

**PEMETAAN ELEKTROPORASI
PADA JARINGAN BIOLOGIS TERPAPAR DENYUT LISTRIK
(*Electroporation mapping on electric pulse exposed biological tissue*)**

Sasongko Pramono Hadi

Jurusan Teknik Elektro dan Teknologi Informasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
Fakultas Teknik UGM, Jl. Grafika No.2 Yogyakarta 55281
e-mail: sasongko@te.ugm.ac.id

Diterima: 8 September 2011

Disetujui: 28 Oktober 2011

Abstrak

Elektroporasi jaringan telah dipakai sebagai teknik untuk memudahkan masuknya molekul-molekul ke dalam sel dengan memberikan denyut listrik pada suatu luasan jaringan dalam tubuh. Kesuksesan suatu elektroporasi ditentukan oleh prosedur penerapan, *property* dan obyek paparan. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat peta elektroporasi pada jaringan biologis tertentu yang terpapar denyut listrik. Jaringan biologis dimodelkan sebagai bahan dielektrika dengan parameter konduktivitas dan permitivitas. Medium dielektrika ini adalah suatu sistem elektrostatik yang memiliki model matematis berbentuk persamaan diferensial parsial. Metode elemen hingga (*Finite Element Method*, FEM) digunakan sebagai cara untuk penyelesaian masalah. Hasilnya berupa grafik yang memperlihatkan potensial dan medan listrik. Dari simulasi numerik diperoleh hasil bahwa kerapatan medan lebih tinggi pada tempat di sekitar elektroda dan lebih rendah di tempat lainnya yang jauh dari elektroda. Melalui simulasi numeris, suatu peta elektroporasi *reversible* jaringan biologis yang terpapar denyut medan listrik dapat dibuat dan dapat digunakan sebagai petunjuk bagi praktisi untuk terapi berbasis elektroporasi dengan lebih akurat, berhasil, dan aman.

Kata kunci : jaringan biologis, denyut listrik, peta elektroporasi, sel, FEM

Abstract

Tissue electroporation is a technique that facilitates the introduction of molecules into cells by applying an electric pulse to certain areas of body. The success of electroporation is determined by procedur of application and the properties of the exposure and object. The aims of this research is to develop an electroporation map on a specific biological tissue being electric pulse exposed. The biological tissue is modeled as dielectric medium with conductivity and permittivity. This medium as a system of electrostatic, modeling of this system leads to get a mathematical model in the form of partial different equation problems. A Finite Element Method (FEM) is used as a tool to solve the problem. The simulation results are graphical presentations showing the potential dan electric field. It is also shown that the density of the field is higher in the location near electrode and smaller in remote location. A map of electroporation, based on the map of electric field exposure is then can be used as a guidance to practitioner for accurate, successfully and safe electroporation therapy.

Keywords – biological tissues, electric pulse, electroporation map, cell, FEM

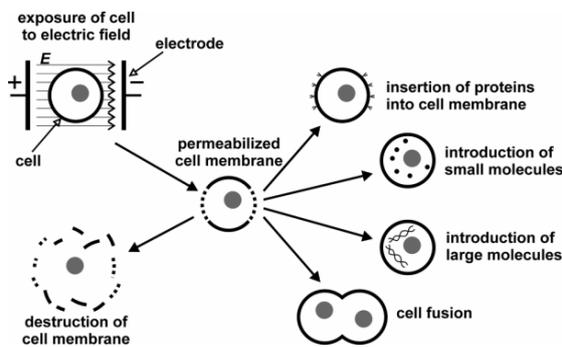
PENDAHULUAN

Salah satu pemanfaatan listrik di bidang kedokteran adalah penggunaan medan listrik untuk elektroporasi dan kemudian berkembang untuk *drug delivery*. Menurut Miklavcic (2008), elektroporasi terjadi saat energi listrik diinduksikan pada sel sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel dan dapat membentuk pori-pori membran

yang selanjutnya suatu molekul organik, gen, peptida antibodi, atau DNA dapat masuk ke dalam sel.

Elektroporasi juga bisa digunakan untuk menggabungkan beberapa sel. Pada elektroporasi *reversible*, pori-pori membran sel akan menutup kembali setelah denyut listrik untuk elektroporasi menerpa dalam kurun waktu tertentu. Energi listrik yang

dibawa melalui bentuk denyut listrik yang terlalu besar atau terlalu lama bisa mengakibatkan kerusakan sel dengan rusaknya membran sel (*irreversible electroporation*). Gambar skematis mekanisme elektroporasi sel terlihat pada gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme elektroporasi sel (Miklavčič, 2008)

Dalam perkembangannya, elektroporasi sudah dimanfaatkan untuk berbagai keperluan yang lebih luas, yaitu *Electrofusion* membran sel, *Electrotransfection*, *In vivo drug delivery*, dan *Bacterial Decontamination* (Seao, et al, 2009). Prosedur *in vivo* (dalam tubuh) merupakan hal yang menarik untuk diteliti karena merupakan prosedur yang paling beresiko, apalagi prosedur elektroporasi yang ada hingga saat ini hanya berdasarkan pengalaman praktis melalui eksperimen langsung.

Masalah yang timbul adalah bagaimana mengetahui keberhasilan elektroporasi sesuai dengan peruntukannya, termasuk meminimalkan efek samping, untuk itu perlu dukungan penelitian tentang proses elektroporasi secara rinci melalui simulasi numeris baik di jaringan maupun di sel.

Penelitian ini dilakukan secara simulasi pemaparan denyut tegangan listrik pada jaringan untuk memberi gambaran distribusi tegangan dan kuat medan listrik di jaringan dan sel sehingga dapat diketahui bagian – bagian jaringan yang sel – selnya akan terkena elektroporasi pada tingkat tertentu. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi pedoman pada prosedur elektroporasi agar

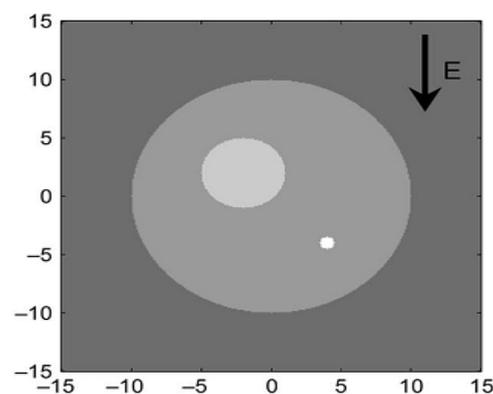
tujuan elektroporasi dapat tercapai dengan kerugian minimal.

METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu : penentuan obyek penelitian (jaringan dan sel yang akan dikenai oleh denyut tegangan listrik arus searah), pemodelan matematis, simulasi numeris (perhitungan tegangan dan medan listrik), hasil simulasi dan pembahasan, dan kesimpulan.

Bahan penelitian

Bahan penelitian adalah model jaringan dan sel di bawah pengaruh denyut tegangan listrik. Sel biologis dapat dimodelkan dengan sebuah partikel padat dengan cangkang tipis yang mewakili membran. Model dari sel biologis yang umum untuk aplikasi elektroteknik adalah model berlapis seperti gambar 2. Model tersebut memperlihatkan struktur dan properti dielektrik dari sel dan membrannya, yaitu bagian terluar disebut *Plasma Membrane* (PM) di dalamnya terdapat *Large Organelle Membran* (LOM) merepresentasikan inti sel dan yang terkecil adalah *Small Organelle Membran* (SOM) merepresentasikan mitokondria.



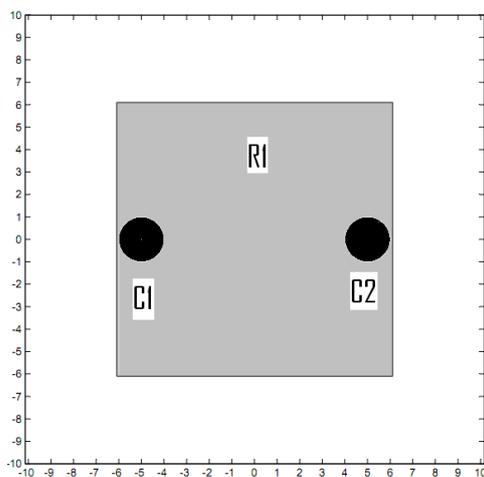
Gambar 2. Model geometri sel yang memperlihatkan PM, LOM, dan SOM (Smith, et. al., 2006)

Model jaringan di bawah paparan denyut listrik

Dalam penelitian ini penekanan bukan pada proses elektroporasi di sel, tetapi lebih ditekankan pada bagian-bagian jaringan yang

terdiri atas sel – sel terkena paparan medan listrik yang memungkinkan untuk terjadinya elektroporasi, karena pada dasarnya elektroporasi terjadi pada sel.

Model jaringan yang digunakan adalah jaringan biologis dua dimensi berbentuk bujur sangkar dengan panjang sisi 12 mm (Zupanic, 2010). Medan listrik dibangkitkan melalui 2 elektrode berbentuk bulat berdiameter 2 mm, dengan jarak antar pusat elektrode 10 mm. Elektroda sebelah kiri adalah sisi tegangan positif dan sisi kanan adalah tegangan nol seperti terlihat dalam gambar 3 yang dilambangkan C1 dan C2.



Gambar 3. Potongan jaringan R1 dan posisi elektroda, C1 dan C2

Tiga parameter kelistrikan penting dalam interaksi antara medan listrik dan bahan adalah permitivitas, konduktivitas, dan permeabilitas. Permitivitas ϵ (F/m, Farad per meter) menunjukkan banyaknya polarisasi dan penyearahan sebagian dari *dipole* listrik permanen terhadap sejumlah medan listrik. Konduktivitas σ (S/m, Siemens per meter) menunjukkan banyaknya rapat arus konduksi yang terjadi akibat sejumlah medan listrik. Penyearahan *dipole* magnetik permanen diukur dengan permeabilitas μ (H/m, Henry per meter).

Hoang, et. al., (2009) menganggap bahwa jaringan biologis sebagai bahan homogen bersifat hanya konduktif. Dalam penelitian ini jaringan biologis dianggap bersifat konduktif sekaligus kapasitif. Jaringan biologis yang dijadikan obyek

elektroporasi khususnya pada kasus *drug delivery* dan vaksin DNA umumnya adalah jaringan otot (Zupanic, et. al., 2010). Suhu dan pengaruh lingkungan luar diabaikan.

Perumusan medan listrik dapat diturunkan dari persamaan-persamaan elektromagnetik Maxwell. Mengacu pada persamaan Maxwell yaitu:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -j\omega\mathbf{B} \quad (1)$$

$$\text{dan } \nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + j\omega\epsilon\mathbf{E} \quad (2)$$

dengan \mathbf{E} adalah kuat medan listrik, \mathbf{B} adalah rapat flux magnetik, \mathbf{H} adalah kuat medan magnetik, \mathbf{J} adalah rapat arus, dan ϵ adalah permitivitas bahan. Rapat flux magnetik \mathbf{B} dapat dinyatakan sebagai:

$$\mathbf{B} = \nabla \times \mathbf{A} \quad (3)$$

dengan \mathbf{A} adalah potensial vektor magnetik. Menggunakan persamaan (3) dan (1), Hoang, et. al., (2009) menyatakan bahwa medan listrik \mathbf{E} dapat dinyatakan sebagai :

$$\mathbf{E} = -j\omega\mathbf{A} - \nabla\phi \quad (4)$$

dengan ϕ adalah potensial skalar. Dengan menggunakan divergensi persamaan (2) dan hukum ohm $\mathbf{J} = \sigma\mathbf{E}$ serta persamaan (4) didapat persamaan kontinuitas:

$$-\nabla \cdot [(\sigma + j\omega\epsilon)(j\omega\mathbf{A} + \nabla\phi)] = 0 \quad (5)$$

Dengan kondisi batas pada sistem adalah

$$[\mathbf{n} \cdot (\mathbf{J} + j\omega\epsilon\mathbf{E}) = 0] \quad (6)$$

dan \mathbf{n} adalah unit vektor normal.

Studi elektroporasi pada umumnya menganggap bahwa medan magnetik diabaikan, sehingga $\mathbf{A} = 0$, maka persamaan (5) menjadi:

$$-\nabla \cdot [(\sigma + j\omega\epsilon)(\nabla\phi)] = 0 \quad (7)$$

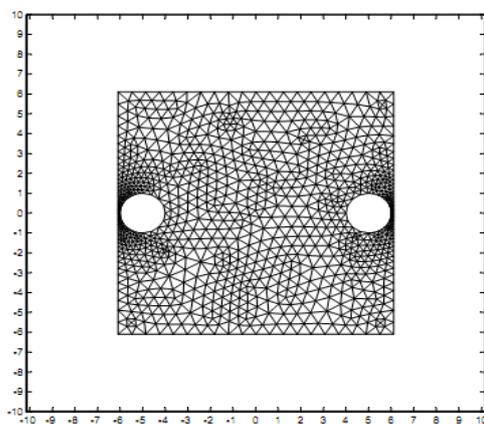
yang merupakan persamaan diferensial parsial elektrostatik yang mewakili karakteristik jaringan biologis dibawah potensial listrik.

Penelitian yang dilakukan oleh Hoang, et. al (2009) menganggap bahwa sifat kapasitif jaringan biologis kurang dominan sehingga diabaikan. Dalam penelitian ini sifat kapasitif jaringan tetap dipertahankan agar model diferensial (5) di atas lebih valid.

Salah satu metode penyelesaian persamaan diferensial parsial yang sering digunakan dan menunjukkan keunggulannya terhadap metode lain adalah metode elemen hingga atau *Finite Element Method* (FEM).

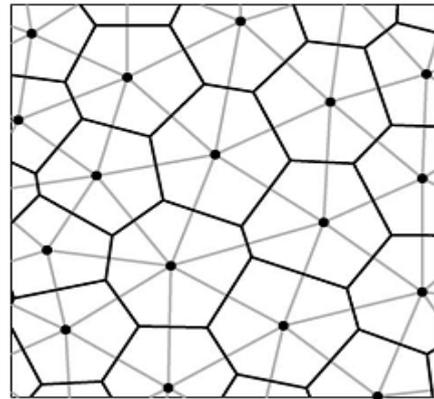
Finite Element Method (FEM)

Prinsip dasar FEM adalah membagi bahan menjadi elemen dalam jumlah besar dan berhingga (Persson, 2005). Elemen ini bisa dalam bentuk satu, dua, atau tiga dimensi. Elemen yang digunakan dalam penelitian ini adalah elemen segitiga (2 dimensi). Dalam penggunaan FEM, yang pertama dilakukan adalah pembentukan *mesh*. Dalam kasus ini *mesh* yang terbentuk dapat dilihat pada gambar 4. Gambar ini menampilkan *mesh* lebih rapat pada daerah di sekitar elektrode yang berupa lingkaran. Perhitungan pada daerah-daerah tersebut akan lebih rapat dan banyak.



Gambar 4. *Meshing* jaringan biologis.

Pada setiap titik yang membentuk segitiga dihitung besaran tegangan dan kuat medan listriknya, dengan syarat batas potensial di elektrode positif bernilai ϕ dan di elektrode negative bernilai nol. Dari elemen segitiga dapat dibentuk struktur segi enam beraturan seperti sarang lebah.



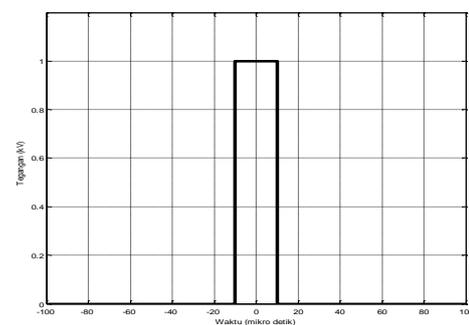
Gambar 5. Elemen *Verenoi* terbentuk dari elemen segi tiga.

Melalui bentuk sarang lebah ini, dua struktur segi enam yang disebut sebagai elemen *Verenoi* dapat dilakukan model perhitungan tegangan dan kuat medan listrik di jaringan.

SIMULASI DAN PEMBAHASAN

Pembangkit medan listrik

Denyut listrik yang digunakan elektroporasi umumnya diatas 1 kV/cm dengan durasi dalam skala nano hingga mikro detik. Sel dalam jaringan akan terpapar oleh denyut ini, dengan mempertimbangkan rentang paparan medan listrik ke sel yang berada di jaringan seluas 12 x 12 mm, dalam penelitian ini disimulasikan sumber tegangan berbentuk denyut 1, 10 dan 100 kV dan durasi 20 μ detik.

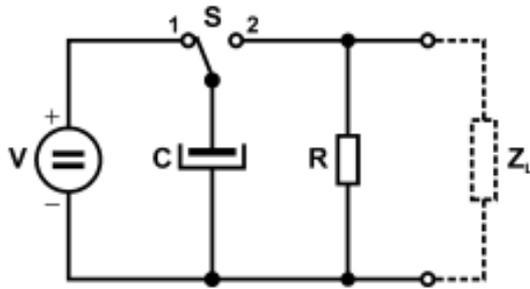


Gambar 6. Denyut tegangan listrik berbentuk gelombang kotak (1 kV, 20 μ detik)

Rangkaian listrik untuk membangkitkan denyut tegangan listrik dapat dilihat pada gambar 7, yang terdiri dari: catu daya

tegangan tinggi variable V , kapasitor C , *switch* S , dan resistor R (Puc, et. al., 2004).

Alat tersebut bekerja dalam 2 tahap yaitu yang pertama adalah tahap *charging* (*switch* pada posisi 1, dan kapasitor diisi pada tegangan tertentu) dan tahap kedua adalah *discharging* (*switch* pada posisi 2, dan kapasitor *discharges* kepada beban melalui elektroda).



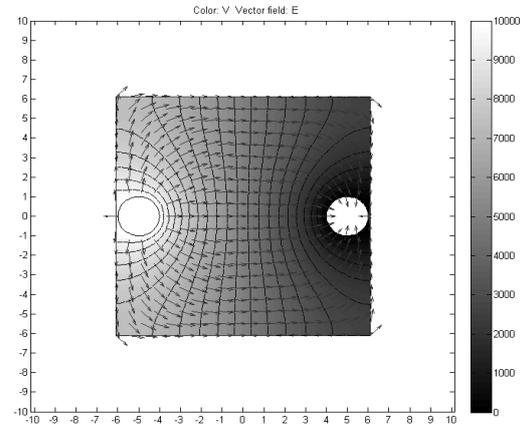
Gambar 7. Sirkuit elektroporator menggunakan prinsip *discharge* kapasitor. (Puc, et. al., 2004).

Distribusi tegangan dan medan listrik

Penerapan algoritma FEM untuk perhitungan besaran – besaran listrik di jaringan seperti pada gambar 3, memberi hasil seperti uraian berikut: Gambar 8 menunjukkan distribusi tegangan, garis ekuipotensial, dan medan listrik pada jaringan biologis. Dua buah elektroda bulat (e_1 dan e_2), yang diberi tegangan pada salah satunya sebesar 10 kV (kiri, e_1), distribusi medan listrik antara dua elektroda dinyatakan oleh arah panah, dan garis-garis kontur menyatakan tegangan listrik. Garis-garis anak panah warna hitam menunjukkan arah garis medan listrik keluar dari elektroda bagian kiri yang bertegangan 10 kV dan masuk ke elektroda kanan yang memiliki tegangan nol. Arah medan listrik ditunjukkan oleh arah panah. Garis-garis kontur menyatakan titik-titik lokasi dimana tegangan listriknya sama (ekipotensial). Gradasi warna *grayscale* digunakan untuk menunjukkan besarnya tegangan listrik disekitar permukaan elektroda terhadap referensi tegangan nol. Warna putih menunjukkan tegangan yang tinggi sedangkan hitam menunjukkan tegangan rendah.

Tampak bahwa tegangan terbesar terjadi pada bagian jaringan biologi yang memiliki jarak terdekat dengan elektroda positif. Garis

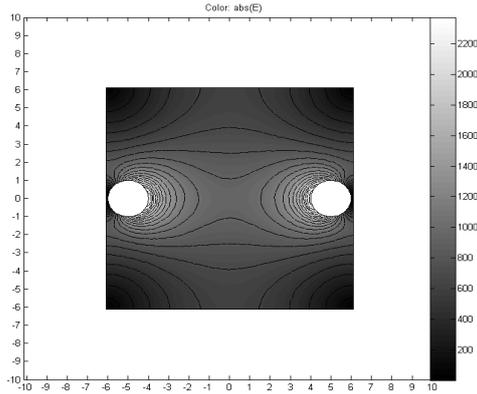
kontur (dalam eksperimen ada 20 garis) terlihat simetris karena karakteristik jaringan yang dianggap homogen.



Gambar 8. Distribusi tegangan (*grayscale*), ekuipotensial (garis kontur) dan medan listrik (tanda panah) pada jaringan biologis saat paparan

Tinjauan dilakukan untuk skala sel, elektroprasi terjadi karena beda potensial antara membrane sel dalam dan luar mencapai titik dadal *reversible* yaitu sekitar 0,2 hingga 1 V, periksa gambar 1. Kurang dari nilai tersebut belum menimbulkan pori-pori dan bila lebih dari jangkauan akan mengakibatkan lubang pori yang terlalu besar sehingga membrane sel tidak mampu menutup kembali. Oleh sebab itu, beda potensial pada membrane sel dalam jaringan tersebut sangat penting dalam elektroporasi. Grafik perhitungan tegangan pada gambar 8 dapat diubah sebagai kuat medan listrik yang menunjukkan besarnya beda potensial tiap satuan jarak, seperti pada gambar 9.

Terlihat dari gambar 9 tersebut bahwa medan listrik terbesar (sekitar 2.2 kV/mm) berada di sekitar elektroda baik elektroda sumber (kiri) maupun *sink* (kanan). Dan medan listrik terendah terletak jauh dari kedua elektroda yaitu pada ujung-ujung segiempat bahan (dibawah 0,2 kV/cm). Jaringan biologis yang berada tegak lurus di antara kedua elektroda mempunyai sebaran medan lebih tinggi daripada daerah di sekitarnya pada jarak yang sama. Hal tersebut terlihat dengan warna yang cenderung cerah.



Gambar 9. Penyebaran kuat medan listrik, medan listrik (*grayscale*) dan garis dengan kuat medan listrik sama (garis kontur)

Elektroporasi khususnya untuk *drug delivery* bersifat *reversibel* artinya bahwa membrane sel harus kembali pada posisi semula. Menurut Weaver (2003) *reversible electroporation* terjadi bila tegangan antar membrannya diantara 0,2 V dan 1 V. Lebih dari rentang bisa mengakibatkan kerusakan sel dan kurang dari rentang tersebut tidak mengakibatkan terjadi elektroporasi.

Pemetaan elektroporasi

Perhitungan kuat medan untuk elektroporasi pada suatu jaringan bisa digunakan sebagai petunjuk dalam aplikasi elektroporasi yang berhasil mencapai sasaran dan aman. Dengan asumsi bahwa diameter sel adalah 20 μm, maka kuat medan listrik minimal yang diperlukan:

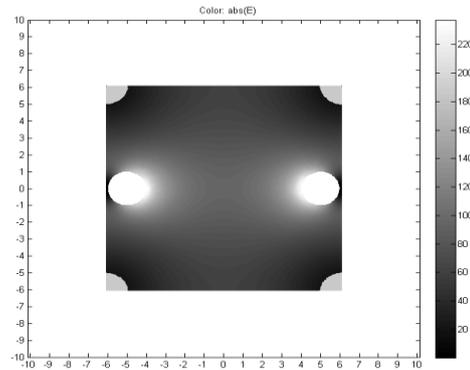
$$\frac{2 \times 0,2 \text{ V}}{20 \mu\text{m}} = 0,2 \text{ kV/cm}$$

Dan kuat medan listrik maksimal yang diperlukan:

$$\frac{2 \times 1 \text{ V}}{20 \mu\text{m}} = 1 \text{ kV/cm}$$

Pada simulasi berikut, dilakukan perhitungan dan pemetaan kuat medan listrik dengan batasan area jaringan dengan kuat medan kurang dari 0,2 kV/cm dikategorikan sebagai area yang sel-selnya tidak terelektroporasi, diantara 0,2 kV hingga 1 kV dikategorikan terelektroporasi *reversible*

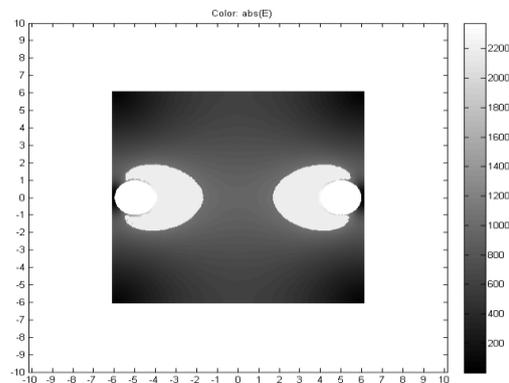
dan diatas 1 kV/cm dikategorikan sebagai terelektroporasi *irreversible*. Simulasi dilakukan dengan variasi tegangan yaitu 1, 10, dan 100 kV. Hasilnya ditunjukkan oleh gambar 10, 11, dan 12.



Gambar 10. peta elektroporasi saat tegangan elektroda 1 kV.

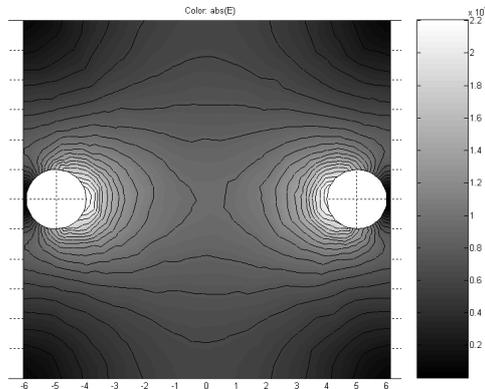
Pada gambar 10 terlihat sebagian besar yaitu sekitar 91% daerah segiempat mengalami elektroporasi, sebagian kecil sekitar 9 % tidak mengalami elektroporasi yaitu daerah-daerah yang terletak jauh dari kedua elektroda di ujung-ujung keempat sudut persegi panjang.

Pada gambar 11 yaitu simulasi dengan tegangan 10 kV terlihat sebagian besar yaitu sekitar 77% daerah segiempat mengalami elektroporasi, sebagian mengalami elektroporasi *irreversible* yaitu daerah-daerah yang terletak di dekat kedua elektroda yang terkonsentrasi pada arah tegak lurus dengan elektroda yang lain



Gambar 11. Peta elektroporasi saat tegangan elektroda 10 kV.

Pada gambar 12 yaitu simulasi dengan tegangan 100 kV terlihat semua daerah segiempat mengalami elektroporasi *irreversible*.



Gambar 12. Peta elektroporasi saat tegangan elektroda 100 kV.

Tabel 1 menunjukkan ringkasan hasil pemetaan elektroporasi dengan berbagai tegangan elektroda (1, 10, dan 100 kV).

Tabel 1. Peta area elektroporasi

kriteria area elektroporasi	Tegangan antar elektroda (kV)		
	1	10	100
Tidak terelektroporasi (% area total)	9	0	0
<i>Reversible</i> (% area total)	91	77	0
<i>Irreversible</i> (% area total)	0	23	100

Terlihat dari tabel bahwa pada jarak 10 mm tegangan 1 kV sudah mampu menghasilkan elektroporasi pada daerah target sebesar 91%. Sedangkan pada tegangan 10 kV walaupun terjadi cukup besar elektroporasi (77%) namun ada daerah di sekitar elektroda yang mengalami elektroporasi *irreversible* yang berpotensi merusak sel. Namun yang paling berpotensi merusak adalah tegangan 100 kV karena semua sel pada jaringan tersebut mengalami elektroporasi *irreversible*.

KESIMPULAN

Simulasi paparan denyut listrik pada jaringan biologis dapat menghasilkan gambaran tegangan dan medan listrik di jaringan. Berbasis pada sifat fisis sel di jaringan terpapar medan listrik, persentase elektroporasi di jaringan dapat ditentukan dan tingkat elektroporasi dapat dipetakan. Jaringan seluas 100 mm², terpapar denyut tegangan 1 kV, 20 μ s melalui elektroda berdiameter 2 mm dan berjarak 10 mm, cukup aman dan tidak *irreversible* untuk elektroporasi (91% *reversible*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Sdr Warindi, dosen Jurusan T. Elektro UNRAM, mahasiswa S3 Jurusan T. Elektro dan Teknologi Informasi UGM atas bantuannya dalam simulasi numeris dan penyusunan naskah.

DAFTAR PUSTAKA

- Hoang, L.H., Scoretti, R., Burais, N., and Voyer, D. 2009. Numerical dosimetry of Induced phenomena in the human body by a three-phase power line, *IEEE Trans. Magnetics*; 45, 3.
- Miklavčič, D. 2008. Electroporation based Technologies and Treatments. *Lecture notes*, University of Ljubljana Slovenia.
- Persson, P.O., 2005. Mesh Generation for Implicit Geometries, *Ph.D. thesis* Massachusetts Institute of Technology.
- Puc, M., Čorović, S., Flisar, K., Petkovšek, M., Nastran, J., Miklavčič, D. 2004. Techniques of signal generation required for electroporabilization: Survey of electroporabilization devices, *Bioelectrochemistry* 64, 113–124.
- Seoa, S.H., Jinb, H.T., Parka, S.H., Youna, Sung, J.Y. 2009. Therapeutic antitumor effect by antigen engineering and electroporation, *Vaccine*; 27, p 5906–5912.
- Smith, K.L., Gowrishankar, T.R., Esser, A.T., Stewart, D.A., and Weaver, J.C. 2006. The Spatially Distributed Dynamic Transmembrane Voltage of Cells and Organelles due to 10-ns

- Pulses: Meshed Transport Networks, *IEEE Trans. Plasma Science*; 34, 4.
- Weaver, JC. 2003. Electroporation of biological membranes from multicellular to nano scales, *IEEE Trans. Dielectric & Insulation*, 10, 5, 756-768.
- Zupanic, A., Corovic, S., Miklavcic, D., and Pavlin, M. 2010. Numerical optimization of gene electrotransfer into muscle tissue, *Biomed. Eng. Online*; <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/9/1/66>.