

PENGEMBANGAN SENYAWA BERTANDA ^{99m}Tc -GLUKOSA-6-FOSFAT UNTUK PENCITRAAN KELENJAR PINEAL

Nanny Kartini Oekar, Entit Susilawaty, Epy Isabela
Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknik Nuklir-BATAN

ABSTRAK

PENGEMBANGAN SENYAWA BERTANDA ^{99m}Tc -GLUKOSA-6-FOSFAT UNTUK PENCITRAAN KELENJAR PINEAL. Kelenjar pineal, adalah suatu kelenjar yang terletak di bawah otak kecil, dan berfungsi mensinkronkan beberapa fungsi dalam tubuh, juga menjaga kesetimbangan pada manusia dan hewan. Adanya kelainan pada kelenjar ini, menyebabkan terjadinya gangguan pada kesetimbangan dan bertambahnya tekanan pada *intracarnial*. Sampai saat ini, di Indonesia belum ada radiofarmaka yang dapat digunakan untuk mendeteksi organ tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan pembuatan senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat, kemudian akan dilanjutkan dengan formulasi bentuk kit-keringnya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat dapat dibuat dalam kondisi reaksi yang optimal, yaitu sebagai berikut: pH reaksi penandaan adalah 6,5 ; jumlah reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebesar 400 – 700 μg yang sebelumnya diikatkan terlebih dahulu dengan bahan pengompleks (*chelating agent*) Na-pirofosfat sebanyak 10,0 – 17,5 mg. Jumlah yang optimal dari glukosa-6-fosfat sebagai ligan utama adalah 11 mg, dan reaksi penandaan dilaksanakan dalam penangas air temperatur 60 $^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit. Efisiensi penandaan dan kemurnian radiokimia dari senyawa bertanda tersebut ditentukan dengan menggunakan 2 metode kromatografi, yang pertama dengan ITLC-SG/aseton untuk memisahkan ^{99m}Tc -perteknetat bebas, dan ke dua dengan kertas Whatman 31ET/NaCl 0,9 % untuk memisahkan ^{99m}Tc -tereduksi. Senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat terbaik yang dihasilkan, mempunyai kemurnian radiokimia 94 – 98 %, yang diharapkan memenuhi persyaratan sebagai radiofarmaka untuk pencitraan kelenjar pineal.

Kata kunci: kelenjar pineal, radiofarmaka, glukosa-6-fosfat, teknesium-99m.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF THE ^{99m}Tc -GLUCOSE-6-PHOSPHATE LABELLED COMPOUNDS FOR PINEAL GLAND IMAGING. Pineal gland is located under the cerebellum and its function synchronizes the several body functions and maintains the equilibrium function in human and the animals. The existence of pineal gland disorder causes the equilibrium disfunction and the increasing of intracarnial pressure. Up to now in Indonesia there is no radiopharmaceutical which is

able to used for pineal gland detection. The aims of this research is to create the techniques production of ^{99m}Tc -glucose-6-phosphate labelled compounds, and then will be continued to dry-kits formulation. The results shows that the technetium-99m labelled glucose-6-phosphate could be made in the optimal reaction conditions, which were: the reactions pH was 6.5, the amount of the reductor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ was 400 – 700 μg which was binded previously with 10.0 – 17.5 mg of Na-pyrophosphate as chelating agent. The optimal amount of glucose-6-phosphate was 11 mg, and labelling reactions was done at temperature 60 °C within 30 minutes in water bath. The labelling efficiency and the radiochemical purity of this labelled compound was determined by two methods chromatography, the first: used ITLC-SG/acetone for separating the free ^{99m}Tc -pertechnetate, the second: used Whatman 31ET/NaCl 0,9 % for separating the free ^{99m}Tc -reduced. The best of labelled compound produced, had 94 – 98 % of radiochemical purity, which is being wished to fullfil the requirements of the pineal gland radiopharmaceutical.

Key words: pineal gland, radiopharmaceuticals, glucose-6-phosphate, technetium-99m

PENDAHULUAN

Kelenjar *pineal*, adalah suatu kelenjar yang terletak di bawah *cerebellum* (otak kecil) dengan ukuran yang sangat kecil. Walaupun demikian, organ ini merupakan kelenjar yang sangat aktif, karena dapat meneruskan informasi yang diterima oleh tubuh secara tepat, dan dapat mensinkronkan beberapa fungsi di dalam tubuh. Kelenjar ini diketahui pula berperan dalam menjaga kesetimbangan pada tubuh manusia dan hewan.

Adanya kelainan pada kelenjar pineal, misalnya tumor akan menyebabkan terjadinya gangguan pada kesetimbangan dan bertambahnya tekanan pada *intracranial*. Sampai saat ini belum ada radiofarmaka yang dapat digunakan untuk mendeteksi organ tersebut.

Secara fungsional kelenjar ini sangat aktif, sehingga metabolisme yang terjadi di dalam kelenjar ini sangat cepat, dan untuk berlangsungnya metabolisme diperlukan senyawa glukosa terutama glukosa-6-fosfat. Molekul glukosa yang mempunyai banyak gugus $-\text{OH}$ dan $-\text{PO}_4^-$ diharapkan dapat berikatan dengan unsur teknesium-

^{99m}Tc , sehingga terbentuk senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat, baik dengan atau tanpa bantuan senyawa *co-ligand* atau *chelating agent* (senyawa pengompleks). Senyawa bertanda ini diharapkan akan turut dalam proses metabolisme dalam tubuh manusia dan hewan, sehingga akan terakumulasi pada kelenjar pineal, sehingga kelenjar tersebut dapat dideteksi dari luar tubuh dengan kamera gamma.

Dengan memanfaatkan dana dari Proyek Penelitian Pemanfaatan Reaktor TRIGA 2 MW di Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknik Nuklir - BATAN, Bandung, dilakukan penelitian untuk mengembangkan pembuatan senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat, yang dilanjutkan dengan mendesain formula kit-keringnya, sehingga dapat digunakan untuk menyiapkan sediaan radiofarmasi ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat untuk mendeteksi kelainan kelenjar pineal.

BAHAN DAN PERALATAN

Bahan yang digunakan adalah glukosa-6-fosfat buatan Sigma, timah(II) diklorida dihidrat, natrium pirofosfat, NaOH, HCl, asetonitril dan aseton yang semuanya buatan E.Merck. Larutan NaCl fisiologis, air untuk injeksi buatan IPHA, ITLC-SG buatan Gelman, kertas kromatografi Whatman 31ET dan kertas lakmus *universal*.

Peralatan yang digunakan adalah timbangan analitis (Sauter), alat pencacah saluran tunggal (Slumberger) dan seperangkat alat kromatografi.

TATA KERJA

Pemilihan metode yang tepat untuk menentukan besarnya efisiensi penandaan dan kemurnian radiokimia dari senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat

Beberapa sistem kromatografi dicoba, untuk dapat memisahkan senyawa ^{99m}Tc -perteknetat bebas, ^{99m}Tc -tereduksi, dan ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat. Fase diam yang digunakan adalah kertas Whatman 31ET dan ITLC-SG dengan ukuran masing-masing

1 x 10 cm, sedangkan fase gerak digunakan beberapa macam pelarut yaitu aseton, asetonitril 50 % dan NaCl fisiologis 0,9 % .

Pemilihan metode penandaan

Penandaan glukosa-6-fosfat dengan ^{99m}Tc -perteknetat dilakukan melalui dua macam metode:

1. Metode langsung :

^{99m}Tc -perteknetat direduksi oleh reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke tingkat oksidasi yang sesuai, kemudian akan bereaksi dengan ligan glukosa-6-fosfat, sehingga terbentuk senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat.

2. Metode tidak langsung dengan bantuan bahan pengompleks (*chelating agent*)

^{99m}Tc -perteknetat direduksi oleh $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang berada dalam lingkungan Na-pirofosfat dan akan bertindak sebagai bahan pengompleks. Pada awalnya akan terbentuk ^{99m}Tc -Sn-pirofosfat, setelah itu senyawa ini kemungkinan dengan melalui suatu reaksi substitusi akan berikatan dengan glukosa-6-fosfat sehingga terbentuk ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat.

Sebanyak 125 mg Na-pirofosfat dilarutkan dalam air untuk injeksi, kemudian ditambah 5 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan diaduk sampai larut sempurna. Sediaan ini sebagai **sediaan reduktor-bahan pengompleks Sn-pirofosfat** yang tiap 100 μL mengandung 100 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan 2,5 mg Na-pirofosfat yang akan digunakan selanjutnya dalam penelitian ini.

Penandaan dilakukan terhadap dua seri sediaan yang masing-masing dengan jumlah glukosa-6-fosfat yang bervariasi, yaitu dari 1; 2; 3 dan 4 mg. Seri yang pertama dilakukan dengan menggunakan metode langsung, sedangkan seri kedua menggunakan metode tidak langsung, yaitu dengan penambahan sediaan Sn-pirofosfat sebanyak 200 μL (200 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan 5 mg Na-pirofosfat). Besarnya efisiensi penandaan dari

masing-masing metode tersebut ditentukan dengan kromatografi yang sesuai, dan hasilnya dibandingkan.

Pemilihan kondisi inkubasi

Sediaan dibuat dengan kondisi yang terbaik seperti percobaan sebelumnya, tetapi campuran reaksi diinkubasi pada temperatur yang berbeda yaitu temperatur kamar dan 60 °C, dengan waktu untuk masing-masing temperatur adalah 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit. Kemudian besarnya efisiensi penandaan dibandingkan.

Optimalisasi pH penandaan

Percobaan penandaan dilakukan seperti percobaan sebelumnya, terhadap 7 buah sediaan yang masing-masing menggunakan glukosa-6-fosfat sebanyak 11,0 mg dan 400 µL larutan Sn-pirofosfat (mengandung 400 µg SnCl₂.2H₂O dan 10 mg Na-pirofosfat). Tiap sediaan diatur pH-nya mulai dari 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 dan 8,0. Ke dalam masing-masing sediaan ditambahkan larutan Na-^{99m}Tc-perteknetat sebanyak 5 mCi/ 0,25 mL. Kemudian sediaan ini diinkubasi selama 30 menit pada temperatur 60 °C, dan efisiensi penandaannya ditentukan dengan kromatografi.

Optimalisasi jumlah ligan glukosa-6-fosfat

Percobaan dilakukan dengan metode tidak langsung menggunakan berbagai jumlah ligan glukosa-6-fosfat yaitu 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 11,0 dan 12,0 mg yang masing-masing dalam bentuk padat, kemudian dimasukkan ke dalam 400 µL larutan reduktor Sn-pirofosfat (mengandung 400 µg SnCl₂.2H₂O dan 10 mg Na-pirofosfat). Setelah tercampur sempurna, sebanyak 5 mCi/0,25 mL larutan ^{99m}Tc-perteknetat dimasukkan ke dalamnya, selanjutnya pH sediaan diatur menjadi 6,5. Campuran ini diinkubasi selama 30 menit dalam penangas air temperatur 60 °C. Sebagai pembanding

(blanko), perlakuan yang sama dilakukan terhadap 400 μL sediaan Sn-pirofosfat tanpa penambahan senyawa glukosa-6-fosfat. Selanjutnya besarnya efisiensi penandaan ditentukan dengan kromatografi yang sesuai.

Optimalisasi jumlah reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan bahan pengompleks Na-pirofosfat

Percobaan ini dilakukan untuk mencari jumlah reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan bahan pengompleks Na-pirofosfat yang optimal, sehingga dihasilkan efisiensi penandaan yang maksimal. Larutan Sn-pirofosfat digunakan dengan volume yang bervariasi yaitu 100, 200, 300, 400, 500, 600 dan 700 μL , dan volumenya disamakan dengan penambahan air untuk injeksi. Kemudian ke dalam masing-masing larutan tersebut ditambahkan glukosa-6-fosfat sebanyak 11 mg dan pH diatur 6,5 – 7,0, selanjutnya ke dalam masing-masing vial ditambahkan larutan $\text{Na-}^{99\text{m}}\text{Tc}$ -perteknetat sebanyak 5 mCi/0,25 mL dan semua sediaan diinkubasi seperti percobaan sebelumnya. Masing-masing efisiensi penandaan/besarnya kemurnian radiokimia dari sediaan ditentukan dengan metode kromatografi yang sesuai.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Glukosa-6-fosfat adalah suatu senyawa yang mempunyai rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$ dengan berat molekul 260,14. Senyawa ini mempunyai 4 buah gugus hidroksil dan satu buah gugus fosfat, di mana salah satu atau lebih dari gugus-gugus tersebut dapat berikatan dengan teknesium-99m membentuk kompleks khelat organo-logam dengan unsur Tc sebagai atom pusatnya.

Senyawa bertanda $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -glukosa-6-fosfat ditujukan untuk digunakan sebagai sediaan radiofarmasi yang dapat mendeteksi kelainan kelenjar pineal pada manusia. Kemurnian dari sediaan, terutama kemurnian radiokimia sangat penting bagi suatu sediaan radiofarmasi, dan umumnya pustaka tentang radiofarmaka memberikan

persyaratan bahwa kemurnian radiokimia bagi suatu radiofarmaka tidak boleh lebih kecil dari 95 % bagi senyawa yang mudah untuk ditandai dengan radionuklida, tetapi bagi yang sukar tidak boleh lebih kecil dari 90% [2].

Pada umumnya radiofarmaka bertanda teknesium-99m dikemas dalam bentuk kit-kering, di mana senyawa non-radioaktif dikemas terpisah dari radionuklidanya, dan reaksi penandaan akan dilakukan di rumah sakit pada saat akan disuntikkan. Karena itu, hampir semua radiofarmaka bertanda teknesium-99m sebelum digunakan di rumah sakit, tidak melewati proses pemurnian terutama untuk mencapai kemurnian radiokimia yang tinggi. Hal ini menyebabkan penelitian untuk pengembangan radiofarmaka bertanda teknesium-99m menuntut dilakukannya suatu tahap penelitian mencari metode yang tepat untuk menentukan besarnya efisiensi penandaan yang juga menunjukkan besarnya kemurnian radiokimia.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari berbagai metode kromatografi yang digunakan, ternyata penggunaan fase diam ITLC-SG (1 x 10 cm) dengan fase gerak aseton dapat memisahkan pengotor radiokimia ^{99m}Tc-perteknetat bebas dan fase diam kertas Whatman 31ET (1 x 10 cm) dengan fase gerak larutan NaCl 0,9% dapat menentukan besarnya pengotor radiokimia ^{99m}Tc-tereduksi bebas. Dengan menggabungkan kedua hasil kromatografi tersebut, dapat diketahui besarnya efisiensi penandaan dan kemurnian radiokimia dari radiofarmaka yang dihasilkan.

Berdasarkan pustaka [6], bahwa dengan adanya senyawa-senyawa organik atau anorganik yang dapat lebih mudah membentuk kompleks dengan Tc, akan lebih memudahkan terbentuknya senyawa bertanda dengan molekul organik yang lebih kompleks termasuk molekul biologis, dengan metode tidak langsung. Artinya Tc=O (Tc-okso) akan terbentuk lebih mudah dengan adanya reduktor dan senyawa pengompleks, yang kemudian akan berikatan dengan glukosa-6-fosfat sebagai ligan utama. Dari hasil percobaan yang ditunjukkan oleh Tabel 1 membuktikan hal tersebut, terlihat adanya perbedaan yang berarti dari efisiensi penandaan dengan dan tanpa

penambahan Na-pirofosfat yang bertindak sebagai bahan pengompleks yang diikatkan terlebih dahulu dengan $\text{Sn}^{(II)}$.

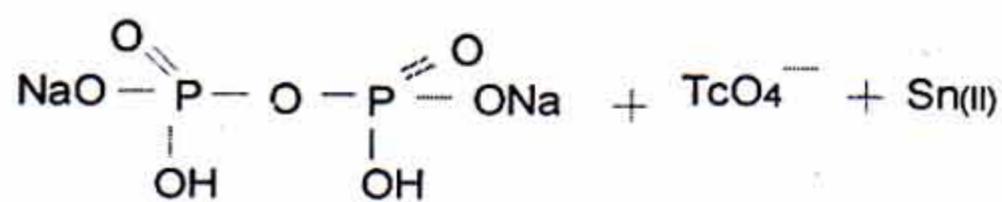
Tabel 1. Perbandingan efisiensi penandaan ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat dari dua macam metode penandaan, dengan jumlah ligan yang bervariasi

Jumlah Glukosa-6- fosfat (mg)	Besarnya efisiensi penandaan (%)					
	Metode langsung [*])			Metode tidak langsung ^{**)}		
	$^{99m}\text{Tc-red}$	$(^{99m}\text{TcO}_4)^-$	$^{99m}\text{Tc-GL-6-F}$	$^{99m}\text{Tc-red}$	$(^{99m}\text{TcO}_4)^-$	$^{99m}\text{Tc-GL-6-F}$
1,0	66,4	1,0	32,6	12,6	17,0	70,4
2,0	67,9	1,2	30,9	21,3	1,0	77,7
3,0	64,0	1,5	34,5	15,0	0,9	84,1
4,0	74,2	1,7	24,1	25,3	28,2	46,5

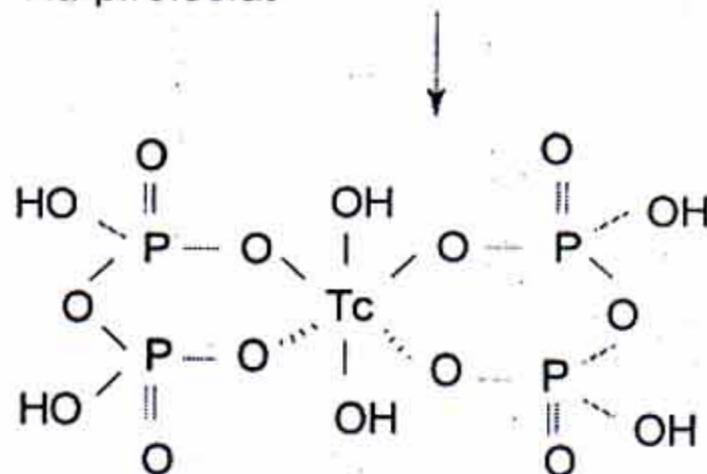
Keterangan : pH = 7,0, penandaan pada temperatur kamar, ^{*} reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 200 μg , ^{**} reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebesar 200 μg dan bahan pengompleks Na-pirofosfat 5,0 mg.

Teknesium-99m di dalam molekul ^{99m}Tc -perteknetat mempunyai bilangan oksidasi +7 (TcO_4^-), direduksi oleh ion Sn^{2+} menjadi bilangan oksidasi +4, dan kemudian membentuk kompleks dengan pirofosfat menjadi molekul yang berstruktur seperti yang tergambar pada Gambar 1. Kemudian molekul tersebut akan lebih mudah bereaksi dengan glukosa-6-fosfat, membentuk kompleks ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat.

Percobaan pemilihan kondisi inkubasi memberikan hasil bahwa reaksi penandaan tidak dapat dilaksanakan pada temperatur kamar, karena menghasilkan efisiensi penandaan yang rendah. Gambar 2 menunjukkan bahwa bila inkubasi dilakukan selama 10 menit hanya menghasilkan efisiensi penandaan 74 %, tetapi kemudian menurun pada penambahan waktu berikutnya dan sebaliknya senyawa ^{99m}Tc -perteknetat dan ^{99m}Tc -tereduksi yang bebas sebagai pengotor radiokimia semakin tinggi dengan perpanjangan waktu inkubasi tersebut. Pengotor ^{99m}Tc -perteknetat bebas mempunyai persentase yang tertinggi lebih dari 70 % pada 30 menit waktu inkubasi,

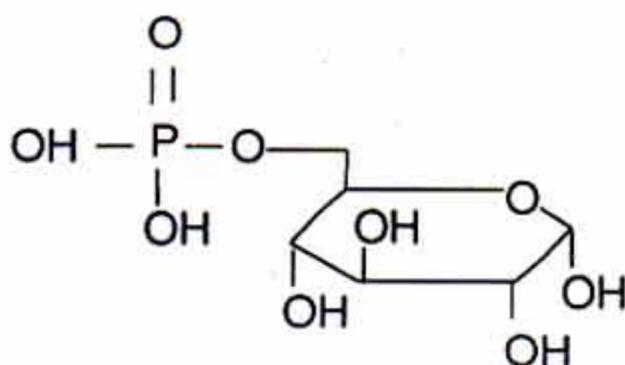


Na-pirofosfat



^{99m}Tc -pirofosfat

+

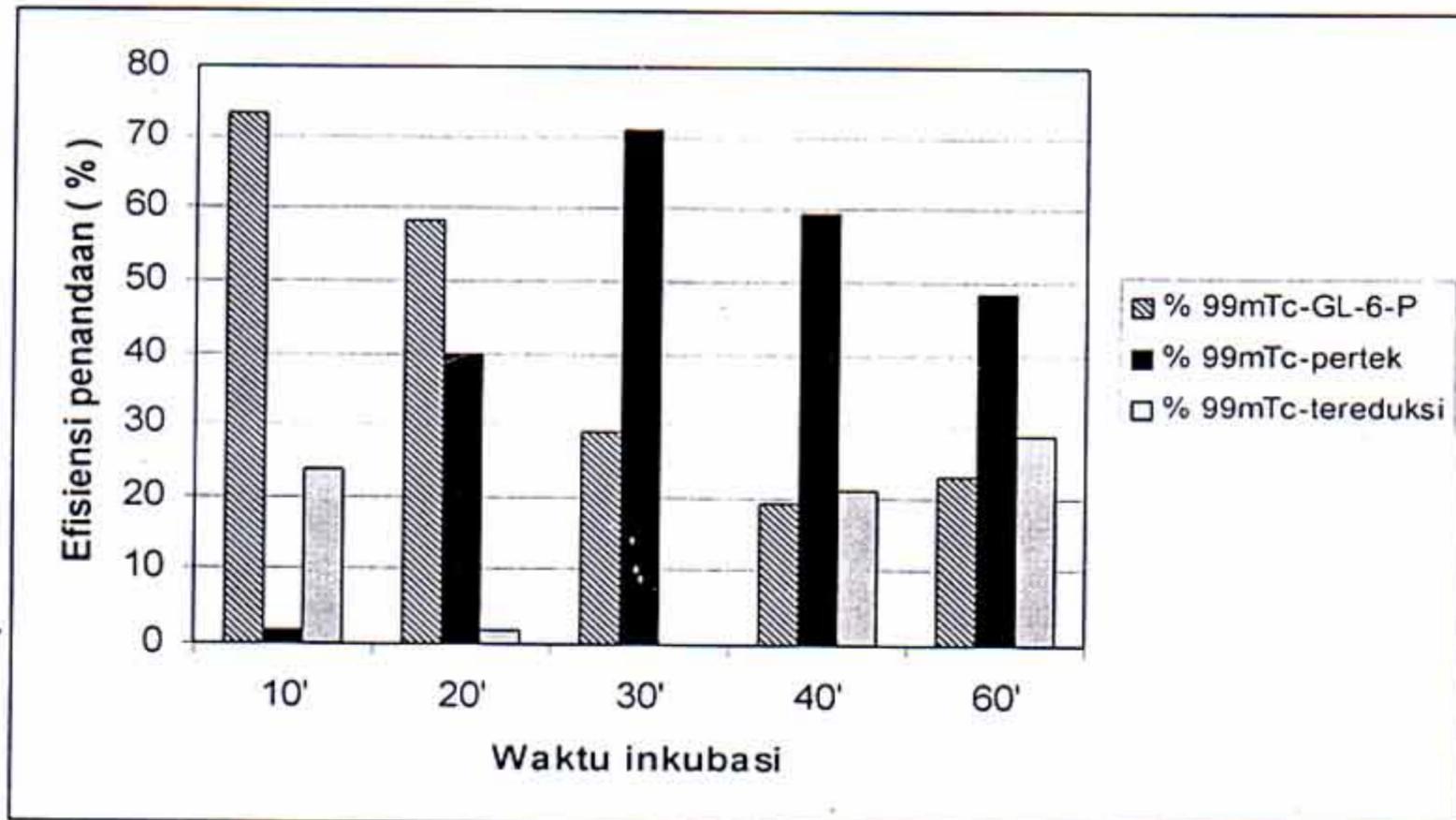


Glukosa-6-fosfat

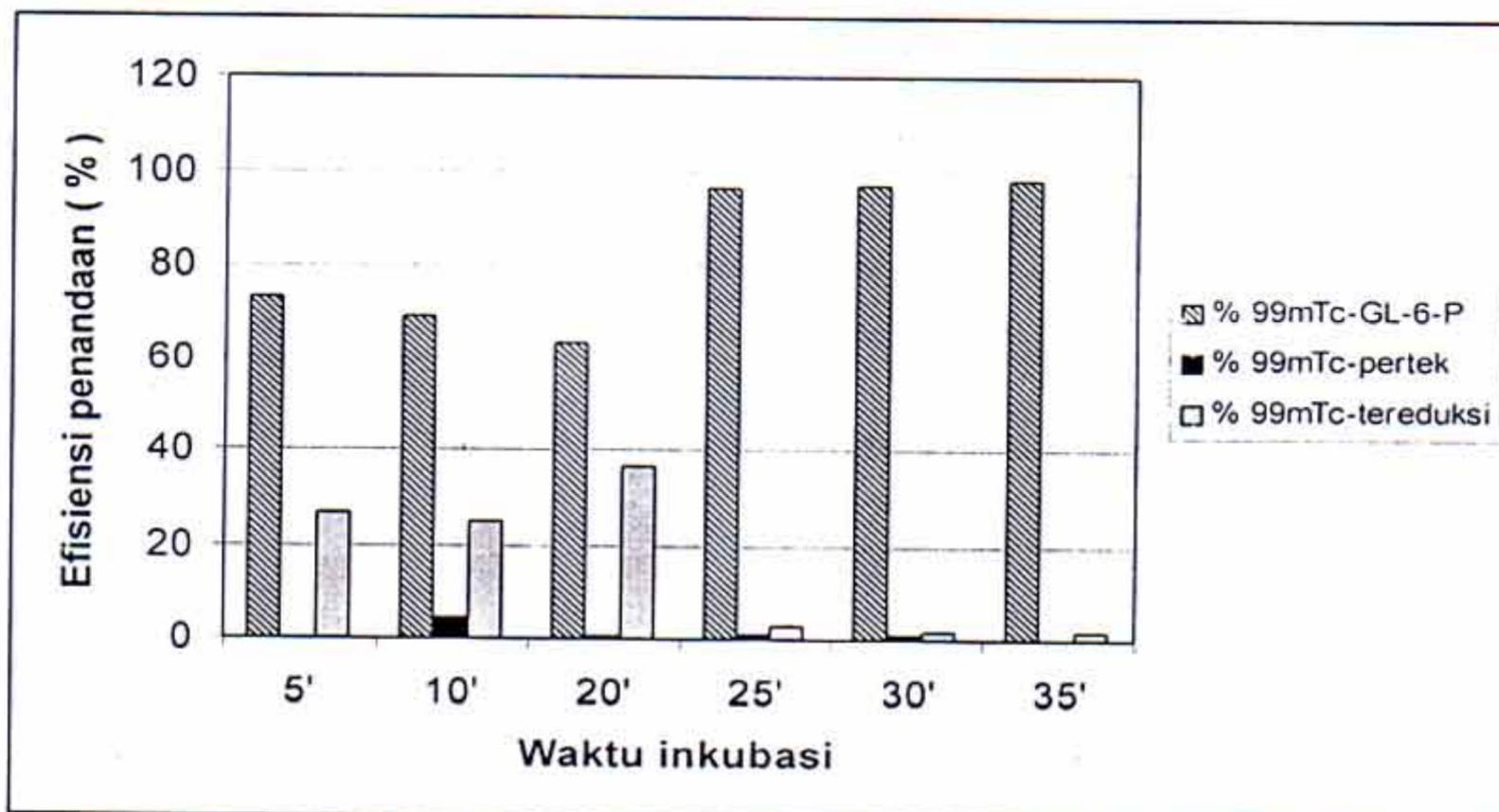


^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat

Gambar 1. Reaksi pembentukan kompleks ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat, melalui kompleks ^{99m}Tc -pirofosfat



Gambar 2. Hasil penandaan glukosa-6-fosfat dengan teknesium-99m inkubasi pada temperatur kamar



Gambar 3. Hasil penandaan glukosa-6-fosfat dengan teknesium-99m inkubasi pada temperatur 60 °C.

sedangkan pengotor ^{99m}Tc-tereduksi pada 60 menit, mencapai 30 %.

Perbaikan kondisi inkubasi dilakukan dengan cara menaikkan temperatur menjadi 60 °C. Gambar 3 menunjukkan bahwa efisiensi penandaan glukosa-6-fosfat dengan radionuklida teknesium-99m yang terbaik yaitu lebih besar dari 95%, mulai tercapai pada saat diinkubasi selama 25 menit, dan keadaan ini tetap bertahan sampai 35 menit. Senyawa lain sebagai pengotor radiokimia, terutama ^{99m}Tc-tereduksi-bebas, yang pada awalnya masih tampak, pada waktu tersebut sudah hilang. Berdasarkan hasil tersebut, kondisi inkubasi yang digunakan untuk percobaan selanjutnya adalah dengan memanaskan campuran reaksi dalam penangas air bertemperatur 60,°C selama 30 menit.

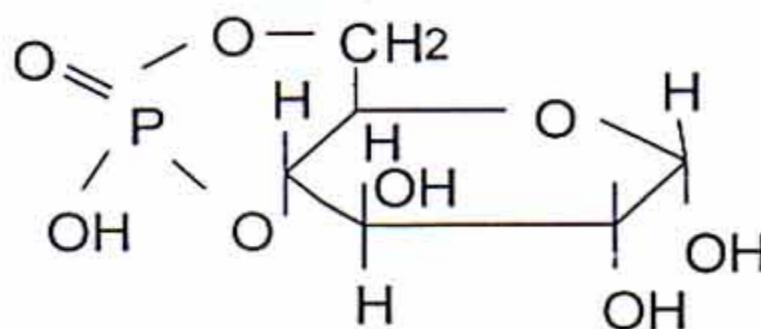
Reaksi penandaan dengan radioisotop teknesium-99m, seperti halnya reaksi kimia lain sangat dipengaruhi oleh pH. Reduktor Sn^(II) mempunyai daya reduksi yang maksimal pada pH asam, dan daya reduksi ini berkurang pada pH netral dan basa. Tetapi sebaliknya glukosa-6-fosfat sangat larut baik pada pH netral. Pada Tabel 2 membuktikan bahwa penandaan sangat baik bila berlangsung pada pH 6,5 dengan menghasilkan efisiensi penandaan sebesar $93,9 \pm 8,2$ %. Reduktor SnCl₂.2H₂O apabila digunakan dalam kondisi pH 6,5 tanpa penambahan Na-pirofosfat, menghasilkan suatu sediaan yang keruh. Hal ini terjadi disebabkan karena terbentuknya Sn(OH)₄ atau SnO₂ yang berbentuk koloid. Tetapi dengan metode tidak langsung, di mana Sn^(II) diikatkan dulu pada Na-pirofosfat, menghasilkan larutan senyawa bertanda ^{99m}Tc-glukosa-6-fosfat yang jernih dengan kemurnian radiokimia yang tinggi.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa efisiensi penandaan menjadi turun apabila reaksi terjadi pada pH agak basa yaitu 7,5 dan 8,0. Hal ini disebabkan karena gugus fosfat dalam molekul glukosa-6-fosfat pada pH basa terdapat dalam bentuk tak terdisosiasi seperti tertera dalam Gambar 4, sehingga akan lebih sulit berikatan dengan teknesium-99m [4].

Tabel 2. Besarnya efisiensi penandaan ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat pada berbagai pH.

No.	pH sediaan pada saat penandaan	Efisiensi penandaan (%)
1.	5,0	74,2 ± 2,1
2.	5,5	76,5 ± 1,9
3.	6,0	80,6 ± 1,1
4.	6,5	93,9 ± 8,2
5.	7,0	91,4 ± 2,5
6.	7,5	68,2 ± 0,0
7.	8,0	69,6 ± 2,1

Keterangan : jumlah glukosa-6-fosfat = 11 mg, larutan Sn-pirofosfat 400 μL yang mengandung 400 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan 10 mg Na-pirofosfat, inkubasi 30 menit pada 60 °C (n = 3).



Gambar 4. Bentuk molekul glukosa-6-fosfat pada pH basa [4].

Pada Tabel 3 terlihat, bahwa jumlah glukosa-6-fosfat yang optimal adalah sebesar 11,0 mg, dengan menghasilkan efisiensi penandaan tertinggi yaitu sebesar 93,9 ± 8,2 % dan sudah memenuhi persyaratan kemurnian radiokimia bagi suatu radiofarmaka, tetapi derajat kedapat-ulangannya rendah. Jumlah 11,0 mg ini, yang selanjutnya digunakan dalam percobaan berikutnya. Hasil pada Tabel 3 juga

menjelaskan bahwa apabila penandaan dilakukan tanpa adanya glukosa-6-fosfat, dan dianggap yang terjadi adalah kompleks ^{99m}Tc -pirofosfat, maka efisiensi penandaan dari senyawa tersebut hanya sebesar $6,7 \pm 2,6 \%$.

Tabel 3. Besarnya efisiensi penandaan ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat pada berbagai jumlah glukosa-6-fosfat.

No.	Jumlah glukosa-6-fosfat (mg)	Efisiensi penandaan (%)
1.	0,0	$6,7 \pm 2,6$ *)
2.	1,0	$73,0 \pm 1,1$
3.	2,5	$70,4 \pm 0,9$
4.	5,0	$77,7 \pm 2,1$
5.	7,5	$84,1 \pm 2,0$
6.	10,0	$90,5 \pm 1,5$
7.	11,0	$93,9 \pm 8,2$
8.	12,0	$91,2 \pm 3,1$

Keterangan : pH sediaan = 6,5 , larutan Sn-pirofosfat 400 μL (mengandung $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 400 μg dan Na-pirofosfat 10 mg), inkubasi 30 menit pada 60°C ($n = 3$).

*) menunjukkan persentase ikatan ^{99m}Tc dengan Na-pirofosfat tanpa adanya ligan glukosa-6-fosfat.

Untuk mengetahui jumlah Sn-pirofosfat yang optimal, dilakukan percobaan dengan menggunakan kondisi penandaan yang telah diketahui ideal dari percobaan sebelumnya, yaitu dengan glukosa-6-fosfat sebanyak 11,0 mg, pH penandaan 6,5 dan campuran reaksi diinkubasi pada 60°C selama 30 menit, tetapi jumlah larutan reduktor Sn-pirofosfat yang bervariasi, dimulai dari 100 μL sampai dengan 700 μL . Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4, dan ternyata dengan mulai menggunakan larutan Sn-pirofosfat sebanyak 400 μL , yang mengandung $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 400 μg dan Na-pirofosfat

10,0 mg telah mulai menunjukkan efisiensi penandaan sebesar 93,9 %. Hasil ini terus meningkat sampai $98,2 \pm 1,0$ % pada penggunaan larutan Sn-pirofosfat sebanyak 700 μL ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 700 μg dan Na-pirofosfat 17,5 mg).

Tabel 4. Besarnya efisiensi penandaan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -glukosa-6-fosfat dengan berbagai macam jumlah reduktor Sn-pirofosfat (tiap 100 μL larutan reduktor mengandung 100 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan 2,5 mg Na-pirofosfat).

No.	Jumlah reduktor Sn-pirofosfat μL ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Efisiensi penandaan (%)
1.	100 (100 μg / 2,5 mg)	$47,4 \pm 3,1$
2.	200 (200 μg / 5,0 mg)	$48,5 \pm 3,9$
3.	300 (300 μg / 7,5 mg)	$49,5 \pm 2,1$
4.	400 (400 μg / 10,0 mg)	$93,9 \pm 8,2$
5.	500 (500 μg / 12,5 mg)	$94,7 \pm 1,5$
6.	600 (600 μg / 15,0 mg)	$95,8 \pm 1,6$
7.	700 (700 μg / 17,5 mg)	$98,2 \pm 1,0$

Keterangan : jumlah glukosa-6-fosfat 11,0 mg, pH penandaan 6,5 dan inkubasi selama 30 menit pada 60°C ($n = 3$).

KESIMPULAN

Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

- ◆ Senyawa glukosa-6-fosfat dapat ditandai dengan radionuklida Tc-99m melalui metode tidak langsung, yaitu dengan menggunakan Na-pirofosfat sebagai bahan pengompleks.
- ◆ Kondisi penandaan yang optimal adalah dengan menggunakan glukosa-6-fosfat sebanyak 11,0 mg, reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 400 - 700 μg yang telah

berikatan dengan Na-pirofosfat sebanyak 10,0 – 17,5 mg , dan pH sediaan pada saat penandaan adalah 6,5.

- ◆ Reaksi penandaan dilakukan pada temperatur 60 °C dalam penangas air selama 30 menit.
- ◆ Efisiensi penandaan ditentukan dengan kromatografi kertas, menggunakan kertas Whatman 31ET (1 x 10 cm) dengan pelarut NaCl 0,9 % untuk memisahkan ^{99m}Tc -tereduksi bebas yang tidak berikatan dengan glukosa-6-fosfat, dan sistem ITLC-SG (1 x 10 cm)/ aseton untuk memisahkan ^{99m}Tc -perteknetat bebas. Bersamaan dengan penentuan besarnya efisiensi penandaan ini, dapat diketahui pula kemurnian radiokimia dari sediaan ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat yang dihasilkan.
- ◆ Senyawa bertanda ^{99m}Tc -glukosa-6-fosfat yang dihasilkan dengan kondisi penandaan ini, mempunyai kemurnian radiokima berkisar antara 94 – 98 %. Diharapkan sediaan ini dapat digunakan untuk melakukan pencitraan kelenjar pineal, sehingga kelainan yang terjadi pada kelenjar ini dapat diketahui lebih dini.

DAFTAR PUSTAKA

1. REBIERO, M.J., SANTOS, A.C., DE LIMA, J.J.P., Labelling of the pineal gland with ^{99m}Tc -glucose-6-phosphate, *Modern Trend in Radiopharmaceuticals for Diagnosis and Therapy*, IAEA-TECDOC 1029, Austria, (1998) 221-225.
2. OWUNWANNE, A., PATEL, M., SADEK, S., *The Handbook of Radiopharmaceuticals*, Chapman & Hall Medical, London, 1995: 94-95.
3. NUNN, A.D., *Radiopharmaceuticals Chemistry and Pharmacology*. Marcel Dekker Inc., New York, 1992.
4. PINE, S.H., HENDRICKSON, J.B., CRAM, D.J., HAMMOND, G.S., *Organic Chemistry*, Edisi Bahasa Indonesia, Penerbit ITB, 1988: 851.
5. LEHNINGER, A.L., *Principles of Biochemistry*, Edisi Bahasa Indonesia, Penerbit Erlangga, 1982: 35-53.