunakan untuk berbagai tujuan seperti mengetahui mutagenitas agensia lingkungan termasuk radiasi pengion meliputi DNA DSBs, *crosslink*, kerusakan basa dan apoptosis. Genotoksitas radiasi untuk tujuan radioterapi juga dapat diuji dengan teknik yang memiliki prinsip bahwa sel dengan bertambahnya frekuensi DSB dari DNA akan menunjukkan

bertambahnya laju migrasi DNA ke arah anoda dalam suatu sistem elektroforesis (18).

Molekul DNA mengandung gugus fosfat bermuatan listrik negatif (katoda) saat berada pada larutan alkali, sehingga daerah pada untai ganda DNA yang mengalami pengenduran dan mengandung DSB akan bermigrasi menuju kutub positif (anoda) saat elektroforesis. Migrasi tersebut akan membentuk ekor komet, sedangkan daerah yang tidak mengalami pengenduran akan membentuk kepala komet (19).

KESIMPULAN

Hasil penelitian dengan menggunakan uji komet menunjukkan bahwa TL kelompok pekerja radiasi medis lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Nilai TL pada pekerja radiasi medis pria lebih tinggi dibandingkan wanita. Dengan demikian aspek proteksi dan keselamatan radiasi terhadap paparan radiasi dosis rendah tidak dapat diabaikan lagi dan harus mulai untuk diprioritaskan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Pimpinan PTKMR BATAN yang telah memberikan dana DIPA tahunan sehingga penelitian ini dapat selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. F. Suyanto. Aplikasi Radiasi Sinar-X di Bidang Kedokteran untuk Menunjang Kesehatan Masyarakat. Seminar Nasional IV SDM Iptek Nuklir, pp. 503-510, 2008.
- [2]. N. Fairusiyah, B. Widjasena, dan Ekawati. Analisis Implementasi Manajemen Keselamatan Radiasi Sinar-X di Unit Kerja Radiologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro Semarang Tahun 2016. Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal), pp. 4, 514-527, 2016.
- [3]. Zhang Y, Guo J, Qi Y, Shao Q, Liang J. *the Prevention of Radiation-Induced DNA Damage and Apoptosis in Human Intestinal Epithelial Cells By Salvianic Acid A*. *J Radiat Res Appl*, pp. 7, 274-85, 2014.
- [4]. Ramadhani D, Tetriana D, Sufivan VA. Optimalisasi Tes Komet untuk Penentuan Tingkat Kerusakan DNA Akibat Paparan Radiasi Pengion. *J Sains dan Teknol Nukl Indones*, pp. 17, 37 - 48, 2016.
- [5]. Nandhakumar S, Parasuraman S, Shanmugam MM, K RR, Chand P, B VB. *Evaluation of DNA Damage Using Single-Cell Gel Electrophoresis (Comet Assay)*, *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, pp. 2, 2011.
- [6]. Azqueta A, Langie S, Collins A., *The Comet Assay, Past, Present, and Future.*, *Frontiers in Genetics*, pp. 6-8, 2015.
- [7]. Ersson C, Mo L., *The Effects on DNA Migration of Altering Parameters in the Comet Assay Protocol Such as Agarose Density, Electrophoresis Conditions and Durations of the Enzyme or the Alkaline Treatments.*, *Mutagenesis.*, pp. 011, 26, 689-95.
- [8]. Collins AR., *The Comet Assay (Principles, Applications, and Limitations)*,. 203, 163-77.
- [9]. Darlina, Rahardjo T, Syaifudin M. Evaluasi Hubungan Dosis Radiasi Terhadap Kerusakan DNA Sel Limfosit dengan Menggunakan Tes Komet. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia.*, pp. 19, 13-20, 2018.
- [10]. Martinez A, Coleman M, Romero-Talamas CA, Frias S., *An Assessment of Immediate DNA Damage to Occupationally Exposed Workers to Low Dose Ionizing Radiation by Using the Comet Assay.*, *Rev Investig Clin.*, pp. 62, 23-30, 2010.
- [11]. Darlina, Dahlia L, Alatas Z, Kisananto T, Syaifudin M., *Capability of Vitamin E as a Radioprotector in Suppressing DNA*

- Damage Determined with Comet Assay.*, Biosaintifika, pp. 201-208, 2017.
- [12]. Faust F, Kassie F, Knasmüller S, Hasso R, Mann M, Mersch-Sundermann V. The use of the Alkaline Comet Assay with Lymphocytes in Human Biomonitoring Studies. *Mutation Research.*, pp. 566, 209-29, 2004.
- [13]. Kumaravel TS, Jha AN., *Reliable Comet Assay Measurements for Detecting DNA Damage Induced by Ionising Radiation and Chemicals.*, *Mutation Research*, pp. 605, 7-16, 2006.
- [14]. Garaj-vrhovac V, Kopjar N., *The Alkaline Comet Assay as Biomarker in Assessment of DNA Damage in Medical Personnel Occupationally Exposed to Ionizing Radiation.*, *Mutation Research*, pp. 18, 265-71, 2003.
- [15]. Garm C, Moreno-Villanueva M, Stevnsner T., *Age and Gender Effects on DNA Strand Break Repair in Peripheral Blood Mononuclear Cells.*, *Aging Cell*, pp. 58-66, 2013.
- [16]. Rodrigues R, Fernanda M, Jardim C, Marcelo J, Castro D., *Genotoxicity and DNA Repair Indicative in Blood Cells After Occupational Exposure to Ionizing Radiation.*, *Int Arch Med Sect Lab Med.*, pp. 121, 1-1, 2016.
- [17]. Kirsch-Volders M, Bonassi S, Herceg Z, Hirvonen A., *Gender-Related Differences in Response to Mutagens and Carcinogens.* *Mutagenesis.*, pp. 25, 213-21, 2010.
- [18]. Irina C, Tatiana S., *A New Version of Comet Assay.* *CTM J.*, pp. 8, 20-26, 2016.
- [19]. Miklos M, Gajski G, Vrhovac VG., *Usage of the Standard and Modified Comet Assay in Assessment of DNA damage in Human Lymphocytes After Exposure to Ionizing Radiation.*, *Radiol Oncol.*, pp. 3, 97-107, 2009.

