

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PENANDAAN PARTIKEL HIDROKSIAPATIT DENGAN SEDIAAN RADIOISOTOP $^{175}\text{YbCl}_3$ HASIL IRADIASI BAHAN SASARAN ^{174}Yb DIPERKAYA

Azmairit Aziz, Nana Suherman

Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri - BATAN
Jl. Tamansari 71 Bandung, 40132
Email: aaziz@batan.go.id

Diterima: 19-04-2013

Diterima dalam bentuk revisi: 23-04-2013

Disetujui: 06-05-2013

ABSTRAK

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PENANDAAN PARTIKEL HIDROKSIAPATIT DENGAN SEDIAAN RADIOISOTOP $^{175}\text{YbCl}_3$ HASIL IRADIASI BAHAN SASARAN ^{174}Yb DIPERKAYA. Partikel hidroksiapatit (HA) dapat ditandai dengan radioisotop ^{175}Yb untuk radiofarmaka alternatif dalam radiosinovectomi pada sendi ukuran kecil. Pada penelitian ini dilakukan penentuan kondisi optimum penandaan partikel HA dengan sediaan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ hasil iradiasi bahan sasaran ^{174}Yb diperkaya 98,4%. Untuk mendapatkan senyawa bertanda ^{175}Yb -HA dengan efisiensi penandaan yang tinggi, beberapa parameter dalam reaksi penandaan divariasikan, yaitu jumlah partikel HA, pH penandaan, waktu inkubasi dan jumlah Yb non aktif (pengemban). Senyawa ^{175}Yb -HA yang diperoleh ditentukan kemurnian radiokimianya dengan kromatografi kertas dan elektroforesis kertas. Kondisi optimum penandaan diperoleh menggunakan jumlah partikel HA 10 mg, penandaan pada pH 7, waktu inkubasi 30 menit pada temperatur kamar dan jumlah Yb non aktif (pengemban) sebanyak 0,25 – 1,55 μmol . Aktivitas jenis ^{175}Yb yang digunakan sebesar 200 – 300 mCi/mg sehingga 1,55 μmol Yb dapat menghasilkan ^{175}Yb -HA dengan aktivitas 50 - 75 mCi. Senyawa ^{175}Yb -HA yang diperoleh memiliki efisiensi penandaan maksimum $99,30 \pm 0,17\%$, kemurnian radiokimia $99,28 \pm 0,12\%$ dan memiliki kestabilan yang tinggi. Senyawa ^{175}Yb -HA masih stabil selama tiga minggu pada temperatur kamar dengan kemurnian radiokimia sebesar $98,92 \pm 0,64\%$.

Kata kunci : iterbium-175 (^{175}Yb), diperkaya, hidroksiapatit, radiosinovectomi

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF OPTIMUM CONDITION ON HYDROXYAPATITE PARTICLES LABELLING WITH $^{175}\text{YbCl}_3$ RADIOISOTOPE RESULTED FROM ENRICHED ^{174}Yb IRRADIATION. Hydroxyapatite (HA) particles could be labeled with ^{175}Yb radioisotope for alternative radiopharmaceutical used in radiosynovectomy of small-sized joints. The determination of optimum condition on HA particles labeling with ^{175}Yb have been carried out using $^{175}\text{YbCl}_3$ radioisotope obtained from neutron irradiation of 98.4% enriched ^{174}Yb target. Reaction parameters in labeling conditions such as the amount of HA particles, the pH of labeling, the incubation time and the amount of Yb carrier were varied in order to obtain high labeling efficiency of the resulting ^{175}Yb -HA. The radiochemical purity of the ^{175}Yb -HA was determined by paper chromatography and paper electrophoresis techniques. The optimum labeling condition was obtained using 10 mg of HA particles, acidity on labeling at pH 7, 30 minutes incubation time at room temperature and the amount of ^{174}Yb carrier of 0.25 – 1.55 μmol . Considering that 200 – 300 mCi/mg specific activity of ^{175}Yb was used, 1.55 μmol of Yb can produce 50 - 75 mCi of ^{175}Yb -HA activity. The compound of ^{175}Yb -HA had maximum labeling efficiency of $99.30 \pm 0.17\%$, and radiochemical purity of $99.28 \pm 0.12\%$. The ^{175}Yb -HA had high stability, it was still stable for three weeks at room temperature with radiochemical purity of $98.92 \pm 0.64\%$.

Keywords: ytterbium-175 (^{175}Yb), enriched, hydroxyapatite, radiosynovectomy

1. PENDAHULUAN

Radiosinovectomi adalah teknik pemulihan membran sinovial menggunakan radionuklida pemancar β^- dari suatu radiofarmaka berbentuk koloid atau partikel yang diinjeksikan secara intra-artikular sehingga dapat masuk dan kontak dengan jaringan sinovial (1-5). Radiosinovectomi efektif untuk menghilangkan rasa nyeri, bengkak dan radang pada sendi yang merupakan karakteristik dari *rheumatoid arthritis* dan penyakit radang sendi lainnya (1,6,7). Teknik ini telah digunakan di Eropa selama lebih dari 50 tahun (3).

Sekitar 1 % dari populasi di seluruh dunia terserang *rheumatoid arthritis* (2). *Rheumatoid arthritis* merupakan penyakit yang disebabkan oleh autoimun (2,3,5) yang dapat menimbulkan radang dan kerusakan pada membran sinovial. Penyakit ini menyebabkan rasa nyeri dan kerusakan pada sendi serta kehilangan fungsi sendi, sehingga akhirnya dapat menurunkan kualitas hidup penderita (8).

Radionuklida yang digunakan untuk radiosinovectomi adalah pemancar β^- yang mempunyai daya tembus dalam jaringan hanya beberapa milimeter saja, sehingga tidak merusak jaringan yang sehat di sekitarnya. Radionuklida pemancar β^- dalam bentuk koloid atau partikel dianggap sebagai benda asing oleh sel lapisan paling luar membran sinovial. Benda asing dimakan dengan cepat oleh sel-sel tersebut melalui proses yang disebut fagositosis. Apabila jumlah radioaktivitas yang diinjeksikan memadai, maka radioisotop dalam bentuk radiofarmaka pemancar β^- dapat masuk ke lapisan lebih dalam membran sinovial dan

akan menghancurkan atau merusak jaringan membran sinovial yang meradang. Apabila jaringan yang meradang tersebut telah hilang, maka jaringan membran sinovial yang baru, sehat dan normal akan terbentuk kembali (2,5,7,9).

Radionuklida yang ideal digunakan untuk radiosinovectomi adalah pemancar β^- yang memiliki energi dengan daya tembus maksimum pada jaringan lunak sejauh 5–10 mm, waktu paro ($T_{1/2}$) yang pendek (hanya dalam orde hari) tanpa memancarkan sinar γ , atau berupa pemancar β^- yang memiliki emisi sinar γ rendah (1,7). Jenis radionuklida yang digunakan untuk radiosinovectomi bergantung pada ukuran sendi (2,3,10). Radionuklida yang memiliki energi β^- lemah ($< 0,5$ MeV) digunakan untuk sendi berukuran kecil, seperti sendi yang terdapat pada jari tangan atau kaki; radionuklida yang memiliki energi β^- menengah (0,5 – 1 MeV) digunakan untuk sendi berukuran lebih besar seperti sendi pergelangan tangan, siku, bahu, pergelangan kaki dan pinggul; sedangkan radionuklida yang memiliki energi β^- kuat (> 1 MeV) digunakan untuk sendi lutut. Berbagai radionuklida pemancar β^- dapat digunakan untuk radiosinovectomi, seperti ^{165}Dy , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{169}Er , dan lain sebagainya. Radionuklida yang sudah banyak digunakan saat ini di kedokteran nuklir adalah ^{169}Er , ^{186}Re dan ^{90}Y (3,5,10). Ketiga radionuklida tersebut telah dibuat dalam berbagai bentuk radiofarmaka koloid dan partikel (1,3,5).

Partikel radiofarmaka yang ideal digunakan untuk radiosinovectomi adalah

yang memiliki diameter dengan ukuran sebesar 2 – 10 μm (3,6,10). Partikel tersebut memiliki ukuran yang cukup kecil untuk dapat dimakan oleh makrofag (sel fagosit besar), akan tetapi ukurannya tidak terlalu kecil sehingga tidak mudah terjadi kebocoran atau keluar dari sendi yang mengakibatkan terjadinya paparan radiasi pada organ lain (bukan organ sasaran) seperti hati, limpa dan kelenjer getah bening (3,6,10,11).

Bahan untuk radiosinovetomi harus memiliki karakteristik yang memenuhi syarat, yaitu dibuat dalam bentuk koloid atau partikel, dapat diuraikan secara biologis dan memiliki afinitas yang tinggi dengan organ sasaran, serta memiliki kestabilan yang tinggi secara *in vivo* (3,12).

Iterbium-175 (^{175}Yb) merupakan radionuklida pemancar β^- yang memiliki $T_{1/2}$ selama 4,2 hari dan E_{β^-} (maks) sebesar 0,480 MeV (80%) serta E_{γ} sebesar 396 keV (6,5%), 282 keV (3,1%) dan 113 keV (1,9%). Energi β^- sebesar 0,480 MeV tersebut memiliki jarak tembus maksimum pada jaringan lunak sejauh 1,7 mm, sehingga sangat cocok digunakan untuk radiosinovetomi pada sendi berukuran kecil, seperti sendi jari tangan dan jari kaki. Iterbium-175 memiliki E_{γ} dengan kelimpahan yang rendah, tetapi E_{γ} tersebut masih dapat digunakan untuk melihat distribusi radioaktivitas di dalam sendi dengan cara sintigrafi (10).

Radionuklida ^{175}Yb dapat diproduksi dengan cara yang relatif mudah melalui reaksi inti (n, γ) di reaktor nuklir menggunakan bahan sasaran ^{174}Yb dan meluruh menjadi isotop stabil ^{175}Lu (10).

Pada penelitian terdahulu telah dilakukan pembuatan sediaan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ hasil iradiasi bahan sasaran ^{174}Yb alam di reaktor TRIGA 2000 Bandung (fluks neutron sekitar $4,72 \times 10^{13} \text{ n.cm}^{-2}.\text{det}^{-1}$). Akan tetapi, sediaan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ yang diperoleh memiliki kemurnian radionuklida lebih kecil dari 99%, yaitu sekitar 97% (13). Selanjutnya, A. Aziz dkk (dalam proses publikasi) telah berhasil melakukan pengembangan pembuatan sediaan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ hasil iradiasi bahan sasaran ^{174}Yb diperkaya 98,4%. Bahan sasaran diiradiasi di RSG - G.A. Siwabessy Serpong pada fluks neutron sekitar $1,83 \times 10^{14} \text{ n.cm}^{-2}.\text{det}^{-1}$. Sediaan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ yang dihasilkan memiliki kemurnian radionuklida yang sangat tinggi (100%) dan aktivitas jenis yang tinggi pada saat *end of irradiation* (EOI), yaitu sebesar 173,12 – 480,21 mCi/mg Yb.

Partikel hidroksiapatit (HA) merupakan salah satu komponen utama yang terdapat pada tulang, yaitu berupa senyawa garam kalsium fosfat ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Partikel tersebut dapat terurai secara biologis menjadi ion kalsium (Ca^{+2}) dan fosfat (PO_4^{-3}) melalui proses metabolisme alamiah dan dapat keluar dari tubuh setelah 6 minggu (6,12,14). Partikel HA sangat cocok digunakan dalam pembuatan radiofarmaka untuk radiosinovetomi karena sifatnya yang sangat biokompatibel dan dapat membentuk senyawa bertanda yang stabil dengan berbagai radionuklida pemancar β^- (14).

Berbagai penelitian tentang penandaan HA dengan radionuklida pemancar β^- seperti, ^{166}Ho , ^{186}Re , ^{188}Re ,

^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{90}Y , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{175}Yb dan ^{111}Ag telah dilakukan di beberapa negara (6,7,9-12,14-19). Partikel HA dapat ditandai dengan radionuklida ^{175}Yb menghasilkan senyawa bertanda ^{175}Yb -HA yang digunakan sebagai radiofarmaka alternatif untuk radiosinovectomi pada sendi ukuran kecil sebagaimana radiofarmaka ^{169}Er -sitrat (10). Berdasarkan sifat nuklirnya, ^{175}Yb lebih unggul dibandingkan ^{169}Er karena radionuklida ^{169}Er merupakan pemancar β^- murni, sedangkan ^{175}Yb merupakan pemancar β^- dan γ sekaligus, sehingga sangat menguntungkan untuk memantau lokasi radioaktivitas yang diinjeksikan.

Dalam makalah ini dikemukakan penentuan kondisi optimum dalam penandaan partikel HA dengan sediaan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ hasil iradiasi bahan sasaran ^{174}Yb diperkaya 98,4%. Untuk mendapatkan senyawa bertanda ^{175}Yb -HA dengan efisiensi penandaan yang tinggi, dilakukan variasi beberapa parameter yang berpengaruh dalam reaksi penandaan, yaitu jumlah partikel HA, pH penandaan, waktu inkubasi dan jumlah Yb non aktif (pengemban).

2. TATA KERJA

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah iterbium oksida dengan pengayaan isotop ^{174}Yb sebesar 98,4% buatan Oak Ridge National Laboratory (ORNL), partikel HA buatan Aldrich, iterbium oksida alam, asam klorida, natrium hidroksida, natrium bikarbonat, amoniak, etanol, dinatrium hidrogen fosfat dan natrium dihidrogen fosfat buatan E.Merck.

Bahan lainnya adalah akuabides steril dan NaCl fisiologis steril (0,9%) buatan IPHA, sedangkan bahan penunjang yang digunakan adalah kertas kromatografi Whatman 3MM dan kertas indikator pH.

Peralatan yang digunakan terdiri dari peralatan gelas, neraca analitik (Metler Toledo), pemanas dan pengaduk magnetik (Thermolyne), pipet mikro (Thermo Scientific), pengaduk vortex (Jeio Tech), centrifuga (Boeco), pencacah γ saluran tunggal (Ortec), seperangkat alat kromatografi kertas, seperangkat alat elektroforesis kertas, *dose calibrator* (Capintec) dan Reaktor Serba Guna - G.A Siwabessy.

2.2 Tata Kerja

2.2.1. Preparasi radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$

Sebanyak 5 mg serbuk Yb_2O_3 dengan pengayaan isotop ^{174}Yb sebesar 98,4% diiradiasi di RSG-GA Siwabessy selama ± 4 hari dengan fluks neutron termal sebesar $1,83 \times 10^{14} \text{ n.cm}^{-2}.\text{det}^{-1}$. Senyawa $^{175}\text{Yb}_2\text{O}_3$ hasil iradiasi dimasukkan ke dalam gelas kimia berukuran 50 mL, kemudian dilarutkan dalam 10 mL larutan HCl 0,1 N. Proses pelarutan dilakukan di atas alat pemanas dan pengaduk magnetik sampai larut sempurna. Kemudian larutan dikisatkan perlahan-lahan sampai hampir kering. Residu dilarutkan kembali dalam 5 mL akuabides steril. Selanjutnya aktivitas larutan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ diukur menggunakan *dose calibrator*.

2.2.2. Preparasi larutan YbCl_3 non aktif (pengemban)

Sebanyak 5 mg serbuk Yb_2O_3 alam

dimasukkan ke dalam gelas kimia berukuran 50 mL, kemudian dilarutkan dalam 10 mL larutan HCl 0,1 N. Proses pelarutan dilakukan di atas alat pemanas dan pengaduk magnetik sampai larut sempurna. Kemudian larutan dikisatkan perlahan-lahan sampai hampir kering dan residu dilarutkan kembali dalam 5 mL akuabides steril.

2.2.3. Penentuan kondisi optimum preparasi senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$

Untuk mendapatkan senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ dengan efisiensi penandaan yang tinggi, dilakukan variasi beberapa parameter yang berpengaruh dalam reaksi penandaan, yaitu jumlah partikel HA (1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 mg); pH penandaan (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 dan 10); waktu inkubasi pada temperatur kamar (1, 5, 15, 30, 45 dan 60 menit) dan jumlah Yb non aktif sebagai pengemban (0,25; 0,50; 0,65; 0,80; 0,95; 1,10; 1,25; 1,40; 1,55 dan 1,70 μmol).

2.2.4. Preparasi senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ pada kondisi optimum

Sebanyak 10 mg partikel HA disuspensikan dalam 840 μL larutan NaCl 0,9 % steril dan 100 μL larutan NaHCO_3 0,5 M (pH 9), lalu ditambahkan 10 μL (0,2 - 0,3 mCi) larutan $^{175}\text{YbCl}_3$ dan 50 μL larutan YbCl_3 non aktif (0,25 μmol Yb) sebagai pengemban. Kemudian pH reaksi ditepatkan menjadi 7 dengan penambahan larutan HCl 1 N atau NaOH 1 N. Campuran reaksi diinkubasi sambil dikocok menggunakan pengaduk vortex dengan kecepatan 1500

putaran per menit selama 30 menit pada temperatur kamar.

2.2.5. Penentuan efisiensi penandaan

Sebanyak 1 mL campuran reaksi disentrifuga selama 15 menit dengan kecepatan 5000 putaran per menit. Supernatan dan endapan dipisahkan dengan cara mengambil 500 μL supernatan menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung kosong. Masing-masing tabung yaitu tabung yang berisi 500 μL larutan supernatan serta tabung yang berisi endapan dan 500 μL supernatan sisa dicacah dengan alat pencacah γ saluran tunggal. Efisiensi penandaan dihitung menggunakan persamaan [1] (10).

$$\text{Efisiensi penandaan (\%)} = \frac{(y - x)}{(y + x)} \times 100 \quad [1]$$

dimana :

x = cacahan tabung berisi 500 μL supernatan
y = cacahan tabung berisi endapan dan 500 μL supernatan sisa.

2.2.6. Penentuan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$

Endapan yang merupakan senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ dipisahkan dari supernatan. Kemudian endapan dicuci dengan 1 mL larutan NaCl 0,9% steril sebanyak tiga kali dan disuspensikan kembali dalam 1 mL larutan NaCl 0,9% steril.

2.2.7. Penentuan kemurnian radiokimia senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$

Kemurnian radiokimia senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ yang tersuspensi dalam larutan NaCl 0,9% steril dilakukan dengan cara $^{175}\text{YbCl}_3$ sisa yang mungkin masih terdapat dalam

suspensi direaksikan dengan ligan etilendiamintetrametilen fosfonat (EDTMP). Sebanyak 100 μL larutan EDTMP (10 mg EDTMP dilarutkan dalam 1 ml larutan dapar NaHCO_3 0,5 M, pH 9) ditambahkan ke dalam suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$. Kemudian pH campuran reaksi ditepatkan menjadi 7 dan diinkubasi selama 30 menit pada temperatur kamar. Untuk pembanding disiapkan senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ sebagai blanko. Senyawa $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ dibuat dengan cara menambahkan sebanyak 20 μL larutan $^{175}\text{YbCl}_3$ dan 100 μL YbCl_3 non aktif ke dalam larutan EDTMP (4 mg EDTMP dilarutkan dalam 0,4 mL larutan dapar NaHCO_3 0,5 M, pH 9 dan 0,5 mL larutan NaCl 0,9% steril). Kemudian pH larutan ditepatkan menjadi 7 dan diinkubasi selama 30 menit pada temperatur kamar.

Kemurnian radiokimia suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$ ditentukan dengan menggunakan metode kromatografi kertas dan elektroforesis kertas. Penentuan kemurnian radiokimia dengan metode kromatografi kertas dilakukan menggunakan kertas kromatografi Whatman 3 MM (2 cm x 10 cm) sebagai fase diam dan campuran larutan amoniak : etanol : air (1:20:40) sebagai fase gerak. Penentuan kemurnian radiokimia dengan metode elektroforesis kertas dilakukan menggunakan kertas kromatografi Whatman 3 MM (2 cm x 38 cm) dan larutan dapar fosfat 0,02 M pH 7,5 sebagai larutan elektrolit, pemisahan dilakukan selama 1 jam pada tegangan 350 Volt. Kertas kromatografi dan kertas elektroforesis dikeringkan, dipotong-potong sepanjang 1 cm dan dicacah menggunakan pencacah saluran tunggal.

2.2.8. Penentuan kestabilan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ secara *in-vitro*

Penentuan kestabilan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ secara *in-vitro* dilakukan menggunakan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ yang diperoleh dari hasil preparasi pada kondisi optimum penandaan. Senyawa tersebut dimurnikan terlebih dahulu dan disuspensikan dalam 1 mL larutan NaCl 0,9% steril selama penyimpanan. Kestabilan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ di dalam larutan NaCl 0,9% diamati dengan menentukan efisiensi penandaan dan kemurnian radiokimianya selama tiga minggu penyimpanan pada temperatur kamar. Pada setiap selang waktu penentuan kestabilan, suspensi tersebut dikocok terlebih dahulu menggunakan pengaduk vortex selama 1 menit. Efisiensi penandaan dan kemurnian radiokimia ditentukan dengan cara seperti telah dijelaskan sebelumnya.

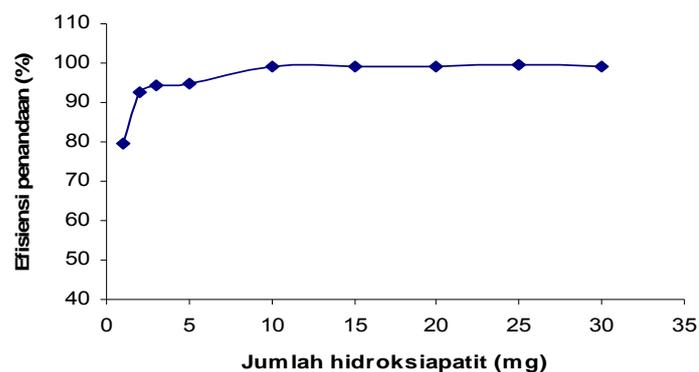
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mendapatkan senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ dengan efisiensi penandaan yang tinggi, maka telah dilakukan penandaan partikel HA dengan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ dan melakukan variasi beberapa parameter yang berpengaruh dalam reaksi penandaan. Gambar 1 memperlihatkan pengaruh jumlah partikel HA ($n=13$) terhadap efisiensi penandaan $^{175}\text{Yb-HA}$. Dari hasil percobaan diperoleh bahwa dengan menggunakan partikel HA sebanyak 1 - 5 mg diperoleh efisiensi penandaan yang masih rendah, yaitu sekitar 79 - 94%. Penggunaan partikel HA sebanyak 10 mg menghasilkan efisiensi

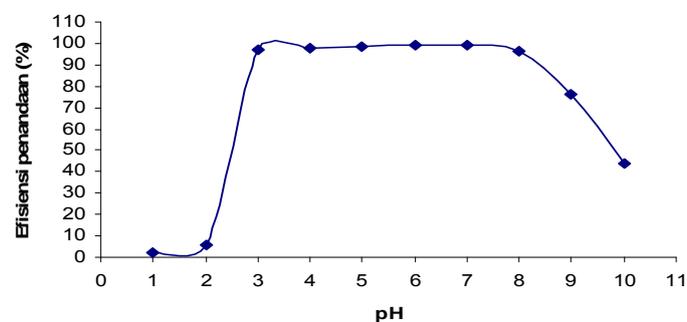
penandaan yang tinggi (di atas 95%), sehingga memenuhi syarat untuk penggunaan di bidang kedokteran nuklir. Semakin bertambah jumlah partikel HA yang digunakan, efisiensi penandaan yang diperoleh tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil yang diperoleh, penggunaan partikel HA sebanyak 10 mg dinyatakan sebagai kondisi optimum reaksi dengan efisiensi penandaan sebesar $99,11 \pm 0,51 \%$ ($n=13$).

Pengaruh tingkat keasaman (pH) reaksi ($n=13$) terhadap efisiensi penandaan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ diperlihatkan pada Gambar 2. Pada pH sangat asam (< 3),

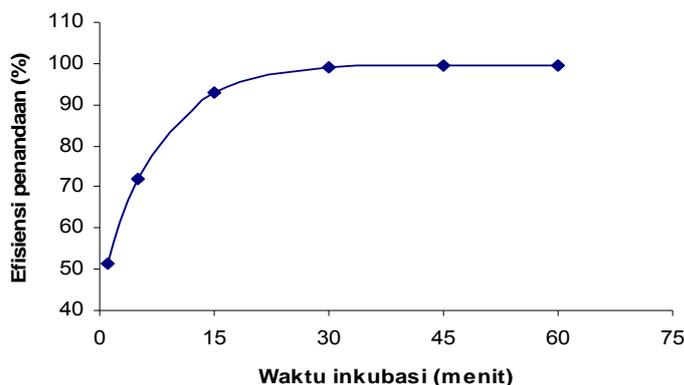
diperoleh efisiensi penandaan yang sangat rendah, yaitu hanya sampai sekitar 6 %. Hal ini disebabkan karena pada pH sangat asam, partikel hidroksiapatit menjadi tidak stabil dan larut perlahan-lahan (10). Efisiensi penandaan yang tinggi diperoleh mulai dari pH 3, yaitu sekitar 97%. Pada pH 4 sampai pH 7 diperoleh efisiensi penandaan yang semakin tinggi, yaitu sekitar 99%. Pada pH basa, efisiensi penandaan yang diperoleh mengalami penurunan dengan semakin tingginya pH reaksi. Hal ini disebabkan pada pH basa terbentuk senyawa $^{175}\text{Yb(OH)}_3$ sebagai pengotor radiokimia (7).



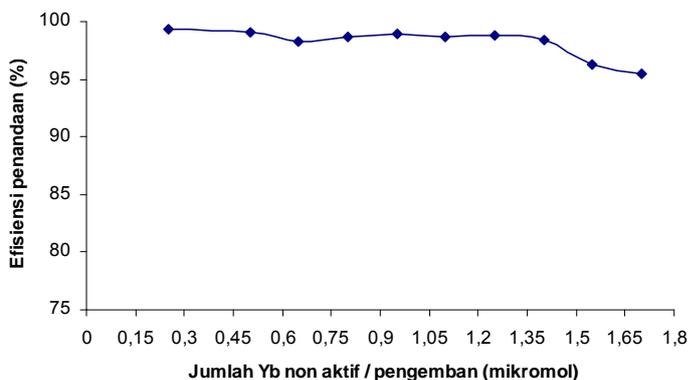
Gambar 1. Pengaruh jumlah partikel HA terhadap efisiensi penandaan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$. Keterangan: pH = 7, $t_{\text{inkubasi}} = 30$ menit pada temperatur kamar, Yb non aktif = $43,92 \mu\text{g}$ ($0,25 \mu\text{mol}$).



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap efisiensi penandaan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$. Keterangan: HA = 10 mg, $t_{\text{inkubasi}} = 30$ menit pada temperatur kamar, Yb non aktif = $43,92 \mu\text{g}$ ($0,25 \mu\text{mol}$).



Gambar 3 . Pengaruh waktu inkubasi terhadap efisiensi penandaan senyawa ^{175}Yb -HA.
Keterangan: HA = 10 mg, pH = 7, Yb non aktif = 43,92 μg (0,25 μmol).



Gambar 4 . Pengaruh jumlah Yb non aktif (pengemban) terhadap efisiensi penandaan senyawa ^{175}Yb -HA.
Keterangan: HA = 10 mg, pH = 7, $t_{\text{inkubasi}} = 30$ menit

Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka pH 7 dinyatakan sebagai kondisi optimum reaksi dengan efisiensi penandaan sebesar $99,31 \pm 0,22\%$ ($n=13$). Pada pH 7 tersebut suspensi ^{175}Yb -HA yang diperoleh memiliki pH netral dan mendekati pH fisiologis (18,20).

Pengaruh waktu inkubasi ($n=13$) terhadap efisiensi penandaan senyawa ^{175}Yb -HA diperlihatkan pada Gambar 3. Pada Gambar 3 terlihat bahwa dengan waktu inkubasi selama 1 sampai 15 menit, efisiensi penandaan yang diperoleh masih

rendah, yaitu di bawah 95%. Penandaan dengan waktu inkubasi selama 30 menit, menghasilkan efisiensi penandaan yang tinggi, yaitu sekitar 99%. Semakin lama waktu inkubasi, maka efisiensi penandaan yang diperoleh tidak mengalami kenaikan secara signifikan, yaitu masih sekitar 99%. Waktu inkubasi selama 30 menit dinyatakan sebagai kondisi optimum reaksi dengan efisiensi penandaan sebesar $99,08 \pm 0,47\%$ ($n = 13$).

Gambar 4 memperlihatkan pengaruh jumlah Yb non aktif (sebagai pengemban)

terhadap efisiensi penandaan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$. Pada Gambar 4 terlihat bahwa penambahan Yb non aktif (pengemban) sebanyak 0,25 – 0,50 μmol menghasilkan efisiensi penandaan yang sangat tinggi, yaitu sekitar 99%. Pada penambahan Yb non aktif sebanyak 0,65 - 1,40 μmol diperoleh efisiensi penandaan yang masih tinggi, yaitu sekitar 98%. Akan tetapi, pada penambahan Yb non aktif sebanyak $\geq 1,55$ μmol nilai efisiensi penandaan menurun secara signifikan, dimana pada penambahan Yb non aktif sebanyak 1,55 dan 1,70 μmol diperoleh efisiensi penandaan masing-masing hanya sebesar 96% dan 95%. Terjadinya penurunan efisiensi penandaan disebabkan semakin banyak YbCl_3 sisa sebagai pengotor yang terdapat di dalam campuran reaksi. Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka penambahan Yb non aktif sebanyak 0,25 – 0,50 μmol dinyatakan sebagai kondisi optimum reaksi dengan efisiensi penandaan sebesar $99,30 \pm 0,17\%$ ($n=10$). Penambahan Yb non aktif sebanyak 0,25 – 1,55 μmol masih dapat dilakukan untuk mendapatkan efisiensi penandaan yang tinggi (di atas 95%). Aktivitas jenis sediaan radioisotop ^{175}Yb yang digunakan dari hasil iradiasi bahan sasaran Yb_2O_3 dengan pengayaan isotop ^{174}Yb sebesar 98,4% adalah sekitar 200 - 300 mCi/mg Yb pada saat EOI. Apabila jumlah Yb non aktif yang ditambahkan sebagai pengemban diganti dengan ^{175}Yb , maka dengan penambahan ^{175}Yb sampai ~ 280 μg akan diperoleh aktivitas senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ mencapai sekitar 50 - 75 mCi. Aktivitas senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ yang dihasilkan

sangat memadai untuk radiosinovektomi pada sendi ukuran kecil. Dosis $^{175}\text{Yb-HA}$ yang diperoleh dapat digunakan untuk beberapa orang pasien (10). Sebagai perbandingan, dosis yang dibutuhkan pada penggunaan radiofarmaka $^{169}\text{Er-sitrat}$ (radiofarmaka yang sudah diaplikasikan selama ini untuk radiosinovektomi pada sendi ukuran kecil) adalah sebesar 0,3 – 1 mCi dengan volume sediaan sebanyak 0,5 – 1 mL (21).

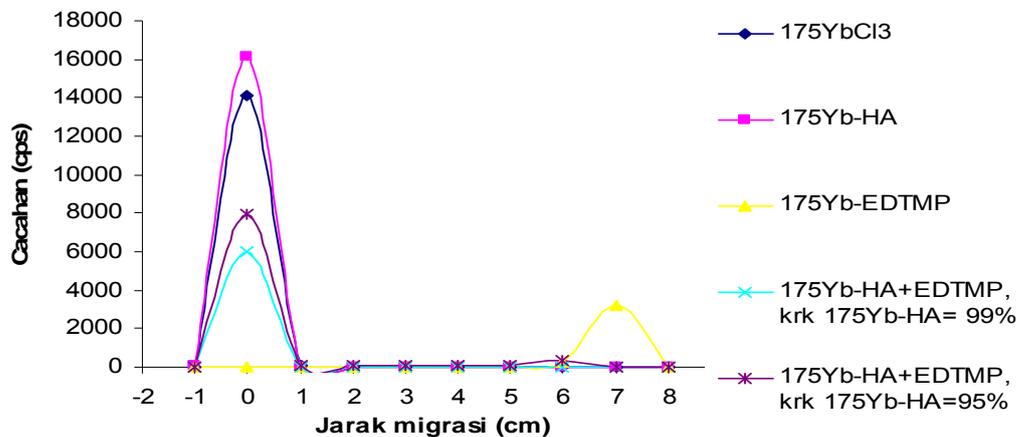
Nilai efisiensi penandaan senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ yang diperoleh dengan menggunakan persamaan [1] dapat diyakinkan dengan cara memeriksa kemurnian radiokimia senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$. Kemurnian radiokimia senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ ditentukan dengan metode kromatografi kertas dan elektroforesis kertas setelah dilakukan reaksi kompleksasi senyawa $^{175}\text{YbCl}_3$ sisa dengan ligan EDTMP. Gambar 5 memperlihatkan hasil kromatografi kertas senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$, $^{175}\text{YbCl}_3$ dan $^{175}\text{Yb-EDTMP}$, terlihat senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ dan $^{175}\text{YbCl}_3$ tetap tinggal pada titik nol ($R_f=0$). Senyawa $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ (sebagai pembanding) bergerak ke arah aliran fase gerak dengan $R_f = 0,8 - 0,9$. Suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$ yang memiliki kemurnian radiokimia sekitar 95% mengandung senyawa $^{175}\text{YbCl}_3$ sisa ($\sim 5\%$) sebagai pengotor radiokimia. Senyawa $^{175}\text{YbCl}_3$ sisa tersebut dapat bereaksi dengan ligan EDTMP menghasilkan senyawa kompleks $^{175}\text{Yb-EDTMP}$, sehingga bergerak ke arah aliran fase gerak dengan $R_f = 0,8 - 0,9$. Sebaliknya dalam suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$ yang memiliki kemurnian radiokimia yang sangat tinggi ($\sim 99\%$) tidak terdapat senyawa

$^{175}\text{YbCl}_3$ sisa, sehingga tidak terbentuk senyawa kompleks $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ jika direaksikan dengan ligan EDTMP. Pada kromatogram juga tidak terlihat keberadaan senyawa kompleks $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ yang dibuktikan dengan tidak terdapatnya distribusi radioaktivitas pada R_f 0,8 – 0,9.

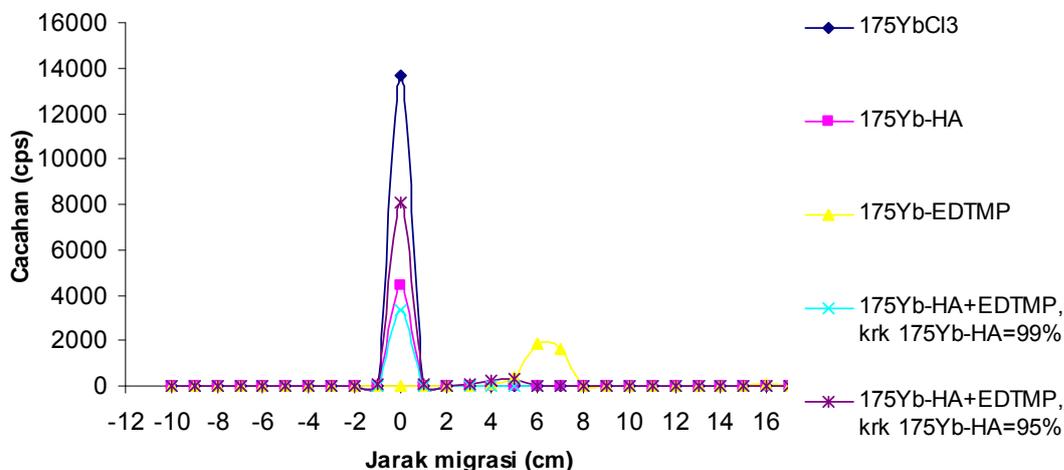
Gambar 6 memperlihatkan hasil elektroforesis kertas senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$, $^{175}\text{YbCl}_3$ dan $^{175}\text{Yb-EDTMP}$. Hasil pemisahan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$, $^{175}\text{YbCl}_3$ dan $^{175}\text{Yb-}$

EDTMP menggunakan metode elektroforesis kertas, dengan pelat pendukung kertas kromatografi Whatman 3 MM (2 cm x 38 cm) dan larutan dapar fosfat 0,02 M pH 7,5 sebagai larutan elektrolitnya, memperlihatkan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ dan $^{175}\text{YbCl}_3$ tetap berada pada titik nol ($R_f=0$).

Senyawa $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ (sebagai pembanding) bergerak ke arah anoda dengan $R_f = 0,3$.



Gambar 5. Hasil kromatografi kertas senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$, $^{175}\text{YbCl}_3$ dan $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ dengan kertas kromatografi Whatman 3 MM sebagai fase diam dan campuran larutan amoniak : etanol : air (1:20:40) sebagai fase gerak.



Gambar 6. Hasil elektroforesis kertas senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$, $^{175}\text{YbCl}_3$ dan $^{175}\text{Yb-EDTMP}$.

Pada suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$ yang memiliki kemurnian radiokimia sekitar 95% terdapat senyawa $^{175}\text{YbCl}_3$ sisa sebagai pengotor radiokimia dan bereaksi dengan ligan EDTMP menghasilkan senyawa kompleks $^{175}\text{Yb-EDTMP}$. Senyawa $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ yang terbentuk bergerak ke arah anoda dengan $R_f = 0,3$. Sebaliknya suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$ yang memiliki kemurnian radiokimia sangat tinggi (~99%) tidak mengandung senyawa $^{175}\text{YbCl}_3$ sisa, sehingga jika direaksikan dengan ligan EDTMP tidak terbentuk senyawa kompleks $^{175}\text{Yb-EDTMP}$. Pada elektroforetogram juga tidak terlihat keberadaan senyawa kompleks $^{175}\text{Yb-EDTMP}$ yang dibuktikan dengan tidak terdapatnya distribusi radioaktivitas pada $R_f = 0,3$ di anoda.

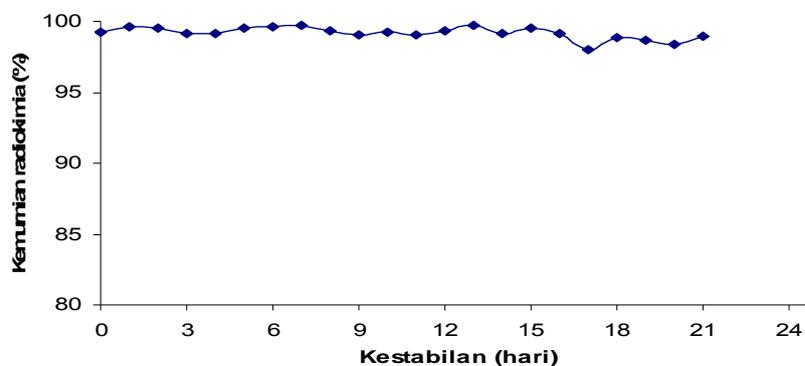
Hasil pemisahan dengan menggunakan metode kromatografi kertas dan elektroforesis kertas digunakan untuk menentukan kemurnian radiokimia senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$. Kemurnian radiokimia senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ pada kondisi optimum penandaan diperoleh sebesar $99,28 \pm 0,12\%$. Nilai kemurnian radiokimia suspensi $^{175}\text{Yb-HA}$ yang diperoleh mendekati nilai efisiensi

penandaannya yaitu sebesar $99,30 \pm 0,17\%$.

Dalam pembentukan senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$, radionuklida ^{175}Yb terikat pada partikel HA tidak melalui ikatan kimia, tetapi secara fisika yaitu hanya teradsorpsi secara kuat pada permukaan partikel HA. Untuk mengetahui adanya aktivitas ^{175}Yb yang terlepas dari senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ selama penyimpanan pada temperatur kamar, maka dilakukan penentuan kestabilan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ secara *in vitro* di dalam larutan NaCl 0,9% steril. Hasil penentuan kestabilan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ secara *in vitro* diperlihatkan pada Gambar 7. Hasil menunjukkan bahwa senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ memiliki kestabilan yang tinggi selama tiga minggu pada temperatur kamar dengan kemurnian radiokimia sebesar $98,92 \pm 0,64\%$.

4. KESIMPULAN

Senyawa bertanda $^{175}\text{Yb-HA}$ dapat dibuat melalui penandaan partikel HA dengan radioisotop $^{175}\text{YbCl}_3$ hasil iradiasi bahan sasaran ^{174}Yb diperkaya 98,4%.



Gambar 7. Kestabilan senyawa $^{175}\text{Yb-HA}$ secara *in vitro*.

Kondisi optimum penandaan diperoleh pada pH 7 dengan jumlah partikel HA sebanyak 10 mg, waktu inkubasi selama 30 menit pada temperatur kamar dan jumlah ^{174}Yb non aktif (pengemban) sebanyak 0,25 – 1,55 μmol . Senyawa ^{175}Yb -HA yang terbentuk memiliki efisiensi penandaan maksimum sebesar $99,30 \pm 0,17\%$, kemurnian radiokimia sebesar $99,28 \pm 0,12\%$ dan senyawa stabil selama tiga minggu pada temperatur kamar di dalam larutan NaCl 0,9%.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak. Hotman Lubis dan Bapak. Abidin dari PRR-BATAN yang telah membantu dalam persiapan iradiasi bahan sasaran di RSG-G.A. Siwabessy Serpong. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada siswa-siswi Prakerin dari SMK Negeri 7 Bandung, yaitu Sdri. Alifah D., Sdri. Rivani R., Sdr. Fanji H.S., Sdri. Frisca M.N.A. dan Sdri. Janietha T. yang telah membantu penulis di dalam penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Melichar F, Kropacek M, Srank J, Beran M, Mirzajevova M, Zimova J, Henke KE, Forsterova M. Labelled compounds as radiopharmaceuticals for radiosynoviorthesis. *J Radioanal Nucl Chem* 2009;280(2):353-8.
- Das BK. Role of radiosynovectomy in the treatment of rheumatoid arthritis and hemophilic athropathies. *Biomed Imaging Interv J* 2007;3(4):e45.
- Schneider P, Farahati J, Reiners C. Radiosynovectomy in rheumatology, orthopedics, and hemophilia. *J Nucl Med* 2005;46(1):48S-54S.
- Srivastava SC. Treatment of bone and joint pain with electron emitting radiopharmaceuticals. *Indian J Nucl Med* 2004;19(3):89-97.
- Kampen WU, Brenner W, Czech N, Henze E. Intraarticular application of unsealed beta-emitting radionuclides in the treatment course of inflammatory joint diseases. [Online]. [cited 2004 Nov 23]; Available from: <http://www.bentham.org/sample-issues/cmcaiaa1-1/Kampen/kampen-ms.htm>.
- Cuoto RM, Souza AA, Herrerias R, Muramoto E, Araujo EB, Megatti J, Barboza MF, Assi PE. Hydroxyapatite labeled with Y-90 or Lu-177 for radiosynovectomy. *Proceeding of the 2007 International Nuclear Atlantic Conference; September 30 - October 5, 2007 Santos SP, Brazil.*
- Chattopadhyay S, Vimalnath KV, Saha S, Korde A, Sarma HD, Pal S, Das MK. Preparation and evaluation of a new radiopharmaceutical for radiosynovectomy, ^{111}Ag -labelled hydroxyapatite (HA) particles. *J Appl Radiat Isot* 2008;66:334-9.
- Pandey U, Bapat K, Sarma HD, Dharmi PS, Naik PW, Samuel G, Venkatesh M. Bioevaluation of ^{90}Y -labeled particles in animal model of arthritis. *Ann Nucl Med* 2009;23:333-9.
- Arguelles MG, Berlanga ISL, Torres EA. Preparation of ^{153}Sm -particles for radiosynovectomy. *J Radioanal Nucl Chem* 1999;2:509-11.

10. Chakraborty S, Das T, Banerjee S, Subramanian S, Sarma HD, Venkatesh M. ^{175}Yb -labeled hydroxyapatite: a potential agent for use in radiation synovectomy of small joints. *J Nucl Med Biol* 2006;33:585-91.
11. Pandey U, Mukherjee A, Chaudhary PR, Pillai MRA, Venkatesh M. Preparation and studies with ^{90}Y -labeled particles for use in radiation synovectomy. *J Appl Radiat Isot* 2001;55:471-5.
12. Chinol M, Vallabhajosula S, Goldsmith SJ, Klein MJ, Deutsch KF, Chinen LK, Brodack JW, Deutsch EA, Watson BA, Tofe AJ. Chemistry and biological behavior of samarium-153 and rhenium-186-labeled hydroxyapatite particles: Potential radiopharmaceuticals for radiation synovectomy. *J Nucl Med* 1993;34(9):1536-42.
13. Aziz A. Pembuatan dan uji kualitas radioisotop iterbium-175 (^{175}Yb) untuk terapi melalui reaksi inti (n, γ) di reaktor TRIGA 2000 Bandung. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia* 2005;6(1):25-47.
14. Unni PR, Chaudhary PR, Venkatesh M, Ramamoorthy N, Pillai MRA. Preparation and bioevaluation of ^{166}Ho labeled hydroxyapatite (HA) particles for radiosynovectomy. *J Nucl Med Biol* 2002;29(2):199-209.
15. Savio E, Ures MC, Zeledon P, Trindade V, Paolino A, Mockford V, Malanga A, Fernandez M, Gaudiano J. ^{188}Re radiopharmaceuticals for radiosynovectomy: evaluation and comparison of tin colloid, hydroxyapatite and tin-ferric hydroxide macroaggregates. *BMC Nucl Med* 2004;4(1).
16. Kothari K, Suresh S, Sarma HD, Venkatesh M, Pillai MRA. ^{188}Re -labeled hydroxyapatite particles for radiation synovectomy. *J Appl Radiat Isot* 2003;58:463-8.
17. Chakraborty S, Das T, Banerjee S, Sarma HD, Venkatesh M. Preparation and preliminary biological evaluation of ^{177}Lu -labelled hydroxyapatite as a promising agent for radiation synovectomy of small joints. *Nucl Med Commun* 2006;27: 661-8.
18. Khalid M, Mushtaq A. Preparation and in vitro stability of (n, γ) yttrium-90 hydroxyapatite. *J Appl Radiat Isot* 2005;62:587-90.
19. Das MK, Nair KVV, Mukherjee A, Sarma HD, Pal S, Venkatesh M, et al. Preparation and evaluation of [$^{142}\text{Pr}/^{143}\text{Pr}$]-hydroxyapatite (HA) and [^{142}Pr]-DTPA for application in radionuclide therapy. Proceeding of the 5th International Conference on Isotopes; 25 – 29 April 2005Brussel, Belgium. p. 521-6.
20. Chakraborty S, Das T, Sarma HD, Venkatesh M, Banerjee S. Preparation and preliminary studies on ^{177}Lu -labeled hydroxyapatite particles for possible use in the therapy of liver cancer. *J Nucl Med Biol* 2008;35:589-97.
21. EANM Procedure Guidelines for radiosynovectomy, 2002.

