

KARAKTERISTIK RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -GLUTATION

Nurlaila Z., Maula Eka Sriyani

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

Diterima: 08-11-2011

Diterima dalam bentuk revisi: 05-12-2011

Disetujui: 28-12-2011

ABSTRAK

KARAKTERISTIK RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -GLUTATION. Senyawa bertanda teknesium-99m-glutation (^{99m}Tc -GSH) merupakan radiofarmaka yang digunakan dalam bidang kedokteran nuklir untuk diagnosis kanker dengan metode pencitraan. Karakteristik fisiko-kimia dan biologis suatu radiofarmaka memegang peranan penting dalam penyebaran serta penimbunannya di dalam tubuh. Oleh karena itu, untuk menjamin keberhasilan penggunaan radiofarmaka perlu dilakukan pengujian sifat fisiko-kimia dan biologisnya. Pengujian kemurnian radiokimia dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (TLC-SG) menggunakan aseton kering dan NaCl 0,9% sebagai fase gerak. Muatan ^{99m}Tc -GSH ditentukan dengan metode elektroforesis dan lipofilisitasnya (P) diketahui dengan menentukan koefisien partisipasinya dalam pelarut organik-air. Ikatan protein plasma ditentukan secara *in-vitro* dengan metode pengendapan menggunakan larutan asam trikloro asetat (TCA) 5%. Di samping itu, dilakukan juga pengujian pengaruh besarnya radioaktivitas ^{99m}Tc terhadap stabilitas ^{99m}Tc -GSH serta stabilitas di dalam plasma secara *in-vitro*. Dari hasil percobaan diperoleh bahwa radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH mempunyai kemurnian radiokimia $99,08 \pm 0,26\%$; tidak bermuatan listrik (netral); lipofilisitas = $0,03 \pm 0,002$; ikatan protein plasma sebesar $30,31 \pm 0,04\%$. Penggunaan larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ sampai mencapai konsentrasi radioaktivitas 21 mCi/2 mL menghasilkan radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH yang tetap stabil hingga 5 jam dengan kemurnian radiokimia $\geq 95\%$. Uji stabilitas ^{99m}Tc -GSH dalam plasma secara *in-vitro* menunjukkan bahwa kemurnian radiokimia menurun dengan cepat pada penyimpanan satu jam pertama, yaitu sebesar $63,41 \pm 4,86\%$ dan kemurnian radiokimia antara 55 - 57 % bertahan hingga 5 jam penyimpanan.

Kata kunci : karakteristik, radiofarmaka, ^{99m}Tc , glutation, kanker

ABSTRACT

CHARACTERISTIC OF ^{99m}Tc -GLUTATHIONE RADIOPHARMACEUTICAL. Technetium-99m glutathione labelled compound is a radiopharmaceutical which is used in nuclear medicine for cancer diagnoses by imaging method. The distribution and accumulation of radiopharmaceutical in the body depend on its physicochemical and biological characteristic. Therefore, the determination of its characteristic was carried out in order to assure the successful utilization of this radiopharmaceutical. The radiochemical purity was determined with thin layer chromatography (TLC-SG) using dried acetone and 0.9% of NaCl solution as a mobile phase. The charge of ^{99m}Tc -GSH was tested by electrophoresis method and its lipophilicity (P) was obtained by determination of octanol-water partition. The plasma binding protein of this radiopharmaceutical was *in-vitro* investigated with precipitation method using 5% of trichloro acetic acid solution. Beside that, studies on the effect of ^{99m}Tc radioactivity to the stability of ^{99m}Tc -GSH and its stability in plasma has been *in-vitro* carried out. From the experiment it was obtained that ^{99m}Tc -GSH has $99.08 \pm 0.26\%$ of radiochemical purity; neutral (no charge); the lipophilicity (P) = 0.03 ± 0.002 ; the plasma binding protein of $30.31 \pm 0.04\%$. Utilization of ^{99m}Tc radioactivity concentration up to 21 mCi/2 mL resulted ^{99m}Tc -GSH radiopharmaceutical which was remained stable up to 5 hours with $\geq 95\%$ of radiochemical purity. *In-vitro* stability test of ^{99m}Tc -GSH in plasma indicated that in the first hour of storage, the radiochemical purity drastically decreased and until 5 hours of storage, its radiochemical purity did not change significantly, that was about 50%.

Keywords: characteristic, radiopharmaceutical, ^{99m}Tc , glutathione, cancer

1. PENDAHULUAN

Dunia kedokteran hingga saat ini belum menemukan cara untuk mencegah timbulnya penyakit kanker. Paramedis berpendapat bahwa banyak penderita yang dapat diselamatkan jika ada cara efektif untuk deteksi dini penyakit kanker. Di Indonesia penyakit kanker merupakan penyebab kematian ke tiga setelah penyakit jantung dan infeksi (1). Oleh karena itu, tindakan deteksi dini merupakan hal yang sangat penting mengingat terapi pada stadium dini relatif lebih mudah dibandingkan dengan stadium yang lebih lanjut. Angka keberhasilan terapi untuk semua jenis kanker sangat berkaitan dengan saat diagnosis dan pengobatan. Artinya semakin tinggi stadium saat diagnosis dilakukan, maka keberhasilan terapi akan lebih rendah dengan modalitas pengobatan yang semakin agresif (2).

Kedokteran nuklir berupaya untuk dapat berperan dalam deteksi dini penyakit kanker. Untuk maksud ini diperlukan radiofarmaka yang spesifik sehingga apabila disuntikkan ke dalam tubuh manusia, radiofarmaka tersebut akan terakumulasi di daerah terjadinya kanker.

Glutation (GSH) merupakan molekul sederhana yang terdiri dari 3 asam amino, yaitu glutamat, sistein dan glisin yang terikat dengan ikatan amidat gamma. Tripeptida ini terdapat dalam sitoplasma dengan jumlah yang cukup besar, terutama pada limfosit dari darah perifer (3). Konsentrasi GSH intraseluler sangat bervariasi antara 0,5 – 10 mM, sedangkan di dalam plasma darah hanya dalam orde μ molar saja (4). Di dalam tubuh GSH terlibat dalam proses

detoksifikasi dan merupakan pelindung sel-sel terhadap kerusakan akibat bahan kimia, termasuk juga disini melindungi jaringan malignant terhadap bahan kimia yang diinduksi oleh senyawa kemoterapi (5).

Dalam penelitian terdahulu telah berhasil diformulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -glutation (^{99m}Tc -GSH) (6). Senyawa ini berbentuk kompleks khelat dimana radionuklida ^{99m}Tc bertindak sebagai inti logamnya dengan teras okso dalam bentuk tetradentat (2N, 2S) dari 2 molekul glutation (7). Radiofarmaka ini diharapkan dapat digunakan untuk tujuan diagnosis kanker menggunakan teknik nuklir. Di samping itu, teknik ini dapat juga digunakan untuk evaluasi preoperasi sehingga tindak lanjut pengobatan akan lebih terarah mengingat keefektifan pengobatan setelah pembedahan, sangat tergantung pada keberhasilan pembedahan jaringan kanker tersebut.

Radiofarmaka yang akan digunakan untuk tujuan diagnosis suatu organ di dalam tubuh harus terakumulasi pada organ sasaran (*target organ*) dengan rentang waktu yang optimal sehingga dapat dilakukan pencitraan. Demikian pula halnya untuk radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH harus diketahui dengan pasti bahwa akan terakumulasi secara spesifik pada daerah sasaran dan proses penandaan dengan ^{99m}Tc tidak mempengaruhi sifat-sifatnya. Oleh karena itu, sebelum radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH digunakan bagi kebutuhan manusia, harus diketahui terlebih dahulu sifat-sifat fisiko-kimia dan biologisnya. Karakteristik fisiko-kimia dan biologis ini memegang peranan penting dalam

penyebaran serta penimbunannya di dalam tubuh. Beberapa sifat tersebut antara lain kemurnian radiokimia, lipofilisitas, muatan listrik, dan ikatan protein plasma (8).

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH (6), dan bertujuan untuk mengetahui karakteristik radiofarmaka tersebut yang memegang peranan penting dalam keberhasilan diagnosis. Sehubungan dengan itu, dalam penelitian ini dilakukan karakterisasi radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH yang meliputi pengujian kemurnian radiokimia, lipofilisitas, muatan listrik dan ikatan protein plasma. Di samping itu, dilakukan juga pengujian stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dalam plasma darah secara *in-vitro*.

Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh data fisiko-kimia, biologis serta data-data teknis lainnya, yang dapat dinformasikan kepada pengguna, untuk menunjang keberhasilan penggunaan radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH.

2. TATA KERJA

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah radionuklida ^{99m}Tc dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ yang diperoleh dari generator ^{99}Mo - ^{99m}Tc buatan PT.BATAN Teknologi, Serpong dan glutation (GSH) buatan Sigma. Bahan yang lainnya adalah larutan NaCl fisiologis (0,9%) dan akuabides steril produksi IPHA Laboratories, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, aseton, natrium klorida, natrium hidroksida, trikloroasetat (TCA), n-oktanol, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ serta pereaksi lain dengan tingkat pereaksi analisis buatan E.Merck.

Bahan penunjang yang digunakan adalah kertas pH universal (E.Merck), kertas kromatografi Whatman I, TLC-SG (E.Merck) dan alat suntik *disposable* steril (Terumo) berbagai ukuran.

Peralatan yang digunakan adalah pengaduk vortex, inkubator (Memmert), *dose calibrator* (Victoreen), pencacah saluran tunggal (Schlumberger), timbangan analitis (Mettler Toledo), pH-meter (Sartorius), sentrifuga, seperangkat alat kromatografi lapis tipis serta seperangkat alat elektroforesis kertas (Gelman).

2.2. Penyediaan Radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH

Ke dalam vial yang berisi 1 mL larutan GSH (20 mg/mL) ditambahkan 300 μL reduktor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1 mg/mL). Larutan diatur pH 7 dengan penambahan tetes demi tetes larutan NaOH 1N/HCl 1N, selanjutnya ditambahkan radionuklida ^{99m}Tc dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ dengan aktivitas ± 2 mCi. Volume akhir campuran dibuat 2 mL dengan penambahan akuabides, kemudian dikocok beberapa saat pada temperatur kamar.

2.3. Pengujian Kemurnian Radiokimia ^{99m}Tc -GSH

Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam TLC-SG, ukuran 1 cm x 10 cm yang diberi tanda -1 hingga 8. Sebagai fase gerak digunakan 2 macam pelarut, yaitu aseton kering dan NaCl 0,9%. Sediaan ^{99m}Tc -GSH ditotolkan pada titik nol *strip* TLC-SG, kemudian masing-masing dielusi dengan kedua macam fase gerak. Kromatogram

dikeringkan, dipotong-potong sepanjang 1 cm dan tiap potongan dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal.

2.4. Penentuan Muatan Listrik Radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH

Muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH ditentukan dengan metode elektroforesis kertas. Fase diam yang digunakan adalah kertas Whatman 1 dengan ukuran 30 cm x 1,5 cm yang telah diberi tanda pada setiap sentimernya dengan angka-angka dari nol pada bagian tengah sampai dengan negatif 15 (-15) pada salah satu sisi, dan positif 15 (+15) pada sisi yang lainnya. Potongan kertas ini dipasang pada alat elektroforesis dengan posisi titik nol berada di tengah-tengah dan sisi negatif diletakkan pada sisi katoda, sedangkan sisi positif pada sisi anoda. Seluruh kertas dibasahi dengan pelarut yang digunakan untuk elektroforesis (larutan dapar fosfat 0,05 N pH 7), pada titik nol ditetaskan radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH yang akan dianalisis. Kemudian alat elektroforesis ditutup, dan arus listrik dialirkan dengan perbedaan tegangan antara 2 kutub sebesar 300 Volt selama 1 – 1,5 jam. Setelah selesai kertas diangkat, dikeringkan, dipotong-potong tiap 1 cm dan tiap potongan dicacah dengan alat

pencacah saluran tunggal. Dari hasil ini dapat diketahui muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH. Dalam waktu yang bersamaan dilakukan juga elektroforesis terhadap larutan natrium perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) sebagai blanko.

2.5. Penentuan Lipofilisitas ^{99m}Tc -GSH

Penentuan lipofilisitas dilakukan dengan memodifikasi metode yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya (9). Ke dalam tabung sentrifuga yang berisi 2 mL oktanol dan 2 mL NaCl fisiologis (0,9%) pH 7,4 dimasukkan 10 – 50 μL (tergantung radioaktivitas) sediaan ^{99m}Tc -GSH. Campuran dikocok dengan pengaduk vortex selama 1 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 putaran/menit selama 10 menit. Sebanyak 50 – 100 μL masing-masing fraksi (oktanol dan NaCl) diambil dan dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal. Lapisan oktanol dipindahkan ke dalam tabung lain, ditambah larutan NaCl fisiologis (0,9%) dengan volume yang sama. Percobaan diulangi lagi sampai diperoleh nilai koefisien partisi yang relatif konstan. Perbandingan besarnya cacahan fase oktanol dan fase NaCl menunjukkan besarnya lipofilisitas, dinyatakan sebagai koefisien partisi sediaan, yang dapat dihitung dengan persamaan [1].

$$\text{Koefisien partisi} = \text{Lipofilisitas (P)} = \frac{\text{Cacahan fase oktanol}}{\text{Cacahan fase NaCl 0,9\%}} \quad [1]$$

$$\text{Ikatan dengan protein plasma (\%)} = \frac{\text{Cacahan endapan}}{\text{Cacahan (endapan+supernatan)}} \times 100\% \quad [2]$$

2.6. Penentuan Besarnya Ikatan dengan Protein Plasma

Ke dalam tabung sentrifuga yang berisi 500 μL plasma darah manusia ditambahkan 50 μL radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH, kemudian dikocok dengan pengaduk vortex selama 1 menit. Campuran diinkubasi pada 37 °C selama 10 menit, lalu ditambah 1 mL larutan NaCl fisiologis (0,9%) dan 1 mL larutan trikoloro asetat (TCA) 5%, dikocok lagi dengan pengaduk vortex. Selanjutnya campuran disentrifugasi pada 300 rpm selama 15 menit, supernatan dan endapan dipisahkan. Ke dalam supernatan ditambahkan lagi 1 mL larutan TCA 5%, proses pengendapan dan pemisahan diulangi kembali. Fraksi endapan dicuci dengan 1 mL larutan NaCl fisiologis (0,9%) dengan mengocoknya memakai pengaduk vortex, disentrifugasi dan endapan dipisahkan. Masing-masing fraksi dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal. Besarnya ikatan dengan protein plasma dapat dihitung menggunakan persamaan [2].

2.7. Pengujian Stabilitas Radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH

2.7.1. Stabilitas pada penyimpanan setelah penandaan

Vial yang berisi radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH yang telah ditentukan kemurnian radiokimianya disimpan pada temperatur kamar. Pada waktu-waktu tertentu (1, 2, 3, 4, dan 5 jam) cuplikan sediaan diambil dan ditotolkan pada pelat TLC-SG (1,5 cm x 10 cm), kemudian dikromatografi seperti yang diuraikan di bagian 2.3. Selain itu, dilakukan juga pengujian stabilitas ^{99m}Tc -GSH pada berbagai konsentrasi radioaktivitas (1,3; 5;

8; 14 dan 21 mCi) per 2 mL sediaan.

2.7.2. Stabilitas dalam plasma darah

Pengujian stabilitas dalam plasma darah dilakukan secara *in-vitro* menggunakan plasma darah manusia (*human plasma*). Sebanyak 250 μL radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH yang telah diketahui kemurnian radiokimianya ditambahkan ke dalam vial yang berisi 500 μL plasma darah manusia. Vial divakum secara manual, kemudian dikocok dengan pengaduk vortex. Campuran diinkubasi dalam inkubator pada 37 °C dan setiap waktu tertentu (15, 30, 45 menit, 1, 2, 3, 4 dan 5 jam) ditentukan kemurnian radiokimianya dengan metode kromatografi seperti yang diuraikan di bagian 2.3.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Suatu radiofarmaka yang akan digunakan untuk tujuan diagnosis di dalam tubuh, harus terakumulasi dengan baik pada organ atau tempat yang akan disidik dengan rentang waktu yang optimal sehingga dapat dilakukan proses pencitraan. Untuk memenuhi persyaratan sebagai suatu radiofarmaka yang baik, maka perlu dilakukan karakterisasi terhadap radiofarmaka tersebut sehingga dapat diketahui sifat-sifatnya.

Salah satu sifat utama radiofarmaka yang harus ditentukan adalah kemurnian radiokimia. Pengujian kemurnian radiokimia ini merupakan hal yang mutlak harus dilakukan agar dapat menjamin bahwa sediaan tersebut berada dalam bentuk senyawa kimia seperti yang diinginkan dengan jumlah yang memenuhi persyaratan

yang telah ditetapkan, sehingga dapat memperkecil terjadinya penimbunan pada organ lain yang tidak diinginkan.

Kemurnian radiokimia sediaan ^{99m}Tc -GSH ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan TLC-SG sebagai fase diam, dan sebagai fase gerak digunakan 2 macam pelarut, yaitu NaCl fisiologis (0,9%) dan aseton kering. Penggunaan fase gerak aseton kering dapat memisahkan pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}Tc -perteknetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) dengan harga $R_f = 1,0$; sedangkan pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) akan berimpit dengan ^{99m}Tc -GSH dengan harga $R_f = 0,0$. Pemakaian fase gerak NaCl fisiologis (0,9%) dapat memisahkan pengotor radiokimia dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) dengan harga $R_f = 0,0$; sementara itu ^{99m}Tc -perteknetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) dan ^{99m}Tc -GSH akan bermigrasi ke arah batas pelarut. Dengan menggunakan gabungan 2 macam fase

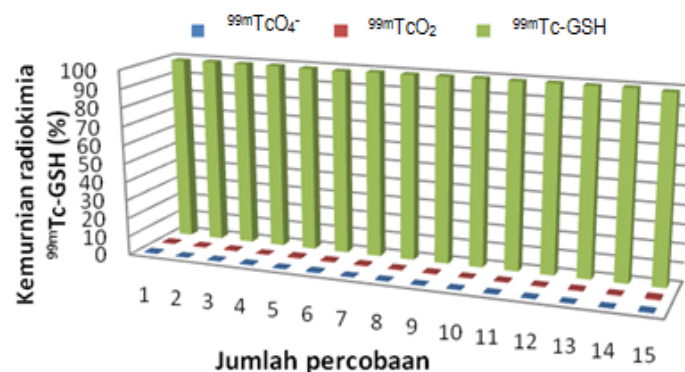
gerak dapat diketahui kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH yang terbentuk. Persentase pengotor radiokimia dan kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH dapat dihitung dengan persamaan [3] dan [4].

Dari beberapa sediaan ^{99m}Tc -GSH yang dibuat dan setelah dilakukan pengujian kemurnian radiokimia dengan metode kromatografi diperoleh kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH sebesar $99,08 \pm 0,26\%$, dengan pengotor radiokimia yang sangat rendah dalam bentuk perteknetat bebas ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) dan ^{99m}Tc tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) masing-masing sebesar $0,37 \pm 0,15\%$ dan $0,55 \pm 0,17\%$. Kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH ini telah memenuhi persyaratan sebagai radiofarmaka yang baik, yaitu $\geq 90\%$ (10) serta menunjukkan juga keberulangan (*reproducibility*) yang baik. Hasil pengujian kemurnian radiokimia sediaan ^{99m}Tc -GSH (15 kali pengulangan) ditampilkan pada Gambar 1.

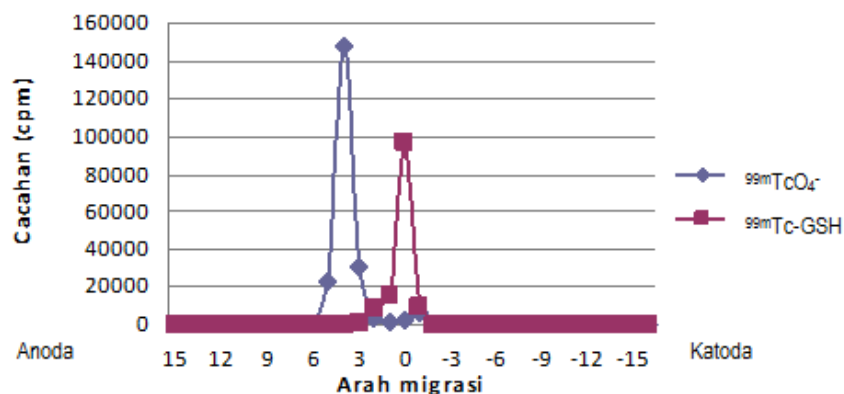
$$\text{Pengotor radiokimia (\%)} = \frac{\text{Jumlah cacahan pada masing-masing } R_f - \text{LB}}{\text{Jumlah cacahan pada kromatogram} - \text{LB}} \times 100\% \quad [3]$$

$$\text{Kemurnian radiokimia } ^{99m}\text{Tc-GSH (\%)} = 100\% - [^{99m}\text{TcO}_2 + (^{99m}\text{TcO}_4^-)]\% \quad [4]$$

Dimana LB = cacahan latar belakang



Gambar 1. Kemurnian radiokimia sediaan ^{99m}Tc -GSH.



Gambar 2. Elektrogram hasil elektroforesis radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dan ^{99m}Tc -pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$).

Interaksi antara molekul radiofarmaka dengan permukaan membran sel tubuh tergantung pada sifat muatan listrik dari molekul tersebut dan permeabilitas membran (8). Pengujian muatan listrik radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dengan metode elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1. Dari kromatogram terlihat bahwa ^{99m}Tc -GSH tetap berada pada titik nol, tidak bergerak ke arah katoda atau elektroda negatif (-) dan juga tidak ke arah anoda atau elektroda positif (+), yang berarti bahwa radiofarmaka tersebut tidak bermuatan (netral). Berbeda halnya dengan ^{99m}Tc -pertechnetat yang dalam elektrogram terlihat bergerak ke arah anoda dan ini memang menunjukkan bahwa ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) bermuatan negatif.

Karakteristik lain yang dipelajari adalah lipofilisitas, yaitu afinitas suatu senyawa terhadap fase lipid yang menggambarkan kemampuan senyawa tersebut untuk berpenetrasi ke dalam membran lipid secara *in-vivo*. Besarnya lipofilisitas dapat diketahui secara *in-vitro* dengan jalan mengukur nilai koefisien

partisinya dalam campuran pelarut organik-air (O/A). Makin tinggi koefisien partisinya menunjukkan bahwa senyawa tersebut makin lipofil artinya makin mudah larut dalam lemak. Sebaliknya, bila koefisien O/A makin rendah, senyawa tersebut lebih mudah larut dalam fase air atau disebut bersifat hidrofil. Dengan menghitung besarnya cacahan radioaktivitas dalam fase oktanol dibandingkan dengan cacahan radioaktivitas dalam fase air, maka akan diketahui koefisien partisinya, yang dinyatakan sebagai lipofilisitas atau $P_{(\text{oktanol/air})}$ (8). Dari penentuan lipofilisitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dengan 5 kali pengulangan diperoleh nilai lipofilisitas P yang cukup rendah, yaitu $0,03 \pm 0,0002$ (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa radiofarmaka tersebut sangat hidrofilik sehingga sulit untuk melalui membran lipid dan eksresinya yang terbesar umumnya akan melalui ginjal dan kecil kemungkinan melalui sistem hepatobilier (8). Ekskresi radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH melalui ginjal telah dibuktikan dalam percobaan yang dilakukan oleh Ercan (11).

Untuk tujuan diagnosis dengan metode penyidikan, umumnya radiofarmaka diberikan secara *intra vena*, sehingga akan terjadi keseimbangan antara konsentrasi radiofarmaka yang bebas dalam plasma dan terikat pada komponen darah, di antaranya protein plasma dan permukaan sel darah. Besarnya ikatan suatu radiofarmaka dengan protein plasma menunjukkan banyaknya sediaan tersebut terikat dalam protein di dalam darah. Besarnya nilai ikatan ini tidak mempunyai batasan yang spesifik, tetapi sangat tergantung pada karakter sediaan tersebut, misalnya muatan listrik radiofarmaka, pH, sifat protein dan konsentrasi anion dalam plasma (8). Umumnya ikatan yang terjadi adalah dengan albumin, walaupun tidak tertutup kemungkinan terjadi juga ikatan dengan globulin dan protein yang lain. Ikatan protein plasma suatu sediaan memberikan efek distribusi pada jaringan dan *uptake* oleh organ atau jaringan sasaran serta plasma *clearance* (keluaran plasma). Oleh karena itu, ikatan protein plasma untuk suatu radiofarmaka harus selalu ditentukan sebelum penggunaan klinis.

Percobaan penentuan ikatan protein plasma radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dilakukan secara *in-vitro* dengan kondisi yang sama seperti dalam tubuh menggunakan plasma

darah manusia yang diinkubasi pada temperatur 37 °C. Dari hasil percobaan dengan 5 kali pengulangan diperoleh ikatan protein plasma sebesar $30,31 \pm 0,04\%$ (Tabel 1).

Hasil percobaan ini mendekati nilai ikatan protein plasma yang diperoleh oleh peneliti terdahulu yaitu sekitar 30% (12). Hasil ini menunjukkan bahwa radiofarmaka tersebut mempunyai ikatan yang cukup rendah dengan protein plasma dan ini memberikan hasil yang sinergi dengan hasil pengujian lipofilisitas. Secara umum, besarnya ikatan protein berhubungan linear dengan lipofilisitas, makin tinggi harga P maka makin tinggi pula ikatan protein plasma (8).

Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH ditentukan dengan melihat kemurnian radiokimianya. Hasil pengujian yang dilakukan dari waktu ke waktu pada sediaan yang disimpan pada temperatur kamar dengan berbagai konsentrasi radioaktivitas menunjukkan bahwa radiofarmaka tersebut masih mempunyai kemurnian radiokimia > 98% hingga 5 jam setelah penandaan (Gambar 3).

Dari pengujian ini dapat dinyatakan bahwa radiofarmaka tersebut masih dapat digunakan sampai 5 jam setelah penandaan dengan radionuklida ^{99m}Tc .

Tabel 1. Karakteristik radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH

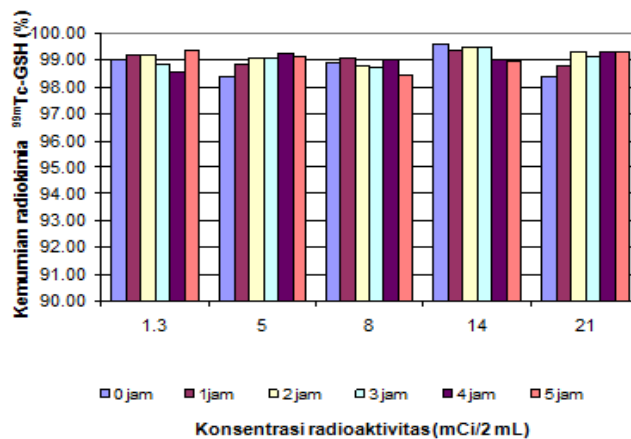
No.	Jenis pengujian	Hasil
1.	Kemurnian radiokimia (n=15)	$99,08 \pm 0,26\%$
2.	Muatan listrik (n=3)	netral
3.	Lipofilisitas (P) (n=5)	$0,03 \pm 0,002$
4.	Ikatan dengan protein plasma (n=5)	$30,31 \pm 0,04\%$

Pengujian kemurnian radiokimia lebih dari 5 jam tidak dilakukan mengingat umur paruh radionuklida ^{99m}Tc hanya 6 jam, sehingga setelah waktu tersebut radioaktivitasnya sudah sangat rendah.

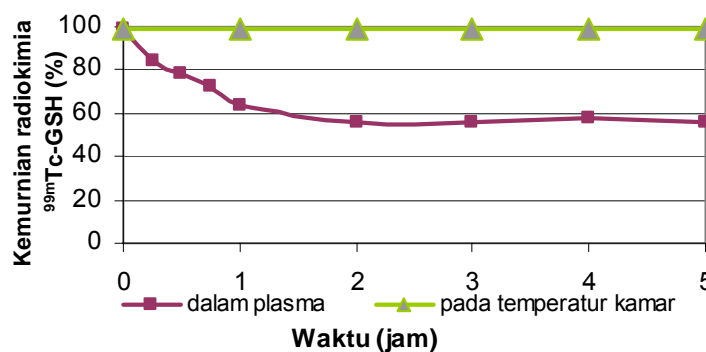
Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dalam plasma atau cairan biologis juga perlu diketahui mengingat bahwa untuk tujuan diagnosis dengan metode pencitraan umumnya radiofarmaka tersebut akan diberikan secara *intra vena*, sehingga kestabilan dalam plasma darah perlu dipelajari.

Gambar 4 menampilkan stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dalam plasma dan penyimpanan pada temperatur kamar. Hasil

percobaan menunjukkan bahwa stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dalam plasma lebih rendah bila dibandingkan dengan radiofarmaka yang disimpan pada temperatur kamar tanpa plasma yang tetap stabil hingga 5 jam dengan kemurnian radiokimia > 95%. Penurunan kemurnian radiokimia dalam plasma terjadi cukup cepat pada penyimpanan jam pertama, terlihat pada Gambar 4 dari $98,71 \pm 0,48\%$ turun menjadi $83,85 \pm 0,09\%$ pada 15 menit pertama, dan berturut-turut menjadi $78,39 \pm 0,26\%$; $72,96 \pm 2,79\%$; $63,41 \pm 4,86\%$ masing-masing penyimpanan pada 30, 45 dan 60 menit.



Gambar 3. Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dengan berbagai konsentrasi radioaktivitas.



Gambar 4. Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dalam plasma darah secara *in-vitro* dan penyimpanan pada temperatur kamar tanpa plasma.

Pada 2 jam penyimpanan, kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH menjadi $55,56 \pm 7,51\%$ dan pada 3, 4 dan 5 jam berikutnya nilai ini tidak berubah secara signifikan, masing-masing sebesar $55,82 \pm 4,16\%$; $57,62 \pm 7,35\%$ dan $56,07 \pm 5,91\%$. Dari hasil ini dapat dinyatakan bahwa kemurnian radiokimia antara 55–57% bertahan sampai 5 jam berada dalam plasma.

4. KESIMPULAN

Radiofarmaka ^{99m}Tc -glutathion (^{99m}Tc -GSH) mempunyai kemurnian radiokimia $99,08 \pm 0,26\%$, tidak bermuatan atau netral dengan lipofilisitas $0,03 \pm 0,002$ dan mempunyai ikatan protein plasma sebesar $30,31 \pm 0,04\%$.

Penggunaan larutan natrium perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) dengan radioaktivitas 21 mCi tidak mempengaruhi kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -GSH dan sediaan masih stabil serta dapat digunakan hingga 5 jam setelah penandaan, dengan kemurnian radiokimia $> 95\%$ ($99,29\%$).

Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -GSH dalam plasma lebih rendah dibandingkan dengan penyimpanan pada temperatur kamar. Kemurnian radiokimia antara 55 – 57 % bertahan hingga 5 jam penyimpanan dalam plasma.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sdr. Epi Isabela dan Sdr. Teguh Hafiz A.W. yang telah memberikan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini serta kepada Sdr. Rukruk Rukayah atas bantuan teknis sehingga terlaksananya penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. Afriatni A. Departemen Kesehatan bentuk Subdirektorat kanker [Online]. 5 Februari 2006 [cited 19 April 2006]; Available from: <http://www.tempointeraktif.com>.
2. Siswono. Setiap tahun 190 ribu penderita baru kanker [Online]. 10 Maret 2005 [cited 15 Februari 2010]; Available from: <http://www.republik.co.id>.
3. Caglar M, Çiftçi I, Hoşal Ş, Kiliç K, Ercan T. Detection of head and neck cancer with ^{99m}Tc -glutathione : a correlative study with tissue glutathione and glutathione s-transferase levels. Nucl Med Commun 2001;22(1):33-8.
4. Balendiran GK, Dabur R, Frater D. The role of glutathione in cancer. Cell Biochem Funct 2004;22:343-52.
5. Batist G, Tulpule A, Sinha BK, Katki AG, Myers CE, Cowan KH. Overexpression of a novel anionic glutathione transferase in multidrug-resistant human breast cancer cells. J Biol Chem 1986; 261:15544-49.
6. Nurlaila Z, Maula ES. Formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -glutathion untuk diagnosis kanker. Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia 2010; XI(2):77-86.
7. Baba K, Moretti JL, Weinmann P, Senekowitsch-Schmidtke R, Ercan MT. Tc-glutathione complex (Tc-GSH) : labelling, chemical characterization and biodistribution in rats. Metal Base Drugs 1999;6(6):329-36.
8. Saha GB. Fundamentals of nuclear pharmacy. 5th ed. New York: Springer

-
- Science; 2004. p.111-25.
9. Nurlaila Z, Eva MW. Evaluasi dan karakterisasi kit-kering radiofarmaka siprofloksasin. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir; 3 Juni 2009; Bandung. Bandung: PTNBR-BATAN; 2009. p.352-59.
10. Zolle I, Bremer PO. Monographs of ^{99m}Tc -pharmaceuticals. In : Zolle I, editor. Technetium-99m pharmaceuticals. New York: Springer; 2007. p.174-80.
11. Ercan MT, Senekowitsch-Schmidtke R, Bernatz S, Biodistribution of ^{99m}Tc -glutathione in mice with osteosarcoma : effect of gamma irradiation on tumour uptake. Res Exp Med 2000;199:359-67.
12. Ercan MT, Unlenen E, Aktas A. Technetium-99m glutathione for imaging inflammatory lesions. Nucl Med Commun 1994;15:533-39.

