

KESAN AMANG SEMI PROSES KE ATAS KROMOSOM SETCREASEA PURPUREA BOOM

SARINA HASHIM

Universiti Teknologi MARA Cawangan Pahang, 26400 Bandar Jengka, Pahang.

ABSTRAK

Satu kajian telah dilakukan untuk menilai kesan sitotoksik dan genotoksik yang disebabkan oleh sinaran tabii daripada amang semi proses. Sampel amang diperolehi daripada sebuah kilang memproses amang di Dengkil, Selangor. Sampel tanah kawalan diambil dari Rumah Tumbuhan, Universiti Kebangsaan Malaysia (U.K.M.). Medium penanaman bagi bioindikator tumbuhan, *Setcreasea purpurea* Boom terdiri daripada (a) tanah kawalan, (b) campuran tanah-amang semi proses (3:1) dan (c) campuran tanah-amang semi proses (1:3). Sampel hujung akar dikumpulkan selepas lima hari penanaman sehingga hari ke-15. Sampel yang telah diambil dikenakan pra-perlakuan, penetapan dan hidrolisis sel sebelum diwarnakan dengan larutan aseto karmein (2%). Teknik skuas sampel hujung akar diatas slaid basah menyediakan satu lapisan sel nipis untuk penyaringan kromosom. Analisis sitologi kromosom somatik mendapati kromosom tumbuhan ini $2n = 24$; terdiri daripada empat metacentrik dan lapan submetacentrik. Medium pertumbuhan mengandungi amang semi proses didapati menyebabkan kejadian aberasi kromosom yang dikesan daripada serakan kromosom metafasa dalam sel hujung akar. Tahap kerosakan kromosom didapati meningkat dengan tempoh perlakuan. Lesi kromatid dan serpihan asentrik adalah jenis aberasi yang paling banyak dicerap akibat pendedahan kepada tanah amang semi proses.

PENDAHULUAN

Amang adalah sisa yang tertinggal selepas hasil utama perlombongan iaitu oksida timah (kasiterit) diekstrak daripada bijih timah. Amang terdiri daripada mineral logam berat berharga seperti monazit, xenotim, ilmenit, zirkon dan struverit. Amang telah dilaporkan mengandungi unsur radioaktif tabii (LPTA 1991, Hewson 1993, Hu et al. 1995), maka ia juga dipercayai berpotensi untuk mengakibatkan kesan radiologi kepada sistem biologi organisma hidup. Kajian sitogenetik telah menunjukkan bahawa pendedahan kepada sinaran mengion boleh mengaruh aberasi kromosom di kalangan manusia (Brasemann et al. 1994, Simmons et al. 1996, Zaidan & Ismail 1996). Sinaran juga boleh mengaruh pembentukan mikronukleus dalam sel hidup (Helma et al. 1994, Ismail et al. 1996, Ma et al. 1994a).

S. purpurea adalah tumbuhan herba dari famili Commelinaceae. Spesies ini masih diuji kegunaannya sebagai bioindikator, tetapi beberapa kajian sebelum ini mengesahkan kesesuaiannya (Ismail et al. 1996 & Sarina et al. 1998). Namun begitu beberapa spesies dalam famili ini telah lama digunakan sebagai bioindikator dalam kajian-kajian pencemaran air, udara dan tanah, terutamanya *Tradescantia* (Ma 1982, Ichikawa et al. 1968 dan Ma et al. 1994a,b).

Objektif kajian ini adalah untuk mengkaji kesan genotoksik dan kemutagenan terhadap sistem biologi. Kerosakan yang berlaku kepada sistem biologi tumbuhan akibat kehadiran unsur radioaktif tabii dalam amang semi proses dikenalpasti. Kajian ini diharap dapat membuktikan bahawa pendedahan kepada sinar radioaktif tabii yang tinggi adalah berbahaya. Penilaian risiko genetik sistem biologi organisma hidup dapat memberikan garis panduan tentang langkah keselamatan yang boleh diambil untuk meminimumkan kesan buruk amang. Hasil kajian juga diharap dapat memberikan gambaran awal tentang perlunya meneliti lebih lanjut risiko yang diterbitkan daripada aktiviti perlombongan ke atas manusia dan alam sekitar.

BAHAN DAN KAEDAH

Bahan Kajian

Amang semi proses diperolehi daripada salah sebuah syarikat pemprosesan amang di Dengkil, Selangor. Sampel amang semi proses ini telah menjalani sebahagian daripada proses pengekstrakan mineral berharga di kilang pemrosesannya.

Bioindikator untuk kajian ini adalah tumbuhan herba lembut, *S. purpurea* Boom. Spesies ini hidup subur dalam medium pertumbuhan yang terdiri daripada campuran tanah, tahi lembu dan pasir dalam nisbah 3:2:1 yang diperolehi dari Rumah Tumbuhan, U.K.M.

Kaedah Kajian

1) Penanaman tumbuhan

Keratan batang *S. purpurea* yang telah berakar ditanam di dalam medium pertumbuhan yang terdiri daripada (a) tanah kawalan, (b) campuran tanah-amang semi proses dalam nisbah 3:1 (ASP1), dan (c) campuran tanah-amang semi proses dalam nisbah 1:3 (ASP3). Sampel akar diambil setiap lima hari selepas tumbuhan ditanam.

2) Penyediaan sampel

Sampel hujung akar yang bersih dan kering diberi praperlakuan dengan larutan kolkisin 0.02% selama tiga jam pada suhu bilik. Rawatan ini bertujuan untuk merencatkan pembentukan gentian gelendung, seterusnya menambahkan frekuensi sel metafasa yang boleh dicerap (Dyer 1979). Selepas itu sampel hujung akar ini dilakukan penetapan didalam larutan Carnoy selama 15-24 jam pada suhu 4°C. Langkah seterusnya melibatkan hidrolisis hujung akar dalam 1N asid hisroklorik selama 10 minit pada suhu 60°C.

3) Penyediaan slaid

Satu hujung akar diletakkan diatas slaid dan dititiskan dengan setitik larutan asid asetik (45%). Hujung akar dihancurkan dengan rod logam tumpul. Serpihan halus yang dapat dilihat dengan mata kasar dibuang daripada ampaian sel. Setitik pewarna

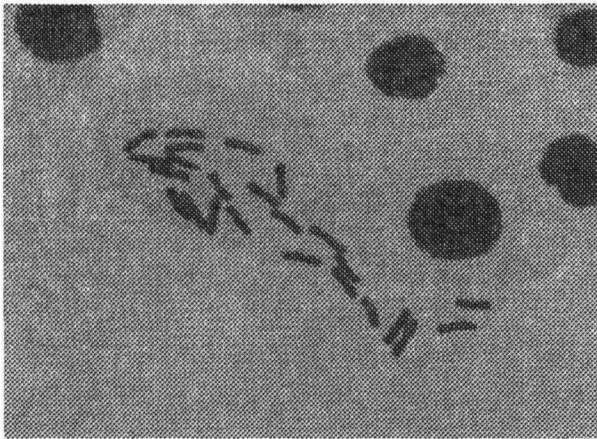
aseto-orsein (2%) dititiskan diatas ampaiian sel. Penutup slaid diletakkan dan teknik skuas dilakukan untuk menyebarkan sel dalam satu lapisan nipis dan tunggal. Penyaringan kromosom metafasa dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dibawah kuasa pembesaran 100 X 10 menggunakan kanta benaman minyak.

4) Pencerapan kromosom

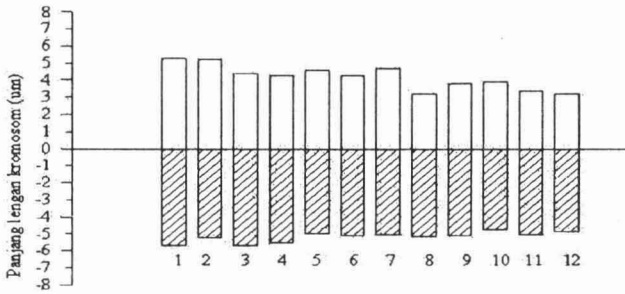
Jenis perubahan morfologi kromosom yang diperhatikan adalah lesi kromatid, pemutusan kromosom tunggal, pemutusan kedua-dua kromatid, kromosom disentrik, kromosom asentrik dan kromosom cecincin. Bagi setiap perlakuan, 50 sel metafasa yang sempurna penyerakan kromosomnya diperhatikan untuk mendapatkan peratus sel yang mengalami ketaknormalan kromosom.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Serakan sel metafasa menunjukkan jumlah kromosom *S. purpurea* adalah $2n = 24$ (Fotograf 1). Secara keseluruhan saiz kromosomnya adalah besar dengan purata panjang kromosom di antara $8.06\mu\text{m} \pm 0.99\mu\text{m}$ hingga $10.97\mu\text{m} \pm 1.97\mu\text{m}$. Jumlah panjang kromosom ($2n = 24$) yang telah diukur adalah $224.60\mu\text{m} \pm 29.75\mu\text{m}$. Alam dan Sharma (1991) telah melaporkan bahawa jumlah panjang kromosom spesies ini adalah $213.66\mu\text{m} \pm 9.43\mu\text{m}$. Ini menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan antara jumlah ukuran yang telah diperolehi. Kajian ini juga mendapati pelengkap haploid kromosom bagi *S. purpurea* terdiri daripada empat metasentrik dan lapan submetasentrik (Rajah 1).

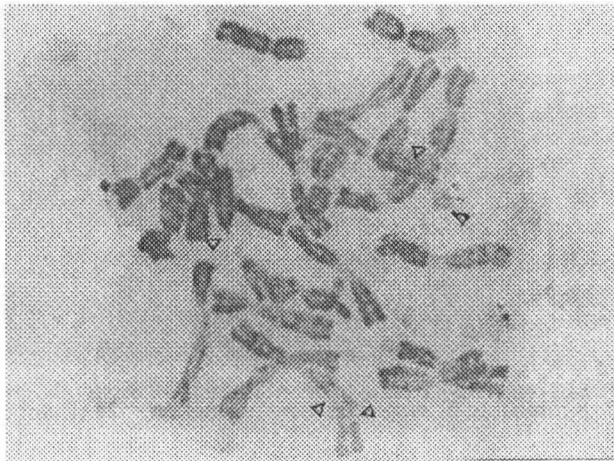


Fotograf 1: Kromosom *S. purpurea* yang normal $2n = 24$ (Pembesaran 400 kali).

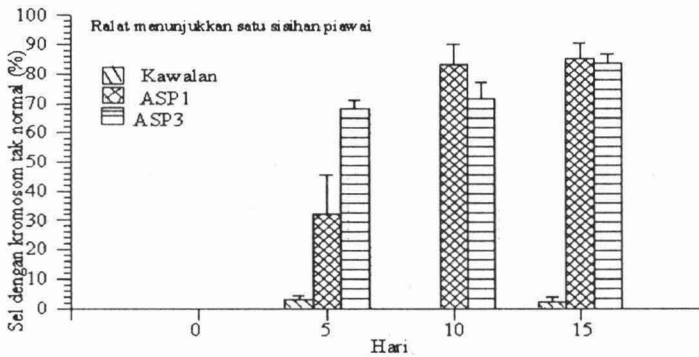


Rajah 1: Idiogram kromosom normal *S. purpurea*

Sampel hujung akar yang diperolehi daripada tumbuhan dalam medium penanaman ASP1 dan ASP3 menunjukkan beberapa jenis aberasi kromosom (Fotograf 2). Rajah 2 menunjukkan bilangan sel dengan kromosom tak normal pada hari kelima adalah lebih tinggi apabila tumbuhan ditanam dalam tanah ASP3 berbanding ASP1. Namun peratusan ini bagi kedua-dua perlakuan pada hari ke-10 dan ke-15 tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan. Jadual ANOVA sehalu ($\alpha=0.05$) mendapati aberasi kromosom akibat pendedahan tumbuhan kepada ASP1 dan ASP3 adalah signifikan berbanding tanah kawalan. Kesan ASP1 dan ASP3 telah menyebabkan lebih 70% sel mengalami kerosakan kromosom selepas hari kelima. Ini menunjukkan kerosakan kromosom meningkat dengan tempoh perlakuan.



Fotograf 2: Beberapa jenis aberasi kromosom dalam sel metafasa *S. purpurea* (Pembesaran 1000 kali).



Rajah 2: Peratusan sel yang mengalami aberasi kromosom akibat pendedahan kepada amang semi proses (ASP1 dan ASP3) berbanding kawalan.

Kromosom boleh mengalami pemutusan secara spontan. Mutasi spontan adalah penting untuk tumbuhan berevolusi, terutamanya bagi tumbuhan diploid (D’Amato 1997). Kadangkala pemutusan kromosom diikuti oleh pembaikan semula atau pemulihan. Sejak beberapa tahun dahulu, ahli sitogenetik telah menghuraikan bahawa hujung kromosom yang terputus adalah bersifat lekit. Kelekitan ini mungkin merupakan sifat pelengkapan yang wujud diantara jujukan DNA yang berulang (Wagner et al. 1989). Sifat ini membantu pemulihan semula kromosom yang putus supaya kembali normal.

Analisis kromosom yang telah dilakukan dalam kajian ini menunjukkan tanah amang semi proses berupaya menyebabkan perubahan kromosom dalam sel akar *S. purpurea*. Tanah amang telah dilaporkan bersifat radiotoksik dan berupaya mengeluarkan sinaran radioaktif tabii (Hu et al. 1995, Ismail et al. 1996) yang boleh memudaratkan kesihatan manusia dan mencemarkan alam sekitar. Malah proses untuk mengasingkan bahan berharga ini telah meningkatkan kepekatan bahan radioaktif tabii atau bahan yang dipanggil “Technologically Enhanced Naturally Occurring Radioactive Materials (TENORM)” (Ashry et al. 1995, Heaton and Lambley 1995).

Amang semi proses telah dilaporkan mengandungi purata kepekatan radioaktif tabii siri uranium dan siri torium yang tinggi (Sarina et al. 1998). Kewujudan unsur-unsur ini sering dikaitkan dengan pencemaran radiologi tanah amang tersebut (LPTA 1991). Sinaran mengion (sinar alfa, sinar beta dan sinar gama) yang terhasil semasa pereputan unsur-unsur ini dipercayai telah menyebabkan gangguan kepada kromosom *S. purpurea* semasa proses mitosis sel. Ini menghasilkan beberapa jenis aberasi kromosom yang telah dicerap di bawah mikroskop kuasa tinggi.

Kajian yang telah dijalankan dapat menunjukkan perbezaan yang jelas dalam jenis aberasi kromosom akibat dedahan kepada tanah amang semi proses. Menurut laporan IAEA (1986), sinaran mengion lazimnya menyebabkan aberasi kromosom jenis disentrik. Sebaliknya dalam kajian ini didapati lesi kromatid dan serpihan asentrik adalah jenis aberasi yang paling banyak dicerap. Jelas disini bahawa amang semi

proses membawa kerosakan kepada struktur kromosom *S. purpurea*. Keadaan ini dipercayai berkaitan dengan pendedahan tumbuhan ini kepada sinaran mengion sama ada secara eksternal atau internal daripada unsur radioaktif tabii dalam amang semi proses.

Dengan maklumat yang ada, adalah tidak keterlaluan untuk mencadangkan bahawa aktiviti pemprosesan amang ini juga mampu memberikan impak radiologi kepada manusia dan sekitarnya. Oleh itu perhatian yang sewajarnya dari aspek kesihatan dan keselamatan pekerja kilang pemprosesan amang serta manusia di sekitarnya perlulah diberikan keutamaan. Pengetahuan terperinci perlulah dilakukan agar pengurusan amang dapat dijalankan dengan selamat dan tidak mencemarkan alam sekitar.

KESIMPULAN

Ujian sitogenetik menunjukkan amang semi proses berupaya membawa kerosakan genetik ke atas tumbuhan *S. purpurea*. Aberasi kromosom yang paling banyak dicerap adalah lesi kromatid dan serpihan asentrik. Tahap kerosakan kromosom juga didapati semakin meningkat dengan masa. Keputusan ini boleh dijadikan petunjuk dan panduan bagi badan-badan tertentu yang terlibat dalam industri pemprosesan amang supaya dapat merangka langkah keselamatan yang lebih baik dan berkesan semasa aktiviti dijalankan demi menjamin keselamatan pekerja dan alam sekitar.

PENGHARGAAN

Penyelidik merakamkan ucapan setinggi-tinggi penghargaan dan terima kasih kepada Universiti Kebangsaan Malaysia serta Kementerian Sains, Teknologi dan Alam Sekitar yang membiayai projek penyelidikan ini. Ucapan terima kasih juga kepada pihak Fakulti Sains dan Teknologi, U.K.M. yang membenarkan penggunaan alat-alat saintifik semasa menjalankan penyelidikan ini.

RUJUKAN

- Alam, N. & Sharma, A.K. 1991. *In situ* absorbance and chromosome characteristics in Commelinaceae. Dlm. Sobti, R.C. & Obe, G. (pnyt.). *Eukaryotic chromosomes – structural and functional aspects*, hlm. 47-51. N. Delhi: Narosa Publishing House.
- Ashry, H.A., Khazbak, A.E., Soliman, F.A.S. & Ibrahim, M.A. 1995. Determination of uranium and thorium content in the various stages of monazite upgrading. *Appl. Radiat. Isot.* **46**(8): 735-739.
- Braselmann, E., Schmid, E. & Bauchinger, M. 1994. Chromosome aberrations in nuclear power plant workers: the influence of dose accumulation and lymphocyte lifetime. *Mutation Res.* **306**: 197-202.
- D'Amato, F. 1997. Role of somatic mutations in the evolution of higher plants. *Caryologia* **50**(1): 1-15.

- Dyer, A.F. 1979. *Investigating chromosomes*. London: Edward Arnold (Publishers) Ltd.
- Heaton, B & Lambley, J. 1995. TENORM in the oil, gas and mineral mining industry. *Appl. Radiat. Isot.* **46**(6-7): 577-581.
- Helma, C., Sommer, R., Schulte-Herman, R & Knasmuller, S. 1994. Enhanced clastogenicity of contaminated groundwater following UV radiation detected by the *Tradescantia* micronucleus assay. *Mutation Res.* **323**: 93-98.
- Hewson, G.S. 1993. Overview of occupational radiological hazards in the amang industry of Southeast Asia. *SEATRAD Bulletin* **14**(1): 7-28.
- Hu, S.J., Kandaiya, S & Lee, T.S. 1995. Studies of radioactivity of amang effluent. *Appl. Radiat. Isot.* **46**(3): 147-148.
- IAEA (International Atomic Energy Agency). 1986. *Biological dosimetry: chromosomal aberrations analysis for dose assessment*. Vienna: IAEA.
- Ichikawa, S., Sparrow, A.H. & Thomson, K.H. 1968. Morphologically abnormal cells, somatic mutations and loss of reproductive integrity in irradiated *Tradescantia*. *Radiat. Botany* **9**: 195-211.
- Ismail, B., Mahani, M. & Sarina, H. 1996. Faktor penentu ketoksikan tanah amang yang dinilai dengan menggunakan *Setcreasea purpurea*. Kertas kerja kolokium FSFG ke 9, Lumut, Perak, 4-6 Jun.
- LPTA (Lembaga Perlesenan Tenaga Atom). 1991. *Technical Report on radiological hazards assessment at mineral processing plants in Malaysia*. Kuala Lumpur: LPTA.
- Ma, T.H 1982. *Tradescantia* cytogenetics tests (root-tips mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis). *Mutation Res.* **99**: 293-302.
- Ma, T.H., Cabrera, G.L., Chen, R., Gill, B.S., Sandhu, S.S., Vandenberg, A.L. & Salamone, M.F. 1994a. *Tradescantia* micronucleus bioassay. *Mutation Res.* **310**: 221-230.
- Ma, T.H., Cabrera, G.L., Cebulka-Wasilewska, A., Chen, R., Loarca, F., Vandenberg, A.L. & Salamone, M.F. 1994b. *Tradescantia* stamen hair mutation bioassay. *Mutation Res.* **310**: 211-220.
- Sarina, H., Mahani, M. & Ismail, B. 1998. Tanah amang dan kesannya ke atas pembentukan mikronukleus *Setcreasea purpurea* Boom. *Sains Malaysiana*.
- Simmons, J.A., Cohn, P. & Min, T. 1996. Survival and yield of chromosome aberrations in hamster and human lung cells irradiated by alpha particles. *Radiation Res.* **145**(2): 181-187.
- Wagner, R.P., Judd, B.H., Sanders, B.G. & Richardson, R.H. 1989. *Introduction to modern genetics*. N. York: Elsevier Publishing.

Zaidan, M.K. & Ismail, B. 1996. Radiation-induced cromosomal aberrations among TENORM workers: amang- and ilmenite processing workes of Malaysia. *Mutation Res.* **371**: 109-113.