

EVALUASI FORMULASI RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -SIPROFLOKSASIN DENGAN REDUKTOR $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-TARTRAT

Rizky Juwita Sugiharti, Iim Halimah, Maula Eka Sriyani, Eva Maria Widyasari

Pusat Sains dan Teknologi Nuklir Terapan, Badan Tenaga Nuklir Nasional
Jl. Tamansari No.71, Bandung 40132
Email : wita@batan.go.id

Diterima: 13-03-2019

Diterima dalam bentuk revisi: 14-03-2019

Disetujui: 11-09-2019

ABSTRAK

EVALUASI FORMULASI RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -SIPROFLOKSASIN DENGAN REDUKTOR $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ DAN Sn-TARTRAT . ^{99m}Tc -siprofloksasin adalah radiofarmaka berbasis antibiotik untuk diagnosis infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Pada penelitian ini radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin disiapkan dengan menggunakan dua macam reduktor yaitu $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat . Penelitian ini bertujuan membandingkan masing-masing reduktor untuk menghasilkan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan nilai kemurnian radiokimia yang tinggi dan akumulasi yang baik di daerah infeksi. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kondisi optimum diperoleh pada jumlah reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 25 μg dengan kemurnian radiokimia sebesar $94,25 \pm 2,04$ dan Sn-tartrat sebanyak 400 μg dengan kemurnian radiokimia sebesar $95,06 \pm 1,00$. Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* memperlihatkan profil kromatogram yang sama untuk masing-masing reduktor dengan puncak dari ^{99m}Tc -siprofloksasin berada pada waktu retensi 7,17 menit. Hasil uji biodistribusi pada paha mencit yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* untuk formula ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 jam dan 3 jam pasca injeksi menunjukkan rasio target/nontarget relatif konstan yaitu sebesar 2,71 dan 2,25. Sedangkan rasio target/nontarget ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat pada 1 jam dan 3 jam pasca injeksi sebesar 1,78 dan 2,20. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan dua macam reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat memiliki karakteristik yang berbeda.

Kata kunci : radiofarmaka, ^{99m}Tc -siprofloksasin, reduktor, kemurnian radiokimia

ABSTRACT

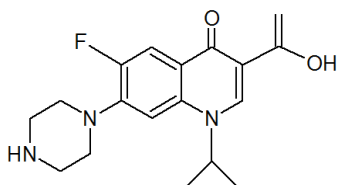
EVALUATION OF ^{99m}Tc -CIPROFLOXACIN FORMULATION WITH REDUCTOR $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ AND Sn-TARTRAT . ^{99m}Tc -ciprofloxacin is an antibiotic-based radiopharmaceutical for the diagnosis of infections caused by bacteria. In this study, ^{99m}Tc -ciprofloxacin was prepared by using two kinds of reducing agents which were $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and Sn-tartrate . The aim of this study is to compare each of the reducing agents which produce ^{99m}Tc -ciprofloxacin with high radiochemical purity and good accumulation in the infection site. The results of this study showed that the optimum conditions with radiochemical yield $94.50 + 1.60$ were obtained at 25 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ while Sn-tartrate at 400 μg were obtained radiochemical yield $93.28 + 2.26$. Radiochemical purity analysis of ^{99m}Tc -ciprofloxacin using *High-Performance Liquid Chromatography* showed the same chromatogram profile for each reducing agent with a peak of ^{99m}Tc -ciprofloxacin found at a retention time of 7.17 minutes. Biodistribution study of each reducing agent on thighs of mice infected with *Staphylococcus aureus* showed that formulation of ^{99m}Tc -ciprofloxacin with $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ showed a relatively constant value of target / non target ratio in 1 hour and 3 hours post-injection; 2.71 and 2.25 respectively. While the target / non target ratio value of ^{99m}Tc -ciprofloxacin with Sn-tartrate reducing agents at 1 hour and 3 hours post-injection was 1.78 and 2.20. From the results of the study it can be conclude that the

formulation of ^{99m}Tc -ciprofoksasin with $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and Sn -tartrate as reductor has different characteristics.

Key words: radiopharmaceutical, ^{99m}Tc -ciprofloxacin, reductor, radiochemical purity

1. PENDAHULUAN

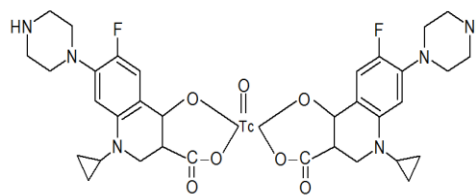
Senyawa 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-yl-quinoline-3-carboxylic acid atau yang lebih dikenal dengan siprofloksasin (gambar 1), merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon yang bekerja dengan cara mengikat diri pada enzim tipe II topoisomerase, topoisomerase IV dan girase DNA bakteri, sehingga menghambat replikasi DNA dan menyebabkan kerusakan pada kromosom bakteri. Target antibiotik golongan fluoroquinolon ini terdistribusikan secara luas pada banyak spesies bakteri, yang memungkinkan fluoroquinolon memiliki aktivitas spektrum kerja yang luas pada bakteri gram positif dan gram negatif (1,2).



Gambar 1. Struktur kimia siprofloksasin

Sintesis siprofloksasin bertanda radioaktif teknesium-99m menjadi ^{99m}Tc -siprofloksasin (gambar 2) untuk deteksi infeksi yang disebabkan oleh bakteri pertama kali dimulai pada tahun 1993 oleh Solanki dkk (3). Radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin ini memiliki karakteristik yang ideal sebagai sediaan radiofarmasi untuk deteksi infeksi yaitu spesifik pada daerah yang terinfeksi, dapat membedakan kasus

inflamasi (histologis) dan infeksi (proses mikrobiologi) di dalam tubuh, *clearance* yang cepat dari jaringan normal, memberikan hasil pencitraan yang sangat baik pada kasus infeksi *deep seat infection* dan mudah disiapkan. Radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin kemudian diperdagangkan secara komersil dengan nama dagang *infecton* (4,5)..



Gambar 2. Struktur kimia kompleks ^{99m}Tc -siprofloksasin

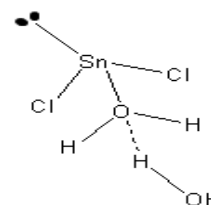
Seiring dengan meningkatnya popularitas ^{99m}Tc -siprofloksasin untuk pencitraan infeksi dengan metode non invasif, penelitian dan pengembangan radiofarmaka ini dilakukan dalam berbagai macam formulasi dan metode penandaan untuk meningkatkan kemurnian radiokimianya. Radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin telah diujikan pada berbagai macam model infeksi hewan untuk mengetahui selektifitas dan sensitivitasnya terhadap berbagai macam bakteri penyebab infeksi (6). Oh et al. pada tahun 2002 menyiapkan ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan formamide sulfonic acid (FSA) dan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebagai bahan reduktor dengan metode pemanasan menggunakan

microwave (7). Zhang et al. mengembangkan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan mensintesis siprofloksasin dithiocarbamate yang kemudian ditandai dengan kompleks ^{99m}Tc -nitrido [^{99m}TcN] $^{2+}$ (8,9) dan kompleks teknesium trikarbonil [$^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)(\text{H}_2\text{O})_3$] $^{+}$ (10) melalui reaksi *ligand-exchange*. ^{99m}Tc -siprofloksasin dikembangkan juga dalam kit kering satu vial tanpa penggunaan HCl sebagai pelarut menggunakan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (11) dan D-penicilamin sebagai co-ligan (12). Studi kompleks renium dengan siprofloksasin juga dilakukan untuk mengetahui karakteristik dan sifat senyawa ^{99m}Tc -siprofloksasin. Studi menunjukkan bahwa siprofloksasin membentuk koordinasi bi-dentate dengan teknesium-99m, dimana yang satu terikat pada oksigen karboksil dan yang lainnya terikat pada oksigen karbonil di gugus siklik (13). Pada rentang tahun 2005-2010 PSTNT-BATAN Bandung telah pula mengembangkan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin untuk kebutuhan radiofarmaka penyidik infeksi di dalam negeri (14,15,16).

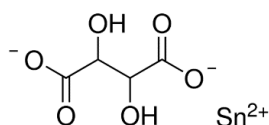
Reaksi yang terjadi antara siprofloksasin dengan radioisotop teknesium-99m adalah pembentukan kompleks khelat dengan atom teknesium sebagai atom pusat. Adanya atom O (oksigen) yang mempunyai pasangan elektron dalam molekul siprofloksasin memungkinkan senyawa tersebut membentuk kompleks dengan ^{99m}Tc , dimana pasangan elektron bebas ini akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan radionuklida tersebut. Pada pembentukan kompleks tersebut, diperlukan

adanya suatu reduktor untuk menurunkan bilangan oksidasi ^{99m}Tc yaitu +7 agar lebih reaktif saat direaksikan dengan siprofloksasin (6,7,15).

Bahan reduktor yang biasa digunakan dalam pembuatan radiofarmaka adalah stannous klorida ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dan stannous tartrat ($\text{SnC}_4\text{H}_4\text{O}_6$). Timah (II) klorida juga dikenal sebagai stannous klorida, adalah kristal putih padat dengan rumus SnCl_2 (gambar 3.) Senyawa ini membentuk dihidrat stabil, tetapi cenderung mengalami hidrolisis, terutama jika dipanaskan. $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ cenderung digunakan sebagai agen pereduksi atau reduktor dalam larutan asam sehingga pada penggunaan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ harus dilarutkan dalam asam klorida. Kelemahan dari $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ juga tidak stabil terhadap oksidasi oleh udara. Reduktor lain yang dapat digunakan adalah timah (II) tartrat juga dikenal sebagai stannous tartrat, adalah zat berbentuk serbuk berwarna putih, mempunyai rumus molekul $\text{SnC}_4\text{H}_4\text{O}_6$. Ion tartrat dalam hal ini digunakan sebagai *ligand exchange*. Struktur ion tartrat ditunjukkan pada gambar 4 (6,7).



Gambar 3. Struktur $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



Gambar 4. Struktur Sn-Tartrat

Sejalan dengan program hilirisasi produk penelitian dan pengembangan radiofarmaka di rumah sakit, ^{99m}Tc -siprofloksasin merupakan salah satu kit radiofarmaka hasil litbang yang sangat dibutuhkan di kedokteran nuklir untuk mengetahui lokasi infeksi dalam tubuh dan memantau keberhasilan terapi terhadap suatu penyakit infeksi. Akan tetapi dalam perkembangannya radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin yang dikembangkan di PSTNT memiliki stabilitas yang kurang baik sehingga formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin mengalami beberapa perubahan dan modifikasi (14,15,16), untuk itu perlu dilakukan penelitian kembali untuk memperoleh ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan kualitas yang baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi formulasi sediaan ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan menggunakan dua zat reduktor yang berbeda yaitu $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat. Studi meliputi kemurnian radiokimia, muatan listrik, stabilitas dan biodistribusi. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin yang memiliki kualitas yang baik dalam arti memiliki kemurnian radiokimia sangat tinggi, stabil dalam suhu kamar maupun dalam plasma darah dan terakumulasi dengan baik di daerah infeksi.

2. TATA KERJA

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah siprofloksasin HCl (Zhejiang Goubang Pharmaceutical—China); $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat (E. Merck), $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (POLATOM); akuabides steril pro injection dan NaCl fisiologis (IPHA lab.); HCl, NaOH, etanol, amonia, metil etil keton (E. Merck), ITLC-SG (PALL Scientific), kertas Whatman 1, kertas *celluloce acetate* (SIGMA) bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (BPOM), media nutrient agar (E. Merck) dan Standar Mc Farland. Semua pelarut di-purge nitrogen sebelum digunakan.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *dose calibrator* (Victoreen, 139000N), *Single Channel Analyzer* (ORTEC, model 4890), *TLC – Scanner* (Bioscan), pH digital (HORIBA), HPLC (Agilent 1260 dengan detektor radioaktif GABI Ray test), elektroforesis (Major Science), *biosafety cabinet* (BBL Biological Cabinet), autoklaf (Hirayama), inkubator (Mettler), *waterbath* (Lab. Companion BS-06) dan sentrifuga (Kubota 2800).

Preparasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan menggunakan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Sebanyak 20 mg siprofloksasin HCl ditimbang dan dilarutkan dalam 5 mL NaCl, selanjutnya 2 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ditimbang dan dilarutkan ke dalam 2 mL HCl 0,01N. Ke

dalam 3 vial dimasukan larutan siprofloksasin sebanyak 1000 μL dan ditambahkan masing-masing 20 μL , 50 μL dan 60 μL $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kemudian pH larutan diatur menjadi 3,0. Larutan kemudian disaring menggunakan milipore 0,2 μm , dari masing-masing vial diambil sebanyak 510 μL , 525 μL dan 530 μL lalu dipindahkan ke vial lain. $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ kemudian ditambahkan sebanyak 1500 μL (1mCi/mL) dan diinkubasi selama 15 menit di suhu ruang.

Preparasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan menggunakan reduktor Sn-tartrat

Siprofloksasin.HCl 20 mg dilarutkan dalam 5 mL NaCl, kemudian 2 mg Sn-tartrat dilarutkan dalam 40 μL HCl 1N dan ditambahkan aquadest sebanyak 1960 μL . Ke dalam 3 vial dimasukan larutan siprofloksasin sebanyak 1000 μL dan ditambahkan Sn-tartrat masing-masing sebanyak 600 μL , 800 μL dan 1000 μL dan pH larutan diatur menjadi 3,0. Selanjutnya larutan disaring menggunakan milipore 0,2 μm . Dari masing-masing vial sejumlah 800 μL , 900 μL dan 1000 μL larutan kemudian diambil dan dipindahkan ke vial lain, lalu ditambahkan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ sebanyak 1100 μL (1 mCi/mL) dan diinkubasi selama 15 menit di suhu ruang.

Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin

Pengujian kemurnian radiokimia radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin menggunakan dua macam sistem kromatografi. Sistem pertama adalah kertas Whatman 1 (1 x 10 cm) sebagai fasa diam

dengan metil etil keton sebagai fasa gerak, kemudian sistem kedua yaitu ITLC-SG (1 x 10 cm) sebagai fasa diam dan larutan campuran etanol : air : ammonia dengan perbandingan 2 : 5 :1 sebagai fasa gerak (16).

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Pemisahan kromatografi cair kinerja tinggi untuk ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan dengan metode *linear gradient* dari 100% air ke 100% asetonitril selama 30 menit, elusi dilakukan 1 mL/menit menggunakan kolom C_{18} dengan detektor UV pada $\lambda=254$ nm dan detektor radioaktif (7).

Penentuan muatan listrik ^{99m}Tc -siprofloksasin

Pengujian muatan listrik ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan menggunakan elektroforesis selulosa asetat (1 x 14 cm) dengan larutan buffer fosfat 0,1 M pH 7,4, arus 5 mA/cm dan tegangan 200 volt selama 60 menit. Setelah proses selesai, kertas selulosa asetat dikeringkan kemudian dicacah menggunakan *Single Channel Analyzer*.

Pengujian stabilitas radiofarmaka

Uji stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan dalam NaCl fisiologis dengan suhu ruang dan dalam plasma darah dengan suhu 37°C. Larutan ^{99m}Tc -siprofloksasin disimpan pada suhu kamar kemudian pada interval waktu 1, 2, 3, 4, dan 5 jam sampel diukur kemurnian radiokimianya. Selanjutnya, uji stabilitas ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan dengan

menginkubasi larutan ^{99m}Tc -siprofloksasin dalam plasma darah mencit pada suhu 37°C selama 1, 2, 3, dan 4 jam. Ke dalam 3 buah *microtube* berisi 200 μL plasma darah mencit yang sudah dimurnikan, ditambahkan ^{99m}Tc -siprofloksasin sebanyak 20 μL (dengan radioaktivitas sebesar 10 μCi – 15 μCi) kemudian diinkubasi dalam *waterbath shaker* bersuhu 37°C . Setiap interval waktu 1, 2, 3, dan 4 jam sampel diteteskan pada kertas kromatografi dan dihitung kemurnian radiokimianya.

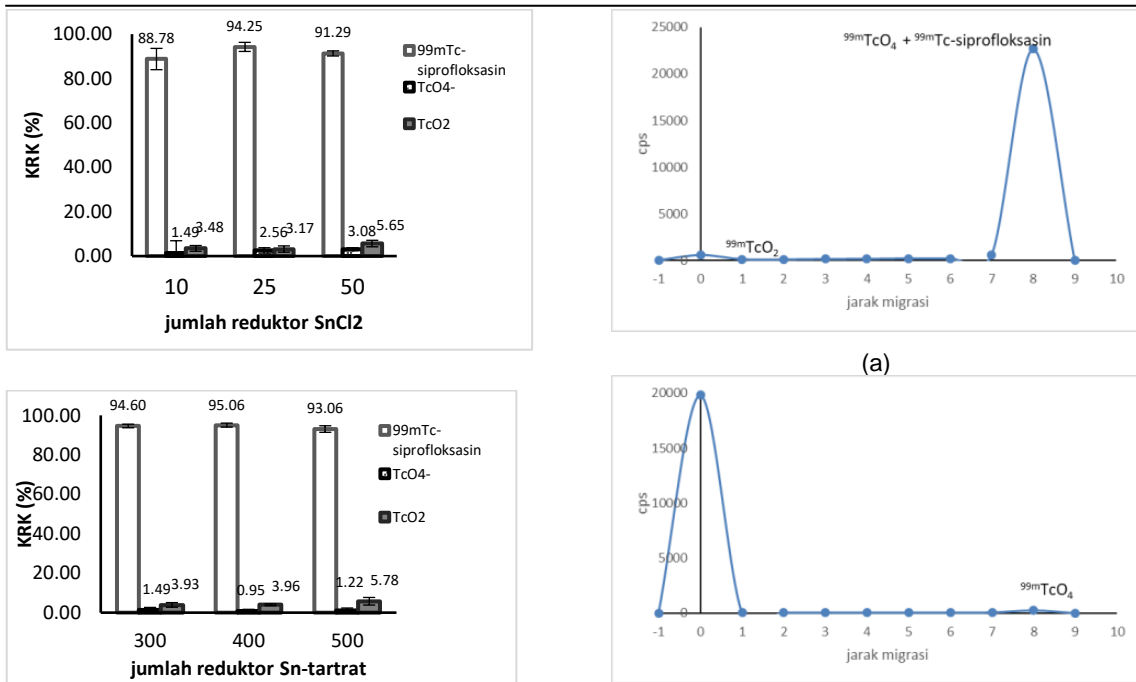
Uji Biodistribusi

Penggunaan hewan uji pada penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari KEPHP-BATAN dengan nomor 006/KEPPHP-BATAN/IX/2015. Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) jantan ($n=3$ untuk masing-masing kelompok) yang diinfeksi terlebih dahulu dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ($1,2 \times 10^8$ CFU) per mencit pada paha kiri. Setelah 24 jam, setiap mencit diinjeksikan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin (100 $\mu\text{Ci}/100 \mu\text{L}$) pada vena ekor mencit. Selang waktu 1 dan 3 jam pasca injeksi, mencit dibunuh menggunakan kloroform, setelah itu organ atau jaringan otot infeksi, otot normal, usus, darah, hati, limpa, ginjal, jantung, paru-paru, dan lambung diambil. Selanjutnya, organ atau jaringan tersebut ditimbang dengan timbangan analitik dan dihitung radioaktivitasnya dengan *Single Channel Analyzer*. Disiapkan pula larutan standar radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin sebagai pembanding (17).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

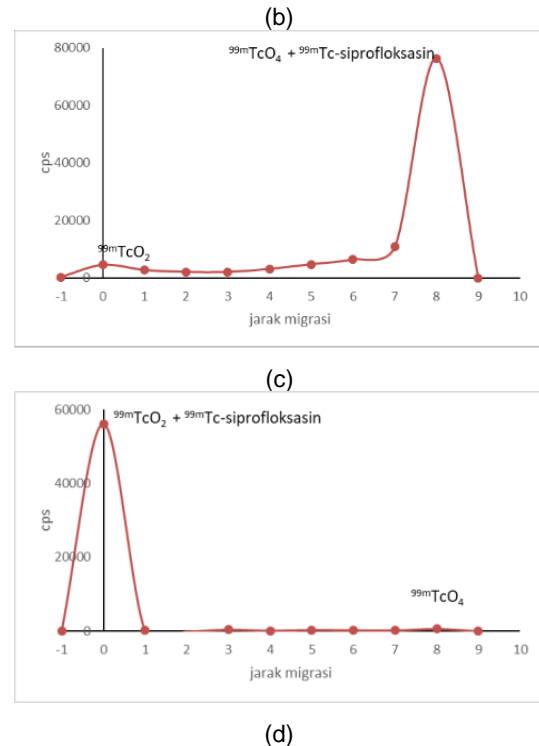
Pada penandaan ^{99m}Tc -siprofloksasin diperlukan suatu reduktor untuk menurunkan bilangan oksidasi teknesium VII menjadi bilangan oksidasi yang lebih rendah V (6,7). Pada penelitian ini digunakan Sn(II) dalam bentuk $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat yang berfungsi sebagai reduktor. Jumlah reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang digunakan yaitu 10 μg , 25 μg dan 30 μg sedangkan jumlah reduktor Sn-tartrat yaitu 300 μg , 400 μg dan 500 μg .

Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan dengan menggunakan dua sistem yaitu ITLC-SG dengan campuran eluen air:etanol:amonia (5:2:1) dan kertas Whatman 1 dengan eluen metil etil keton (MEK). Pada gambar 5 dapat dilihat hasil pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan dua macam reduktor. Penggunaan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 25 μg sebagai reduktor menghasilkan kemurnian radiokimia optimal sebesar $94,25 \pm 2,04$, sedangkan penggunaan Sn tartrat sebanyak 400 μg sebagai reduktor menghasilkan kemurnian radiokimia optimal sebesar $95,06 \pm 1,00$.



Gambar 5. Kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn tartrat .

Hasil kromatogram penentuan kemurnian radiokimia dapat dilihat pada gambar 6. Pada sistem ITLC-SG / air:etanol:amonia (5:2:1) pengotor dalam bentuk $^{99m}\text{TcO}_2$ akan tetap tinggal di batas awal ($R_f=0$) sedangkan ^{99m}Tc -siprofloksasin akan bermigrasi ke batas akhir ($R_f = 0,8-1,0$) sedangkan pada sistem kertas Whatman 1/MEK, ^{99m}Tc -siprofloksasin akan tetap tinggal di batas awal ($R_f=0$) sedangkan $^{99m}\text{TcO}_4^-$ bermigrasi ke batas akhir ($R_f = 0,8-1,0$). Perbedaan mendasar terletak pada adanya hasil samping ^{99m}Tc -tartrat yang tidak diketahui jarak migrasinya pada penandaan dengan menggunakan reduktor Sn-tartrat . Oleh karena itu, digunakan penentuan kemurnian radiokimia dengan HPLC yang dilengkapi dengan detektor radioaktif untuk memverifikasi bahwa senyawa yang terbentuk adalah benar ^{99m}Tc -siprofloksasin dan bukan ^{99m}Tc -tartrat.

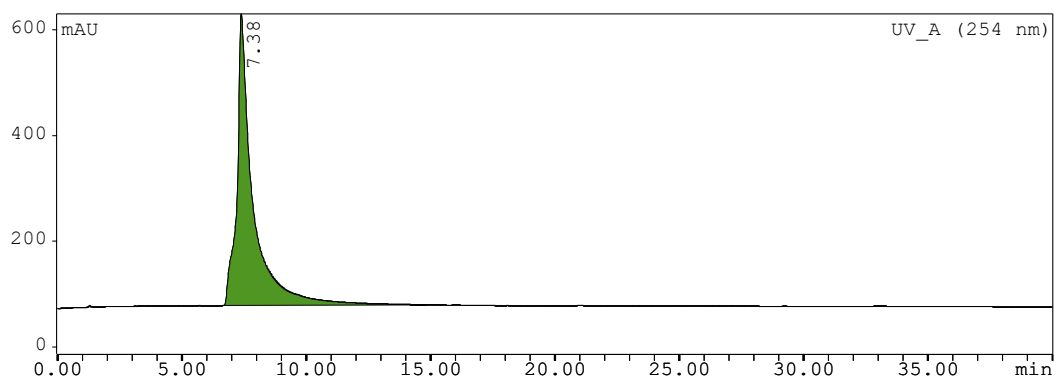


Gambar 6. Kromatogram ^{99m}Tc -siprofloksasin : (a) SnCl_2 25 μg pada ITLC-SG/ air:etanol:amonia; (b) SnCl_2 25 μg pada Whatman 1 /MEK; (c) Sn-tartrat 400 μg pada ITLC-SG / air:etanol:amonia; (d) Sn-tartrat 400 μg pada Whatman 1 /MEK

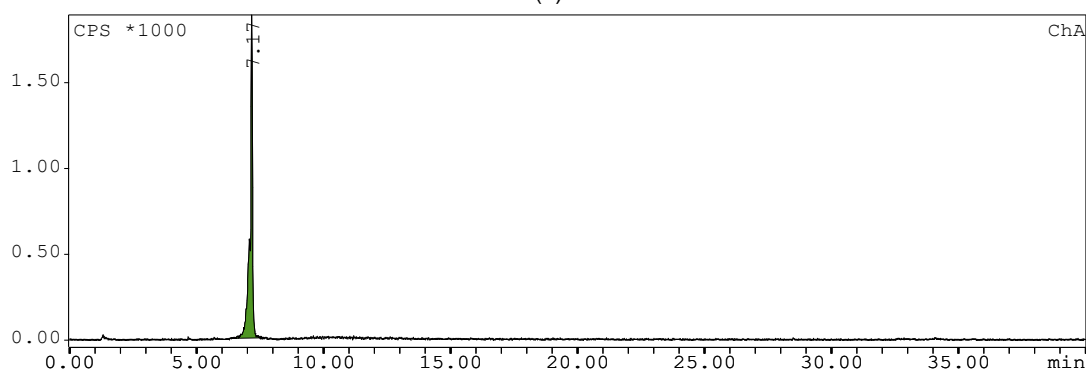
Hasil pengujian ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan HPLC dapat membandingkan puncak yang terjadi pada masing-masing

senyawa yang terbentuk yaitu siprofloksasin yang belum ditandai (7.a), ^{99m}Tc -siprofloksasin yang ditandai dengan menggunakan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ maupun Sn-Tartrat (7.b dan 7.c) juga $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (7.d) dan ^{99m}Tc -tartrat (7.e) sebagai pengotor dari koligan. Dari hasil HPLC dapat terlihat bahwa puncak ^{99m}Tc -siprofloksasin berada pada R/T yang sama dengan siprofloksasin. Hal ini membuktikan bahwa senyawa ^{99m}Tc -siprofloksasin tersebut merupakan senyawa siprofloksasin yang berhasil ditandai oleh radioisotop $^{99m}\text{TcO}_4^-$. Sedangkan puncak $^{99m}\text{TcO}_4^-$ dan ^{99m}Tc -tartrat berada pada nilai

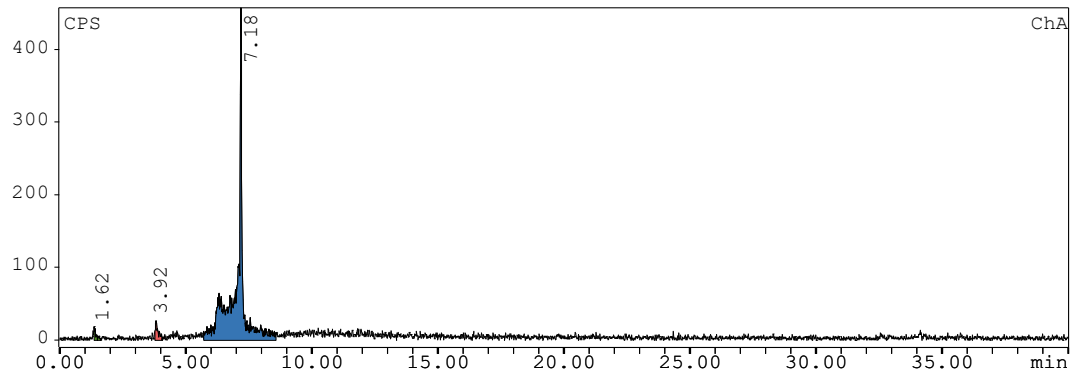
R/T yang berbeda. Hasil HPLC juga memperlihatkan perbedaan kromatogram dari ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan masing-masing reduktor. Pada gambar 7.c, penandaan dengan menggunakan reduktor Sn-tartrat terlihat adanya puncak lain pada R/T 1,62 menit yang diduga merupakan pengotor $^{99m}\text{TcO}_4^-$ dan ^{99m}Tc -tartrat, pada R/T 3,92 menit ditemukan juga puncak pengotor lain yang tidak teridentifikasi. Sedangkan pada gambar 7.b, penandaan dengan menggunakan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, tidak ditemukan adanya puncak pengotor lain.



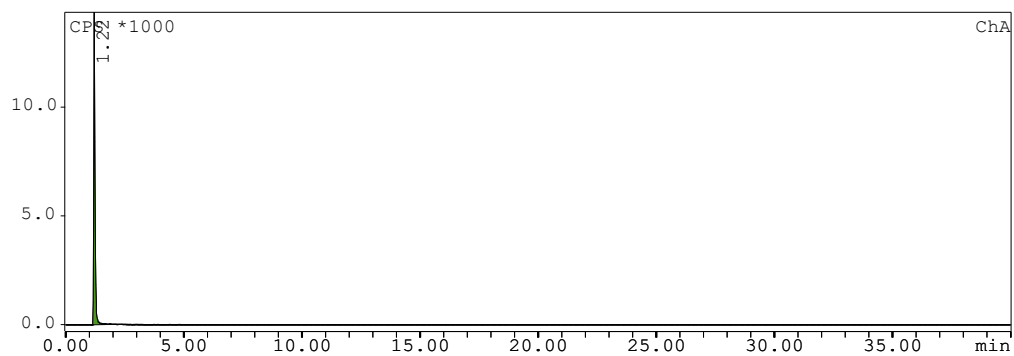
(a)



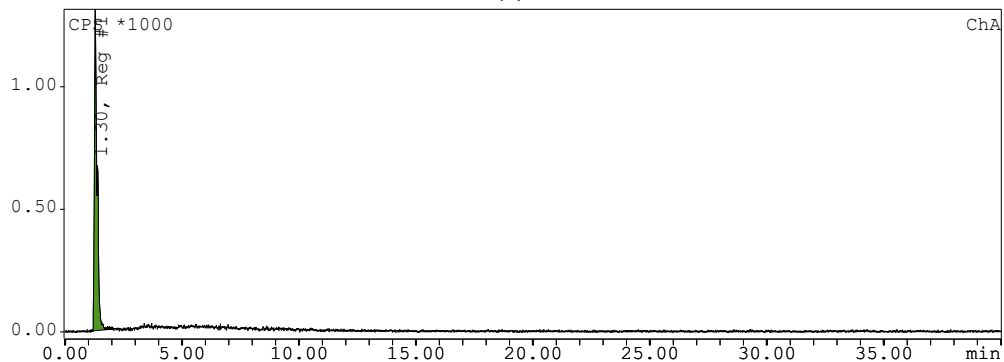
(b)



(c)



(d)

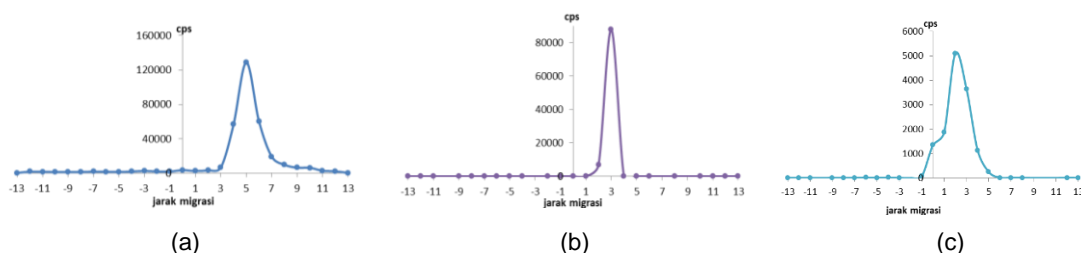


(e)

Gambar 7. Hasil kromatografi cair kinerja tinggi untuk: (a) siprofloksasin (b), ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (c) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat , (d) $^{99m}\text{TcO}_4^-$, dan (e) $^{99m}\text{Tc-tartrat}$

Pengujian selanjutnya adalah elektroforesis. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui muatan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin. Pada gambar 8 dapat dilihat bahwa muatan ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, terdapat satu puncak yang tajam, yaitu pada

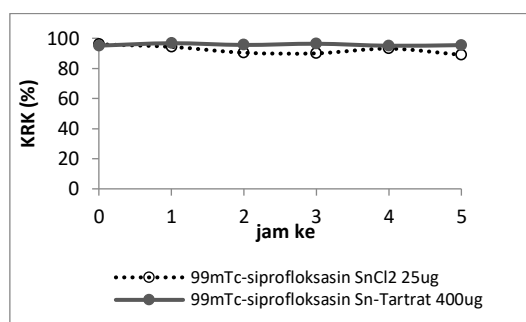
area positif, sedangkan ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat menunjukkan satu puncak lebar yang berada diantara area netral dan area positif yang kemungkinan disebabkan adanya pengotor TcO_2 , TcO_4^- dan Tc-tartrat .



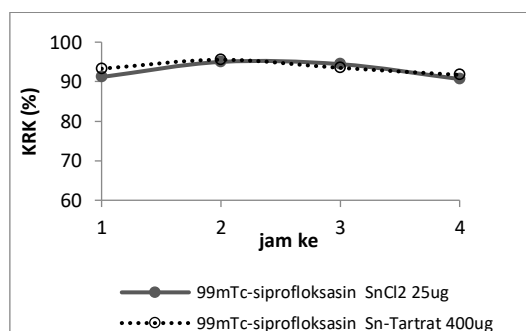
Gambar 8. Hasil elektroforesis (a) $^{99m}\text{TcO}_4^-$, (b) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor SnCl_2 dan (c) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn -tartrat

Uji stabilitas ^{99m}Tc -siprofloksasin dilakukan untuk mengetahui hingga berapa lama waktu simpan sediaan dalam berbagai media memiliki karakteristik kemurnian radiokimia yang masih dapat diterima (18). Pada penelitian ini media penyimpanan terdiri dari dua media, yaitu sediaan yang disimpan dalam NaCl fisiologis dengan suhu ruang, dan sediaan yang disimpan dalam plasma darah pada suhu 37°C (Gambar 9 dan 10). Penyimpanan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dalam NaCl fisiologis dengan suhu ruang sampai 5 jam memperlihatkan kemurnian radiokimia yang stabil, sehingga dapat disimpulkan sediaan ini dapat disimpan sampai 5 jam di suhu ruang setelah penambahan larutan radioisotop TcO_4^- . Penyimpanan sediaan pada plasma darah dilakukan untuk mengetahui kestabilan sediaan di dalam tubuh. Plasma darah dipilih sebagai media, karena pada aplikasinya, sediaan akan diinjeksikan melalui pembuluh darah dan akan langsung berinteraksi dengan plasma darah. Kandungan protein dan enzim yang banyak terdapat di dalam plasma darah berpotensi untuk merusak sediaan dan menjadikan sediaan tidak dapat berfungsi sebagaimana seharusnya. Gambar 10. menunjukkan bahwa setelah jam ke-4 penyimpanan di

dalam plasma darah, sediaan tetap memiliki kemurnian radiokimia yang tinggi ($>90\%$). Oleh karena itu sediaan ini cukup stabil setelah diinjeksikan secara intravena ke dalam tubuh.



Gambar 9. Hasil uji stabilitas pada suhu ruang (a) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn -tartrat (b) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor SnCl_2



Gambar 10. Hasil uji stabilitas pada plasma darah 37°C (a) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn -tartrat (b) ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor SnCl_2

Uji biodistribusi merupakan metode yang dilakukan untuk menentukan akumulasi radiofarmaka pada organ target dan mengetahui pola penyebaran

radiofarmaka di organ lainnya serta mengetahui rute pembuangannya dari dalam tubuh (18). Hewan model infeksi yang digunakan adalah mencit yang terinfeksi bakteri *S. aureus* di paha untuk memudahkan pengamatan dan pengambilan sampel organ target (19). Hasil uji biodistribusi (Tabel 1) memperlihatkan bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan kedua macam reduktor cukup stabil

secara *in vivo* dengan nilai radioaktivitas <1 %ID di dalam lambung, hal ini menunjukkan bahwasannya hanya sedikit $^{99m}\text{TcO}_4^-$ yang terlepas dari kompleks ^{99m}Tc -siprofloksasin dan hal ini sesuai dengan data uji stabilitas pada plasma (20)

Tabel 1. Hasil uji biodistribusi sediaan ^{99m}Tc -siprofloksasin

Organ	Reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 25 μg		Reduktor Sn-tartrat 400 μg	
	1 jam	1 jam	3 jam	3 jam
Otot infeksi ^	3,23 ± 1,46	1,18 ± 0,35	1,55 ± 0,97	1,94 ± 1,15
Otot normal ^	1,19 ± 0,98	0,66 ± 0,03	0,69 ± 0,42	0,86 ± 0,41
Darah^	5,23 ± 2,03	2,26 ± 0,84	2,24 ± 1,68	2,56 ± 0,52
Usus *	1,07 ± 0,28	1,55 ± 1,12	0,82 ± 0,52	0,71 ± 0,19
Hati ^	7,14 ± 1,35	1,85 ± 0,71	2,79 ± 2,76	5,30 ± 0,40
Limpa ^	1,66 ± 0,66	0,69 ± 0,52	0,84 ± 0,45	1,07 ± 0,47
Ginjal ^	12,18 ± 4,70	6,44 ± 1,96	5,60 ± 4,02	7,19 ± 1,13
Jantung ^	1,61 ± 0,29	0,89 ± 0,45	0,82 ± 0,49	1,13 ± 0,56
Paru-paru ^	3,27 ± 0,45	1,73 ± 1,29	1,48 ± 1,10	1,89 ± 0,24
Lambung*	0,43 ± 0,13	0,39 ± 0,13	0,33 ± 0,18	0,58 ± 0,32

Keterangan :

^ Nilai akumulasi dalam %ID/gram

* Nilai akumulasi dalam %ID

Akumulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ di hati dan limpa pada interval waktu 1 jam dan 3 jam memperlihatkan nilai %ID/g yang lebih besar dibandingkan dengan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin menggunakan reduktor Sn-tartrat , hal ini menunjukkan kemungkinan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ lebih bersifat lipofil atau adanya TcO_2 hasil reduksi (18). Adanya radioaktivitas yang tinggi di organ ginjal memperlihatkan bahwa ^{99m}Tc -siprofloksasin

dengan kedua macam reduktor juga dieksresikan dari tubuh melalui urin. Akumulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ di ginjal sebesar 12,18 %ID/g pada 1 jam pertama. Pada 3 jam selanjutnya akumulasi di ginjal sebesar 7,19 %ID/g. Akumulasi pada ginjal ini lebih besar dibandingkan dengan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat , dimana nilainya 6,44 %ID/g pada 1 jam pertama, dan 5,60 %ID/g pada 3 jam p.i. Perbedaan ini menunjukkan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan

reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ lebih cepat dieksresikan dari dalam tubuh. Akumulasi radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada organ lainnya secara umum lebih besar dibandingkan dengan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat, baik pada 1 jam maupun 3 jam p.i., kecuali pada organ usus yang akumulasinya lebih kecil yaitu 1,07 %ID pada 1 jam dan 0,71 %ID pada 3 jam p.i.

Radiofarmaka untuk deteksi infeksi di kedokteran nuklir didesain untuk dapat terakumulasi di daerah infeksi dengan adanya keberadaan bakteri hidup dan peningkatan aliran darah kapiler serta berhubungan dengan migrasi dari leukosit. Oleh karena itu, deteksi infeksi menggunakan radiofarmaka berdasarkan pada perjalanan patofisiologis infeksi sehingga metode ini dapat mendeteksi infeksi dan peradangan pada fase awal sebelum kemunculan perubahan morfologis di lokasi infeksi (4). Mekanisme lokalisasi radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin mengikuti proses patologis infeksi dimana penangkapan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin di daerah infeksi akan meningkat sejalan dengan jumlah bakteri yang hidup pada area infeksi (21,22). Selanjutnya dari hasil uji biodistribusi dapat dilihat bahwa akumulasi pada otot yang diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* terlihat akumulasi radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebesar 3,23 %ID/g lebih tinggi dibandingkan dengan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat sebesar 1,18 %ID/g pada 1 jam

pertama, berikut pula akumulasi pada 3 jam dimana $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebesar 1,94 %ID/g dan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat sebesar 1,55 %ID/g.

Menurut Saha (18), untuk setiap studi diagnostik diperlukan rasio radioaktivitas target – non target yang besar agar diperoleh pencitraan organ target yang lebih jelas. Penghitungan rasio target terhadap non target bertujuan untuk mengetahui perbandingan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin yang masuk ke jaringan target (otot infeksi) dan jaringan non target (otot normal).

Tabel 2. Rasio Target terhadap Non Target (T/NT)

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin	Rasio T/NT	
	1 jam	3 jam
reduktor SnCl_2 25 ug	2,71	2,25
reduktor Sn-tartrat 400 ug	1,78	2,20

Nilai rasio T/NT (tabel 2) pada kelompok hewan uji yang diinjeksi radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada 1 jam p.i lebih tinggi sebesar 2,71 dibandingkan dengan kelompok hewan uji yang diinjeksi radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor Sn-tartrat yaitu sebesar 1,78. Hal ini menunjukkan bahwa radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada 1 jam p.i akan memperlihatkan hasil pencitraan yang baik. Akan tetapi pada 3 jam pasca injeksi untuk masing-masing kelompok hewan uji yang diinjeksi dengan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat memiliki nilai rasio T/NT yang hampir sama yaitu sebesar 2,25 dan 2,20.

Nilai rasio dari kedua bentuk preparasi di 3 jam p.i tersebut cukup baik karena lebih besar dari 2, sehingga akan diperoleh gambar yang kontras pada saat dilakukan pencitraan dengan kamera gamma (18).

4. KESIMPULAN

Formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofoksasin dengan dua macam reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Sn-tartrat menghasilkan karakteristik fisiko kimia dan biologis yang berbeda. Dari proses preparasi, ^{99m}Tc -siprofoksasin dengan reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ lebih mudah disiapkan dan mempunyai rasio T/NT pada 1 dan 3 jam p.i dengan nilai yang konstan.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PSTNT-BATAN yang telah mendanai penelitian ini, juga kepada para personil di Kelompok Sintesis Senyawa Bertanda yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. Welling M, Ferro-Flores G, Pirmettis I, Brouwer C. Current Status of Imaging Infections with Radiolabeled Anti-Infective Agents. *Antiinfect Agents Med Chem*. 2012;8(3):272–87.
2. Kniess T, Laube M, Wüst F, Pietzsch J. Technetium-99m based small molecule radiopharmaceuticals and radiotracers targeting inflammation and infection. *Dalt Trans*. 2017;46(42):14435–51.
3. Solanki K, Bomanji J, Siraj Q, Small M, Britton K. Tc-99m Infecton-a new class of radiopharmaceutical for imaging infection. *J Nucl Med*. 1993;
4. Salmanoglu E, Kim S, Thakur ML. Currently Available Radiopharmaceuticals for Imaging Infection and the Holy Grail. *Semin Nucl Med*. 2018;48(2):86–99.
5. Naqvi SAR, Drlica K. Fluoroquinolones as imaging agents for bacterial infection. *Dalt Trans*. 2017;46(42):14452–60.
6. Naqvi SAR, Roohi S, Iqbal A, Sherazi TA, Zahoor AF, Imran M. Ciprofloxacin: from infection therapy to molecular imaging. *Mol Biol Rep*. 2018;45(5):1457–68.
7. Oh SJ, Ryu JS, Shin JW, Yoon EJ, Ha HJ, Cheon JH, et al. Synthesis of ^{99m}Tc -ciprofloxacin by different methods and its biodistribution. *Appl Radiat Isot*. 2002;57(2):193–200.
8. Zhang J, Guo H, Zhang S, Lin Y, Wang X. Synthesis and biodistribution of a novel ^{99m}TcN complex of ciprofloxacin dithiocarbamate as a potential agent for infection imaging. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2008;18(19):5168–70.
9. Zhang J, Ren J, Lin X, Wang X. Synthesis and biological evaluation of a novel ^{99m}Tc nitrido radiopharmaceutical with deoxyglucose dithiocarbamate, showing tumor uptake. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2009;19(10):2752–4.
10. Zhang J, Zhang S, Guo H, Wang X. Synthesis and biological evaluation of a novel $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ complex of ciprofloxacin dithiocarbamate as a potential agent to target infection. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2010;20(12):3781–4.
11. Mirshojaei SF, Erfani M, Sadat-Ebrahimi

- SE, Talebi MH, Abbasi FHH. Freeze-dried cold kit for preparation of ^{99m}Tc -ciprofloxacin as an infection imaging agent. *Iran J Nucl Med.* 2010;18(2):45–51.
12. Shahzad S, Qadir MA, Ahmed M. Development of stable freeze dried kits of ^{99m}Tc -ciprofloxacin for infection imaging. *J Chem Soc Pakistan.* 2015;37(4):643–8.
13. Lecina J, Cortés P, Llagostera M, Piera C, Suades J. New rhenium complexes with ciprofloxacin as useful models for understanding the properties of [^{99m}Tc]-ciprofloxacin radiopharmaceutical. *Bioorganic Med Chem.* 2014;22(13):3262–9.
14. Zainuddin N, Hidayat B, Iijas R, Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri-BATAN Jln Tamansari P, Kedokteran Nuklir-RS Hasan Sadikin Jln Pasir Kaliki B. Pengembangan Dan Aplikasi Klinis Kit-Kering Radiofarmaka Siprofloksasin. Pengemb dan Apl Klin Kit Kering Radiofarmaka Siprofloksasin (Nurlaila Z). :11–24.
15. Zainuddin N, Sriyani ME, Widyasari EM. Pengembangan formulasi radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal. *Maj Farm Indones.* 2010;21(2):139–49.
16. Nurlaila Z, Eka M, Eva S, Teknologi P, Bahan N. Profil Kit-Kering Radiofarmaka Siprofloksasin Wadah Tunggal Profile of Radiopharmaceutical Single Vial Dried-Kit of Ciprofloxacin. 2011;29–40.
17. Sugiharti RJ. EVALUASI HEWAN MODEL UNTUK UJI PRA KLINIS RADIOFARMAKA PENYIDIK INFEKSI. In: Seminar Nasional Keselamatan, Kesehatan, dan Lingkungan IX. 2014.
18. Saha GB. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy.* Springer. 2018.
19. Signore A, D'Alessandria C, Lazzeri E, Dierckx R. Can we produce an image of bacteria with radiopharmaceuticals? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2008;35(6):1051–5.
20. Vallabhajosula S, Killeen RP, Osborne JR. Altered Biodistribution of Radiopharmaceuticals: Role of Radiochemical/Pharmaceutical Purity, Physiological, and Pharmacologic Factors. *Semin Nucl Med.* 2010;40(4):220–41.
21. Soenarjo S. Mekanisme Lokalisasi Sediaan Radiofarmaka pada Organ Target. *J Radioisot dan Radiofarmaka.* 2014;Vol 17 No(ISSN 1410-8542):15–26.
22. Sazonova SI, Karpova MR, Il'yushenkova YN, Varlamova N V., Lishmanov YB. Analysis of Mechanisms of Interaction between Ciprofloxacin-Based Radiopharmaceutical Labeled with Technetium-99m and Cultured *Staphylococcus aureus.* *Bull Exp Biol Med.* 2014;157(6):732–4.