

SHORT COMMUNICATION

Studi Awal Efek Perlindungan Benalu Kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) terhadap Kerusakan Limfosit Akibat Radiasi Gamma: Analisis Sitogenetik

*A Preliminary Study of Protective effects of Cacao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) on Lymphocyte Against Gamma Irradiation: Cytogenetic Study*

T. Kisananto^{1*}, S. Y. Rosida², R. Bintang S.P², Suryadi¹, M. Syaifudin¹, A. Mara², Salmi², M. Lubis¹, S. Nurhayati¹, S. Purnami¹

¹ Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta, Indonesia

² Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya
Jl. Prabumulih, KM.32, Indralaya, Palembang, Indonesia

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

ABSTRAK

Efek paparan radiasi gamma terhadap pekerja radiasi dapat menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan biologis pada sel normal, terutama DNA dan kromosom. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terjadinya reaksi berantai radikal bebas, yaitu dengan sifatnya yang mudah teroksidasi. Beberapa tanaman telah terbukti memiliki senyawa antioksidan, salah satunya adalah benalu kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak benalu kakao (EBK) dalam melindungi sel limfosit akibat radiasi gamma. Sampel darah diperoleh dari seorang responden laki-laki sehat, yang dibagi ke dalam enam perlakuan, yaitu tanpa radiasi (0 Gy); EBK; radiasi 1,5 Gy; EBK + 1,5 Gy; radiasi 3 Gy; dan EBK + 3 Gy. Kemudian dilakukan pengkulturan sel darah limfosit, pemanenan, pewarnaan dan pengamatan preparat. Frekuensi aberasi kromosom (ABK) disentrik dan fragmen dievaluasi setiap 100 sel, sedangkan frekuensi mikronuklei (MN), *nuclear buds* (NBUDs), dan *8-shaped* dievaluasi setiap 1000 sel. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa frekuensi ABK disentrik, MN, NBUDs, dan *8-shaped* pada perlakuan dengan EBK lebih kecil dibandingkan tanpa EBK. Akan tetapi, frekuensi fragmen pada perlakuan dengan EBK lebih besar dibandingkan tanpa EBK, baik pada 1,5 Gy maupun 3 Gy. Kesimpulan dari penelitian ini adalah EBK memiliki potensi dalam melindungi sel limfosit terhadap kerusakan akibat radiasi gamma.

Kata kunci: radiasi gamma, antioksidan, aberasi kromosom, mikronuklei, benalu kakao

ABSTRACT

The effect of gamma radiation exposure on radiation workers can produce Reactive Oxygen Species (ROS) and free radicals that cause biological damage to normal cells, especially DNA and chromosomes. Antioxidants are compounds that can prevent free radical chain reactions from occurring because they are easily oxidized. Several plants have been shown to have antioxidant compounds, one of which is a cocoa parasite (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). This study aims to determine the potential of cocoa parasite extract (EBK) in protecting lymphocyte cells due to gamma radiation. Blood samples were obtained from a healthy male respondent, which was divided into six treatments: without radiation (0 Gy); EBK; 1.5 Gy; EBK + 1.5 Gy; 3 Gy; EBK + 3 Gy. Then performed lymphocyte blood cell culture, harvesting, staining and observation of the preparations. The frequency of dicentric chromosome aberrations (ABK) and fragments were evaluated every 100 cells, while the micronuclei frequency (MN), nuclear buds (NBUDs), and 8-shaped were evaluated every 1000 cells. The results showed that the frequency of dicentric, MN, NBUDs and 8-shaped in the treatment with EBK were smaller than those without EBK. However, the frequency of fragments in treatment with EBK was greater than without EBK, both at 1.5 Gy and 3 Gy irradiation. This study concludes that EBK has the potential to protect lymphocytes against damage caused by gamma radiation.

Keywords: gamma radiation, antioxidants, chromosome aberration, micronuclei, cocoa parasites

PENDAHULUAN

Dalam beberapa tahun terakhir, pemanfaatan radiasi gamma telah mulai berkembang pada berbagai sektor kehidupan, seperti kedokteran, energi, industri maupun riset. Para pekerja radiasi memiliki resiko terkena efek negatif paparan radiasi gamma, berupa kerusakan biologis pada sel normal [1], [2]. Radiasi gamma berinteraksi langsung dengan komponen sel sehingga menyebabkan ionisasi biomolekul penting, seperti DNA dan kromosom [3]. Selain itu, radiasi gamma juga berinteraksi secara tidak langsung melalui proses radiolisis air yang menghasilkan radikal bebas hidroksil (OH•) serta *Reactive Oxygen Species* (ROS) lainnya [4].

ROS dan radikal bebas hidroksil akan menyerang makromolekul sel seperti asam nukleat (DNA), protein dan lipid sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan struktur maupun fungsi sel. Ketidakseimbangan antara frekuensi ROS yang terbentuk dengan ketersediaan antioksidan akan menyebabkan kondisi stres oksidatif sehingga dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif [5], [6].

Beberapa bentuk kerusakan DNA yang diakibatkan oleh radiasi gamma di antaranya peningkatan frekuensi aberasi kromosom disentrik dan fragmen, mikronuklei (MN), *Nuclear Buds* (NBUDs) dan sel *8-shaped* [7]. Pembentukan aberasi kromosom disentrik dan MN telah menjadi biomarker paling sensitif untuk memperkirakan dosis, terutama pada kasus kedaruratan nuklir dan pekerja radiasi [8], [9]. Dosis radiasi 1 Gy sudah dapat menyebabkan peningkatan frekuensi MN, tetapi untuk dosis 5 Gy akan mengganggu proses pembelahan sel [10].

Pemeriksaan aberasi kromosom dan MN pada sel limfosit darah tepi telah digunakan sebagai biodosimeter spesifik akibat radiasi pengion pada lingkungan dan efek kesehatan jangka panjang [11]. Sel limfosit darah tepi memiliki tingkat sensitivitas tinggi terhadap radiasi pengion sehingga sering digunakan sebagai parameter kerusakan biologi sel [12]. NBUDs dan *8-shaped* merupakan beberapa kelainan kromosom yang bisa diamati pada pemeriksaan MN melalui metode *cytokinesis-block micronucleus assay* (CBMN) [7], [13]. NBUDs terbentuk dengan menghilangkan DNA ekstra kromosom selama tahap interfase sebagai perantara pembentukan MN atau terjadi akibat sisa-sisa *nucleoplasmic bridges* (NPBs) yang

rusak [14]. Sedangkan *8-shaped* terbentuk akibat terjadinya pembelahan sel pada suhu rendah dan saat kekurangan nutrisi [15].

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat mudah teroksidasi dan dapat dengan cepat memberikan elektron ke senyawa radikal menjadi senyawa yang lebih stabil, sehingga mencegah dan memperlambat proses autooksidasi terhadap sel [5], [16]. Ketersediaan antioksidan endogen dalam tubuh, yang meliputi enzimatis (katalase, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase) dan non enzimatis (glutathion dan vitamin C) merupakan sistem pertahanan alami terhadap bahaya ROS dan radikal bebas. Akan tetapi, apabila pembentukan ROS dan radikal bebas hasil paparan radiasi pengion melebihi kemampuan antioksidan endogen, maka tubuh memerlukan tambahan antioksidan eksogen sebagai *radical scavenger* [17].

Penelitian untuk menemukan sumber antioksidan alami telah banyak dilakukan karena beberapa antioksidan sintetik memiliki efek negatif bagi tubuh, seperti toksisitas tinggi dan karsinogenik [18]. Beberapa tanaman di Indonesia telah terbukti mampu melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas karena mengandung senyawa antioksidan seperti organosulfur, flavanoid, karotenoid, fenolik, dan vitamin C [16]. Salah satu bahan alam yang belum banyak diteliti tetapi memiliki senyawa antioksidan adalah benalu kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.).

Penelitian pendahuluan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan pada daun benalu kakao telah dilakukan oleh Sembiring dkk., yang menyatakan bahwa daun benalu kakao memiliki senyawa antioksidan berupa flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Hardiyanti dkk., mengungkapkan bahwa ekstrak daun benalu kakao memiliki potensi sebagai antioksidan dan antibakteri yang disebabkan oleh tingginya kandungan senyawa flavanoid [6], [19].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antioksidan ekstrak benalu kakao dalam melindungi sel limfosit dari kerusakan akibat radiasi gamma melalui analisis sitogenetik (ABK disentrik dan fragmen; MN; NBUDs; dan *8-shaped*).

BAHAN DAN METODE

Subjek penelitian

Sampel darah diperoleh dari seorang responden laki-laki sehat (tidak sedang mengalami tindakan radioterapi atau radiodiagnostik) yang telah mengisij persetujuan *informed consent*.

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel darah responden, ekstrak daun benalu kakao, *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) yang telah diperkaya dengan L-glutamin dan buffer HEPES, *Fetal Bovin Serum* (FBS), *Penicillin-Streptomycin*, *phytohaemagglutinin*, *colchisin*, KCl 0,056 %, larutan *carnoy*, larutan Giemsa 4 % dalam *buffer phosphate* (PBS), akuades, dan perekat entellan.

Alat-alat yang digunakan terdiri dari *syringe*, tabung kultur, tabung heparin pipet filter, *biology safety cabinet* (BSC), pipet *disposable*, inkubator, *water bath*, sentrifus, *freezer*, *vortex*, rak pewarnaan, baki tempat *object glass*, *deck glass*, dan mikroskop Nikon Eclipse.

Tata kerja pengambilan sampel darah dan iradiasi gamma

Sampel darah diambil sebanyak 9 mL menggunakan *wing needle syringe* dan ditampung dalam tabung heparin. Sampel dibagi menjadi enam perlakuan, yaitu tanpa radiasi (0 Gy); ekstrak benalu kakao (EBK); radiasi 1,5 Gy; EBK + 1,5 Gy; 3 Gy; dan EBK + 3 Gy. Iradiasi gamma dilakukan di IRPASANA PAIR-BATAN dengan dosis 1,5 dan 3 Gy, laju dosis 1 Gy/menit.

Pembiakan dan pemanenan limfosit

Pembiakan dan pemanenan limfosit dilakukan dengan mengacu pada metode yang dilakukan oleh Lusiyanti dkk.[11]. Sampel darah dibiakkan secara duplo. Sebanyak 7,5 mL Medium kultur RPMI-1640; 0,1 mL L-Glutamin, 1 mL FBS; 0,2 mL *Penicilin Streptomycin*, 1 mL darah dan 0,25 mL *phytohaemagglutinin* dimasukkan ke dalam tabung kultur. Tabung diinkubasi pada 37 °C selama 48 jam. Kemudian ditambahkan 0,1 mL *colchisin* ke dalam biakan 3 jam sebelum pemanenan. Setelah itu, darah hasil biakan disentrifus 1500 rpm selama 10 menit. Endapan darah yang terbentuk ditambahkan 10 mL KCl 0,56%, diaduk hingga homogen dan disimpan di *water bath* 37°C selama 20 menit. Langkah berikutnya, larutan disentrifus 1500 rpm selama 10 menit, sedangkan endapan ditambahkan 4 mL larutan Carnoy (metanol: asam asetat = 3:1).

Larutan divorteks dan ditambahkan kembali Carnoy hingga total volume 10 mL. Larutan disentrifus beberapa kali hingga diperoleh endapan limfosit berwarna putih.

Pembuatan dan pewarnaan preparat kromosom dengan Giemsa (*Dicentric Assay*)

Endapan sel limfosit diteteskan di atas gelas objek pada tiga tempat yang berbeda. Setelah kering, preparat diberi pewarnaan Giemsa 4 % selama 8 menit. Setelah dicuci dan dikeringkan, preparat ditutup dan siap untuk dilakukan pengamatan dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali terhadap jenis aberasi kromosom tak stabil (disentrik). Penghitungan dilakukan terhadap jumlah kromosom pada setiap sel metafase. Bila kromosom berjumlah 45 atau 47, maka dilakukan penghitungan dan pencatatan jumlah kromosom disentrik dan atau fragmen kromosom terhadap 100 sel metafase.

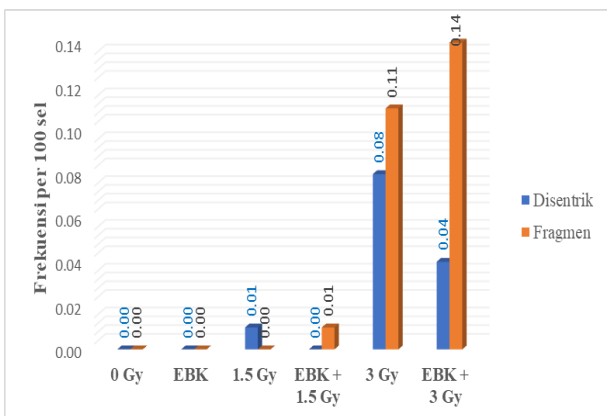
Pemeriksaan Mikronuklei (MN), *Nuclear Buds* (NBUDs) dan *8-shaped*

Sampel darah dibiakkan dalam media pertumbuhan (4,5 mL RPMI-yang diperkaya L-Glutamin dan HEPES, 0,8 mL FBS, 0,1 mL *Penicillin-Streptomycin*, 0,5 mL darah dan 0,1 mL *Phytohaemagglutinin*) dalam inkubator 37 °C selama 72 jam. Pada jam ke-44 sejak dikultur, ke dalam tabung kultur ditambahkan sitokalsin B (4,5 g/mL) dan dipanen pada 72 jam sejak mulai dikultur.

Untuk pemanenan MN, sampel disentrifus pada 800 rpm selama 10 menit dan lapisan atas (supernatan) yang terbentuk dibuang, kemudian ditambahkan 6 mL larutan hipotonik (0,075 M KCl) dingin, kemudian disentrifus pada 800 rpm selama 8 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan 5 mL larutan Ringer's, disentrifus pada 800 rpm selama 8 menit. Setelah difiksasi tiga kali dengan larutan Carnoy (metanol : asam asetat = 10:1) maka akan diperoleh sel binukleat (BNC) yang mungkin mengandung MN. Setelah satu malam disimpan dalam *freezer*, kemudian dibuat preparat MN dengan meneteskan 3-4 tetes sel mengandung MN dan dibiarkan mengering di udara. Kemudian untuk pemeriksaan MN, NBUDs dan *8-shaped* preparat diwarnai dengan larutan Giemsa 4 % selama 8 menit dan ditutup dengan *cover glass* untuk selanjutnya dihitung frekuensinya dalam 1000 BNC di bawah mikroskop perbesaran 1000 kali [10], [20].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sampel darah responden dibagi menjadi enam perlakuan, kemudian dianalisis parameter sitogenetiknya seperti frekuensi ABK disentrik dan fragmen, serta frekuensi MN, NBUDs dan 8-shaped. Perbandingan frekuensi ABK disentrik dan fragmen responden pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.



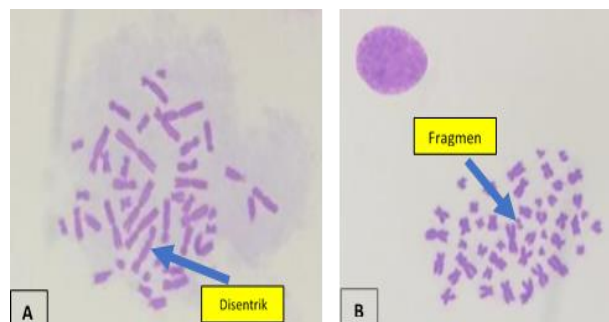
Gambar 1. Perbandingan frekuensi ABK disentrik dan fragmen responden pada masing-masing perlakuan

Pada perlakuan tanpa radiasi (0 Gy) dan EBK tidak ditemukan adanya ABK disentrik dan fragmen. Sedangkan pada perlakuan 1,5 dan 3 Gy, frekuensi disentrik berturut-turut adalah 0,01 dan 0,08. Selain itu, frekuensi fragmen pada perlakuan 1,5 dan 3 Gy adalah 0,00 dan 0,01. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat peningkatan frekuensi ABK disentrik dan fragmen pada perlakuan yang diiradiasi, baik 1,5 maupun 3 Gy. Oleh karena itu, radiasi gamma dapat menyebabkan kelainan kromosom dengan terbentuknya ABK disentrik dan fragmen (Gambar 2).

Kromosom disentrik merupakan kromosom tidak stabil dengan dua sentromer yang terbentuk dari penggabungan dua patahan kromosom akibat radiasi pengion [21]. Sedangkan fragmen kromosom adalah patahan kecil kromosom yang tidak memiliki sentromer yang terbentuk salah satunya oleh induksi radiasi pengion [10]. ABK disentrik maupun fragmen mengalami peningkatan frekuensi dari perlakuan 0; 1,5 dan 3 Gy. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Martin dkk., yang menyatakan bahwa terdapat korelasi antara frekuensi disentrik yang terbentuk dengan peningkatan dosis radiasi pengion, baik secara *in*

vivo atau *in vitro*. Frekuensi kromosom disentrik akan menurun seiring waktu setelah paparan radiasi pengion sebagai hasil dari proses seleksi yang terjadi selama proliferasi sel [22], [23]. Sementara itu, berdasarkan penelitian Purnami dkk., menjelaskan bahwa fragmen akibat radiasi pengion akan direspon berbeda oleh tubuh tergantung dari respon imunnya [24].

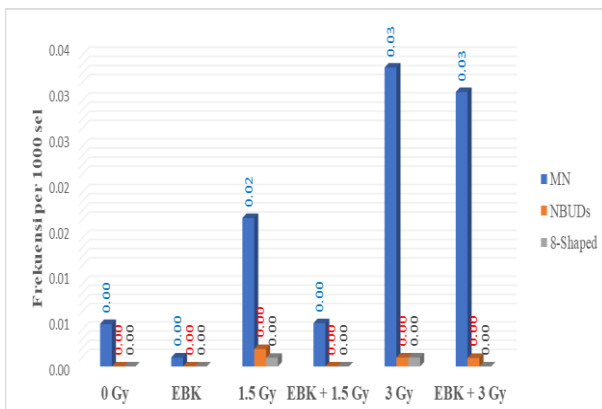
Pada perlakuan EBK + 1,5 Gy dan EBK + 3 Gy, frekuensi ABK disentriknya 0,00 dan 0,04, sedangkan frekuensi fragmennya 0,01 dan 0,14. Terjadi penurunan frekuensi ABK disentrik pada perlakuan yang ditambahkan EBK jika dibandingkan dengan perlakuan yang radiasi saja, baik 1,5 maupun 3 Gy. Penambahan EBK pada sampel darah perlakuan 1,5 dan 3 Gy dapat mengurangi efek radikal bebas akibat radiasi gamma. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh peran zat antioksidan yang terdapat pada EBK. Penelitian oleh Sembiring dkk., menyimpulkan bahwa senyawa antioksidan fenolik (khususnya flavanoid) yang terdapat dalam EBK dapat berperan sebagai *radical scavenger* sehingga mampu mencegah terbentuknya radikal bebas dan ROS. Flavanoid dapat membantu meningkatkan kinerja antioksidan endogen seperti glutathion (GSH) dan enzim glutathion peroksidase (GPx), sehingga mampu mempertahankan homeostasis tubuh [19].



Gambar 2. Hasil pengamatan aberasi kromosom disentrik (A) dan fragmen (B) pada perlakuan iradiasi 3 Gy

Sementara itu, hasil yang berbeda diperoleh pada perlakuan yang ditambahkan EBK sebelum iradiasi 1,5 dan 3 Gy, yaitu terjadinya peningkatan frekuensi fragmen. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh sifat dari fragmen yang tidak stabil dan adanya faktor selain radiasi pengion seperti makanan dan bahan kimia yang menyebabkan terbentuknya fragmen. Sehingga zat antioksidan yang terdapat pada EBK tidak optimal untuk mengurangi pembentukan fragmen [24].

Hasil penelitian untuk frekuensi MN, NBUDs dan 8-shaped responden pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3. Frekuensi MN, NBUDs dan 8-shaped pada perlakuan 1,5 Gy dan 3 Gy mengalami peningkatan dibandingkan perlakuan 0 Gy dan EBK. Hal ini menunjukkan bahwa radiasi gamma dapat menyebabkan kerusakan kromosom dan instabilitas genom melalui pembentukan MN, NBUDs dan 8-shaped (Gambar 4).



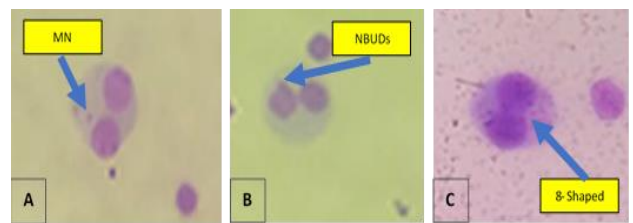
Gambar 3. Perbandingan frekuensi MN, NBUDs dan 8-shaped responden pada masing-masing perlakuan

Selain ABK disentrik, MN juga memiliki korelasi positif dengan dosis radiasi. Oleh karena itu, pembentukan MN dapat dilihat dari banyaknya ABK disentrik yang terbentuk [25]. Pembentukan MN akibat radiasi pengion dimulai dari dosis kurang dari 1 Gy hingga lebih dari 4 Gy [10]. Hasil penelitian Lusiyanti dkk. [11], menunjukkan bahwa dosis radiasi pengion 0,5 Gy telah menginduksi pembentukan MN dengan peningkatan yang signifikan dibanding kontrol. Sementara itu, Dhillon dkk. [26], menyampaikan bahwa frekuensi NBUDs pada kelompok pasien kanker prostat yang diiradiasi gamma 3 Gy secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Pada penelitian lain, Kravtsov dkk., mengemukakan bahwa terdapat peningkatan frekuensi 8-shaped pada sampel limfosit manusia yang diiradiasi sinar-X dari dosis 0-2 Gy secara *in vitro* [7].

Pada perlakuan EBK + 1,5 Gy dan EBK + 3 Gy terjadi penurunan frekuensi MN, NBUDs dan 8-shaped dibandingkan dengan perlakuan tanpa EBK. Hal ini menunjukkan bahwa zat antioksidan yang terdapat pada EBK cukup efektif untuk mengurangi tingkat kerusakan kromosom akibat

radikal bebas yang terbentuk dari paparan radiasi gamma.

Senyawa fenolik pada EBK dapat menyumbangkan elektronnya kepada radikal peroksil dari lipid, sehingga menjadi lebih stabil [27]. Simon dkk. [28], mengemukakan bahwa mengkonsumsi secara rutin flavanoid dapat mencegah berbagai macam kerusakan oksidatif DNA (termasuk aberasi kromosom) karena berperan sebagai modulator enzim yang mengurangi stres oksidatif pada sel.



Gambar 4. Hasil pengamatan MN (A), NBUDs (B) dan 8-shaped (C) pada perlakuan iradiasi 3 Gy

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Siqueira dkk. [29], menyimpulkan bahwa flavanoid yang terkandung dalam quercetin mampu menekan pembentukan aberasi kromosom pada kultur sel limfosit (*in vitro*) dengan dosis iradiasi 2,5; 3,5; dan 4,5 Gy. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Shi dkk. [30], mengatakan bahwa Liquiritin (salah satu monomer aktif flavanoid) mampu melindungi sel limfosit terhadap radiasi gamma dosis 2 Gy dengan menurunkan rata-rata pembentukan MN.

Meskipun belum banyak penelitian terkait kemampuan perlindungan dari EBK terhadap radiasi pengion, tetapi hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa antioksidan (khususnya flavanoid) yang terdapat pada EBK mampu melindungi sel limfosit terhadap radiasi gamma.

KESIMPULAN

Senyawa antioksidan yang terdapat dalam EBK memiliki potensi dalam melindungi sel limfosit terhadap kerusakan akibat radiasi gamma dengan mengurangi frekuensi ABK disentrik, MN, NBUDs dan 8-shaped. Walaupun hasil yang berbeda diperoleh pada frekuensi fragmen. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan jumlah sampel yang memadai sehingga hasil yang diperoleh bisa lebih komprehensif dan representatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Geric *et al.*, "Cytogenetic status of interventional radiology unit workers occupationally exposed to low-dose ionizing radiation: a pilot study", *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen*, vol. 843, pp. 46-51, 2019.
- [2] S. Hall *et al.*, "Protection against radiotherapy-induced toxicity", *Antioxidants*, vol. 3, no. 3, pp. 1-18, 2016.
- [3] G.S. Ronald *et al.*, "Toxicogenetic biomonitoring of occupational risk induced by ionizing radiation", *African J Pharm Pharmacol*, vol. 10, no. 29, pp. 604-15, 2016.
- [4] W.I. El-Desouky, A.H. Mahmoud, M.M. Abbas, "Antioxidant potential and hypolipidemic effect of whey protein against gamma irradiation induced damages in rats", *Appl Radiat Isot.* vol. 129, pp. 103-107, 2017.
- [5] R. Yahyapour *et al.*, "Radiation protection and mitigation by natural antioxidants and flavonoids: implications to radiotherapy and radiation disasters", *Curr Mol Pharmacol*, vol. 11, no. 4, pp. 285-304, 2018.
- [6] R. Hardiyanti dkk, "Antioxidant and antibacterial activities of various extracts of duku's mistletoe leaf (*Dendrophthoe pentandra* (L.) miq) collected from medan, indonesia", *Asian J Pharm Clin Res*, vol. 11, no. 12, pp. 526-529, 2018.
- [7] V. Kravtsov *et al.*, "The frequency of lymphocytes containing dumbbell-shaped nuclei depends on ionizing radiation dose and Scorrrelates with appearance of chromosomal aberrations", *Genome Integr*, vol. 9, no. 1, pp. 1-7, 2018.
- [8] S.K. Ghorbanian, M.H. Sangtarash, H. Mozdarani, "The effects of melatonin on the frequency of micronuclei induced by ionizing radiation in cancerous and normal cell lines", *Int J Radiat Res*, vol. 18, no. 1, pp. 57-64, 2020.
- [9] N. Zaguaia *et al.*, "A new tool for genotoxic risk assessment: Reevaluation of the cytokinesis-block micronucleus assay using semi-automated scoring following telomere and centromere staining", *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen*, vol. 851, pp. 850-851, 2019.
- [10] IAEA. Cytogenetic Dosimetry : Applications in preparedness for and response to Radiation Emergencies, 2011.
- [11] Y. Lusiyanti *et al.*, "Establishment of a Dose-response Curve for X-ray-Induced Micronuclei in Human Lymphocytes", *Genome Integr*, vol. 7, no. 7, pp. 1-4, 2016.
- [12] T. Kisnanto, Darlina, T. Rahardjo, "Pengaruh radiasi pengion terhadap kerusakan dna pada sel limfosit pekerja medis dengan menggunakan uji komet", *J Ilm Apl Isot dan Radiasi*, vol. 14, no. 2, pp. 125-132, 2018.
- [13] G. Gashi *et al.*, "The association between micronucleus, nucleoplasmic bridges, and nuclear buds frequency and the degree of uterine cervical lesions", *Biomarkers*, vol. 23, no. 4, pp. 364-372, 2018.
- [14] H.S.J. Cheong *et al.*, "Relationships among micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds within individual cells in the cytokinesis-block micronucleus assay", *Mutagenesis*, vol. 28, no. 4, pp. 433-440, 2013.
- [15] V. Kravtsov, A. Livanova, Y. Starkova, "Nuclear abnormalities of lymphocytes as the simplest markers for bioindication test in case of mass casualty events involving radiation exposure", *Emerg Med Open Access*, vol. 7, no. 4, pp. 1-6, 2017.
- [16] T. Kisnanto, I. Kurnia, M. Sadikin, "Effect of garlic, stinky bean, dogfruit, tomato extracts, and n-acetylcysteine on rats after 5 Gy irradiation", *Atom Indones*, vol. 46, no. 1, pp. 53-60, 2020.

- [17] Z. Siama *et al.*, “Chronic low dose exposure of hospital workers to ionizing radiation leads to increased micronuclei frequency and reduced antioxidants in their peripheral blood lymphocytes”, *Int J Radiat Biol*, vol. 95, no. 6, pp. 697-709, 2019.
- [18] C. Caleja *et al.*, “A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits”, *Food Chem*, vol. 216, pp. 342-346, 2017.
- [19] H.B. Sembiring, S. Lenny, L. Marpaung, “Aktivitas antioksidan senyawa flavanoid dari daun benalu kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)”, *Chim Nat Acta Vol*, vol. 4, no. 3, pp. 117-122, 2016.
- [20] M. Fenech, “Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death”, *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen*, vol. 600, no. 1-2, pp. 58-66, 2006.
- [21] Y. Lusiyanti dkk., “Development of dose-response calibration curve for dicentric chromosome induced by X-rays”, *Genome Integr*, vol. 10, no. 2, pp. 1-5, 2019.
- [22] V. Martins, A.C. Antunes, O.M. Gil, “Implementation of a dose – response curve for gamma radiation in the Portuguese population by use of the chromosomal aberration assay”, *Mutat Res-Genet Toxicol Environ Mutagen*, vol. 750, no. 1-2, pp. 50-54, 2012.
- [23] O. Komova *et al.*, “Relationship between radioadaptive response and individual radiosensitivity to low doses of gamma radiation: An extended study of chromosome damage in blood lymphocytes of three donors”, *Int J Radiat Biol*, ISSN, vol. 3002, 2017.
- [24] S. Purnami dkk., “Hubungan fragmen asentrik kromosom dan mikronuklei pada sel limfosit dengan paparan radiasi sinar-X”, Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir 2017, pp. 443-449, 2017.
- [25] K. Jurica *et al.*, “In vitro assessment of the cytotoxic, DNA damaging, and cytogenetic effects of hydroquinone in human peripheral blood lymphocytes”, *Arh Hig Rada Toksikol*, vol. 68, no. 4, pp. 322-335, 2017.
- [26] V.S. Dhillon *et al.*, “Cytokinesis block micronucleus cytochrome (CBMN Cyt) assay biomarkers and their association with radiation sensitivity phenotype in prostate cancer cases and DNA repair gene hOGG1 (C1245G) polymorphism”, *Environ Mol Mutagen*, vol. 59, no. 9, pp. 813-821, 2018.
- [27] M.M.A. Boojar, “An overview of the cellular mechanisms of flavonoids radioprotective effects”, *Adv Pharm Bull*, vol. 10, no. 1, pp. 13-19, 2020.
- [28] V. Simon *et al.*, “The antigenotoxic potential of dietary flavonoids. Phytochemistry Reviews” *Springer Netherlands*, 2016.
- [29] W.N. Siqueira *et al.*, “Study of the potential radiomitigator effect of quercetin on human lymphocytes”, *Inflammation*, pp. 1-11, 2018.
- [30] N. Shi *et al.*, “Protective effect of Liquiritin on ⁶⁰Co-gamma radiation-induced micronucleus in human peripheral blood lymphocyte”, *J Hainan Med Univ*, vol. 22, no. 12, pp. 1-4, 2016.

