

KARAKTERISTIK DAN UJI KLINIS RADIOFARMAKA $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ UNTUK SIDIK FUNGSI GINJAL

Nanny Kartini, Kustiwa, Rd.Sukendar, Epy I.

ABSTRAK

KARAKTERISTIK DAN UJI KLINIS RADIOFARMAKA $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ UNTUK SIDIK FUNGSI GINJAL Telah diperoleh formula yang ideal bagi radiofarmaka L,L-EC yang terdiri dari 1 mg ligan L,L-EC (etil disistein), 36 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 15 mg manitol dan 0,2 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Kit-kering radiofarmaka tersebut dikemas dalam 2 buah vial. Hasil percobaan menunjukkan bahwa radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ mempunyai karakteristik sebagai berikut : kemurnian radiokimia > 95%, sangat hidrofilik dengan $1/P = 3797$ ($\log 1/P = 3,6$), bermuatan negatif (anion), ikatan dengan protein plasma sebesar $63,3 \pm 3,4$ % dan tidak toksik. Dengan menggunakan ^{99m}Tc -pertechnetat sebesar 50 mCi, dan volume akhir 5 mL, radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ yang dihasilkan masih tetap stabil setelah disimpan selama 5 jam pada temperatur kamar. Dalam bentuk kit-kering, radiofarmaka ini masih tetap baik dan stabil sampai dengan 6 bulan penyimpanan pada 4 °C. Hasil uji klinis yang dilakukan terhadap volunteer dengan ginjal normal dan tidak normal, membuktikan bahwa radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dapat digunakan untuk studi fungsi ginjal sebagai pengganti ^{131}I -orto iodo hipurat (^{131}I -hipuran).

Kata kunci : radiofarmaka, etil disistein (EC) , fungsi ginjal, teknesium.

ABSTRACT

CHARACTERISTICS AND CLINICAL STUDY OF $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ RADIO-PHARMACEUTICAL FOR RENAL FUNCTION IMAGING. The ideal formula of L,L-EC radiopharmaceutical has been obtained, which was consist of 1 mg of L,L-EC (L,L-ethyl di cystein) ligand, 36 mg of $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 15 mg of manitol and 0,2 mg of $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. The dried kit of this radiopharmaceutical was desained in two vials. The results shows that $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ radiopharmaceutical has the characteristics as follows : radiochemical purity more than 95 %, most hydrophilic with $1/P = 3797$ ($\log 1/P = 3.6$), in the negative ion form (anion), plasma protein binding was 63.3 ± 3.4 % and it was non-toxic. The results shows that using 50 mCi of ^{99m}Tc -pertechnetate with the final volume of 5 mL, after 5 hours storage at room temperature $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ was still stable. In the dried kit form, it was remained stable 6 mounths of storage at 4 °C. The results of clinical study to the volunteer having normal and abnormal renal show that this radiopharmaceutical can be used for renal function study as the replacement of ^{131}I -ortho iodo hippuric acid (OIH).

Key words : radiopharmaceuticals, ethyl dicystein (EC), renal function, technetium.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan teknik nuklir menggunakan sediaan radiofarmasi merupakan cara diagnosis yang cukup peka dan akurat. Pencitraan ginjal dengan radionuklida merupakan cara yang ideal dan *non invasive* untuk mengevaluasi fungsi ginjal. Dengan pemilihan radiofarmaka yang tepat dapat diperoleh informasi yang cepat dari beberapa parameter sebagai indikasi dari fungsi ginjal, antara lain kecepatan filtrasi glomerulus, aliran plasma di ginjal, dan aliran plasma di tubulus ginjal [1,2].

Pada saat ini, instalasi kedokteran nuklir di rumah sakit melakukan studi fungsi ginjal dengan menggunakan radiofarmaka ^{131}I -hipuran. Radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$ bila dibandingkan dengan radionuklida ^{131}I jauh lebih unggul, karena mempunyai waktu paruh yang pendek (hanya 6 jam) dan pemancar gamma murni dengan energi yang ideal untuk pencitraan yaitu 140 keV. Oleh karena itu, radiofarmaka bertanda teknesium-99m untuk mengganti kedudukan ^{131}I -hipuran sangat dibutuhkan. Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-etil disistein (EC) merupakan satu sediaan yang dapat digunakan untuk tujuan tersebut.

Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC telah berhasil disintesis dan diformulasi di P3TKN [3,4]. Secara umum, radiofarmaka yang akan digunakan bagi kebutuhan manusia harus mempunyai karakteristik yang ideal. Demikian juga halnya dengan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC, harus mempunyai karakteristik yang ideal untuk diagnosis ginjal yaitu mempunyai kemurnian radiokimia yang tinggi (>90%), bersifat hidrofilik, ionik, mempunyai ikatan dengan protein plasma yang optimal sesuai dengan tujuan diagnosis, dan stabil selama penyimpanan baik dalam bentuk sediaan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC maupun dalam bentuk kit-keringnya. Kestabilan ini sangat dipengaruhi oleh komposisi dari formula kit-kering itu sendiri [2,5]. Untuk mengetahui karakteristik dari radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC, maka dalam penelitian ini dilakukan penentuan kehidrofilan, muatan listrik dan besarnya ikatan dengan protein plasma. Selain itu ditentukan juga kestabilannya baik berupa sediaan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC, maupun dalam bentuk kit-keringnya yang disimpan pada temperatur 4 °C.

Pada akhirnya untuk mengetahui kelayakan radiofarmaka ini sebagai sediaan sidik tubulus ginjal, dilakukan uji klinis terhadap volunter, sehingga dapat diketahui bahwa sediaan ini merupakan suatu sediaan yang ideal sebagai pengganti ^{131}I -hipuran.

TATA KERJA

Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan adalah ligan L,L-etil di sistein, buatan P3TkN dengan metode seperti dikemukakan oleh Kartini [3]. Dinatrium hidrogen fosfat dihidrat, stanous diklorida dihidrat, asam tartrat, natrium klorida, ammonium klorida, manitol, NaOH, HCl, aseton dan asetonitril yang semuanya buatan E.Merck. Larutan NaCl fisiologis, air untuk injeksi buatan IPHA, ITLC-SG (1 x 10 cm) buatan Gelman, kertas kromatografi Whatman 31ET (1x 10 cm) dan kertas lakmus *universal*.

Peralatan yang digunakan adalah timbangan analitis (Sauter), alat pencacah saluran tunggal (Slumberger), alat liofilisasi (Labconco-5), seperangkat alat kromatografi kertas dan alat kamera gamma yang dilengkapi dengan komputer (di RSUP Hasan Sadikin Bandung).

Pemilihan bahan pengisi yang ideal untuk kit-kering radiofarmaka L,L-EC

Formula kit kering L,L-EC yang ideal telah diperoleh yaitu mengandung 1 mg L,L-EC, 36 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 15 mg manitol dan 0,2 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Kit kering tersebut dikemas dalam 2 buah vial, yaitu vial A berisi reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan vial B berisi ligan L,L-EC, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan manitol, [4].

Untuk memperbaiki penampilan dan mempertinggi kestabilan dari kit-kering ini, terutama pada vial A yang berisi reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ditambahkan bahan pengisi yang berbeda, yaitu masing-masing asam tartrat, natrium klorida dan ammonium klorida sebanyak 5 mg. Selain itu dibandingkan pula dengan sediaan yang tidak ditambahi bahan lain, hanya sebagian manitol yaitu masing-masing sebanyak 5 dan 10 mg dari vial B di pindahkan ke dalam vial A.

Masing-masing sediaan tadi dikeringkan dengan alat liofilisasi, kemudian dilakukan proses penandaan dengan radionuklida teknesium-99m seperti berikut:

Ke dalam masing-masing vial A dan B ditambahkan air untuk injeksi sebanyak 0,5 mL, kemudian dikocok perlahan-lahan sampai larut sempurna. Seluruh sediaan dari vial A dipindahkan ke dalam vial B dan diaduk sempurna. Selanjutnya ke dalam sediaan ini ditambahkan larutan ^{99m}Tc -perteknetat sebanyak 1 – 5 mCi/ 0,5-1 mL, setelah tercampur sempurna, sediaan dibiarkan pada temperatur kamar selama 10 – 20 menit, sambil sekali-kali dikocok. Sediaan ini siap untuk digunakan pada percobaan selanjutnya.

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kemurnian radiokimia dengan cara kromatografi kertas, menggunakan kertas Whatman 31 ET ukuran 1 x 10 cm sebagai fase diam, dan asetonitril 50% sebagai fase gerak.

Dengan sistem ini dapat diketahui besarnya pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi yang akan terpisah dari senyawa lainnya karena akan tinggal pada titik awal kromatografi ($R_f = 0$). Kemudian dengan kromatografi sistem kedua yaitu dengan menggunakan fase diam ITLC-SG ukuran 1 x 10 cm, dan aseton sebagai fase gerak, dapat diketahui besarnya pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}Tc -perteknetat bebas yang bermigrasi ke titik akhir ($R_f = 1$). Sedangkan senyawa ^{99m}Tc -L,L-EC dan senyawa ^{99m}Tc -tereduksi akan tetap tinggal pada titik awal ($R_f = 0$). Dengan menggabungkan kedua hasil kromatografi ini, dapat diketahui besarnya kemurnian radiokimia dari radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC, dan ini menunjukkan pula besarnya efisiensi penandaan kit kering tersebut dengan radionuklida ^{99m}Tc .

Besarnya efisiensi penandaan dari kelima macam kit-kering yang mengandung berbagai bahan pengisi tersebut dibandingkan.

Penentuan muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC

Muatan listrik dari sediaan ini ditentukan dengan cara elektroforesis kertas. Kertas yang digunakan adalah Whatman 1 dengan ukuran 1 x 20 cm, sedangkan pelarutnya adalah larutan dapar fosfat 0,05 N pH 7,0. Radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC ditotolkan di atas kertas yang telah disiapkan pada alat elektroforesis, tepat di tengah-tengah (pada titik 0). Kemudian sistem elektroforesis mulai dialiri arus listrik searah dengan tegangan antara dua elektroda sebesar 350 V selama satu jam. Setelah itu kertas dikeringkan dan tiap cm dari kertas tersebut dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal, sehingga diketahui ke arah mana radiofarmaka itu bergerak di dalam medan listrik sesuai dengan muatan listriknya.

Penentuan kehidrofilan radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC

Kehidrofilan ditentukan dengan cara mencampurkan radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC dengan dua macam pelarut yang berbeda sifatnya, yaitu *polar* dan *non-polar*. Sebanyak 50 – 100 μL sediaan dicampur dengan 1,45 – 1,40 mL larutan NaCl fisiologis pH 7, dan 1,5 mL oktanol. Setelah dikocok dengan pengaduk vortex selama lima menit, campuran disentrifuga pada 3000 rpm selama 10 menit dan masing-masing fase dipisahkan. Kemudian sebanyak 100 μL dari tiap fase dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal. Selanjutnya sejumlah tertentu fase oktanol dimasukkan ke dalam tabung lain dan ditambah sejumlah yang sama larutan NaCl fisiologis pH 7 dan campuran dikocok, disentrifuga dan dicacah seperti pada tahap pertama. Percobaan ini diulang beberapa kali, hingga diperoleh koefisien partisi yang konstan.

Koefisien partisi dari sediaan di dalam pelarut air dan oktanol (A/O) menunjukkan besarnya kelarutan sediaan dalam air (pelarut *polar*), dinyatakan sebagai kehidrofilan (1/P) dan dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kehidrofilan (1/P)} = \frac{\text{Cacahan dalam fase air}}{\text{Cacahan dalam fase oktanol}}$$

Penentuan besarnya ikatan dengan protein plasma

Di dalam tabung sentrifuga, sebanyak 50 μL sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dicampur dengan 500 μL plasma darah manusia, kemudian dikocok dengan pengaduk vortex sampai tercampur sempurna. Campuran diinkubasi pada 37 °C selama 10 menit, kemudian ke dalam campuran tersebut ditambahkan satu mL larutan TCA 5 %, dikocok, dan disentrifuga pada 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain, sedangkan endapan dicuci dengan campuran satu mL NaCl fisiologis dan satu mL larutan TCA 5 %. Setelah disentrifuga seperti di atas, supernatan dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang lain. Perlakuan pencucian ini diulang satu kali lagi, dan besarnya radioaktivitas endapan dan ketiga supernatan diukur dengan alat pencacah saluran tunggal. Besarnya ikatan sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dengan protein plasma manusia dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Persentase ikatan dengan protein plasma} = \frac{\text{C En.}}{\text{C En} + \text{C} (S_1 + S_2 + S_3)} \times 100 \%$$

Dimana : C En = besarnya cacahan endapan
C (S₁ + S₂ + S₃) = jumlah cacahan supernatan.

Penentuan toksisitas radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$

Penentuan toksisitas dilakukan terhadap sekelompok mencit putih galur Swiss yang terdiri dari 5 ekor dengan berat rata-rata 20 g, tanpa membedakan jenis kelaminnya. Sebanyak 50-100 μL sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ yang telah diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis sehingga diperoleh dosis sebesar 700 kali dosis manusia dewasa, disuntikkan pada masing-masing mencit secara intra vena melalui vena ekor. Kelompok mencit tersebut kemudian dipelihara seperti biasa dan setiap waktu diamati apabila terjadi gejala-gejala keracunan. Pengamatan dilakukan selama 7 hari. Pengulangan percobaan dilakukan sebanyak 3 kali, menggunakan kelompok mencit yang berbeda.

Penentuan sterilitas kit kering L,L-EC.

Sterilitas kit kering L,L-EC (vial A dan B) ditentukan dengan menggunakan media tioglikolat cair untuk pertumbuhan bakteri *aerob* dan media tioglikolat padat untuk bakteri *anaerob*. Uji kapang (fungi) dilakukan dengan menggunakan media miring *soybean casein digest*.

Ke dalam masing-masing vial kit kering L,L-EC ditambah 1 mL air steril untuk injeksi, kemudian dikocok hingga larut sempurna. Sebanyak 150 μ L dari masing-masing vial diambil secara aseptis, kemudian ditanamkan ke dalam masing-masing media perbenihan. Media tioglikolat padat dan cair disimpan dalam inkubator pada suhu 30-35 °C, sedangkan media miring *soybean casein digest* disimpan pada suhu kamar. Pertumbuhan mikroba dari masing-masing perbenihan diamati selama 7 hari.

Pengaruh volume akhir sediaan dan besarnya radioaktivitas Tc-99m terhadap efisiensi penandaan radiofarmaka ^{99m}Tc-L,L-EC.

Ke dalam empat buah kit-kering L,L-EC ditambahkan larutan ^{99m}Tc-perteknetat masing-masing sebesar 2 mCi dengan volume yang berbeda, sehingga diperoleh volume akhir sediaan sebanyak 1, 2, 3 dan 4 mL. Kemudian kemurnian radiokimia dari masing-masing sediaan ditentukan dengan kromatografi seperti pada percobaan sebelumnya dan besar persentase yang diperoleh menunjukkan juga besarnya efisiensi penandaan. Percobaan ini diulangi sebanyak tiga kali pengulangan.

Sebanyak 5, 10, 20, 40 dan 50 mCi larutan ^{99m}Tc-perteknetat berturut-turut digunakan untuk menandai lima buah sediaan kit-kering L,L-EC yang berbeda. Setelah penandaan berjalan sempurna masing-masing sediaan ^{99m}Tc-L,L-EC ditentukan kemurnian radiokimianya. Volume akhir dari tiap sediaan dibuat sama, yaitu 5 mL. Sediaan yang mempunyai aktivitas paling tinggi yaitu 50 mCi, kemudian disimpan pada temperatur kamar untuk mengetahui kestabilannya. Lama penyimpanan mulai dari 1, 2, 3, 4 dan 5 jam, dan pada masing-masing waktu tersebut kemurnian radiokimianya ditentukan. Percobaan ini diulang tiga kali.

Penentuan stabilitas kit kering L,L-EC.

Kit-kering L,L-EC disimpan pada temperatur 4 °C, dan tiap bulan diamati perubahan fisik seperti bentuk, warna dan bau juga kemurnian radiokimianya setelah ditandai dengan ^{99m}Tc.

Uji klinis terhadap volunteer/pasien.

Dengan menggunakan dua buah batch kit-kering radiofarmaka L,L-EC yang berbeda, dilakukan uji klinis dari sediaan ini terhadap volunteer/pasien. Penandaan sediaan dilakukan di Instalasi Kedokteran Nuklir RSUP Hasan Sadikin, menggunakan larutan ^{99m}Tc -perteknetat hasil ekstraksi di P3TkN dan hasil generator $^{99}\text{Mo-}^{99m}\text{Tc}$ (P.T. BATEK). Kemudian radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ ini disuntikkan secara *intra vena* kepada dua orang pasien yang berbeda. Yang pertama adalah pasien dengan keluhan sakit pinggang dan diduga ada infeksi pada ginjalnya, sedangkan yang lain pasien dengan keluhan sakit batu ginjal yang cukup parah. Pencitraan dilakukan segera setelah penyuntikkan dengan menggunakan alat kamera gamma.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk memudahkan para pemakainya di rumah sakit, radiofarmaka bertanda teknesium-99m selalu didesain dalam bentuk kit-kering. Dalam memformulasi kit-kering ini, selain efisiensi penandaannya harus tinggi, sehingga kemurnian radiokimianya memenuhi persyaratan yang ditetapkan, juga penampilan kit kering tersebut harus baik dan menarik. Untuk memenuhi kriteria ini maka harus dipilih suatu bahan pengisi bagi radiofarmaka tersebut yang *inert*, tidak beracun, juga tidak menurunkan efisiensi penandaan. Berbagai zat dapat digunakan sebagai bahan pengisi, dan pemilihannya selalu dilandasi oleh berbagai macam pertimbangan seperti disebutkan di atas.

Seperti telah dijelaskan pada tata kerja, bahwa jumlah dari reduktor $\text{Sn}^{(II)}\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sangat sedikit yaitu hanya 0,2 mg, dan apabila tidak ditambah bahan lain sebagai pengisi, maka vial yang berisi zat ini setelah dikeringkan, akan kelihatan kosong dan tidak menarik. Oleh karena itu harus ditambahkan bahan pengisi sehingga kit kering tersebut mempunyai penampilan yang lebih menarik.

Dalam penelitian ini dicoba tiga macam bahan pengisi, yaitu asam tartrat, natrium klorida dan amonium klorida yang dimasukkan ke dalam vial yang berisi reduktor $\text{Sn}^{(II)}\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Asam tartrat dipilih karena zat ini merupakan suatu asam organik yang mempunyai gugus OH dan COOH, sehingga diharapkan selain sebagai bahan pengisi, zat ini dapat menjadi stabilisator bagi ion $\text{Sn}^{(II)}$ yang akan membentuk ikatan kompleks dengan gugus-gugus tersebut dan memberikan suasana asam pada sediaan, sehingga reduktor $\text{Sn}^{(II)}$ menjadi lebih stabil. Natrium klorida dan NH_4Cl dipilih karena keduanya merupakan zat yang tidak asing bagi tubuh/darah manusia sehingga diharapkan selain sebagai bahan pengisi, zat tersebut tidak memberikan efek yang merugikan bagi tubuh manusia.

Sedangkan manitol adalah senyawa yang secara farmakologis membantu ekskresi radiofarmaka ini dari tubuh manusia, sehingga ditambahkan pada saat memformulasi radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ tersebut.

Dalam menentukan bahan pengisi mana yang terbaik dan dapat digunakan, harus dilihat efisiensi penandaan dari masing-masing kit-kering yang dibuat memakai keempat bahan pengisi tersebut setelah ditambahi larutan $^{99m}\text{Tc-perteknetat}$. Selain itu bentuk dan warna dari sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ yang terjadi diamati, dan hasilnya dibandingkan seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bentuk sediaan dan efisiensi penandaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dengan berbagai bahan pengisi.

No.	Bahan Pengisi dalam vial A	Jumlah (mg/vial)	Efisiensi penandaan (%)	Bentuk & warna $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$
1.	Asam tartrat	5	$80,7 \pm 18,6$	Jernih, kadang ungu
2.	NaCl	5	$96,7 \pm 2,0$	Jernih, ungu muda
3.	NH_4Cl	5	$87,1 \pm 14,0$	Jernih
4.	Manitol	5	$90,5 \pm 6,6$	Jernih
5.	Manitol	10	$95,8 \pm 5,0$	Jernih

Asam tartrat sebanyak 5 mg, tidak dapat digunakan sebagai bahan pengisi pada radiofarmaka ini, karena selain warna sediaan kadang-kadang berwarna ungu, juga setelah penandaan dengan Tc-99m menghasilkan sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dengan kemurnian radiokimia yang sangat rendah dan bervariasi antara 62 – 98 %. Penandaan yang cukup tinggi dihasilkan dari kit-kering yang menggunakan NaCl sebagai bahan pengisi, tetapi sediaan yang terjadi pada saat dilarutkan selalu berwarna agak ungu. Sedangkan bahan pengisi NH_4Cl walaupun sediaan jernih, tetapi juga tidak dapat digunakan, karena radiofarmaka yang terjadi mempunyai kemurnian radiokimia yang bervariasi dengan rentang yang sangat besar yaitu 73 – 100 %. Ini menunjukkan bahwa kedapat ulangannya (*reproducibility*) sangat rendah. Bahan pengisi yang terbaik adalah manitol sebanyak 10 mg yang diambil dari vial B .

$^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ merupakan radiofarmaka yang digunakan untuk mengetahui fungsi ginjal. Radiofarmaka ini harus mempunyai karakteristik yang ideal untuk tujuan tersebut, yaitu bersifat ionik, hidrofil, mempunyai ikatan yang optimal dengan protein plasma dan tidak toksik.

Dari hasil karakterisasi radiofarmaka ini seperti yang dicantumkan pada Tabel 2, menunjukkan bahwa radiofarmaka tersebut sangat baik dan memenuhi syarat untuk radiofarmaka penyidik fungsi ginjal.

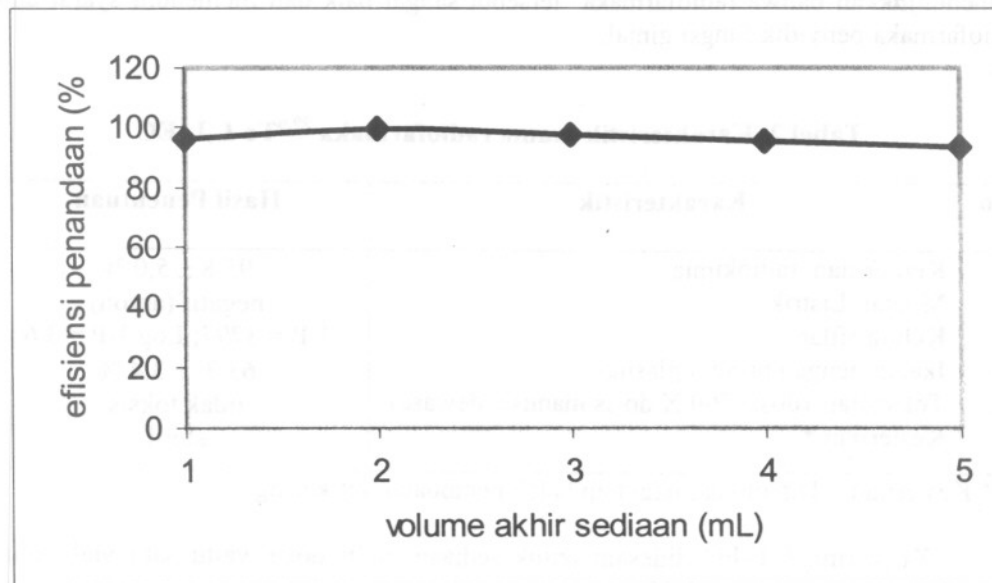
Tabel 2. Karakteristik utama radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$

No	Karakteristik	Hasil Penentuan
1.	Kemurnian radiokimia	$95,8 \pm 5,0 \%$
2.	Muatan Listrik	negatif (anion)
3.	Kehidrofilan	$1/P = 3797$; $\text{Log.}1/P = 3,6$
4.	Ikatan dengan protein plasma	$63,3 \pm 3,4 \%$
5.	Toksistas (dosis 700 X dosis manusia dewasa)	tidak toksis
6.	Kesterilan *	steril

* Kesterilan : Ditentukan bagi tiap batch pembuatan kit-kering.

Kit-kering L,L-EC didesain untuk sediaan multi dosis yaitu satu vial sediaan dapat dipergunakan bagi 5-10 orang pasien. Karena itu besarnya radioaktivitas dan volume akhir dari sediaan tersebut harus benar-benar diketahui dan dijamin tidak akan mempengaruhi proses penandaan pada saat penambahan larutan ^{99m}Tc -perteknetat dengan aktivitas yang tinggi.

Besarnya radioaktivitas larutan ^{99m}Tc -perteknetat yang diperoleh dari generator ^{99}Mo - ^{99m}Tc bergantung pada volumenya. Makin lama umur dari generator, makin rendah konsentrasi radioaktivitas (encer) larutan ^{99m}Tc -perteknetat yang dihasilkan pada saat elusi. Untuk memenuhi kebutuhan bagi 10 pasien, diperlukan radioaktivitas yang tinggi biasanya sampai 50 mCi (asumsi seorang pasien membutuhkan 5 mCi) dengan volume yang memadai, idealnya adalah 0,5 mL/pasien. Keberhasilan penandaan radiofarmaka ini idealnya tidak dipengaruhi oleh volume dan besarnya radioaktivitas dari ^{99m}Tc -perteknetat. Percobaan selanjutnya dengan menggunakan larutan ^{99m}Tc -perteknetat sebanyak 5 mCi dengan volume yang bervariasi yaitu dari 0,5; 1,0 sampai dengan 4,0 mL tetapi besarnya radioaktivitas sama yaitu 5 mCi, sehingga volume akhir sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ menjadi 1,0 - 5 mL. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 2 menunjukkan efisiensi penandaan yang dihasilkan menggunakan larutan ^{99m}Tc -perteknetat dengan volume yang sama yaitu 4,0 mL, tetapi radioaktivitas bervariasi dari 5, 10, 20, 40 dan 50 mCi.

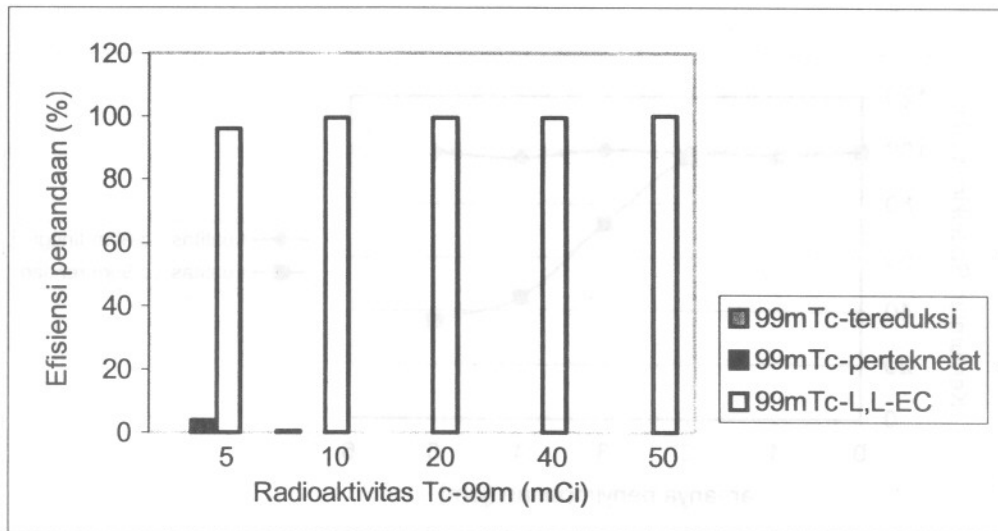


Gambar 1 . Pengaruh volume terhadap efisiensi penandaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ (radioaktivitas Tc-99m 5 mCi).

Dari hasil yang ditunjukkan oleh kedua Gambar tersebut, dapat disimpulkan bahwa keberhasilan penandaan ligan L,L-EC dengan radioisotop Tc-99m, tidak dipengaruhi oleh volume sediaan dan besarnya aktivitas Tc-99m yang dipakai dalam reaksi penandaan tersebut. Dari Gambar 1 dan 2 terlihat, bahwa walaupun volume akhir sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ sebanyak 5 mL, dan radioaktivitas sebesar 50 mCi, penandaan masih menunjukkan hasil yang tinggi yaitu > 90%.

Dalam kenyataannya di rumah sakit, tiap pasien membutuhkan waktu 30 menit untuk melakukan uji fungsi ginjal. Dengan demikian sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ akan disimpan selama 5 jam seandainya akan digunakan untuk 10 pasien.

Dengan radioaktivitas yang demikian tinggi (50 mCi) dan disimpan sampai 5 jam, maka harus diketahui bahwa sediaan tersebut masih tetap stabil pada kondisi tersebut. Hasil dari percobaan ini dapat dilihat pada Gambar 3.

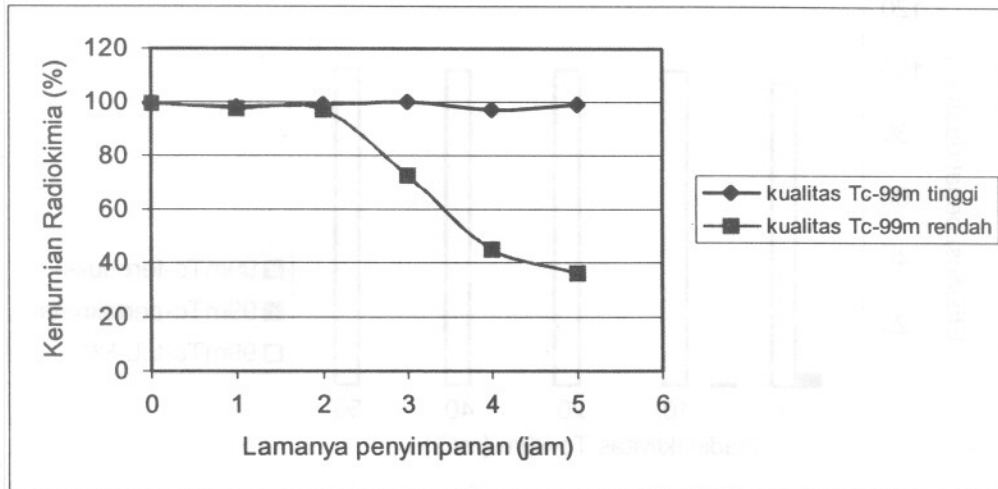


Gambar 2. Pengaruh besarnya radioaktivitas Tc-99m terhadap efisiensi penandaan (volume akhir 5 mL).

Gambar 3 menunjukkan bahwa stabilitas radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ tidak dipengaruhi oleh konsentrasi radioaktif tetapi oleh kualitas dari larutan $^{99m}\text{Tc-perteknetat}$ yang digunakan. Pada percobaan tersebut digunakan dua macam larutan $^{99m}\text{Tc-perteknetat}$. Yang pertama larutan $^{99m}\text{Tc-perteknetat}$ dengan kualitas yang tinggi yaitu yang mempunyai kemurnian radiokimia tinggi dan warna larutan secara visual sangat baik. Berbeda halnya pada percobaan selanjutnya yang menggunakan larutan $^{99m}\text{Tc-perteknetat}$ dengan warna yang tidak begitu jernih (keruh atau kekuning-kuningan), walaupun kemurnian radiokimianya sangat tinggi (>99 %). Ternyata stabilitas radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ sangat rendah. Pada dua jam penyimpanan, kemurnian radiokimianya masih 99,9 %, kemudian menurun 72,3 % pada 3 jam, 44,8 % pada 4 jam dan hanya 36,4 % pada waktu 5 jam.

Dengan melihat hasil percobaan ini, dapat diinformasikan kepada para pemakai, bahwa radiofarmaka L,L-EC ini harus menggunakan larutan $^{99m}\text{Tc-perteknetat}$ yang berkualitas baik agar diperoleh efisiensi penandaan dan kestabilan yang maksimal.

Kit-kering yang disimpan pada 4 °C dan tiap bulan diamati perubahan warna, bau, bentuk dan kemurnian radiokimianya. Kit-kering ini masih tetap stabil sampai 7 bulan penyimpanan. Percobaan ini masih dilanjutkan sampai diketahui batas daluwarsanya.

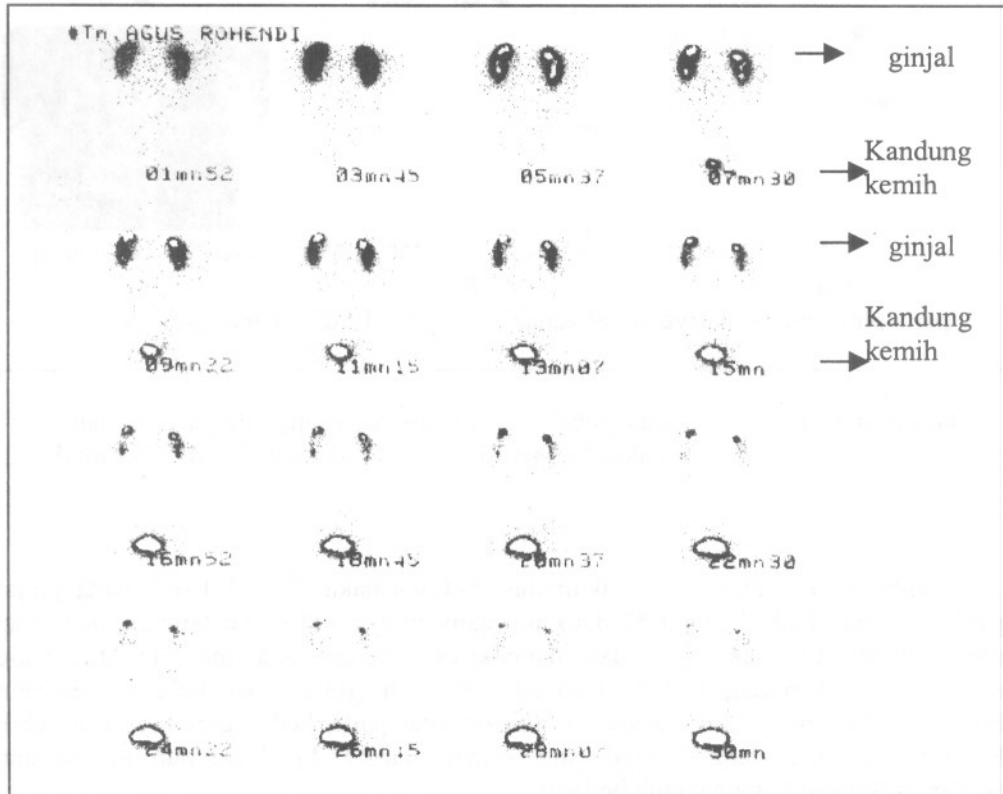


Gambar 3. Pengaruh waktu penyimpanan dan radioaktivitas yang tinggi (50 mCi)

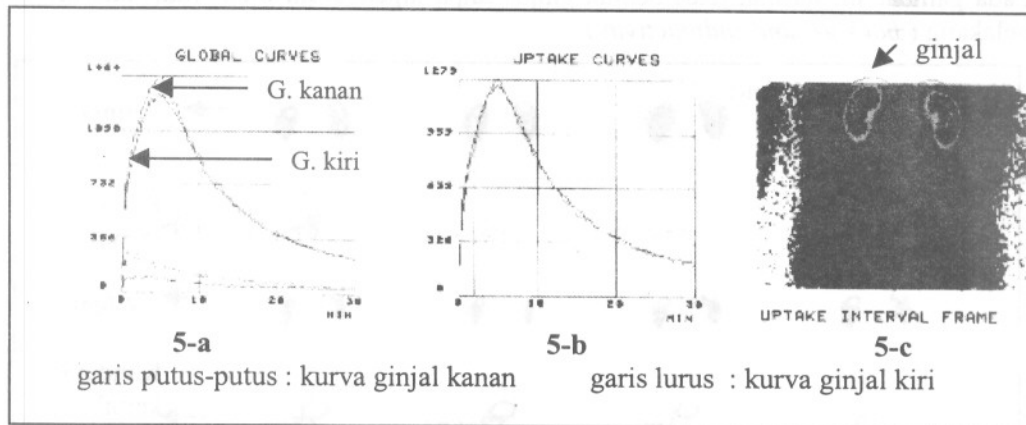
Hasil uji klinis radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ terhadap volunter menunjukkan hasil yang memuaskan. Seperti terlihat pada Gambar 4 (gambar dinamik ginjal) sediaan ini terakumulasi sangat baik pada ginjal. Pada menit pertama telah terlihat akumulasi di ginjal dan mencapai maksimum pada 5 menit pasca injeksi (p.i), kemudian secara berangsur-angsur diekskresikan ke kandung kemih, yang ditandai dengan adanya radioaktivitas di kandung kemih pada 7 menit 30 detik p.i. Waktu paro efektif ($T_{1/2}$ efektif) di ginjal tercapai pada 12 menit p.i. Setelah 30 menit p.i. radioaktivitas di ginjal hanya tinggal sekitar 15 % dari aktivitas maksimal yang dicapai.

Gambar 5-a memperlihatkan kurva akumulasi radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ di dalam ginjal manusia yang normal per satuan waktu. Pada kurva terlihat bahwa *uptake* radiofarmaka ini sangat baik pada ginjal kiri maupun kanan dan diekskresikan secara bersamaan. Pada kurva (5-a) terlihat radioaktivitas pada ginjal kanan (garis putus-putus) lebih tinggi dari pada ginjal kiri (garis lurus). Hal ini disebabkan oleh adanya pengaruh dari aktivitas yang ada di hati. Gambar 5-b adalah kurva renograf yang sesungguhnya setelah dikoreksi dengan radioaktivitas hati, sehingga kedua kurva menjadi sangat berimpit. Dengan melihat kurva ini, dapat dipastikan bahwa sediaan ini dapat digunakan untuk melakukan uji fungsi ginjal (*renograf*). Gambar 5-c memperlihatkan gambaran ginjal setelah terjadi *uptake* $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ oleh organ tersebut.

Pada gambar ini terlihat jelas bentuk ginjal tanpa dipengaruhi oleh radioaktivitas latar belakang (*back ground radioactivity*).



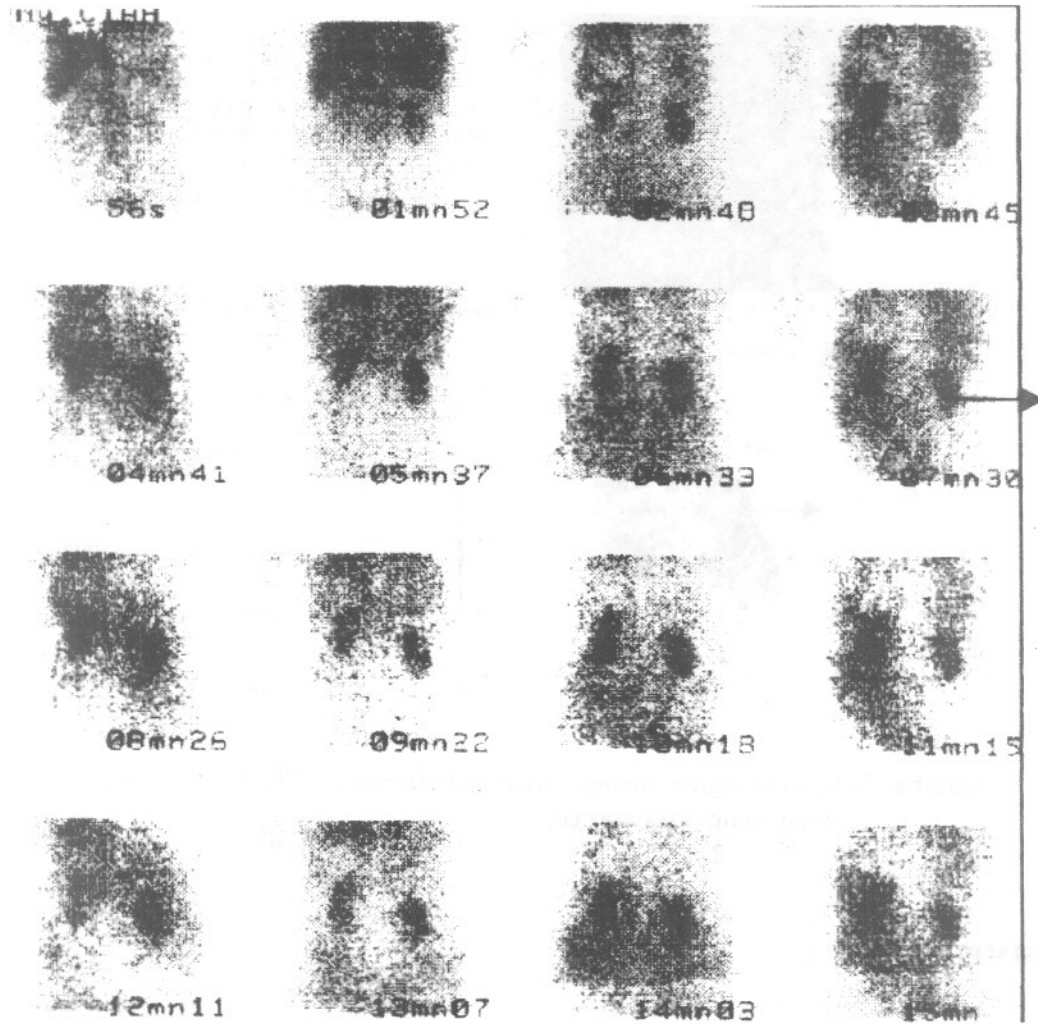
Gambar 4 . Dinamika distribusi radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-LL-EC}$ pada ginjal normal.



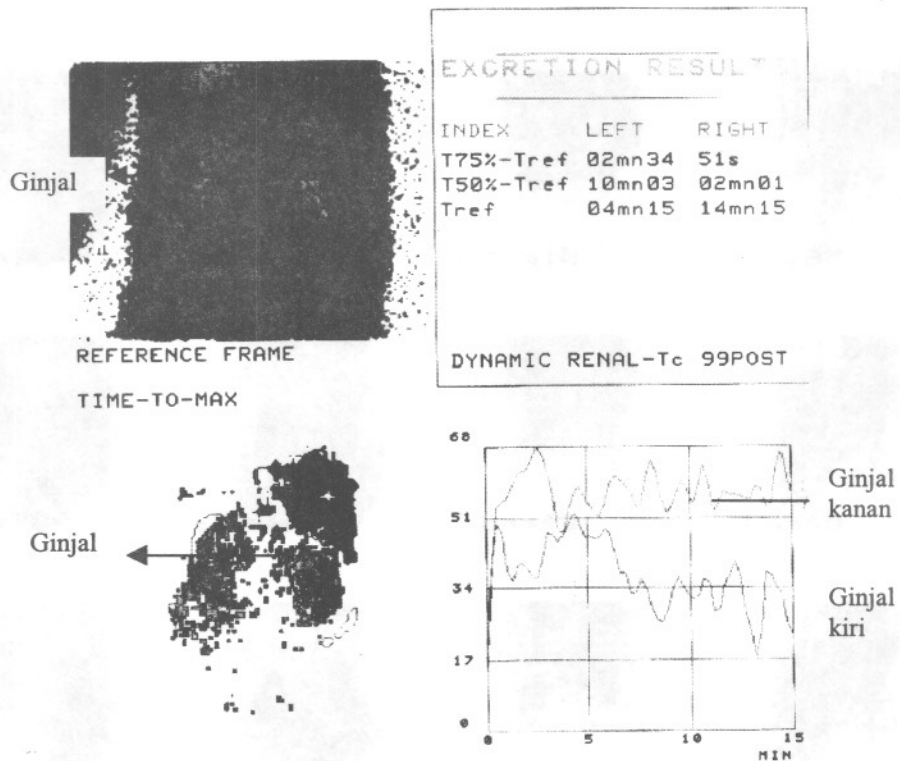
Gambar 5. Kurva renograf global (5-a), renograf sesungguhnya (5-b) dan gambaran uptake (5-c) radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dalam ginjal normal.

Gambar 6. memperlihatkan akumulasi radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ pada ginjal yang tidak normal. Pada 1 menit 52 detik p.i. gambaran ginjal mulai tampak, dan tetap bertahan sampai 15 menit p.i., dan tampaknya belum ada radioaktivitas yang diekskresikan ke kandung kemih. Ketidak normalan ginjal dari volunter tersebut diperjelas oleh Gambar 7, dimana *uptake* radioaktivitas pada kedua ginjalnya jauh lebih kecil bila dibandingkan dengan ginjal yang normal (Gambar 5). Demikian juga dengan retensi dan ekskresinya, sangat jauh berbeda.

Setelah dilakukan uji klinis, dapat dinyatakan bahwa radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ dapat digunakan untuk melakukan uji dinamika ginjal. Uji ini didasarkan pada baik atau tidaknya fungsi dan keadaan tubulus ginjal. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, diharapkan sediaan ini dapat menjadi radiofarmaka alternatif yang lebih baik dan lebih ideal dari pada ^{131}I -orto iodo hipurat (hipuran) sebagai radiofarmaka untuk melakukan uji dinamika ginjal.



Gambar 5. Dinamika distribusi radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-LL-EC}$ pada ginjal yang tidak normal



Gambar 7. Hasil renogram menggunakan radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC pada ginjal yang tidak normal.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Radiofarmaka ^{99m}Tc -L,L-EC telah dapat di buat di P3TkN dan dikembangkan dalam bentuk kit-kering untuk memudahkan penggunaannya di rumah sakit.

2. Radiofarmaka ini mempunyai karakteristik yang ideal bagi suatu radiofarmaka untuk tujuan pencitraan ginjal terutama untuk uji fungsi ginjal, yaitu : bermuatan listrik negatif (anion), mempunyai kehidrofilan yang tinggi dengan $1/P = 3797$ atau $\log 1/P = 3,6$ (sangat polar), berikatan dengan protein plasma dengan persentase $63,3 \pm 3,4 \%$, tidak toksik dan relatif stabil baik dalam bentuk senyawa bertanda $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ sampai 5 jam, maupun dalam bentuk kit-keringnya (L,L-EC), yang diamati sampai 6 (enam) bulan.
3. Kemurnian radiokimia dan kestabilan dari sediaan $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ sangat dipengaruhi oleh kualitas larutan $^{99m}\text{Tc-pertechnetat}$.
4. Konsentrasi radioaktif yang dapat dicapai oleh radiofarmaka $^{99m}\text{Tc-L,L-EC}$ adalah 10 mCi/mL dengan volume maksimal 5 mL, sedangkan aktivitas spesifik yang dapat dicapai adalah 50 mCi/mg EC, dan ini sangat ideal bagi radiofarmaka yang dirancang untuk tujuan multi dosis, sehingga dapat digunakan bagi 10 pasien.
5. Dengan melihat hasil dari uji klinis, diharapkan radiofarmaka ini dapat memenuhi harapan rumah sakit pengguna sebagai substitusi produk import dan dapat dimanfaatkan untuk melakukan uji fungsi ginjal pengganti ^{131}I -hipuran.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada dr. Hussein S. Kartamihardja SpKN Kepala Instalasi Kedokteran Nuklir RSUP Hasan Sadikin Bandung dan Sdr. Duddy dan Sdri. Rini atas bantuan dan kerjasamanya sehingga makalah ilmiah ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. CHERVU, L.R., BLAUFOX, M.D., Renal secretion and filtration studies, in *Studies of Cellular Functioning Radiotracers*, CRC Press Inc., Boca Raton, 1982: 222-226.
2. IAEA, *Production of ^{99m}Tc -Radiopharmaceuticals for Brain, Heart and Kidney Imaging (Final Report of a Co-ordinated Research Programme)*, TECDOC-805, 1994: 53-63.

3. KARTINI, N., MISYETTI, MARYAM, I., Sintesis L,L-etil disistein (EC) sebagai ligan pembentuk radiofarmaka penyidik tubulus ginjal. Kolokium P3TkN, Bandung, 23 Januari 2001.
4. KARTINI, N., HASAN BASRY, T., KUSTIWA, Rd. SUKENDAR, ISABELA, E., Formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -EC (L,L-etil disistein) untuk sidik fungsi ginjal. Prosiding Seminar Sains dan Teknologi Nuklir, P3TkN-BATAN, Bandung, 2001: 84-93.
5. NUNN, A.D., *Radiopharmaceuticals Chemistry and Pharmacology*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1992 : 365-367.
6. OWUNWANNE, A., *The Handbook of Radiopharmaceuticals*, Chapman & Hall Medical 1995:64.
7. OWUNWANNE, A., CHURCH, L.B., BLAU, M., Effect of oxygen on the reduction of pertechnetate by stannous ion. *J.Nucl.Med.*, 18 (1977), 822-826.
8. VERBRUGGEN, A.M., NOSCO, D.L., VAN NEROM, C.G., BORMANE, G.M., ADRIAENS, P.J., DE ROO, M.J. Technetium-99m L,L-ethylene dicysteine; A renal imaging agent, I. Labelling and evaluation in animals. *J.Nucl.Med.* 33 (1992) 551-557.