

Profil Kit-Kering Radiofarmaka Siprofloksasin Wadah Tunggal

Profile of Radiopharmaceutical Single Vial Dried-Kit of Ciprofloxacin

Nurlaila Z., Maula Eka S. dan Eva Maria W.

Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri, BATAN
Jl. Tamansari No. 71 Bandung - 40132, Telp. 022-2503997
e-mail : lelaz@batan.go.id.

Diterima 01 Maret 2011; Disetujui 12 Mei 2011

ABSTRAK

Profil Kit-Kering Radiofarmaka Siprofloksasin Wadah Tunggal. Teknesium-99m siprofloksasin (^{99m}Tc -siprofloksasin) merupakan radiofarmaka yang digunakan dalam bidang kedokteran nuklir untuk diagnosis infeksi dengan metode pencitraan. Radiofarmaka ini tersedia dalam bentuk kit-kering yang dikemas dalam 1 vial dan penyiapannya dilakukan dengan menambahkan radionuklida ^{99m}Tc ke dalam kit-kering tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil kit-kering radiofarmaka siprofloksasin wadah tunggal. Telah dilakukan pembuatan kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal dengan metode liofilisasi. Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan menggunakan 2 macam sistem kromatografi, yaitu kromatografi kertas Whatman I/metil etil keton dan *instant* KLT-silika gel dengan fase gerak campuran etanol - air - amonia (2:5:1). Penentuan stabilitas ^{99m}Tc -siprofloksasin, stabilitas dalam plasma secara *in-vitro* dan stabilitas kit-kering siprofloksasin dilakukan dengan melihat kemurnian radiokimianya. Selain itu dilakukan juga pengujian pengaruh besarnya volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ terhadap kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin serta sterilitas kit-kering. Dari hasil proses liofilisasi diperoleh kit-kering siprofloksasin wadah tunggal yang steril dan vakum. Hasil percobaan menunjukkan bahwa ^{99m}Tc -siprofloksasin mempunyai kemurnian radiokimia $92,07 \pm 1,39\%$ yang stabil selama 30 menit baik pada suhu kamar ($26 \pm 1^\circ\text{C}$) maupun pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Uji stabilitas ^{99m}Tc -siprofloksasin dalam plasma *in-vitro* menunjukkan bahwa kemurnian radiokimia lebih besar dari 90% bertahan hingga 5 jam penyimpanan dimana penggunaan larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ dengan volume lebih besar dari 1,6 mL memberikan kemurnian radiokimia lebih kecil dari 90 %. Uji stabilitas kit-kering siprofloksasin terhadap waktu penyimpanan menunjukkan bahwa setelah disimpan selama 7 minggu pada suhu 4°C , kit tersebut masih stabil dengan tingkat kemurnian radiokimia di atas 90 %.

Kata kunci : radiofarmaka, ^{99m}Tc , siprofloksasin, kit-kering wadah tunggal

ABSTRACT

Profile of Radiopharmaceutical Single Vial Dried-Kit of Ciprofloxacin. Technetium-99m (^{99m}Tc -ciprofloxacin) is used in nuclear medicine to diagnose infection by imaging method. This radiopharmaceutical is available in the dried-kit which is packed in single vial and the preparation of ^{99m}Tc -ciprofloxacin was performed by adding ^{99m}Tc radionuclide into the dried-kit. The aim of this research was to know the profile of single vial dried-kit radiopharmaceutical of ciprofloxacin. The preparation of the dried-kit using lyophilized method has been carried out. The radiochemical purity of ^{99m}Tc -ciprofloxacin was determined by double chromatography system using Whatman I/methyl ethyl ketone and ITLC-SG with ethanol - water - ammonia (2:5:1) as a mobile phase. The stability test on ^{99m}Tc -ciprofloxacin, *in-vitro* stability in plasma and the stability of ciprofloxacin dried-kit were performed by determining their radiochemical purity. Studies on the effect of volume on $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ solution to the ^{99m}Tc -ciprofloxacin radiochemical purity, and sterility test of the dried-kit had also been carried out. The lyophilized process has resulted the single vial dried-

kit radiopharmaceuticals which were steril and vacuum. The result showed that ^{99m}Tc -ciprofloxacin contained $92.07 \pm 1.39\%$ of radiochemical purity, in which was stable for 30 minutes either at room temperature ($26 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$) or at $4 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ of storage. *In-vitro* stability test of ^{99m}Tc -ciprofloxacin in plasma indicated that more than 90 % of the radiochemical purity still stable until 5 hours of storage. Utilization of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ volume more than 1.6 mL on the labelling of ciprofloxacin dried-kit gave less than 90 % of radiochemical purity. Studies on the stability of ciprofloxacin dried-kit showed that the kit remained stable with the radiochemical purity more than 90 % after 17 weeks stored at $4 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$.

Key words : radiopharmaceutical, ^{99m}Tc , ciprofloxacin, single vial dried-kit.

PENDAHULUAN

Siprofloksasin merupakan obat khemoterapi turunan fluoroquinolon dengan nama kimia 1-siklopropil-6-fluor-1,4-dihidro-4-okso-7-(piperazil)-3-kuinolin asam karboksilat [1], mempunyai daya bakterisida terhadap bakteri gram positif dan gram negatif dengan cara mengikat enzim *DNA-gyrase* yang diperlukan DNA untuk berubah dari bentuk spiral ganda menjadi bentuk spiral tunggal pada saat pembelahan sel [1, 2]. Beberapa bakteri gram positif maupun gram negatif tersebut, antara lain *Staphylococcus*, *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Mycobacterium*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Actinomyces*, *Aeromonas*, *Paseurella*, *Brucella alcaligenes*, *Eubacterium*, *Shigella*, dan *Clostridium* [3]. Bakteri tersebut dapat menyerang dan menyebabkan infeksi berbagai bagian tubuh, seperti kulit, tulang, kelenjar getah bening, saluran *urogenital*, saluran *hepatobilier* dan lain-lain. Beberapa metode diagnosis dengan metode pencitraan menggunakan berbagai peralatan, di antaranya *computed tomography* (*CT-Scan*), *ultrasonography* atau cara lain, kadang-kadang tidak spesifik untuk lokasi infeksi yang terjadi pada bagian tubuh yang sangat dalam (*deep-sited infection*), misalnya di dalam persendian dan tulang [3, 4].

Bidang kedokteran nuklir berupaya untuk dapat berperan dalam mendiagnosis penyakit infeksi ini secara lebih akurat. Untuk maksud ini, metode teknik nuklir menggunakan radiofarmaka merupakan metode alternatif yang dapat diterapkan. Radiofarmaka yang digunakan harus

spesifik, sehingga apabila disuntikkan ke dalam tubuh manusia, radiofarmaka tersebut akan terakumulasi di tempat terjadinya infeksi yang dapat dideteksi dengan metode pencitraan yaitu alat kamera gamma.

Berbagai radiofarmaka telah dikenal untuk diagnosis infeksi dan inflamasi, antara lain ^{99m}Tc -HMPAO-leukosit [5], ^{99m}Tc -leukosit [6], ^{123}I -interleukin [7], ^{99m}Tc -neutrofil elastase inhibitor [8], dan peptida bertanda ^{99m}Tc atau ^{111}In [9]. Walaupun pencitraan menggunakan radiofarmaka tersebut cukup spesifik untuk mendeteksi dan melokalisasi inflamasi akan tetapi tidak dapat membedakan antara inflamasi yang disebabkan oleh infeksi bakteri dan non infeksi bakteri [10] karena mekanisme penimbunan radiofarmaka tersebut pada daerah infeksi sebagian besar didasarkan pada terjadinya reaksi kimia atau fisika dari radiofarmaka dengan sel darah putih yang banyak terdapat pada daerah inflamasi atau infeksi tersebut.

Dalam perkembangan terakhir, diagnosis infeksi dengan metode pencitraan menggunakan radiofarmaka dilakukan dengan antibiotika bertanda radioaktif [9, 10]. Beberapa antibiotika, antara lain siprofloksasin [2, 11], etambutol [12], lomefloksasin dan ofloksasin [13] telah berhasil ditandai dengan radionuklida teknesium-99m (^{99m}Tc).

Formulasi radiofarmaka siprofloksasin bertanda ^{99m}Tc juga telah berhasil dikembangkan di BATAN, Bandung [14-16] dan diharapkan radiofarmaka ini dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi

terutama untuk infeksi yang lokasinya jauh di dalam tubuh manusia dan tidak terjangkau dengan metode konvensional. Siprofloksasin dengan radionuklida ^{99m}Tc akan bereaksi membentuk senyawa kompleks ^{99m}Tc -siprofloksasin yang berbentuk kompleks khelat dengan ^{99m}Tc sebagai inti logamnya [14]. Oleh karena radionuklida ^{99m}Tc memiliki umur paro yang pendek (6,08 jam), maka dalam penggunaannya radiofarmaka bertanda radionuklida tersebut diformulasi dalam bentuk yang dikenal dengan sebutan kit-radiofarmaka, yaitu sediaan yang dikemas dalam suatu formula dalam bentuk padatan kering atau cairan yang steril, bebas pirogen dan akan siap dipakai bila telah ditambahkan penanda radioaktif ke dalamnya [17].

Dalam penelitian sebelumnya telah dilakukan pengembangan formulasi radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal [16]. Pada kegiatan penelitian tersebut digunakan reduktor Sn(II) klorida dan asam tartrat yang berfungsi sebagai ko-ligan. Radiofarmaka siprofloksasin ini tersedia dalam bentuk kit-cair, dan beberapa karakteristik penyimpanan radiofarmaka siprofloksasin telah diteliti dan hasilnya menunjukkan bahwa stabilitas kit-cair yang disimpan dalam keadaan beku ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) dapat bertahan selama 2 minggu [18]. Untuk memperpanjang stabilitas kit radiofarmaka, teknologi formulasi bentuk kit-kering dengan metode liofilisasi (beku-kering) dapat diterapkan pada radiofarmaka siprofloksasin bertanda ^{99m}Tc dalam wadah tunggal.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian kemurnian radiokimia setelah kit-kering tersebut ditandai dengan radionuklida ^{99m}Tc untuk membuktikan bahwa proses liofilisasi tidak berpengaruh pada kualitas dan stabilitas radiofarmaka siprofloksasin. Stabilitas sediaan ^{99m}Tc -siprofloksasin yang disimpan pada suhu kamar ($26 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan pada suhu $4 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (dalam lemari pendingin) serta stabilitas dalam plasma juga menjadi suatu parameter yang diamati. Selain itu, dilakukan pula pengujian pengaruh volume radionuklida

^{99m}Tc terhadap kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin, pemeriksaan sterilitas serta stabilitas kit-kering yang disimpan pada suhu $4 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (dalam lemari pendingin).

Penelitian ini bertujuan mempelajari profil serta stabilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal, yang merupakan informasi penting bagi pengguna, sehingga dapat membantu kelancaran pemakaiannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah radionuklida ^{99m}Tc dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ yang diperoleh dari generator ^{99}Mo - ^{99m}Tc buatan PT. BATAN Teknologi, Serpong, siprofloksasin HCl buatan Sanbe, larutan NaCl fisiologis steril dan akuabides steril produksi IPHA *Laboratories*. Bahan lainnya adalah asam tartrat, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, metil etil keton, etanol, asam klorida, natrium hidroksida dan pereaksi lain buatan E Merck dengan tingkat kemurnian pereaksi analisis.

Bahan penunjang yang digunakan adalah media agar nutrien padat dan media cair tioglikolat, kertas Whatman I, ITLC-SG, alat suntik *disposable* steril (Terumo) berbagai ukuran (1; 2,5; 5; 10 mL) dan penyangar bakteri steril ($0,22\text{ }\mu\text{m}$).

Peralatan yang dipakai antara lain alat pengocok *vortex*, inkubator (Memmert), pengering beku-vakum (*freeze-dryer*) (Labconco), *dose calibrator* (Schlumberger), pencacah saluran tunggal (Ortec), timbangan analitis (Mettler), vial gelas 12 mL lengkap dengan tutup karet kaki tiga dan *seal* aluminium buatan Labconco, pH-meter, seperangkat alat kromatografi menaik dan *laminar air flow*.

Pembuatan kit-kering radiofarmaka siprofloksasin

Kit radiofarmaka siprofloksasin diformulasi dalam satu vial, tiap vial mengandung 2 mg siprofloksasin HCl, $50\text{ }\mu\text{g}$ $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan $0,6\text{ }\mu\text{g}$ asam tartrat. Larutan

disiapkan untuk pembuatan 55 vial kit siprofloksasin dan penimbangan bahan masing-masing dilebihkan 10% karena sterilisasi larutan dilakukan dengan metode penyaringan.

Gelas piala 100 mL yang berisi 121 mg siprofloksasin HCl ditambahkan 55 mL NaCl fisiologis (0,9%), campuran diaduk secara magnetik sampai homogen (larutan A). Dalam vial 12 mL, sebanyak 8,25 mg SnCl₂·2H₂O dilarutkan dalam 15 mL HCL 0,01N (larutan B). Selanjutnya, dalam vial yang terpisah, sebanyak 8,25 mg asam tartrat dilarutkan dalam 5 mL akuabides, kemudian 40 µL larutan dimasukkan dalam vial lain dan diencerkan hingga 10 mL dengan akuabides (larutan C, 0,02 mM).

Ke dalam larutan A ditambahkan berturut-turut 5,5 mL larutan B dan 5,5 mL larutan C sambil terus diaduk dan pH diatur = 3 dengan penambahan larutan NaOH 0,1N. Larutan disaring dengan penyaring bakteri (0,22 µm) ke dalam vial 100 mL steril, kemudian dibagikan masing-masing sebanyak 1,2 mL ke dalam vial 10 mL steril. Selanjutnya dikeringkan dengan cara liofilisasi dengan alat *freeze dryer* selama 48 jam. Bentuk dan warna dari hasil yang diperoleh diamati secara visual, kondisi vakum vial diuji secara *manual* dengan menusukkan alat suntik yang berisi larutan pada tutup karet dan larutan harus tertarik ke dalam vial.

Penyiapan radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin

Larutan Na^{99m}TcO₄ (1,5 mL, ≈ 5 mCi) ditambahkan ke dalam kit-kering

siprofloksasin, dicampur hingga homogen dengan pengocokan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Kemurnian radiokimia dan pengotor radiokimia ^{99m}Tc-siprofloksasin selanjutnya ditentukan dengan metode kromatografi [16].

Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc-siprofloksasin

Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc-siprofloksasin dilakukan dengan 2 macam metode kromatografi [16]. Metode pertama menggunakan kromatografi kertas menaik dengan fase diam kertas Whatman I dan fase gerak metil etil keton (MEK), untuk memisahkan pengotor radiokimia ^{99m}Tc-perteknetat bebas (^{99m}TcO₄⁻) dengan Rf = 1,0. Metode kedua menggunakan kromatografi lapis tipis *instant* menaik dengan fase diam ITLC-SG dan fase gerak campuran etanol - air - amonia (2:5:1), untuk memisahkan pengotor radiokimia ^{99m}Tc-tereduksi (^{99m}TcO₂) bebas dengan Rf = 0,0. Masing-masing fase diam dengan ukuran 1 x 10 cm, setiap 1 cm ditandai dengan pensil dan diberi nomor dari -1 sampai 8. Larutan ^{99m}Tc-siprofloksasin ditotolkan pada titik nol, kemudian dielusui dengan masing-masing fase gerak sampai skala 8. Kromatogram dikeringkan, dipotong setiap 1 cm, kemudian radioaktivitas dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal, menggunakan detektor NaI(Tl). Persentase pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}TcO₄⁻, ^{99m}TcO₂ dan kemurnian radiokimia ^{99m}Tc-siprofloksasin dihitung dengan persamaan (1), (2) dan (3).

$$\text{Pengotor } ^{99m}\text{TcO}_4^- (\%) = \frac{\text{Jumlah cacahan pada Rf } ^{99m}\text{TcO}_4^- - \text{cacahan Latar Belakang (LB)}}{\text{Jumlah cacahan pada kromatogram} - \text{cacahan Latar Belakang (LB)}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Pengotor } ^{99m}\text{TcO}_2 (\%) = \frac{\text{Jumlah cacahan pada Rf } ^{99m}\text{TcO}_2 - \text{cacahan Latar Belakang (LB)}}{\text{Jumlah cacahan pada kromatogram} - \text{cacahan Latar Belakang (LB)}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{Kemurnian radiokimia } ^{99m}\text{Tc-siprofloksasin} (\%) = 100\% - [(^{99m}\text{TcO}_4^- + ^{99m}\text{TcO}_2) \%] \quad (3)$$

Pengujian sterilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin

Pengujian sterilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dilakukan sesuai prosedur yang tercantum di dalam Farmakope Indonesia [19] menggunakan dua macam media, yaitu agar nutrisi padat dan media cair tioglikolat. Kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dilarutkan ke dalam 1 mL larutan NaCl fisiologis (0,9%) steril, kemudian, larutan tersebut dioleskan pada permukaan masing-masing media secara aseptis dengan menggunakan jarum ose di bawah *laminar air flow*. Selanjutnya media perbenihan diinkubasi dalam inkubator pada temperatur 37 °C dan pertumbuhan bakteri atau kapang dipantau selama 7 – 10 hari.

Pengaruh volume larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ terhadap kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin

Ke dalam 10 vial kit-kering radiofarmaka siprofloksasin masing-masing ditambahkan 5 mCi larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ dengan volume yang bervariasi (1,0; 1,25; 1,5; 1,6; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5; 2,75 dan 3,0 mL). Campuran dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada temperatur kamar selama 15 menit. Kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin ditentukan dengan metode kromatografi [16].

Pengujian stabilitas radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin selama penyimpanan

Larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (1,5 mL, \approx 5 mCi) ditambahkan ke dalam kit-kering siprofloksasin, dan campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Selanjutnya kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin ditentukan dengan metode kromatografi. Larutan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin tersebut dibagi dalam 2 buah vial dan divakumkan secara manual, satu vial disimpan pada temperatur kamar dan vial yang lain disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C. Secara periodik (15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 dan 135 menit) kemudian, kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dari masing-masing vial

tersebut diuji dengan metode kromatografi [16].

Pengujian stabilitas radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dalam plasma darah

Sebanyak 250 μL radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin yang telah diketahui radioaktivitas dan kemurnian radiokimianya dimasukkan ke dalam vial yang berisi 750 μL plasma manusia (*human plasma*). Vial divakumkan secara manual, kemudian diaduk dengan pengaduk vortex dan diinkubasi dalam inkubator pada 37 °C. Pada waktu-waktu tertentu (30 menit, 1, 2, 3, 4 dan 5 jam) kemurnian radiokimia $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin diuji dengan metode kromatografi [16].

Plasma diganti dengan dapar fosfat 0,01N pH = 7,4 sebagai blanko karena dapar ini sangat stabil dan tidak berintervensi dalam reaksi biologis [20].

Penentuan stabilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin

Stabilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin ditentukan berdasarkan kemurnian radiokimianya setiap minggu, yaitu setelah peracikan kit-kering tersebut dengan radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

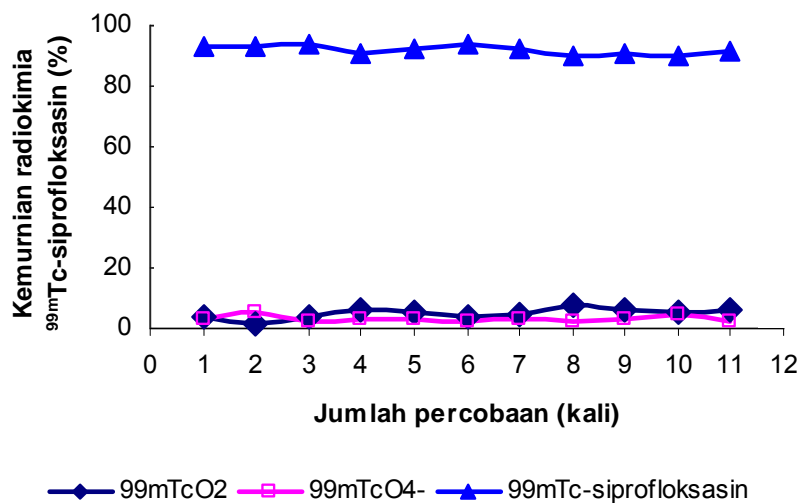
Salah satu kelebihan radiofarmaka bertanda $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dalam bentuk kit-kering adalah merupakan produk *instant* yang dapat meningkatkan kemudahan dan kenyamanan para penggunanya, dimana radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$ yang diperoleh dari generator ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dapat langsung ditambahkan ke dalam kit-kering tersebut dan radiofarmaka sudah siap untuk digunakan.

Kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal dibuat berdasarkan formula yang diperoleh dari penelitian pengembangan formulasi radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal [16]. Dalam pembuatan kit-kering ini, seluruh tahap pengerjaan dilakukan secara aseptik di bawah *laminar air flow* (klas 100).

Pengamatan secara visual terhadap beberapa vial kit-kering yang diambil secara random terlihat berupa padatan berwarna putih yang menyerupai kapas, dan kondisi vial dalam keadaan vakum, terbukti bila *syringe* (alat suntik) yang berisi larutan ditusukkan pada penutup karet vial, maka larutan tersebut akan tertarik ke dalam vial.

Suatu radiofarmaka yang akan digunakan untuk tujuan diagnosis harus terakumulasi pada organ atau lokasi yang akan didiagnosis dengan retensi waktu yang optimal sehingga dapat dilakukan proses pencitraan dengan alat kamera gamma. Salah satu persyaratan utama yang harus ditentukan setelah kit-kering siprofloksasin ditandai dengan radionuklida ^{99m}Tc adalah kemurnian radiokimianya, dimana harus tetap memenuhi persyaratan sebagai

telah ditetapkan, sehingga akumulasi pada organ lain yang tidak diinginkan dapat diperkecil. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin menggunakan metode kromatografi yang dilakukan terhadap 11 vial kit kering radiofarmaka siprofloksasin adalah sebesar $92,07 \pm 1,39 \%$ dengan pengotor radiokimia yang rendah dalam bentuk perteknetat bebas ($^{99m}\text{TcO}_4$) dan ^{99m}Tc -tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) masing-masing sebesar $3,79 \pm 1,74 \%$ dan $4,45 \pm 2,04 \%$ (Gambar 1). Kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin ini telah memenuhi persyaratan sebagai radiofarmaka yang baik. Radiofarmaka dengan hasil klinis yang baik pada umumnya mempunyai kemurnian radiokimia $\geq 90\%$ [2, 15].



Gambar 1. Kemurnian radiokimia hasil penandaan kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dengan radionuklida ^{99m}Tc ($^{99m}\text{Tc} = 1,5 \text{ mL} \approx 2\text{mCi}$; inkubasi 15 menit, temperatur kamar)

radiofarmaka yang dapat diaplikasikan secara klinis. Pengujian kemurnian radiokimia ini merupakan hal yang mutlak harus dilakukan untuk menjamin bahwa radiofarmaka tersebut berada dalam bentuk senyawa kimia yang diinginkan dengan jumlah yang memenuhi persyaratan yang

Persyaratan lain yang mutlak dipenuhi oleh kit-kering radiofarmaka siprofloksasin ini adalah steril karena radiofarmaka ini merupakan sediaan yang digunakan secara parenteral (penyuntikan). Apabila terdapat mikroorganisme (bakteri, kapang/jamur) di dalam sediaan tersebut dapat menyebabkan

infeksi pada pasien. Pengujian sterilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin menggunakan media agar nutrisi padat dan media cair tioglikolat, dengan tiga kali pengulangan menunjukkan bahwa setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37 °C (inkubator), pada semua media tidak terjadi pertumbuhan, baik bakteri aerob, anaerob maupun kapang, yang menunjukkan bahwa kit-kering radiofarmaka siprofloksasin tersebut dalam keadaan steril.

Penyediaan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin menggunakan kit-kering dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah tertentu larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ yang diperoleh dari generator ^{99}Mo - ^{99m}Tc . Dalam penyediaan ini, kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin sepenuhnya bergantung pada nilai pH. Dalam penelitian terdahulu [16], pH optimal dengan kemurnian radiokimia maksimal diperoleh pada rentang pH yang pendek, yaitu antara 2,95 – 3,20.

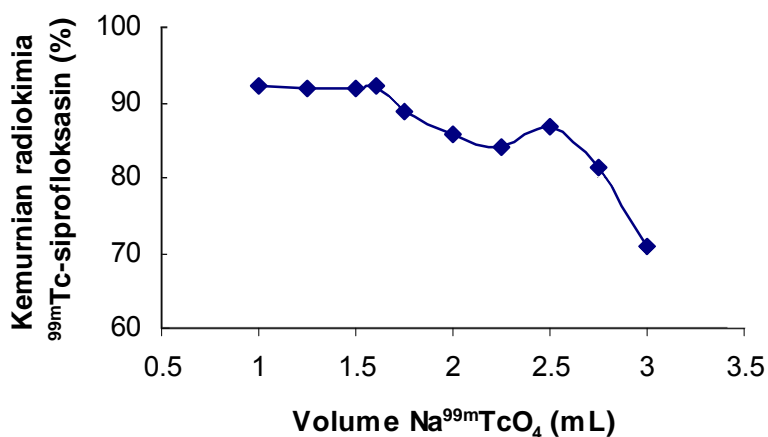
Dalam penelitian ini dilakukan variasi penambahan volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ mengingat larutan tersebut mempunyai pH = 5,5 yang dapat mempengaruhi pH penandaan kit-kering radiofarmaka siprofloksasin. Pengujian variasi volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ terhadap kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin disajikan pada Gambar 2. Hasil percobaan dari tiga kali ulangan menunjukkan bahwa volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ antara 1 hingga 1,6 mL memberikan kemurnian radiokimia lebih besar dari 90 %, sehingga dapat memenuhi persyaratan sebagai radiofarmaka yang baik untuk diagnosis [21]. Hal ini menunjukkan pula bahwa volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ sampai dengan 1,6 mL tidak menyebabkan terjadinya perubahan pH yang berarti yang dapat mempengaruhi kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin dimana pH sediaan = 3,0. Volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ antara 1,75 hingga 3,0 mL dapat menurunkan kemurnian radiokimia, yaitu antara 88 % hingga 80 %. Dari hasil percobaan ini terlihat bahwa volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ lebih dari 1,6 mL telah menyebabkan terjadinya pergeseran pH optimal penandaan kit-kering siprofloksasin dengan

radionuklida ^{99m}Tc sekaligus dapat menurunkan kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin, dengan rentang pH = 3,5 – 4,5. Rentang pH yang optimal pada penelitian ini berbeda dengan rentang pH yang diperoleh oleh KLEISNER [22], yaitu 3,3 – 3,7 dimana di dalam penelitian digunakan larutan injeksi ciprinol yang berisi siprofloksasin, dan sebagai reduktor digunakan SnCl_2 dan redoks polimer imino asam diasetat (RP-IDA). Percobaan dengan volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ lebih kecil dari 1 mL tidak dilakukan karena volume tersebut tidak cukup untuk melarutkan kit-kering, hal ini ditandai dengan pembentukan larutan yang keruh.

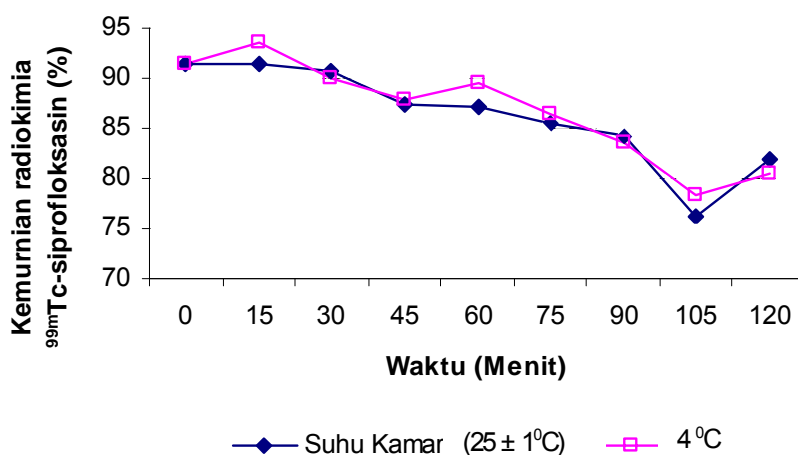
Pengujian stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin yang diperoleh dari penandaan kit-kering siprofloksasin dengan radionuklida ^{99m}Tc dilakukan dengan melihat kemurnian radiokimianya. Data stabilitas radiofarmaka ini perlu diinformasikan kepada pengguna/rumah sakit sehingga dapat diketahui lama penyimpanan sediaan ini apabila akan digunakan untuk pasien berikutnya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sediaan yang disimpan baik pada suhu kamar maupun pada suhu 4 °C tidak memberikan perbedaan yang bermakna karena sampai penyimpanan selama 30 menit masih memberikan kemurnian radiokimia ≥ 90 %, yaitu masing-masing sebesar $90,70 \pm 1,48$ % dan $90,01 \pm 0,37$ %. Pengujian pada waktu penyimpanan 45 hingga 120 menit memberikan kemurnian radiokimia yang lebih rendah dari 90 % (Gambar 3). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa radiofarmaka tersebut labil pada penyimpanan dimana terjadi penguraian dengan melepaskan ^{99m}Tc -tereduksi yang ditunjukkan dengan tingginya persentase radiokimia $^{99m}\text{TcO}_2$ seiring dengan bertambahnya waktu dengan nilai lebih besar dari 5% (7 – 9%). Untuk mengurangi kecepatan penguraian, sediaan disimpan pada suhu 4 °C karena pada suhu yang lebih rendah, laju reaksi akan lebih rendah pula [23]. Akan tetapi, hal ini tidak berpengaruh terhadap stabilitas ^{99m}Tc -siprofloksasin

dimana perbedaan penyimpanan menunjukkan profil yang hampir sama. Pada penelitian terdahulu menggunakan kit-kering siprofloksasin yang dikemas dalam 2 wadah diperoleh stabilitas yang lebih lama,

radiofarmaka tersebut dapat digunakan paling lama 30 menit setelah waktu inkubasi dengan teknesium-99m dan dapat disimpan pada suhu kamar ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) atau suhu $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.



Gambar 2. Pengaruh volume larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ pada penandaan kit-kering radiofarmaka siprofloksasin.



Gambar 3. Stabilitas $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin yang diperoleh dari penandaan kit-kering siprofloksasin dengan radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4 = 2 \text{ mCi}/1,5 \text{ mL}$, inkubasi 15 menit pada suhu kamar $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$).

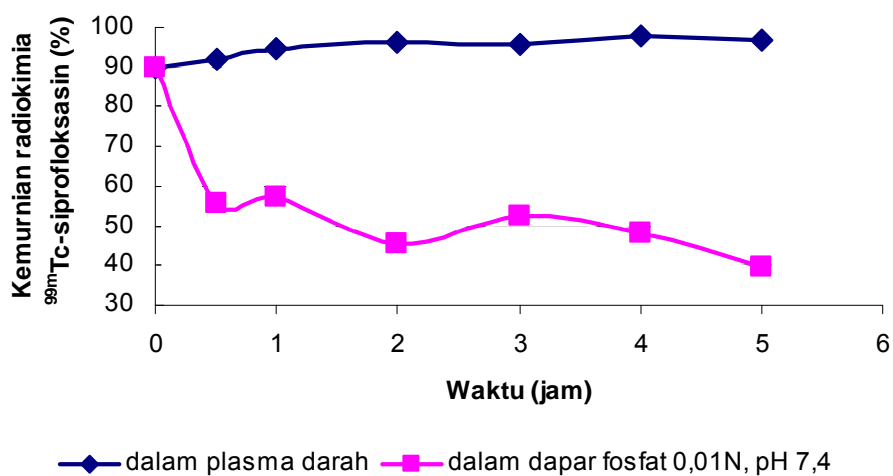
yaitu selama 2 jam [15]. Dari pengujian ini dapat diinformasikan bahwa bila sediaan ini akan digunakan lebih satu pasien pada waktu yang tidak bersamaan, maka

Radiofarmaka untuk tujuan diagnosis dengan metode pencitraan, umumnya diberikan secara *intra vena* sehingga keberadaan dan stabilitas dalam plasma

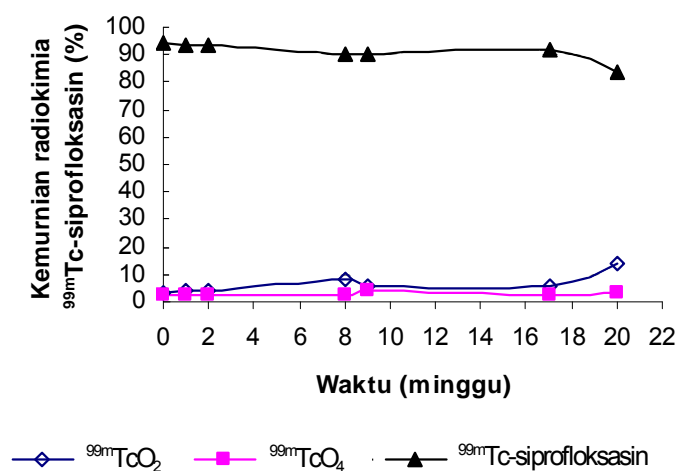
darah atau cairan biologis perlu diketahui. Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dalam plasma secara *in-vitro* disajikan pada Gambar 4. Hasil percobaan menunjukkan bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dalam plasma tetap stabil hingga 5 jam dengan kemurnian radiokimia $96,54 \pm 1,17\%$. Apabila plasma darah diganti dengan dapar fosfat 0,01N; pH = 7,4 maka kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin

menurun secara drastis dimana pada 30 menit pertama menjadi $55,50 \pm 1,92\%$, dan selanjutnya kemurnian radiokimia menjadi $39,57 \pm 4,30\%$ setelah 5 jam penyimpanan.

Waktu kadaluwarsa kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal, dapat diketahui melalui pengujian stabilitas kit-kering tersebut terhadap masa simpan. Pengujian dilakukan dengan melihat kemurnian radiokimianya setelah



Gambar 4. Stabilitas ^{99m}Tc -siprofloksasin dalam plasma darah dan dapar fosfat 0,01N; pH = 7,4 secara *in-vitro*.



Gambar 5. Stabilitas kit-kering radiofarmaka siprofloksasin yang disimpan pada suhu $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4 = 5 \text{ mCi}/1,5 \text{ mL}$; inkubasi 15 menit pada suhu kamar).

kit-kering tersebut ditandai dengan radionuklida ^{99m}Tc dan selama periode pengujian, kit kering siprofloksasin disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 4 ± 1 °C. Hasil pengujian ditampilkan pada Gambar 5. Dari hasil pengujian terlihat bahwa setelah disimpan selama 17 minggu ($\pm 4\frac{1}{4}$ bulan), kit-kering yang ditandai dengan radionuklida ^{99m}Tc masih mempunyai kemurnian radiokimia sebesar 91,76%, dan harga tersebut masih memenuhi persyaratan kemurnian radiokimia suatu radiofarmaka, yaitu 90-100% [21, 24]. Hasil ini menunjukkan bahwa penyimpanan radiofarmaka siprofloksasin dalam bentuk kering dapat memperpanjang waktu kadaluarsa dibandingkan dengan kit dalam bentuk cair yang disimpan dalam keadaan beku (0 °C) yang hanya dapat bertahan selama 2 minggu [18]. Akan tetapi, bila dibandingkan dengan kit siprofloksasin dengan formula KLEISNER [22] yang stabil selama 8 bulan, waktu kadaluarsa kit-kering siprofloksasin wadah tunggal ini relatif lebih singkat.

Tabel 1. Karakteristik dan profil kit kering radiofarmaka siprofloksasin wadah tunggal

No.	Uraian	Hasil
1	Sterilitas	Steril
2	Kondisi vial	Vakum
3	Bentuk sediaan	Padat menyerupai kapas
4	Warna	Putih
5	Kemurnian radiokimia	$92,07 \pm 1,39\%$
6	Volume $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ untuk penandaan	1,0 - 1,6 mL
7	Stabilitas sediaan ^{99m}Tc -siprofloksasin	30 menit
8	Stabilitas kit-kering disimpan pada suhu 4 ± 1 °C	17 minggu

Berbagai karakteristik dan profil kit-kering radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal disajikan pada Tabel 1 dan perangkat kit-kering radiofarmaka siprofloksasin disajikan pada Gambar 6. Setiap perangkat kit-kering berisi 5 buah vial

kit-kering radiofarmaka siprofloksasin steril dan vakum disertai etiket dan brosur yang mencantumkan cara penyiapan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin.



Gambar 6. Perangkat kit-kering radiofarmaka siprofloksasin wadah tunggal.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kit-kering siprofloksasin wadah tunggal dalam keadaan steril, vakum dan ^{99m}Tc -siprofloksasin yang disiapkan dari kit-kering ini memenuhi persyaratan sebagai radiofarmaka dengan kemurnian radiokimia $92,07 \pm 1,39\%$.

Volume larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ yang dapat digunakan untuk penandaan kit-kering siprofloksasin wadah tunggal yaitu 1 - 1,6 mL dengan kemurnian radiokimia $\geq 90\%$ dan sediaan ^{99m}Tc -siprofloksasin stabil selama 30 menit baik disimpan pada suhu kamar (25 ± 1 °C) maupun pada suhu 4 ± 1 °C.

Kit-kering radiofarmaka siprofloksasin wadah tunggal yang disimpan pada suhu 4 ± 1 °C stabil selama 17 minggu dengan kemurnian radiokimia sebesar 91,76%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdri. Rumini Iljas dan Sdri. Yetti Suryati yang dengan penuh dedikasi telah

membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Sdri. Rukruk Rukayah yang telah banyak membantu dalam penyiapan plasma darah manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. BHARDWAJ, N., BHATNAGAR, A., and SINGH, A.K., Development and evaluation of a single vial cold kit for infection imaging : Tc-99m ciprofloxacin, *World J. Nucl. Med.*, **4**, 244-251 (2005).
2. BRITTON, K.E., WAREHAM, D.W., DAS, S.S., SOLANKI, K.K., AMARAT, H., and BHATNAGAR, A., Imaging bacterial infection with ^{99m}Tc-ciprofloxacin (Infecton), *J. Clin. Pathol.*, **55**, 817-823 (2002).
3. DASS, S.S., HALL, A.V., WAREHAM, D.W., and BRITTON, K.E., Infection imaging with radiopharmaceuticals in the 21th century, *Brazillian Archives of Biology*, **45**, 223-228 (2002).
4. LARIKKA, M.J., AHONEN, A.K., NIEMELA, O., PURONTO, O., JUNILA, J.A., HAMALAINEN, M.M., BRITTON, K.E., and SYRJALA, H.P., ^{99m}Tc-Cyprofloxacin (Infecton) imaging in diagnosis of knee prosthesis infections, *Nucl. Med. Comm.*, **23**, 167-170 (2002).
5. DEVILLERS, A., MOISAN, A., JEAN, S., ARVIEUX, C., and BOURGUET, P., Technetium-99m hexamethylpropylene amine oxime leukocyte scintigraphy for the diagnosis of bone and joint infections : a retrospective study in 116 patients, *Eur. J. Nucl. Med.*, **22**, 302-307 (1995).
6. LARIKKA, M.J., AHONEN, A.K., JUNILA, J.A., NIEMELA, O., HAMALAINEN, M.M., and SYRJALA, H.P., Extended combined ^{99m}Tc-white blood cell and bone imaging improves the diagnostic accuracy in the detection of hip replacement infections, *Eur. J. Nucl. Med.*, **28**, 288-293 (2001).
7. SIGNORE, A., CHIANELLI, M., ANNOVAZZI, A., BONANNO, E., SPAGNOLI, L.G., and POZZILLI, P., ¹²³I-interleukin-2 scintigraphy for *in-vivo* assessment of intestinal mononuclear cell infiltration in crohn's disease, *J. Nucl. Med.*, **41**, 242-249 (2000).
8. RUSCKOWSKI, M., QU, T., PULLMAN, J., MARCEL, R., LEY, A.C., and HNATOWICH, D.J., Inflammation and infection with a ^{99m}Tc-neutrophil elastase inhibitor in monkeys, *J. Nucl. Med.*, **41**, 363-374 (2000).
9. QU, T., WANG, Y., ZHU, Z., RUSCKOWSKI, M., and HNATOWICH, D.J., Different chelators and different peptide together influence the *in vitro* and mouse *in vivo* properties of ^{99m}Tc, *Nucl. Med. Comm.*, **22**, 203-215 (2001).
10. WINTER, F.D., VAN DE WIELLE, C., and DUMONT, F., Biodistribution and dosimetry of ^{99m}Tc-ciprofloxacin a promising agent for the bacterial infection, *Eur. J. Nucl. Med.*, **28**, 570-574 (2001).
11. DASS, S.S., and BRITTON, K.E., Bacterial infection imaging, *World J. Nucl. Med.*, **2**(3), 173-179 (2003).
12. NANNY KARTINI, O., KUSTIWA, dan EPY, I., Pengembangan Senyawa Bertanda ^{99m}Tc-etambutol Untuk Diagnosis Tuberkulosis : 1. Penandaan Etambutol dengan Radionuklida Teknesium-99m,

- Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknik Nuklir, Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN, Bandung, 137-145 (2005).
13. MOTALEB, M.A., Preparation and biodistribution of ^{99m}Tc -lomefloxacin and ^{99m}Tc -ofloxacin complexes, *J. Radioanal. Nucl Chem.*, **272**(1), 95-99 (2007).
14. HASAN BASRY, T., NURLAILA, Z., dan RUKMINI, I., Formulasi Radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin Untuk Diagnosis Infeksi, Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknik Nuklir, Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN, Bandung, 38-45 (2005).
15. NURLAILA, Z., BASUKI, H., dan RUKMINI, I., Pengembangan dan aplikasi klinis kit-kering radiofarmaka siprofloksasin, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir*, **X**(1), 11-23 (2009).
16. NURLAILA, Z., MAULA EKA, S., dan EVA MARIA, W., Pengembangan formulasi radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal. (Dalam proses publikasi)
17. MALLOL, J., and ZOLLE, I., Preparation of Technetium ^{99m}Tc -Pharmaceutical, In : *Technetium-99m Pharmaceuticals*, (I. Zolle, Ed.), Springer Berlin Heidelberg, 95-98 (2007).
18. MAULA, E.S., dan NURLAILA, Z., Karakteristik Penyimpanan Kit-Cair Radiofarmaka Siprofloksasin Dalam Wadah Tunggal, Prosiding Seminar Nasional SDM Teknologi Nuklir, Sekolah Tinggi Teknologi Nuklir-BATAN, Yogyakarta, 661-668 (2009).
19. DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA, *Farmakope Indonesia IV*, DepKes RI, Jakarta, 859 (1995).
20. BLANCHARD, J.S., Buffer for Enzymes, In : *Method in Enzymology*, Vol. 104, Academic Press, London, 404-415 (1984).
21. OWUNWANNE, A., PATEL, M., and SADEK, S., "The Handbook of Radiopharmaceuticals" (1st Ed.), Chapman & Hall Medical, London, 9-12 (1995).
22. KLEISNER, I., KOMAREK, P., KOMARKOVA, I., and KONOPKOVA, M., A new technique of ^{99m}Tc -ciprofloxacin kit preparation, *Nuklearmedizin*, **41**, 224-229 (2002).
23. WIKIPEDIA, Reaksi kimia, (2009, September). [On line]. Available : http://id.wikipedia.org/wiki/Reaksi_kimia, diakses tanggal 11 Agustus 2009.
24. BRITTON, K.E., SOLANKI, K.K., WAREHAM, D.W., and DAS, S.S., *Analysis of infecton imaging for patiens in the UK*, IAEA Coordinated Research Programme, London, (1999).