

The Time Intensity Effect Of Ultraviolet-C Light Exposure On The Corneal Mice Thickness (*Mus musculus L.*)

Rini AS, Susianti, Sibero HT

Medical Faculty of Lampung University

Abstract

In humans, prolonged exposure of ultraviolet light causes acute and chronic health of the eyes, skin, brain, immune system and other organs. The aims of this study to determine the time intensity effect of ultraviolet-c light exposure on the corneal mice thickness (*Mus musculus L*). Exposure is derived from ultraviolet-C light. This study is an experimental research using 25 male mice that are exposed by ultraviolet-C light in distance of 1,5 meters. Control group (K) is not exposed, (P1) 30 minute exposed, (P2) 1 hour exposed, (P3) 2 hours exposed and (P4) 4 hours exposed for 14 days. After 15 days, the mice were terminated to take eyes organ. Then, made Hematoxylin Eosin preparations and observation the thickness of the corneal epithelial layer. The result shows that thickness average of the corneal epithelial layer in group control: $5,22 \pm 11,38$, P1: $33,06 \pm 8,94$, P2: $32,04 \pm 9,33$, P3: $30,67 \pm 3,42$ and P4: $25,69 \pm 7,12$. One way ANOVA test results, $p < 0,05$, meaning that there are significant differences between two groups. The conclusion that increasing of exposure by ultraviolet-C light directly proportional to corneal damage. So, exposure by ultraviolet-C light has an influence on corneal thickness of male mice (*Mus musculus L.*).

Keyword : Epithelial layer, thickness of the cornea, male mice, ultraviolet – C light,

Pengaruh Intensitas Waktu Paparan Sinar Ultraviolet-C Terhadap Ketebala Kornea Mencit (*Mus Musculus L.*)

Abstrak

Pada manusia, pemaparan sinar ultraviolet yang berkepanjangan dapat mengakibatkan gangguan kesehatan secara akut dan kronik pada mata, kulit, otak, sistem imun dan organ lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh intensitas waktu paparan cahaya sinar ultraviolet-c terhadap ketebalan kornea mencit jantan (*Mus musculus L.*). Paparan yang digunakan berasal dari cahaya lampu ultraviolet-c. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan 25 ekor mencit jantan yang dipapari cahaya lampu ultraviolet-c dengan jarak 1,5 meter dari sumber cahaya dengan lama paparan per hari 0 jam (K), 30 menit (P1), 1 jam (P2), 2 jam (P3), dan 4 jam (P4) selama 14 hari. Hari ke 15 dilakukan pembedahan dan pembuatan preparat. Pengamatan dilakukan dengan melihat ketebalan lapisan epitel kornea. Hasil penelitian menunjukkan bahwa didapatkan hasil rerata ketebalan lapisan epitel kornea pada kelompok K (kontrol) $52,22 \pm 11,38$, P1 sebesar $33,06 \pm 8,94$, P2 sebesar $32,04 \pm 9,33$, P3 sebesar $30,67 \pm 3,42$ dan P4 sebesar $25,69 \pm 7,12$. Hasil uji Anova diperoleh $p < 0,05$, artinya terdapat perbedaan yang bermakna. Dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan kerusakan kornea mencit jantan yang berbanding lurus dengan lama paparan cahaya lampu ultraviolet-c. Terbukti bahwa pengaruh intensitas waktu paparan cahaya sinar ultraviolet-c terhadap ketebalan kornea mencit jantan (*Mus musculus L.*).

Kata Kunci: Epitel kornea, ketebalan kornea, mencit jantan, sinar ultraviolet-c,

Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang terletak di daerah tropis dengan paparan sinar matahari sepanjang musim. Sebagian penduduknya bekerja di luar ruangan sehingga mendapatkan banyak paparan sinar matahari bahkan pada saat matahari sedang terik. Sinar matahari sendiri sebenarnya terdiri dari sinar terlihat dan sinar tidak terlihat. Sinar yang terlihat adalah antara sinar merah ke violet ungu. Pada saat kita melampaui sinar ini kita menghadapi sinar yang tidak terlihat yaitu sinar ultraviolet. Sinar ultraviolet (UV) merupakan suatu radiasi elektromagnetik (Amelia, 2010).

Adanya fenomena *global warming* yang berdampak pada penipisan lapisan ozon di bumi dapat menyebabkan radiasi UV-C sampai ke permukaan bumi dan berakibat buruk terhadap makhluk hidup. Sinar UV-C adalah sinar dengan energi tertinggi, paling berbahaya diantara sinar ultraviolet lainnya. Pada manusia, pemaparan sinar UV yang berkepanjangan dapat mengakibatkan gangguan kesehatan secara akut dan kronik pada kulit, mata, otak, sistem imun dan organ lainnya (Intan, 2013).

Pada mata, energi radiasi pada panjang gelombang < 280 nm (UV-C) dapat diserap seluruhnya oleh kornea. Energi radiasi UV-B ($280 - 320$ nm) sebagian besar diserap kornea dan dapat pula mencapai lensa. Sedangkan energi UV-A ($320 - 400$ nm) secara kuat diserap dalam lensa dan hanya sebagian kecil energi saja ($< 1\%$) yang dapat mencapai retina. Untuk mata apakia (mata yang telah mengalami operasi katarak), penetrasi radiasi UV pada $300 - 400$ nm dapat mencapai retina (WEBB, 2005).

Banyak teori yang menyebutkan bahwa radiasi sinar UV dapat diabsorpsi secara selektif oleh epitel dan subepitel. Selain itu, paparan kronis terhadap sinar UV dengan dosis rendah dapat merusak mata secara permanen karena menyebabkan degenerasi dan neovaskularisasi pada membran Bowman dan lamella stroma. Efek fototosik akut radiasi UV pada mata adalah keratokonjungtivitis (dikenal juga sebagai *welder's flash* atau *snow blindness*) yaitu reaksi peradangan akut pada kornea dan konjungtiva mata. Sedangkan pajanan kronik radiasi UV pada mata dapat menimbulkan *pterygium* atau penebalan konjungtiva dan kataraktogenesis atau proses terbentuknya katarak (PERDAMI, 2006).

Metode

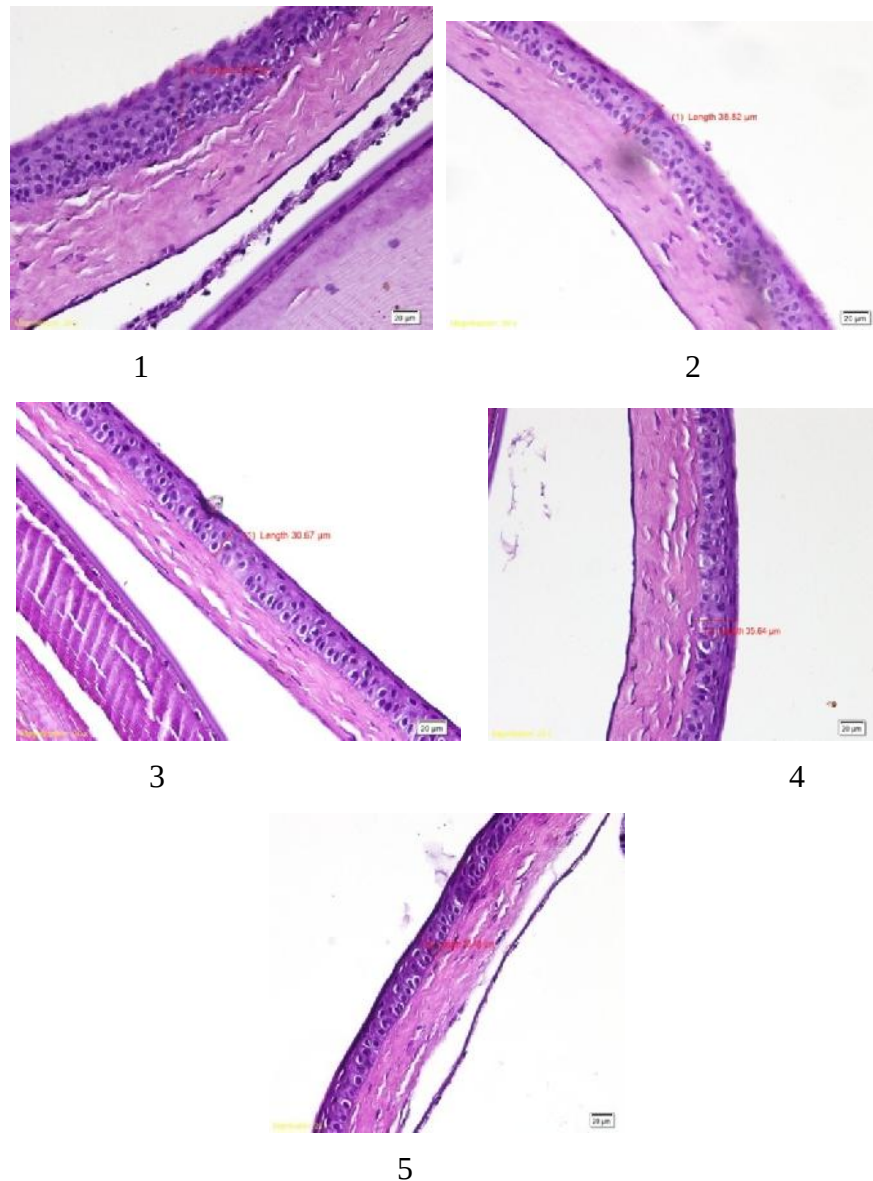
Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik dengan rancangan acak terkontrol dengan menggunakan 25 ekor mencit jantan berumur 3-4 bulan yang dipilih secara random dan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu k (kontrol), p1 (penyinaran lampu UV-C selama 30 menit), p2 (penyinaran lampu UV-C selama 1 jam), p3 (penyinaran lampu UV-C selama 2 jam) dan p4 (penyinaran lampu UV-C selama 4 jam).

Mencit dilakukan penimbangan berat badan dan diadaptasikan selama 1 minggu. Masing-masing kelompok diberi perlakuan dengan dipaparkan lampu UV-C selama 14 hari. Setelah 14 hari, mencit dianastesi Ketamine-xylazine 75-100 mg/kg + 5-10 mg/kg secara IP dan dilakukan euthanasia dengan metode *cervical dislocation*. Setelah mencit dipastikan mati lalu dilakukan laparotomi dan diambil bagian kornea mencit. Setelah itu dilakukan fiksasi dengan formalin 10% lalu dibuat sediaan Hematoxylin Eosin dengan potongan vertikal pada bagian kornea. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Gambaran histopatologi yang diamati adalah ketebalan lapisan kornea mencit.

Data hasil pengamatan dilakukan uji analisis statistik. Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Kemudian dilakukan uji homogenitas *Levene* untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama ($p > 0,05$) atau tidak. Jika varians data berdistribusi normal dan homogen, akan dilanjutkan dengan metode *one way ANOVA*. Namun, apabila distribusi data tidak normal dan varians data tidak homogen (tidak memenuhi syarat parametrik), akan diuji dengan uji *Kruskal Wallis*. Jika pada uji *one way ANOVA* menghasilkan nilai $p < 0,05$ (hipotesis dianggap bermakna) maka akan dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang lebih terinci

Hasil

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Gambaran ketebalan kornea yang diamati adalah ketebalan lapisan epitel kornea. Hasil pengamatan ketebalan kornea tiap kelompok perlakuan tampak pada Gambar 1:



Gambar 1. Gambar Kornea Mencit yang Dipulas Dengan Hematoxylin Eosin dengan Perbesaran 400x.

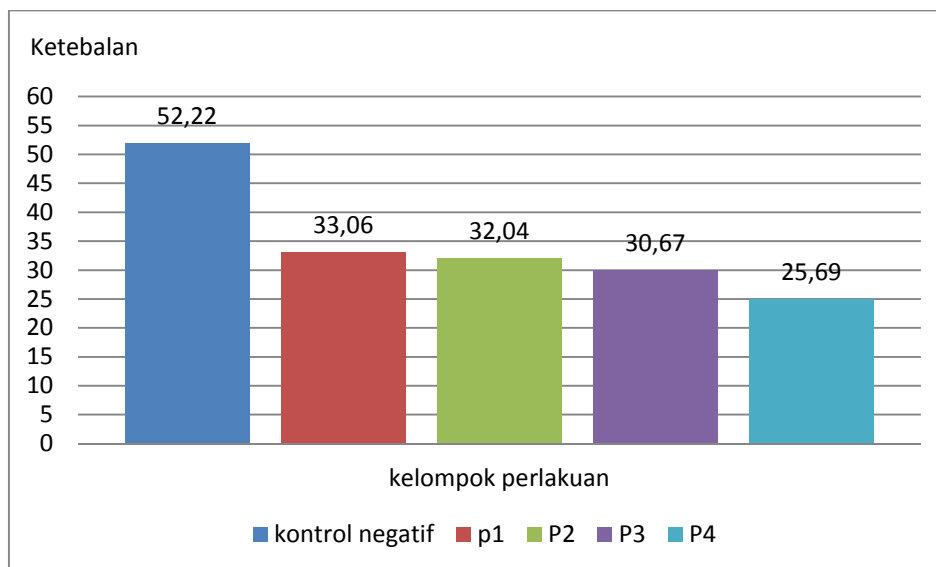
Keterangan : 1: Kelompok kontrol, 2: Kelompok P1 dipapari lampu UV-C selama 30 menit, 3: Kelompok P2 dipapari lampu UV-C selama 1 jam, 4: Kelompok P3 dipapari lampu UV-C selama 2 jam, 5: Kelompok P4 dipapari lampu UV-C selama 4 jam

Presentase gambaran kerusakan lapisan epitel kornea pada setiap kelompok tampak pada tabel berikut:

Tabel 1. Pesentase dan Rerata Kerusakan Epitel Kornea Mencit

Kelompok	Ketebalan Kornea (μm)	Rerata ± SD
Kontrol		
Mencit 1	64,68	52,22±11,38
Mencit 2	44,00	
Mencit 3	62,26	
Mencit 4	38,28	
Mencit 5	51,92	
Perlakuan 1		
Mencit 1	28,4	33,06±8,94
Mencit 2	34,98	
Mencit 3	20,24	
Mencit 4	42,9	
Mencit 5	38,82	
Perlakuan 2		
Mencit 1	41,36	32,04±9,33
Mencit 2	17,82	
Mencit 3	27,47	
Mencit 4	37,47	
Mencit 5	35,64	
Perlakuan 3		
Mencit 1	29,48	30,67±3,42
Mencit 2	33,28	
Mencit 3	34,32	
Mencit 4	30,67	
Mencit 5	25,63	
Perlakuan 4		
Mencit 1	25,89	25,69±7,12
Mencit 2	36,87	
Mencit 3	26,46	
Mencit 4	18,19	
Mencit 5	21,06	

Grafik perbandingan presentase dan rerata keusakan epitel kornea tampak pada gambar 2:



Gambar 2. Grafik Perbandingan Ketebalan Lapisan Epitel Kornea

Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro–Wilk* dan didapatkan distribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas *Levene* untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama ($p > 0,05$) atau tidak dan didapatkan nilai $p = 0,188$ yang artinya varians data sama maka selanjutnya dilakukan uji *one way ANOVA*. Dengan uji *one way ANOVA* diperoleh nilai $p = 0,001$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa paling tidak terdapat perbedaan kerusakan kornea pada mencit antara dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, maka dilakukan analisis *Post Hoc LSD*. Hasil analisis *Post Hoc LSD* dapat dilihat pada Tabel 2:

Tabel 2. Analisis *Post Hoc LSD* Kerusakan Lapisan Epitel Kornea antar Kelompok

Kelompok	Kontrol	P1	P2	P3	P4
Kontrol	-	0,002	0,001	0,001	0,000
P1	-	-	0,851*	0,660*	0,184*
P2	-	-	-	0,801*	0,250*
P3	-	-	-	-	0,364*
P4	-	-	-	-	-

Dengan $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan P1, P2, P3, dan P4 namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok P1 dengan P2, P1 dengan P3, P1 dengan P4, P2 dengan P3, P2 dengan P4 dan P3 dengan P4

Pembahasan

Dari hasil pengamatan secara mikroskopis, dapat dilihat bahwa kelompok kontrol yaitu mencit tidak diberi paparan cahaya lampu UV-C tidak mengalami kerusakan. Ketebalan lapisan epitel kornea terlihat normal dengan rerata $52,22 \pm 11,38$. Pada kelompok perlakuan 1 yang diberi paparan cahaya lampu UV-C selama 30 menit per hari mengalami penipisan lapisan kornea dengan rerata menjadi $33,06 \pm 8,94$. Dalam pemeriksaan mikroskopis terlihat adanya penipisan lapisan epitel. Pada kelompok perlakuan 2 yang diberi paparan cahaya lampu UV-C selama 1 jam per hari mengalami penipisan lapisan kornea yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 dengan rerata ketebalan lapisan epitel sebesar $32,04 \pm 9,33$. Pada pemeriksaan mikroskopis tampak penipisan lapisan epitel dan inti selnya pun berkurang. Pada kelompok perlakuan 3 yang diberi paparan cahaya lampu UV-C selama 2 jam per hari mengalami penipisan lapisan epitel kornea yang lebih besar daripada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 dengan rerata ketebalan lapisan epitel sebesar $30,67 \pm 3,42$. Dalam pemeriksaan mikroskopis terlihat adanya penipisan lapisan epitel yang lebih besar serta berkurangnya kerapatan dan inti sel. Pada kelompok perlakuan 4 yang diberi paparan cahaya lampu UV-C selama 4 jam per hari mengalami penipisan lapisan epitel kornea yang paling besar dengan rerata ketebalan epitel sebesar $25,69 \pm 7,12$. Dalam pemeriksaan mikroskopis terlihat adanya penipisan lapisan epitel yang jauh lebih besar serta berkurangnya kerapatan dan jumlah inti sel.

Hasil penelitian ini sesuai dengan teori Baumann & Allemann, 2009 yang menyatakan bahwa Efek fotobiologik sinar UV-C menghasilkan radikal bebas dan menimbulkan kerusakan sel. Faktor radikal bebas merupakan faktor utama yang mempengaruhi kerusakan fungsi sel, seperti menurunkan kinerja zat-zat dalam tubuh, misalnya enzim yang bekerja mempertahankan fungsi sel (enzim protektif), menimbulkan kerusakan protein dan asam amino yang merupakan struktur utama kolagen dan jaringan elastin (Fisher, 2002).

Pajanan sinar UV-C pada mata akan diserap oleh fotoreseptor yang merupakan permulaan reaksi fotokimiawi. Reaksi fotokimiawi ini dapat menyebabkan perubahan pada DNA

yang meliputi oksidasi asam nukleat. Reaksi oksidasi juga dapat mengubah protein dan lipid yang mengakibatkan fungsi sel terganggu. Akumulasi keduanya ini mengakibatkan kerusakan jaringan. Tubuh sebenarnya sudah dilengkapi untuk menghadapi stres oksidatif yang secara alami menggunakan enzim dan nonenzim antioksidan untuk mengurangi efek buruk ini, tetapi sinar UV-C serta pembentukan radikal bebas dapat memperberat proses ini, yaitu dengan membuat kontrol perlindungan secara alami menjadi tidak adekuat, yang akhirnya dapat menyebabkan kerusakan oksidatif (Baumann & Allemann, 2009).

UV-C adalah mutagen untuk *p53 tumor supresor gene* pada *limbal basal stem cell*. Tanpa apoptosis, *transforming growth factor-beta* diproduksi dalam jumlah berlebihan dan menimbulkan proses kolagenase meningkat. Sel-sel bermigrasi dan angiogenesis. Akibatnya terjadi perubahan degenerasi kolagen dan terlihat jaringan subepitelial fibrovaskular. Jaringan subkonjungtiva terjadi degenerasi elastis proliferasi jaringan vaskular bawah epithelium dan kemudian menembus kornea. Kerusakan pada kornea terdapat pada lapisan membran bowman oleh pertumbuhan jaringan fibrovaskular, sering disertai dengan inflamasi ringan. Epitel dapat normal, tebal atau tipis dan kadang terjadi dysplasia (Khurana, 2007).

UV-C dapat menyebabkan kerusakan kornea dan UV-C paling aktif diabsorpsi oleh DNA. Penyerapan sinar UV-C oleh DNA, khususnya nukleotida pirimidin, ternyata menurun dengan peningkatan panjang gelombang. Ini menunjukkan bahwa penyerapan sinar UV-C oleh DNA mencapai puncaknya pada pajanan gelombang kurang dari 300nm, sebaliknya panjang gelombang yang lebih panjang kurang efektif dalam penyerapan sinar UV-C oleh DNA. Sinar UV-C yang dipaparkan menyebabkan kerusakan DNA secara langsung, jika hal ini berlangsung terus menerus tanpa adanya perbaikan pada DNA akan terjadi mutasi DNA yang mengakibatkan perubahan gen pengatur regulasi apoptosis, diferensiasi, maturasi dan proliferasi yang kemudian berefek pada ketidakseimbangan antara proses apoptosis sel dengan pembentukan sel. Ketidakseimbangan ini mengakibatkan terjadinya penipisan lapisan epitel kornea yang dapat berlanjut pada keganasan (Trevisan & Andrea, 2006).

Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh paparan sinar UV-C terhadap ketebalan kornea mencit jantan (*Mus musculus* L) untuk kelompok kontrol sebesar $52,22 \pm 11,38$, P1 sebesar $33,06 \pm 8,94$, P2 sebesar $32,04 \pm 9,33$, P3 sebesar $30,67 \pm 3,42$, P4 sebesar $25,69 \pm 7,12$.

Daftar Pustaka

- Amelia, L. 2010. Pengaruh Paparan Sinar Ultraviolet C terhadap Gambaran Histologi Hepatosit pada Mencit (*Mus musculus*. L) [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Muhamadiyah Yogyakarta
- Baumann L and Allemann IB. Depigmenting Agents. In baumann L, Saghari S, Weisberg E. 2009. *Cosmetic Dermatology, Principles and Practice*, 2nd ed. New York: McGraw Hill Medical. pp. 279-91
- Fisher, G.J., S., Varani, J., Beta-Csorgo, Z., Wan, Y., Datta, S., 2002. Mechanism of photoaging and chronological aging. *Archives of Dermatology*, vol: 138
- Intan, O. 2013. Pengaruh Paparan Cahaya Lampu Merkuri Terhadap Gambaran Histologi Glomerulus Ginjal Mencit (*Mus musculus* L.) [Skripsi]. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- Khurana A.K, 2007. *Community Ophthalmology*, Chapter 20, in *Comprehensive Ophthalmology*, Fourth Edition. New Delhi, New Age Internasional Limited Publisher. pp 443-6
- Perhimpunan Dokter Spesialis Mata Indonesia (PERDAMI), 2006. Editor Tahjono. Dalam panduan manajemen klinik PERDAMI. Jakarta: Ondo. hlm. 56-8
- Trevisan and Andrea. 2006. Unusual High Exposure to Ultraviolet-C Radiation. Department of Environmental Medicine and Public Health, University of Padova. hlm. 122-58
- Webb, A.R. 2005. Changes in Stratospheric Ozone Concentrations and Solar Uv Levels. *Radiation Protection Dosimetry*. 72 (3-4) : 207-16.