

**KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA RADIOFARMAKA
^{99m}Tc-HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA)-NANOSFER**

Nanny Kartini Oekar, Eva Maria Widyasari, Epy Isabela

Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri – BATAN
Jl. Tamansari 71, Bandung 40132
E-mail: kartini@batan-bdg.go.id

ABSTRAK

KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA RADIOFARMAKA ^{99m}Tc-HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA)-NANOSFER. Metode *lymphoscintigraphy* (limfosintigrafi) adalah metode diagnosis yang dilakukan dengan menyuntikkan sediaan radiofarmasi yang berbentuk nanokoloid dengan ukuran ideal 100-200 nm, bertanda radionuklida teknesium-99m (^{99m}Tc) secara intradermal, subkutan atau peritumoral. Pergerakan radiofarmaka tersebut dideteksi dari luar tubuh dengan kamera gamma atau probe khusus untuk limfosintigrafi yang dilakukan secara paralel dengan pembedahan tumor/kanker terutama kanker payudara (*breast cancer*). Tahun 2006 dan 2007 telah berhasil diteliti pembuatan sediaan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer yang merupakan salah satu sediaan nanokoloid yang bersifat *biodegradable* dan *bioavailable*. Pada tahun 2008 dipelajari karakteristik fisiko-kimianya, meliputi: kemurnian radiokimia, pH sediaan, lipofilisitas, besarnya ikatan dengan protein plasma, muatan listrik, kestabilan pada penyimpanan pada suhu tertentu dan kestabilan plasmatiknya. Hasilnya menunjukkan bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer mempunyai kemurnian radiokimia $92,1 \pm 2,6\%$, pH sediaan 6,5–7, angka lipofilisitasnya $0,127 \pm 0,03$, ikatan dengan protein plasma $89,6 \pm 1,2\%$ dan mempunyai muatan listrik netral. Setelah 30 menit disimpan pada temperatur kamar kemurnian radiokimianya turun menjadi 71%, sedangkan apabila disimpan pada temperatur 4°C (lemari es) sampai satu jam kemurnian radiokimianya masih > 90%. Kestabilan plasmatik yang ditentukan secara *in-vitro* menunjukkan bahwa kemurnian radiokimia turun secara drastis, dimulai dari 30 menit kemudian 1 jam, yaitu sebesar 61,8 % dan 55,9%, tetapi pada 2, 3 dan sampai 4 jam berikutnya angka ini tidak berubah signifikan yaitu 57,8%, 51,2%, 52% dan setelah 24 jam menjadi 8,2%.

Kata kunci: limfosintigrafi, nanokoloid, karakteristik fisiko-kimia, HSA-nanosfer, stabilitas

ABSTRACT

PHYSICAL-CHEMISTRY CHARACTERISTIC OF ^{99m}Tc-HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA)-NANOSPHERES RADIOPHARMACEUTICAL. Lymphoscintigraphy is one of diagnostic method which is conducted by injecting a colloidal radiopharmaceutical labelled technetium-99m which have ideally size of 100-200 nm in diameters by intradermal, subcutaneous or peritumoral route. The radiopharmaceutical movement in the lymphatic vessel can be detected from externalside using gamma camera or a special probe for lymphoscintigraphy parallely with surgery of tumor or cancer especially breast cancer. In the year of 2006 and 2007 have succeeded to be carried out designed and formulated of ^{99m}Tc-HSA-nanospheres is representing one of the nanocolloid radiopharmaceutical which is having the biodegradable and bioavailable characters. In the year of 2008, the study was continued to study of physical-chemistry characteristic of ^{99m}Tc-HSA-nanospheres, including radiochemical purity, pH, lypophilicity, plasma protein binding, electricity charge, stability after storage at certain temperature and in the plasmatic media. The results shows that ^{99m}Tc-HSA-nanospheres radiopharmaceutical have radiochemical purity of $92,1 \pm 2,6\%$, pH = 6,5 - 7, its number of lypophilicity was $0,127 \pm 0,03$, plasma protein binding $89,6 \pm 1,2\%$ and neutral electricity charge. After 30 minutes, it was kept at room temperature, its radiochemical purity slow down became 71%, while if it was kept at temperature of 4°C (refrigerator) after one hour the radiochemical purity still more than 90%. In vitro plasmatic stability indicated that radiochemical purity was go down drastically, started from 30 minutes later, then one hour that was 61,8 % and 55,9%, and at 2, 3 and until four hours storage this value did not change significantly that was 57,8%, 51,2%, 52% and after 24 hours became 8,2 %.

Key words: lymphoscintigraphy, nanocolloid, physical-chemistry characteristics, HSA-nanospheres, stability

1. PENDAHULUAN

Lymphoscintigraphy (limfosintigrafi) banyak disarankan oleh para tenaga medis terutama ahli bedah-onkologi sebagai metode komplementer untuk mengetahui keadaan saluran limfatik dari para pasien penderita kanker payudara (*breast cancer*), kanker ovarium (*ovarium cancer*), kanker prostat (*prostate cancer*) dan kanker nasofaring (*naso-pharynx cancer / NFC*). Keberhasilan suatu pembedahan atau terapi kanker tersebut, dapat dipantau dengan cara melihat *sentinel node (SN)* pada saluran limfatik pasien dengan metode limfosintigrafi, sehingga tindak lanjut pembedahan atau pengobatan dapat dirancang dengan sebaik-baiknya (1,2).

Kelainan yang sering terjadi juga di dalam saluran limfatik yaitu penyumbatan yang disebabkan oleh cacing filaria pada penderita filariasis atau lebih dikenal dengan penyakit kaki gajah (3). Menurut data dari Departemen Kesehatan RI, di beberapa daerah di Indonesia penyakit ini pada beberapa tahun terakhir menjadi penyakit endemik yang jumlah penderitanya bertambah secara signifikan (4-7). Diharapkan deteksi penyakit tersebut dapat dilakukan lebih dini dengan memanfaatkan metode limfosintigrafi ini.

Sejauh ini, pelaksanaan limfosintigrafi di kedokteran nuklir di Indonesia dilakukan dengan menggunakan radiofarmaka ^{99m}Tc -sulfur mikrokoloid. Kelemahan dari radiofarmaka ini adalah untuk proses limfosintigrafi dibutuhkan waktu yang lama sampai lebih dari 2 jam. Hal ini disebabkan karena ukuran partikel dari ^{99m}Tc -sulfur mikrokoloid yang besar (2–10 μm). Metode limfosintigrafi

sebaiknya dilaksanakan dengan menggunakan radiofarmaka berukuran 50-300 nm, dan ukuran yang ideal 100-200 nm. Apabila digunakan partikel dengan ukuran <50 nm, radiofarmaka tersebut akan cepat dialirkan ke dalam saluran limfatik, sehingga pencitraan harus dilakukan dengan terburu-buru, dan gambaran saluran limfatik menjadi cepat kabur. Sebaliknya, apabila ukuran partikel >300 nm, maka radiofarmaka ini akan lama tertinggal pada daerah penyuntikan dan pencitraan limfosintigrafi menjadi sangat lama. Hal tersebut akan memberikan kesulitan secara teknis pada saat dilaksanakan limfosintigrafi yang bersamaan dengan proses pembedahan tumor/kanker (1,2,8).

Pada tahun 2006 dan 2007 dari serangkaian penelitian (10,11), telah dihasilkan metode pembuatan partikel HSA-nanosfer dengan ukuran yang ideal yaitu 100-200 nm, dan metode penandaan terbaik untuk partikel HSA-nanosfer dengan radionuklida teknesium- ^{99m}Tc . Metode penandaan tersebut dapat menghasilkan senyawa bertanda ^{99m}Tc -HSA-nanosfer dengan efisiensi penandaan > 90%, dan dikarenakan ukuran partikelnya yang ideal diharapkan retensinya dalam saluran limfe menjadi lebih baik dari radiofarmaka ^{99m}Tc -sulfur koloid. Selain itu, karena dibuat dari protein yang ada dalam tubuh manusia yaitu *human serum albumin* (HSA), diharapkan apabila disuntikkan ke dalam tubuh manusia, akan lebih spesifik dan lebih stabil, sehingga keberadaan senyawa bertanda ^{99m}Tc -HSA-nanosfer tersebut akan memberikan manfaat di bidang kedokteran nuklir yaitu sebagai radiofarmaka yang ideal untuk limfosintigrafi.

Sebelum radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-

nanosfer ini digunakan secara klinis ke manusia, harus diketahui dulu sifat-sifat fisiko-kimia dan biologisnya, sehingga penggunaan selanjutnya tidak menimbulkan efek yang membahayakan dan merugikan (9,12,13). Untuk tujuan itu, pada tahun 2008 telah dilakukan karakterisasi fisiko-kimia dan biologis dari radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer. Karya tulis ilmiah ini akan membahas karakteristik fisika dan kimia radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer.

2. BAHAN DAN PERALATAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kit radiofarmaka HSA-nanosfer yang telah diformulasi dan dibuat di PTNBR-BATAN, Bandung (3) dalam keadaan steril, dan larutan ^{99m}Tc-perteknetat dari Generator ⁹⁹Mo-^{99m}Tc buatan PT. Batan Teknologi, Serpong. Bahan lainnya adalah metanol, asam klorida, n-oktanol, NaH₂PO₄.2H₂O, Na₂HPO₄.10H₂O, etanol absolut, trikloroasetat (TCA) dan asetoneitril semuanya buatan E.Merck. Kemudian larutan NaCl fisiologis steril dan air untuk injeksi buatan IPHA.

Bahan penunjang yang digunakan adalah kertas pH universal, kertas kromatografi Whatman-3MM, Whatman-1 dan alat suntik *disposable* steril (Terumo) berbagai ukuran.

Peralatan yang digunakan adalah alat pengaduk vortex, inkubator (Mammert) pengering beku-vakum (Labconco), pencacah saluran tunggal (Ortec), *dose calibrator* (Slumberger) timbangan analitis (Mettler), vial gelas ukuran 12 mL lengkap dengan tutup karet kaki tiga dan *seal* aluminium buatan Labconco, seperangkat alat elektrofore-

sis kertas (Gelman) dan seperangkat alat kromatografi kertas menaik.

3. TATA KERJA

3.1. Penyediaan dan evaluasi kit HSA-nanosfer

Kit HSA-nanosfer dibuat menggunakan formula yang diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya (11), yaitu sebagai berikut: larutan HSA-nanosfer sebanyak 25 µL, SnCl₂.2H₂O sebanyak 250 µg yang telah dicampurkan dengan Na-pirofosfat sebanyak 1,875 mg dalam air untuk injeksi dengan pH 7,4. Campuran ini kemudian diinkubasi dalam inkubator (37°C) selama 15 menit dan setelah itu dikeringkan dengan cara lio-filisasi menggunakan alat *freeze dryer* (Lab-conco) selama 48 jam sampai kering sempurna. Penandaan dilakukan dengan menambahkan radionuklida teknesium-99m berbentuk ^{99m}Tc-perteknetat dengan volume tidak lebih dari 1000 µL, campuran diaduk dengan pengaduk vortex dan kemudian sediaan diinkubasi pada temperatur kamar selama 15 menit untuk memberi waktu agar reaksi penandaan berlangsung (10). Setelah itu, radioaktivitas sediaan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer diukur menggunakan alat *dose calibrator*, selanjutnya kemurnian radiokimia dan karakteristik fisiko-kimianya ditentukan.

Kemurnian radiokimia dan efisiensi penandaan ditentukan secara bersamaan yaitu dengan metode kromatografi kertas menaik menggunakan fase diam berupa kertas Whatman 3MM, dan tiga macam fase gerak yang masing-masing dapat memisahkan pengotor radiokimia dari radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer yang terbentuk. Sistem

kromatografi kertas dengan fase diam kertas Whatman 3MM/fase gerak metanol 95%, dapat memisahkan pengotor radiokimia ^{99m}Tc -perteknetat bebas, sedangkan sistem Whatman 3MM/NaCl 0,9 % dapat memisahkan pengotor radiokimia ^{99m}Tc -pirofosfat yang mungkin terbentuk dimana ini akan bergerak naik bersama-sama dengan pengotor ^{99m}Tc -perteknetat sisa yang bebas ($R_f=0,6-0,9$). Apabila ingin mengetahui besarnya pengotor radiokimia ^{99m}Tc -tereduksi baik dalam bentuk $^{99m}\text{TcO}_2$ maupun $^{99m}\text{Tc}(\text{OH})_2$ yang keduanya diketahui berbentuk koloid, dapat digunakan sistem kromatografi ketiga yaitu fase diam kertas Whatman 3MM dan fase gerak HCl 1N, dimana dengan sistem ini senyawa pengotor tadi akan tinggal dititik awal ($R_f = 0$) sedangkan senyawa bertanda lainnya yaitu ^{99m}Tc -HSA-nanosfer, ^{99m}Tc -perteknetat dan ^{99m}Tc -pirofosfat akan naik dengan $R_f = 0,7 - 0,9$. Dengan menggabungkan hasil dari ketiga sistem kromatografi tersebut dapat diketahui besarnya kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -HSA-nanosfer (10,11).

3.2. Karakterisasi fisiko-kimia radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer

3.2.1. Penentuan muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer

Muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer ditentukan dengan metode elektroforesis kertas. Fase diam/bahan penyangga yang digunakan adalah kertas Whatman 1 dengan ukuran 30 x 1,5 cm yang telah diberi tanda pada setiap sentimeternya dengan angka-angka dari 0 pada

bagian tengah sampai dengan negatif (-)15 pada salah satu sisi, dan positif (+)15 pada sisi yang lainnya. Potongan kertas ini kemudian dipasangkan pada alat elektroforesis dan titik nol berada ditengah-tengah dan sisi negatif diletakkan pada sisi katoda, sedangkan sisi positif pada sisi lainnya. Setelah seluruh permukaan kertas dibasahi dengan pelarut yang digunakan untuk elektroforesis, dalam hal ini digunakan larutan dapar fosfat 0,05 N pH=7, maka di titik 0 ditetaskan radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer yang akan dianalisis. Kemudian alat elektroforesis ditutup, dan arus listrik mulai dialirkan dengan perbedaan tegangan antara dua kutub 300 Volt (V) selama 1 -1,5 jam. Setelah waktu yang ditentukan selesai, maka arus listrik dimatikan, dan kertas diangkat dan dikeringkan. Tiap cm kertas tersebut dipotong-potong dan setiap potongan kertas dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal pada saluran yang sesuai untuk energi teknesium-99m, dengan jalan mengatur besarnya jendela energi untuk batas atas (*upper level*) dan batas bawah (*lower level*). Dari hasil elektroforesis kertas ini dapat diketahui muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer (netral, positif atau negatif).

3.2.2. Penentuan sifat lipofilisitas

Sebanyak 100 μL sediaan ^{99m}Tc -HSA-nanosfer ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 1 mL n-oktanol (fraksi oktanol) dan 1 mL larutan NaCl fisiologis (0,9%) pH 7,4 (fraksi air). Campuran ini diaduk dengan pengaduk vortex selama 5 menit dan disentrifuga pada 3000 rpm selama 15 menit, kemudian fraksi oktanol diambil cuplikannya sebanyak 10 μL dan

dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal. Ke dalam fraksi air ditambahkan lagi sebanyak 1 mL n-oktanol dan proses pengocokan dan pemisahan dilakukan lagi se-perti di atas untuk beberapa kali sampai ra-dioaktivitas di fraksi oktanol konstan. Sete-lah itu, aktivitas dari masing-masing fraksi air dan oktanol diukur dengan alat *dose ca-librator*. Lipofilisitas dapat dihitung dari hasil pengukuran ini dengan rumus :

$$\text{Lipofilisitas} = \log P(\text{oct}),$$

dimana

$$P_{(\text{oct})} = \frac{\text{radioaktivitas fraksi oktanol}}{\text{radioaktivitas fraksi air}}$$

3.2.3. Penentuan besarnya ikatan dengan protein plasma

Ke dalam tabung reaksi dimasukkan sebanyak 50 μL sediaan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer, ditambah 500 μL serum darah manusia dan campuran di aduk dengan pengaduk vortex selama 5 menit. Setelah radioaktivitas dari campuran ini diukur dengan alat *dose calibrator*, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada 37°C selama 10 menit. Sebanyak 1 mL larutan 5% trikloro asetat (TCA) ditambahkan ke dalamnya dan campuran diaduk dengan pengaduk vortex. Kemudian disentrifuga selama 15 menit dengan kecepatan putaran 3000 rpm, fraksi endapan dan supernatan dipisahkan. Ke dalam endapan ditambahkan sebanyak 1 mL larutan NaCl 0,9% pH 7,4 kemudian proses pengadukan, sentrifugasi dan pemisahan endapan diulang seperti prosedur di atas beberapa kali sehingga tidak lagi terbentuk endapan pada saat penambahan larutan TCA 5%. Demikian pula halnya ter-

hadap fraksi supernatan ditambah larutan TCA 5% diaduk dan disentrifuga pada 3000 rpm selama 15 menit. Setelah itu masing-masing dari semua fraksi endapan dan supernatan disatukan dan radioaktivitas diukur dengan alat *dose calibrator*. Besarnya ikatan protein plasma dapat diukur dengan menggunakan rumus di bawah ini :

$$\% \text{Ikatan dengan protein plasma} = \frac{\text{radioaktivitas endapan}}{\text{radioaktivitas (endapan + supernatan)}} \times 100\%$$

3.2.4. Penentuan kestabilan radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer

3.2.4.1. Stabilitas pada penyimpanan setelah penandaan

Dua buah vial yang berisi ^{99m}Tc-HSA-nanosfer yang telah ditentukan kemurnian radiokimianya, satu vial disimpan pada temperatur kamar dan vial lain disimpan dalam lemari es pada temperatur 4°C. Pada waktu-waktu tertentu dari masing-masing vial diambil cuplikan sediaananya dan ditotolkan pada kertas kromatografi Whatman 3MM, kemudian dilakukan kromatografi dengan sistem kromatografi seperti telah disebutkan di atas. Besarnya kemurnian radiokimia dari masing-masing cuplikan dapat dihitung dan hasil kemurnian radiokimia dari kedua kelompok vial tadi dibandingkan. Percobaan ini diulang beberapa kali sehingga diperoleh hasil yang sah.

3.2.4.2. Stabilitas plasmatik (stabilitas dalam plasma darah)

Sebanyak 100 μL radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer yang telah diketahui radioaktivitas dan kemurnian radiokimianya ditambahi 900 μL plasma manusia (*human plasma*), dan vial divakum secara *manual*,

kemudian diaduk dengan pengaduk vortex. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator pada 37°C selama 30 menit, 1, 2, 3 dan 4 jam. Setiap waktu tertentu tersebut, 100 µL sediaan tadi diambil dan ditambahi dengan 100 µL asetonitril p.a., kemudian diaduk dengan pengaduk vortex. Setelah itu campuran disentrifuga selama 5 menit untuk memisahkan endapan dari supernatnya. Endapan dan supernatan harus terpisah sempurna, dan cuplikan dari supernatan diambil untuk dikromatografi dengan kromatografi kertas yang sesuai seperti telah disebutkan di atas. Sisa sediaan dimasukkan kembali kedalam inkubator untuk penentuan stabilitas plasmatik pada waktu penyimpanan selanjutnya.

Sebagai blanko (tanpa plasma), percobaan dilakukan seperti tersebut di atas, tetapi plasma diganti dengan dapar fosfat 0,01N pH=7,4. Percobaan diulang beberapa kali, hasilnya dihitung dan dibandingkan dengan kontrol (blanko).

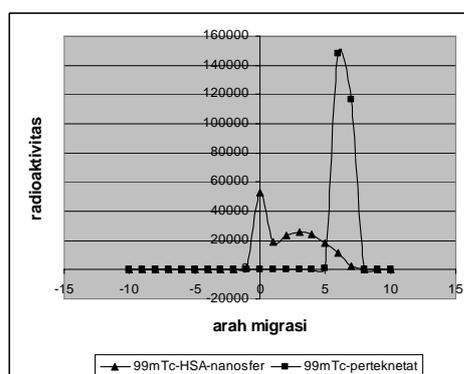
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari beberapa sediaan ^{99m}Tc -HSA-nanosfer yang dibuat dan setelah dilakukan evaluasi tentang kemurnian radiokimianya dengan sistem kromatografi terpilih seperti yang telah dijelaskan dalam Tata Kerja, ternyata radiofarmaka tersebut mempunyai kemurnian radiokimia $92,1 \pm 2,6\%$. Hal ini sudah cukup untuk memenuhi kebutuhan akan radiofarmaka yang baik yaitu $> 90\%$ (9,12). Demikian pula pH dari sediaan ini, menunjukkan bahwa pH akhir sediaan berkisar antara 6,5–7,0.

Sebelum dapat digunakan untuk tujuan ke manusia sebagai radiofarmaka

untuk limfosintigrafi harus ditentukan dahulu karakteristik fisiko-kimianya.

Karakteristik pertama yang dipelajari adalah muatan listrik dari radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer dengan elektroforesis kertas. Hasilnya menunjukkan bahwa sediaan tersebut bermuatan netral yang terbukti setelah proses elektroforesis selesai radioaktivitas dari ^{99m}Tc -HSA-nanosfer tetap tinggal di titik 0 (titik awal), ditengah-tengah tidak bergerak ke arah katoda atau elektroda negatif (-) dan juga tidak ke arah anoda atau elektroda positif (+). Berbeda halnya dengan ^{99m}Tc -perteknetat yang tampak dalam elektrogram bergerak ke arah anoda dan ini menunjukkan bahwa $^{99m}\text{TcO}_4^-$ memang bermuatan negatif (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil elektroforesis ^{99m}Tc -HSA-nanosfer dan ^{99m}Tc -perteknetat

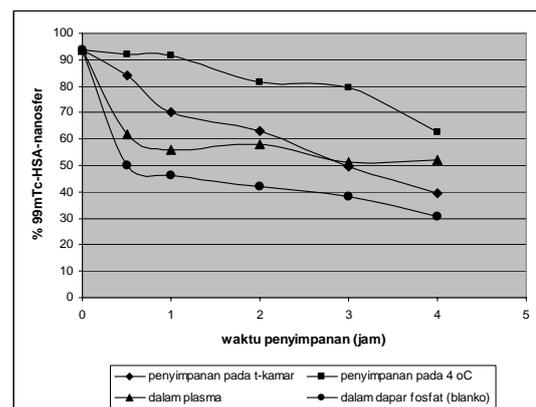
Pada Gambar 1 terlihat setelah puncak ^{99m}Tc -HSA-nanosfer yang berada pada titik 0, ada puncak kedua di titik +3, ini dimungkinkan karena adanya senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat bebas sebagai pengotor radiokimia bagi ^{99m}Tc -HSA-nanosfer yang bermigrasi ke arah anoda tetapi tidak sejauh ^{99m}Tc -perteknetat (titik +6).

Besarnya jumlah ^{99m}Tc -HSA-nanosfer yang bercampur/larut dalam oktanol

tergantung pada koefisien partisi oktanol/air (O/A) dari senyawa tersebut. Makin tinggi koefisien partisinya menunjukkan bahwa senyawa itu makin lipofil artinya makin mudah terlarut dalam lemak. Sebaliknya apabila koefisien O/A nya makin rendah senyawa tersebut lebih mudah larut dalam fase air atau disebut bersifat hidrofil. Dengan menghitung besarnya cacahan radioaktivitas dalam fase oktanol dibanding dengan radioaktivitas dalam fase air dapat diketahui koefisien partisinya, sedangkan lipofilisitasnya dinyatakan dengan $P_{(oct/air)}$ yang sama dengan logaritma dari koefisien partisi O/A (13). Dari hasil beberapa kali percobaan diperoleh bahwa angka lipofilisitasnya adalah $0,127 \pm 0,03$ yang membuktikan bahwa senyawa ini sangat mudah bercampur dengan air atau hidrofil.

Besarnya ikatan dengan protein plasma dari sediaan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer yang diperoleh dari beberapa kali percobaan adalah $89,6 \pm 1,2\%$. Besaran ini memperlihatkan bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer sangat mudah berikatan dengan protein plasma. Hal ini mudah dimengerti karena HSA-nanosfer pun dibuat dari bahan dasar albumin serum darah manusia, jadi dengan mudahnya ^{99m}Tc-HSA-nanosfer akan berikatan dengan protein plasma karena sama-sama terbuat dari albumin. Kemungkinan lain yang dapat terjadi adalah, setelah larutan TCA 5% ditambahkan kedalam sediaan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer, senyawa tersebut akan terendapkan bersama-sama dengan protein plasma yang ada dalam media. Hal ini akan menyebabkan hasil penentuan ikatan dengan protein plasma menjadi lebih tinggi.

Data kestabilan radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer perlu untuk diinformasikan kepada pengguna yaitu rumah sakit, sehingga radiofarmasis di kedokteran nuklir dapat mengetahui sejauh mana kestabilan sediaan ini apabila harus disimpan untuk menunggu penggunaan ke pasien berikutnya, dengan demikian para dokter ahli kedokteran nuklir dapat merencanakan berapa pasien yang dapat dilayani menggunakan satu vial radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer. Dari hasil yang diperoleh ternyata bahwa penyimpanan pada temperatur kamar dapat cepat merusak sediaan, yang terbukti pada Gambar 2, bahwa setelah penyimpanan selama 30 menit kemurnian radiokimia telah turun menjadi 85%, dan setelah 60 menit menjadi 71%. Apabila sediaan tersebut disimpan dilemari pendingin dengan temperatur sekitar 4 °C, sampai satu jam penyimpanan, kemurnian radiokimianya masih tetap bertahan > 90%.



Gambar 2. Kurva kestabilan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer pada berbagai kondisi penyimpanan

Data ini dapat diinformasikan kepada pengguna, bahwa kalau sediaan ini akan digunakan oleh lebih dari satu pasien pada waktu yang tidak bersamaan, radiofarmaka

^{99m}Tc -HSA-nanosfer harus disimpan dalam lemari pendingin maksimal selama 60 menit (satu jam). Dari hasil evaluasi kestabilan pada penyimpanan selama 30 menit tersebut terbukti, bahwa pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}Tc -perteknetat ($16,1 \pm 6,5\%$) dan ^{99m}Tc -pirofosfat ($28,3 \pm 16,0\%$) relatif lebih tinggi dibandingkan dengan pengotor dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi ($4,4 \pm 1,4\%$). Hal ini membuktikan bahwa dalam penyimpanan tersebut terjadi penguraian dari senyawa ^{99m}Tc -HSA-nanosfer dengan melepaskan senyawa $^{99m}\text{TcO}_4$ -bebas dan ^{99m}Tc -pirofosfat. Penguraian ini dapat diperlambat dengan menurunkan temperatur penyimpanan pada 4°C di dalam lemari es.

Kestabilan dalam plasma darah atau cairan biologis juga perlu untuk diketahui, mengingat bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer akan digunakan untuk limfosintigrafi yang penyuntikannya secara *intradermal* atau *subkutan*, sehingga keberadaan dalam saluran limfatik relatif lebih lama dari pada penyuntikan *intravena*. sehingga kestabilan plasmatiknya harus dipelajari dan diketahui.

Gambar 2. menunjukkan bahwa kestabilan radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer dalam plasma lebih rendah dari pada tidak dalam plasma. Penurunan kemurnian radiokimia (KRK) sangat drastis pada jam pertama penyimpanan, terlihat pada grafik dari KRK $93,5\% \pm 4,0\%$ turun pada 30 menit pertama menjadi $61,8 \pm 10,8\%$, dan kemudian pada 1 jam menjadi $55,9 \pm 18,4\%$. Penurunan kestabilan dari radiofarmaka ini pada penyimpanan 30 dan 60 menit diperkuat oleh hasil dari dua pengukuran kemurnian

radiokimia yang menunjukkan standar deviasi dari tiga kali pengulangan ($n=3$) yang cukup tinggi yaitu lebih besar dari 10%. Kemurnian radiokimia sekitar 50% ini terus bertahan sampai 4 jam setelah berada dalam plasma, kemudian setelah 24 jam turun lagi menjadi 8,2%. Apabila plasma diganti dengan dapar fosfat 0,01 N pH 7,4, ternyata kestabilannya lebih cepat turun dari pada dalam plasma.

Kestabilan ^{99m}Tc -HSA-nanosfer dalam plasma setelah satu jam sampai 4 jam relatif stabil dengan kemurnian radiokimia sekitar 50%. Apabila dibandingkan dengan kestabilannya dalam dapar fosfat maupun kestabilannya dalam bentuk ^{99m}Tc -HSA-nanosfer asli, setelah satu jam KRK-nya menurun drastis. Di bawah ini besaran kestabilan plasmatik dari radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer yang ditentukan secara *in-vitro*, dimulai dari 30 menit dan 1 jam yaitu sebesar 61,8% dan 55,9%, dan kemudian pada 2, 3 dan sampai 4 jam berikutnya angka ini tidak berubah signifikan yaitu 57,8%, 51,2%, 52% baru pada 24 jam menjadi 8,2%. Angka-angka tersebut menunjukkan bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc -HSA-nanosfer sebesar >50% tetap bertahan dalam bentuk utuh sampai dengan 4 jam setelah bercampur dengan plasma. Karena cairan limfe komposisinya tidak jauh berbeda dengan plasma, maka diharapkan bahwa kestabilan radiofarmaka inipun akan mirip apabila dicampur dengan cairan limfe secara *in vitro*. Kestabilan plasmatik/limfatik secara *in vivo*, harus dibuktikan dengan penelitian biokinetika radiofarmaka tersebut pada hewan uji. Dengan profil kestabilan dalam plasma seperti ini diharapkan akan

memberikan gambaran yang ideal apabila radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer ini digunakan untuk limfosintigrafi.

5. KESIMPULAN

Dari hasil dapat disimpulkan bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer mempunyai kemurnian radiokimia 92,1±2,6%, pH sediaan 6,5–7, angka lipofilisitasnya 0,127±0,03, ikatan dengan protein plasma 89,6 ± 1,2% dan mempunyai muatan listrik netral. Setelah 30 menit disimpan pada temperatur kamar kemurnian radiokimianya turun menjadi sekitar 71%, sedangkan apabila disimpan pada temperatur 4°C (lemari es), setelah satu jam kemurnian radiokimianya masih >90%. Penentuan secara *in-vitro* dari kestabilan sediaan ^{99m}Tc-HSA-nanosfer dalam plasma, hasilnya menunjukkan bahwa kemurnian radiokimia turun secara drastis dimulai dari 30 menit dan 1 jam setelah diinkubasi dengan plasma, yaitu sebesar 61,8% dan 55,9%, tetapi pada 2, 3 dan sampai 4 jam berikutnya angka ini tidak berubah signifikan yaitu 57,8%, 51,2%, 52% dan kemudian pada 24 jam menjadi 8,2%. Dengan profil kestabilan dalam plasma seperti ini, diharapkan apabila radiofarmaka ^{99m}Tc-HSA-nanosfer disuntikkan ke dalam tubuh manusia secara *intradermal*, *subcutan* atau *peritumoral* untuk limfosintigrafi, dapat memberikan gambaran pencitraan saluran limfatik yang lebih baik dan ideal.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. Dillehay GL. Lymphoscintigraphy in oncology. In Nuclear Medicine 2nd ed. Ed. Henkin RE. et.al. Philadelphia: Mosby Elsevier Inc; 2006:1480-1.
2. Nycomed. Amersham. Clinical bibliography: lymphoscintigraphy with Tc-99m labelled colloids. April 1999.
3. Lymphatic filariasis. Strategy direction for lymphatic filariasis research. [serial on-line] 2002 Feb; 1: <http://www.who.int/tdr/diseases/lymphfil/direction.htm>
4. Asep Hermana. Filariasis dari cacing jadi gajah. Harian Pikiran Rakyat, Kamis 22 Maret 2007.
5. 44 Penderita kaki gajah dalam kondisi kronis. Harian Pikiran Rakyat, Sabtu 26 April 2008, hal 4.
6. Filariasisancam jabar. Harian Pikiran Rakyat; Senin 9 Februari 2009, hal 1 & 7
7. Pusat Informasi Penyakit Infeksi: Filariasis, <http://www.infeksi.com/articles.php>, diunduh pada tanggal 20 Agustus 2008.
8. Nycomed, Amersham. Clinical bibliography: sentinel node imaging, biopsy and surgery, April 1999.
9. Zolle I, PO Bremmer. Technetium-99m pharmaceuticals: monographs of 99mTc pharmaceuticals 99mTc-albumin nanocolloid, Vienna-Austria; Springer Berlin Heidelberg; 2007: 230-6.
10. Kartini NO, Eva Maria W. Penandaan human serum albumin (HSA)-nanosfer dengan radionuklida teknesium-99m. Kolokium kegiatan tahun 2006, 14-15 Maret 2007 di PTNBR-Batan, Bandung.
11. Kartini NO, dkk. Pengembangan kit radiofarmaka human serum albumin (HSA)-nanosfer untuk uji limfosintigrafi di kedokteran nuklir. Seminar Nasional

- PKNI-PKBNI. Bandung; 4 – 6 Desember 2008.
12. Owunwanne A, Patel M, Sadek S. The hand book of radiopharmaceuticals. 1st ed. England : Chapman and Hall Medical Clays Ltd.; 1995: 67-8.
13. Nunn A. Radiopharmaceuticals: chemistry and pharmacology. 10th ed. New York
14. (NY): Marcel Dekker Inc.;1999: 10-2.