

PENENTUAN DISTRIBUSI GLUKOSA ^{14}C DALAM TUBUH TIKUS MENGUNAKAN OTORADIOLUMINOGRAFI

Mudjiono, Tri Retno D.L. dan Darlina
Pusat Pendayagunaan Iptek Nuklir - BATAN

ABSTRAK

PENENTUAN DISTRIBUSI GLUKOSA ^{14}C DALAM TUBUH TIKUS MENGGUNAKAN OTORADIOLUMINOGRAFI. Distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C dalam tubuh tikus telah dapat ditentukan dengan menggunakan metode otoradioluminografi. Pada percobaan ini digunakan pelacak ^{14}C dari radionuklida yang memancarkan β dengan daya tembus 20 μm , karena akan menghasilkan citra dengan resolusi tinggi. Kondisi lain yang harus diperhatikan adalah tebal *spacer* yang diletakkan antara sampel dan film, karena akan mempengaruhi penampakan citra yang dihasilkan. Secara kualitatif, distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C yang sangat tinggi ditemui dalam otak, hati, ginjal dan otot rangka, sedangkan pada organ lain distribusi konsentrasi glukosanya relatif lebih rendah. Hal ini disebabkan glukosa digunakan otak sebagai bahan bakar, sebagian glukosa disimpan di dalam otot dan hati sebagai glikogen dan di dalam ginjal glukosa diserap balik secara bebas. Penggunaan metode otoradioluminografi relatif baru khususnya di Indonesia, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, karena hal ini sangat penting berkaitan dengan keakuratan dalam pemilihan radiosotop dan dosis yang tepat untuk diagnosis dan terapi.

Kata kunci : distribusi, glukosa ^{14}C , otoradioluminografi

ABSTRACT

DETERMINATION OF ^{14}C -GLUCOSE DISTRIBUTION IN RAT USING AUTORADIOLUMINOGRAPHY. Distribution of ^{14}C -glucose concentration in rat has been evaluated using autoradioluminography method. Under this experiment ^{14}C as β -emitter with penetration depth of 20 μm in tissue was used as tracer. This tracer has been chosen in order to obtain high resolution imaging. The other condition that must be taken into consideration is the thickness of spacer between sample and film, because it will affect the image. The qualitative distribution of ^{14}C -glucose concentration was found very high in brain, heart, kidney and muscle.

However, glucose concentration was relatively low in the other organ. In brain glucose is used as fuel, part of glucose was saved in muscle and liver as glycogen and it is freely resorbed in kidney. Autoradioluminography method is relatively new in Indonesia, therefore research on autoradioluminography must be developed, due to correlation in choosing radioisotopes and doses of radioactivity for diagnosis and therapy.

Key words : distribution, ^{14}C -glucose, autoradioluminography

I. PENDAHULUAN

Dewasa ini penelitian dan pengembangan radioisotop dalam bidang biologi telah berkembang sangat pesat. Para peneliti tanpa mengenal lelah berusaha dengan sungguh-sungguh untuk mendapatkan radioisotop yang tepat guna dalam terapi. Dalam perkembangan selanjutnya para peneliti tidak hanya memfokuskan pada pemilihan radioisotop dan dosis yang tepat untuk terapi, tetapi juga mengembangkan suatu metode untuk memantau distribusi radioisotop dalam sistem organisme hidup (manusia, hewan dan tanaman) baik secara kualitatif maupun kuantitatif dengan keakuratan dan kepekaan yang sangat tinggi.

Salah satu metode untuk menentukan distribusi radioisotop dalam tubuh makhluk hidup adalah otoradiografi. Metode otoradiografi pertama kali digunakan untuk melacak distribusi polonium di dalam bahan uji (*spesimen*) biologi. Otoradiografi adalah metode fotografi yang digunakan untuk mencatat distribusi dan keberadaan senyawa radioaktif yang terkandung di dalam bahan uji biologi. Metode otoradiografi dibagi menjadi 3 bagian, yaitu makro otoradiografi, mikro otoradiografi dan elektromikroskop otoradiografi. Antara satu metode dengan metode yang lain masing-masing mempunyai perbedaan yang cukup bermakna^[1].

Metode makrootoradiografi dapat digunakan untuk mencatat distribusi radioaktif pada bahan uji tanaman, hewan dan mineral serta lainnya dengan bahan uji yang luas. Dalam metode ini, digunakan film sinar-X tanpa layar langsung terhadap bahan uji. Metode mikrootoradiografi hampir sama dengan makrootoradiografi, yang membedakan adalah besar bahan uji yang digunakan. Dalam metode ini digunakan bahan uji dalam ukuran mikro, dan distribusi dari radioaktivitas ditentukan dengan pengamatan secara yang mikroskopis, sehingga diperlukan teknik khusus agar diperoleh resolusi yang sangat tinggi. Sedangkan metode elektromikroskop otoradiografi menggunakan mikroskop elektron dalam pengamatannya.

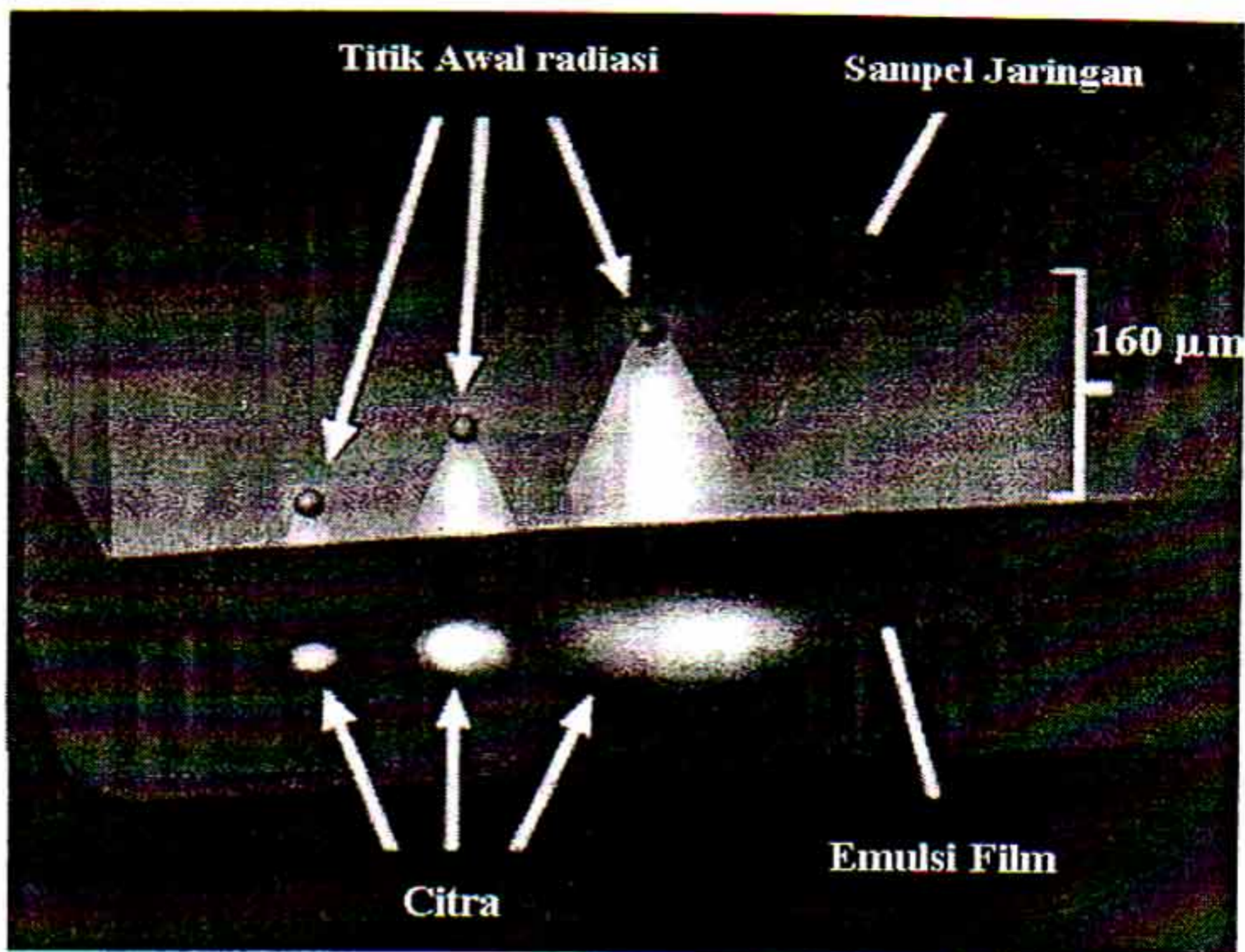
Di samping itu terdapat juga metode *whole body autoradiography* (WBA) yang merupakan pengembangan dari metode makro otoradiografi. Metode WBA disebut juga *autoradioluminografi*, banyak digunakan sebagai metode percobaan penelitian dasar tentang distribusi dan farmakokinetika berbagai materi di dalam tubuh hewan. Metode otoradioluminografi ini dapat digunakan untuk mencatat distribusi senyawa bertanda radioaktif yang lebih komprehensif, sehingga diperoleh informasi yang lebih rinci tentang konsentrasi radioaktivitas lokal pada jaringan dalam tubuh hewan. Penggunaan otoradioluminografi juga ditujukan untuk pengukuran ikatan ligan dan interaksi terhadap obat ^[2].

Senyawa radioaktif yang digunakan dalam metode otoradioluminografi di antaranya senyawa *trifluoroiodomethane* yang dilabel dengan ^{131}I dapat digunakan untuk mengukur *cerebral blood flow* pada tikus. Penggantian dengan *iodotipylene* yang dilabel dengan ^{14}C dapat menghasilkan pengukuran *cerebral blood flow* yang lebih akurat dan merupakan senyawa pelacak acuan yang mudah berdifusi dan sering digunakan dalam penelitian biologi. Untuk mengukur laju metabolisme glukosa digunakan pelacak deoksiglukosa yang dilabel dengan ^{14}C ^[3]. Glukosa merupakan

bahan bakar utama bagi tubuh makhluk hidup, dengan mengetahui distribusi glukosa dalam tubuh akan diketahui gambaran fungsi metabolisme organ tubuh.

Pada percobaan ini glukosa digunakan sebagai ligan, karena glukosa merupakan bahan bakar utama bagi tubuh, oleh karena itu metabolisme glukosa ke seluruh tubuh perlu diketahui. Sebagai *tracer* (pelacak) dalam metode otoradioluminografi ini digunakan radionuklida pemancar β , seperti ^3H dan ^{14}C . Pelacak ^{14}C digunakan karena lintasan dalam jaringan lebih panjang. Dari data nuklir diperoleh bahwa 90% radiasi β yang dipancarkan ^{14}C akan menembus jaringan sedalam 20 μm , sebagai perbandingan radiasi β yang dipancarkan oleh ^3H hanya menembus jaringan sedalam 1 μm (Gambar 1). Tampak bahwa radiasi β dari ^{14}C dengan lintasan lebih panjang dalam jaringan akan menghasilkan citra dengan resolusi tinggi ^[4].

Dalam makalah ini dibahas penentuan distribusi glukosa yang dilabel dengan ^{14}C di dalam tubuh tikus dengan menggunakan metode otoradioluminografi. Eksperimen dilakukan di Laboratorium Radiografi, *Tokyo Education Center, Nuclear Technology and Education Center, Honkomagome, Bunkyo-ku Tokyo, JAERI - JAPAN*. Diharapkan makalah ini dapat memberikan informasi tambahan tentang penggunaan otoradioluminografi dalam menentukan distribusi glukosa ^{14}C dalam tubuh tikus.



Gambar 1. Efek radiasi terhadap ketebalan jaringan ^[4]

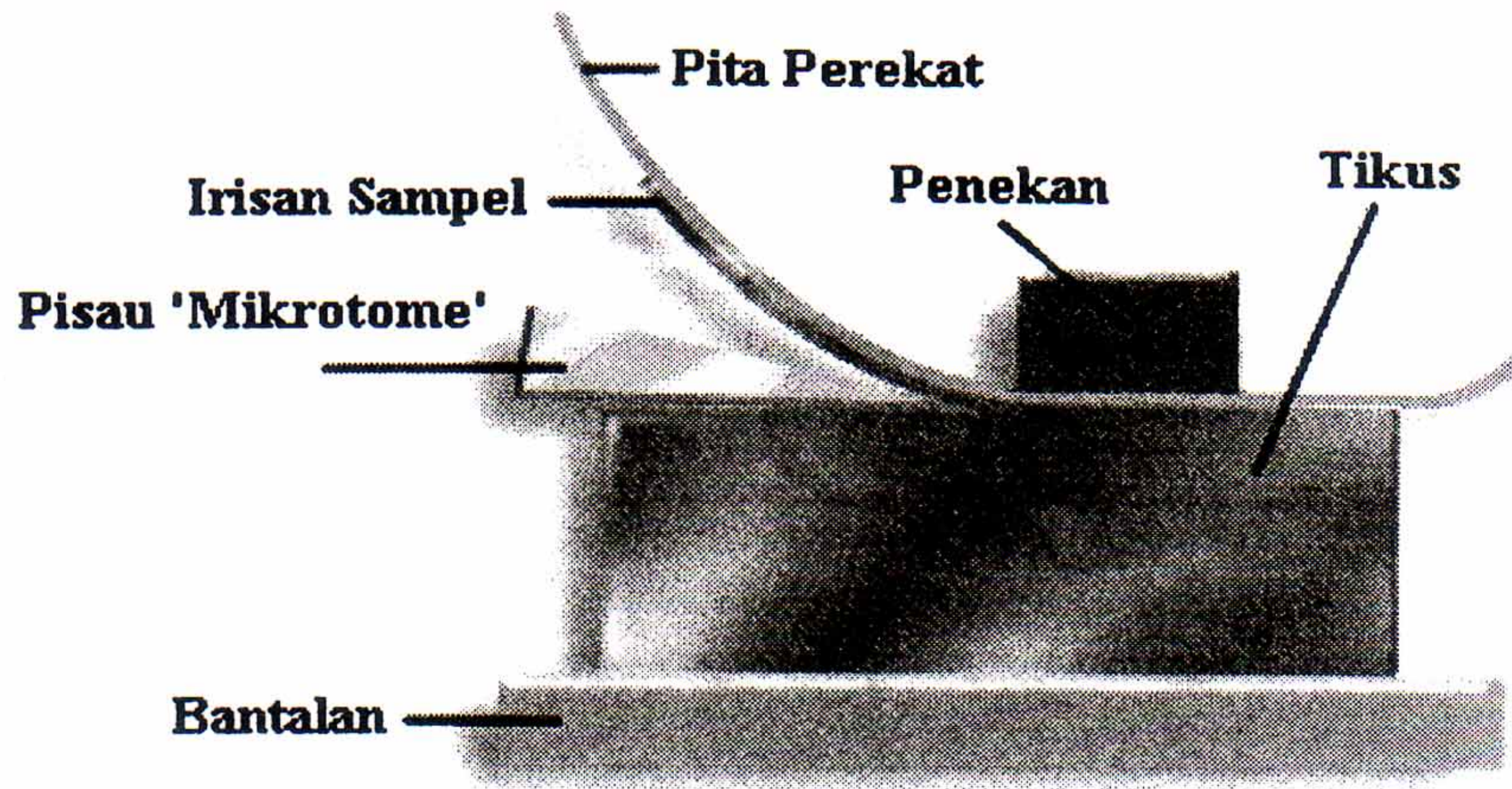
2. TATA KERJA ^[1]

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah tikus dengan berat tubuh ± 120 gram, 1,85 MBq glukosa yang dilabel dengan ^{14}C dalam 0,5 mL larutan garam. Peralatan yang digunakan adalah 1 unit *frozen block* (terdiri dari alat penyayat tikus, pendingin), Pita perekat (scotch no. 810), *Developer* (Fuji Rendol), *stop bath* (air atau larutan asam asetat 1,5%), *fixer* (Fuji Superfix) dan air, *Stop watch*, Film sinar-X (Fuji Ix-150) dan *Imaging Plate* (pelat pencitra).

2.2. Persiapan Sampel

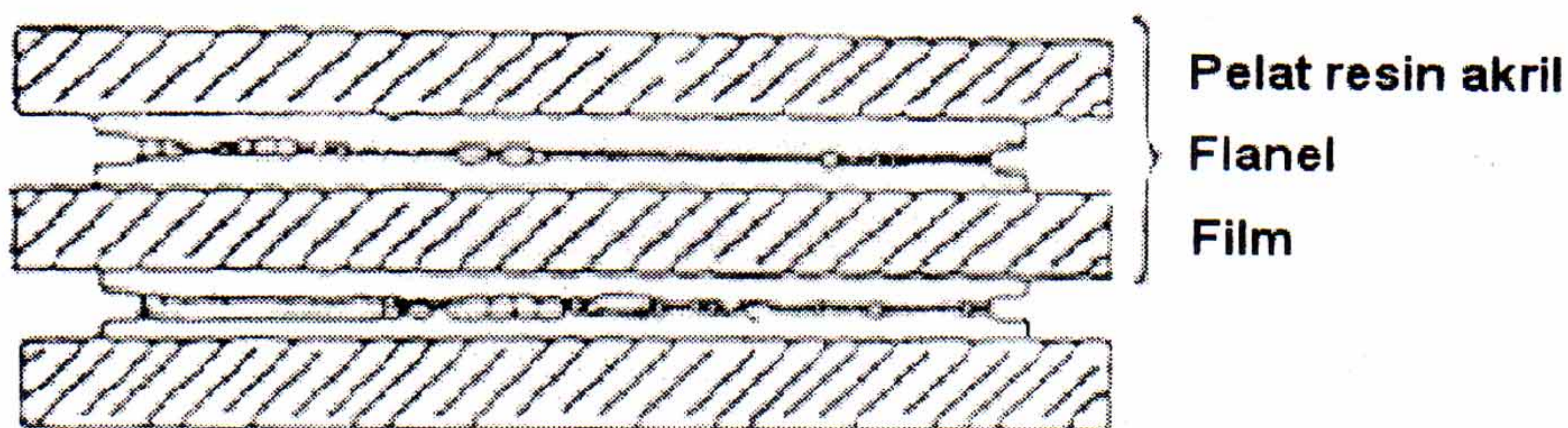
- Rongga abdominal tikus (berat badan 120 gram) diinjeksi dengan 0,5 mL larutan garam yang mengandung 1,85 MBq dari Glukosa-¹⁴C. Setelah sekitar 10 menit, urine tikus dikeluarkan dengan menggunakan kertas saring atau kapas penyerap untuk menjaga kontaminasi dengan rambut dan sentuhan kulit.
- Tikus dibunuh dalam tabung (*ether anesthetizing container*), lalu ekor tikus dipegang dengan penjepit dan postur tikus dijaga tidak berubah, kemudian diletakkan dalam *frozen block* dengan posisi kepala di bawah.
- Tikus kemudian didinginkan untuk menjaga agar darah tikus tidak mencair. Proses pendinginan tersebut menggunakan *hexana* (suhu -70⁰C) yang diletakkan dalam *dewar* agar bejana *frozen block* mencapai suhu -50⁰C. Setelah itu *hexana* yang menempel pada bulu tikus beku dibersihkan dengan kertas lap. Tikus dinaikkan suhunya kira-kira -15 s/d -20⁰C dengan membiarkannya beberapa jam dan juga untuk menguapkan *hexana*.
- Kaki dan ekor tikus dipotong dengan pisau tipis, kemudian posisi sisi kiri atau kanan tubuh tikus diletakkan dan dilem pada bidang datar. Setelah itu tubuh tikus dipotong dengan ketebalan 1 - 1,5 cm dari garis tengah.
- Pita perekat (*adhesive tape "scotch no. 810"*) direkatkan pada permukaan tikus kira-kira 1,5-2 kali lebih panjang.
- Tikus disayat dengan alat pemotong yang sangat tajam untuk mendapatkan sampel tikus yang tipis melekat pada *adhesive tape*. (Gambar 2)



Gambar 2. Cara pembuatan sampel tikus ^[3]

2.3. Persiapan dan Proses Fotografi

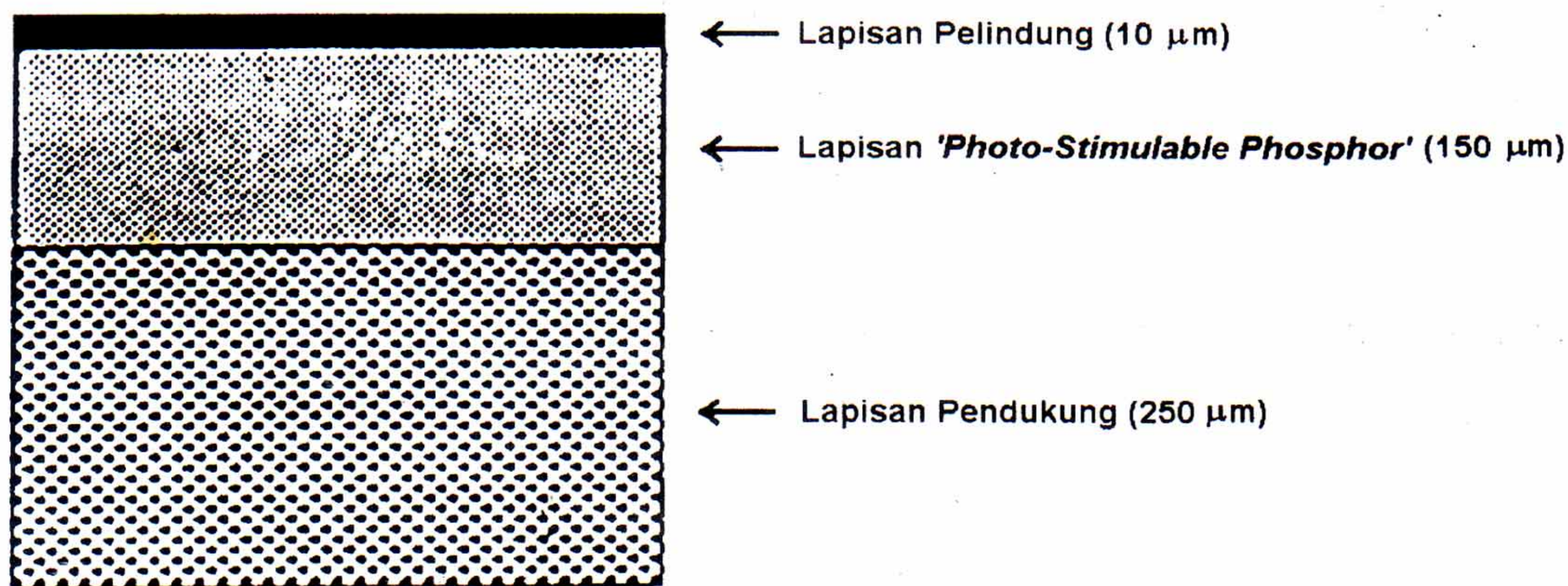
- Dalam ruang gelap sampel disusun seperti pada Gambar 3, kemudian dijepit dengan klip agar posisinya tidak berubah. Setelah itu dilakukan pemaparan dengan sinar-X. Hasil pemaparan diletakkan dalam kotak untuk dilakukan proses cuci film hasil sinar-X.
- Setelah pemaparan, film diambil dari kotak dalam ruang gelap untuk cuci film. Mula-mula film direndam dalam *developer* selama 4 menit, kemudian direndam dalam *stop bath*, setelah itu direndam dalam larutan *fixer* selama 4 menit dan yang terakhir dibersihkan dengan air yang mengalir selama 15-30 menit.



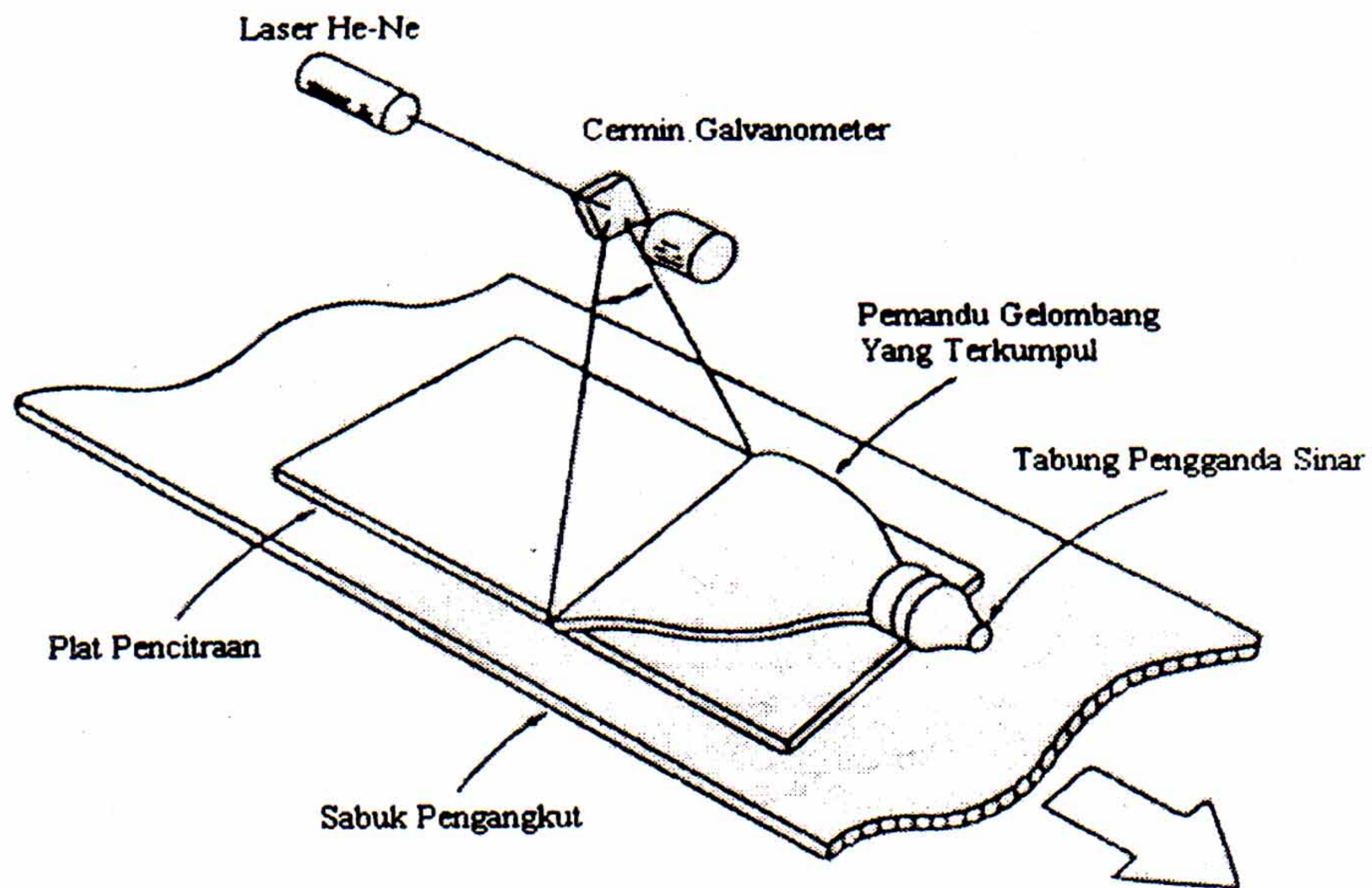
Gambar 3. Pengaturan sampel ^[1]

2.4. Proses Pengamatan dengan Pelat Pencitra (*Imaging Plate*)

Sampel dianalisis menggunakan pelat pencitra untuk mendapatkan distribusi radioisotop dalam tubuh tikus. Pengamatan distribusi radioisotop pada organ tikus dilakukan dengan cara membandingkan hasil yang dicapai dalam percobaan dengan standar yang telah ditentukan pada alat tersebut. (Struktur dan prinsip kerja pelat pencitra ditunjukkan pada Gambar 4 dan 5)



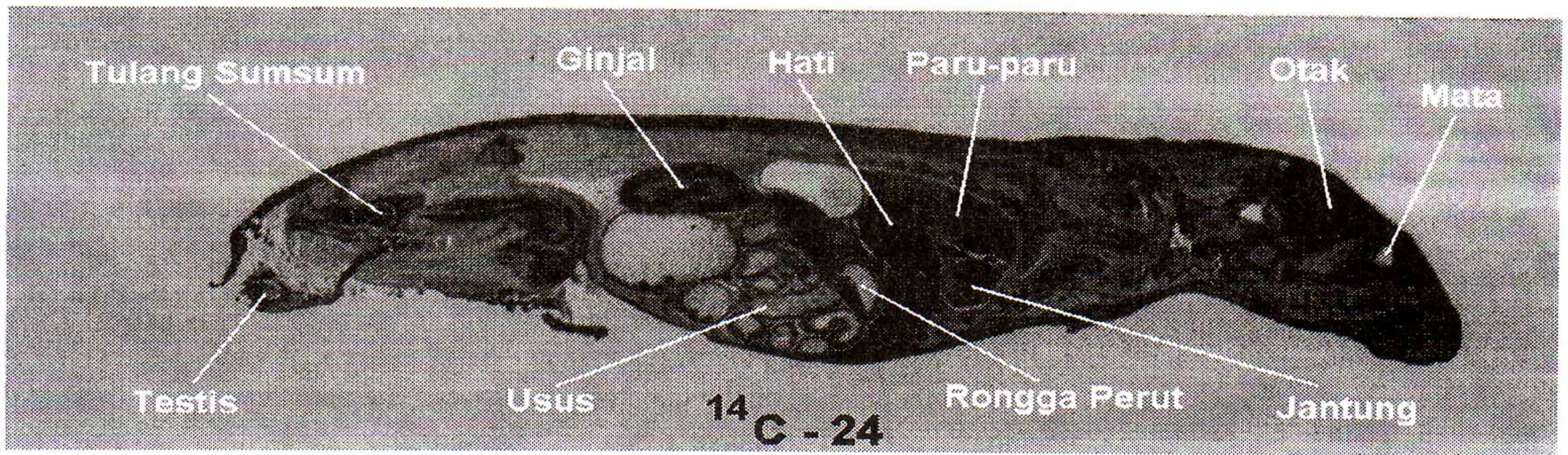
Gambar 4. Struktur komposit dari pelat pencitra ^[1]



Gambar 5. Prinsip pembacaan citra radiasi dari pelat pencitra ^[1]

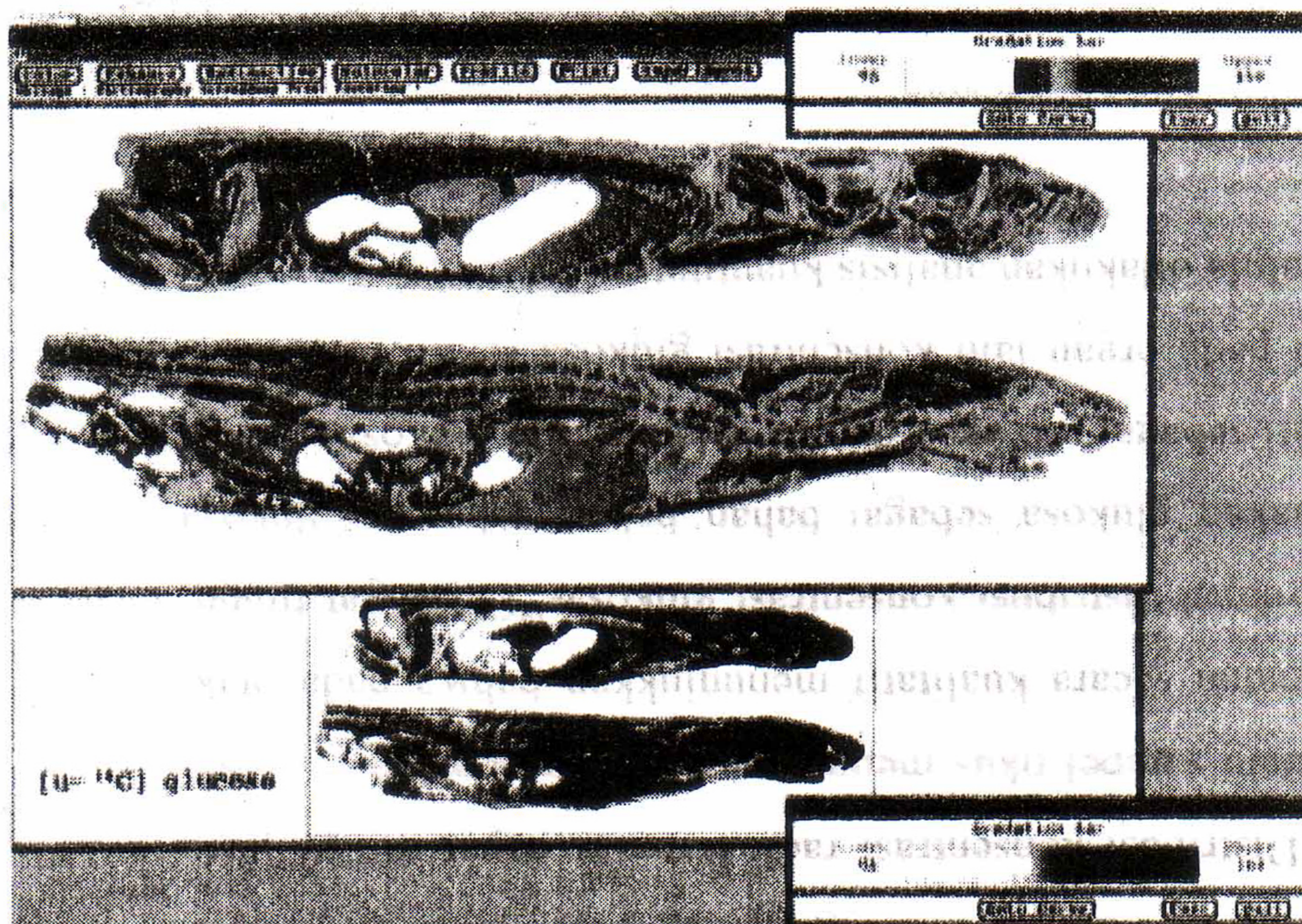
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan irisan tikus yang telah diinjeksi dengan glukosa- ^{14}C kemudian dicetak dalam film dan dicitrakan dengan menggunakan pelat pencitra seperti ditunjukkan pada Gambar 6. Distribusi konsentrasi radioaktivitas dapat dilihat pada gambar, daerah yang gelap dalam sampel tikus menggambarkan konsentrasi glukosa- ^{14}C yang tinggi. Hasil pengamatan secara kualitatif menunjukkan bahwa pada otak, hati, ginjal dan otot rangka terdapat distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C sangat tinggi, hal ini karena otak menggunakan glukosa sebagai bahan bakar, sebagian glukosa disimpan di dalam otot dan hati sebagai glikogen dan di dalam ginjal glukosa diserap balik secara bebas, sedangkan pada organ lain konsentrasi glukosa relatif rendah ^[5]. Hal ini dapat diperkuat lagi apabila dilakukan analisis kuantitatif.



Gambar 6. Sampel tikus setelah dicitrakan

Sebagai perbandingan, hasil pencitraan dengan menggunakan analisis kualitatif dan kuantitatif seperti yang telah dilakukan oleh Akiyo Shigematsu [2] dapat dilihat pada Gambar 7. Dalam analisis kuantitatif perbandingan distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C dapat ditentukan secara tepat. Pengaturan gradasi warna dari distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C dapat dilakukan, karena dalam sistem alat pencitra dilengkapi program perhitungan secara komputer. Konsentrasi keradioaktifan berdasarkan kepekaan warna yang telah dikalibrasi dengan standar sesuai zat radioaktif yang digunakan. Gambar 7 memperlihatkan distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C dalam tubuh tikus. Secara kuantitatif konsentrasi glukosa- ^{14}C dalam otak sebesar 48%; hati 20,5%; ginjal 17,1%; otot 16,3% dan paru-paru 4,1% (Tabel 1) [2].



Gambar 7. Lokasi distribusi glukosa- ^{14}C dalam organ tikus [2]

Tabel 1. Besar konsentrasi glukosa- ^{14}C dalam organ tikus.

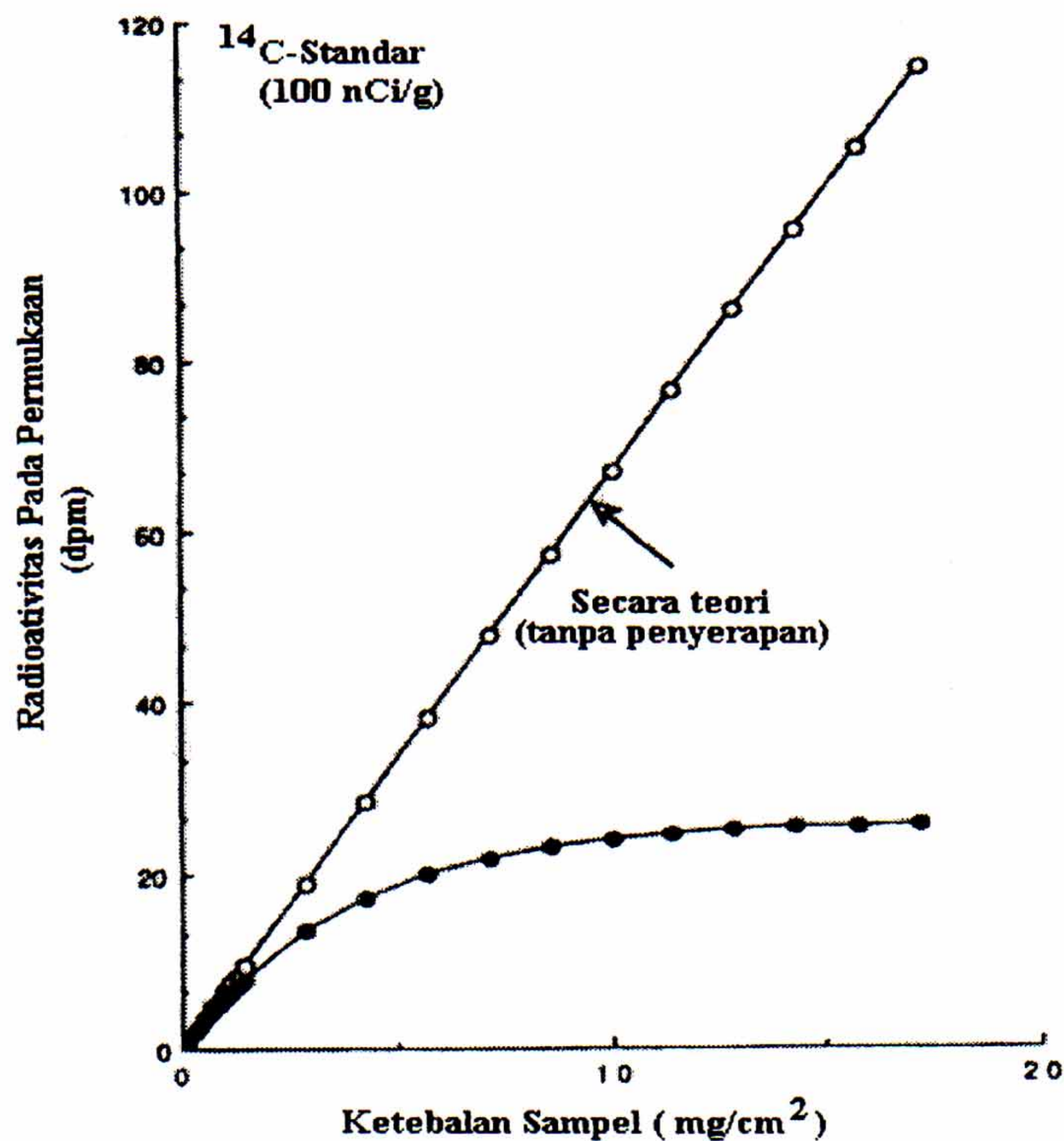
NO	ORGAN	PSL	LUAS (mm ²)	PSL/ LUAS	PSL-B.G	PSL-B.G/ LUAS	F(PSL)	%
1.	Otak	17176,1	176,0	97,586	16709,8	94,937	17176,1	48,0
2.	Paru-paru	1542,7	46,2	33,384	1420,3	30,735	1542,7	4,1
3.	Hati	7389,1	93,2	79,325	7142,4	76,676	7389,1	20,5
4.	Otot	3790,6	71,5	53,038	3601,3	50,389	3790,6	10,3
5.	Ginjal	6231,5	99,8	62,465	5967,2	59,816	6231,5	17,1
6.	B.G	907,7	342,7	2,649			907,7	

Keterangan :

PSL : Photo-Stimulated Luminescence (Intensitas relatif radioaktivitas)

B.G : Back Ground

Ketebalan sampel tikus yang digunakan pada percobaan ini harus diupayakan setipis mungkin, karena hal ini dapat mempengaruhi hasil pencitraan. Di samping itu, dalam pendeteksian pada pencitraan yang menggunakan bahan yang peka terhadap cahaya perlu memperhatikan energi permukaan sampel. Karena energi radioaktif yang dipancarkan oleh permukaan sampel tersebut sebanding dengan radioaktivitas yang terperangkap pada objek sampel yang diamati. Shigematsu juga menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara cacah radioaktivitas per menit dengan ketebalan sampel (Gambar 8). Secara teori, hubungan antara cacah radioaktivitas berbanding lurus dengan ketebalan sampel, akan tetapi karena dalam hal ini sampel yang digunakan dilapisi oleh pita perekat dan juga adanya *spacer* antara sampel dan film, maka penampakan cacah radioaktivitas terhadap ketebalan sampel mengalami penyimpangan yang cukup berarti ^[2]. Oleh karena itu, ketebalan pemakaian pita perekat dan *spacer* yang digunakan antara sampel dan film juga harus diperhatikan. Dari literatur didapatkan bahwa hubungan antara cacah radioaktivitas per menit terhadap ketebalan sampel yang mempunyai berat per luas sebesar $2,5 \text{ mg/cm}^2$ sebanding dengan ketebalan *spacer* sebesar $30 \mu\text{m}$.



Gambar 8. Hubungan antara cacah radioaktivitas terhadap ketebalan sampel ^[2]

4. KESIMPULAN

Distribusi glukosa yang dilabel dengan ^{14}C di dalam tubuh tikus dapat ditentukan dengan menggunakan metode otoradioluminografi. Dari hasil percobaan irisan tikus yang telah diinjeksi dengan glukosa- ^{14}C kemudian dicetak dalam film dan dicitrakan dengan menggunakan pelat pencitra didapatkan bahwa pada otak, hati, ginjal dan otot rangka terdapat distribusi konsentrasi glukosa- ^{14}C yang sangat tinggi, karena otak menggunakan glukosa sebagai bahan bakar. Sebagian glukosa disimpan di dalam otot dan hati sebagai glikogen dan di dalam ginjal glukosa mengalami penyerapan balik secara bebas, sedang pada organ lain distribusi glukosa relatif lebih

kecil. Gambaran distribusi konsentrasi glukosa tersebut menunjukkan bahwa fungsi metabolisme glukosa dari organ tikus tersebut, bekerja dengan baik.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Mr. Michiaki AIHARA dan Mr. Masayuki ITO, Tokyo Education Center, Nuclear Technology and Education Center, Honkomagome, Bunkyo-ku Tokyo, JAERI - JAPAN yang telah membimbing pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. MICHIAKI AIHARA, "Autoradiography", Nuclear Technology, F.Y.1998, Institute of Whole Body Metabolism, JAPAN.
2. AKIYO SHIGEMATSU, "Bao-Bei, or the Powerful Technology, in Science of Whole Body Metabolism – Autoradioluminography", Radioluminography, Vol. 1, No. 3, 1992, Institute of Whole Body Metabolism, JAPAN.
3. "Whole Body Autoradiography : Sectioning Procedure", http://www.crump.ucla.edu:8248/M248_99/autorad/whole_sect.html
4. "Autoradiography : Orientation", http://www.crump.ucla.edu:8248/M248_99/autorad/auto_orient.html
5. GANONG W.F., "Fisiologi Kedokteran", Edisi 10, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 1983.