

Karakterisasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin sebagai penyidik infeksi

Characterization of ^{99m}Tc -ciprofloxacin radiopharmaceuticals as the infection imaging

Nurlaila Z., T.Hasan Basry, Rukmini Iljas dan Mimin R. Suminar

Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknik Nuklir – BATAN, Bandung

Abstrak

Radiofarmaka teknesium-99m-siprofloksasin (^{99m}Tc -siprofloksasin) merupakan sediaan yang digunakan dalam bidang kedokteran nuklir untuk diagnosis infeksi dengan metode penyidikan. Mengingat karakteristik dari radiofarmaka ini memegang peranan penting dalam keberhasilan diagnosis, maka perlu dilakukan pengujian beberapa sifat fisikokimia dan biologisnya agar sesuai dengan keperluan diagnosis yang diinginkan. Pengujian kemurnian radiokimia dilakukan dengan kromatografi kertas menaik (Whatman 3MM) menggunakan fase gerak larutan asetonitril 50%. Lipofilisitas (P) ^{99m}Tc -siprofloksasin diketahui dengan menentukan koefisien partisipasinya dalam pelarut oktanol-air dan ikatan protein plasma sediaan ditentukan secara *in-vitro* dengan metode pengendapan menggunakan larutan asam trikloro asetat (TCA) 5%. Untuk mengetahui aktivitas biologis antibiotika dan *uptake* pada mikroba dilakukan pengujian *in-vitro* menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E.coli*). Dari hasil percobaan diperoleh bahwa sediaan ^{99m}Tc -siprofloksasin mempunyai kemurnian radiokimia $98,04 \pm 0,51\%$, lipofilisitas = (P) = $0,088 \pm 0,003$, ikatan protein plasma manusia sebesar $64,20 \pm 1,74\%$, aktivitas biologis ^{99m}Tc -siprofloksasin identik dengan siprofloksasin sebagai bahan awal serta *uptake* maksimum terjadi pada waktu inkubasi 1 jam terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli* masing-masing sebesar $97,30 \pm 1,01\%$ dan $96,03 \pm 2,10\%$. Pengujian stabilitas sediaan menunjukkan ^{99m}Tc -siprofloksasin masih dapat digunakan sampai 2 jam setelah penandaan dengan kemurnian radiokimia sebesar $97,55 \pm 0,24\%$.

Kata kunci : radiofarmaka, teknesium-99m, siprofloksasin, karakterisasi.

Abstract

Technetium-99m-ciprofloxacin (^{99m}Tc -ciprofloxacin) is used in nuclear medicine for infection diagnoses by imaging method. Since a successful diagnosis is depend on its radiopharmaceutical characters, the several physicochemical and biological characters should be investigated in order to have the expectation diagnose. The radiochemical purity was determined with ascending paper chromatography (Whatman 3MM) using 50 % of acetonitril solution as the solvents. The lipophilicity = (P) of ^{99m}Tc -ciprofloxacin was obtained by determination of octanol-water partition and the plasma binding protein was *in-vitro* investigated with precipitation method using 5% of trichloro acetic acid solution. The biological activity of antibiotic and microbiological uptake was observed *in-vitro* using *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E.coli*). From the experiment, it was obtained that ^{99m}Tc -ciprofloxacin has 98.04 ± 0.51 % of radiochemical purity, the lipophilicity (P) = 0.088 ± 0.003 , the human plasma binding protein of $64.20 \pm 1.74\%$. The biological activity of ^{99m}Tc -ciprofloxacin was indentic with ciprofloxacin as the starting material and the

maximum uptake by *S. aureus* and *E. coli* was $97.30 \pm 1.01\%$ and $96.03 \pm 2.10\%$, at one hour incubation, respectively. The stability determination showed that ^{99m}Tc -ciprofloxacin was still able to be used until two hours after labelling with radiochemical purity of $97.55 \pm 0.24\%$.

Key words : radiopharmaceutical, technetium-99m, ciprofloxacin, in, characterization.

Pendahuluan

Selama kurun waktu 30 tahun, berbagai radiofarmaka telah diusulkan untuk digunakan dalam sintigrafi deteksi inflamasi dan infeksi. Sasaran utama dari beberapa radiofarmaka tertentu ditujukan untuk penyidik inflamasi, yang sebagian besar didasarkan pada terjadinya reaksi kimia atau fisika dari radiofarmaka dengan sel darah putih (SDP) yang banyak terdapat pada daerah inflamasi tersebut. Radiofarmaka yang biasa digunakan untuk tujuan ini antara lain galium-67-sitrat, partikel koloid dan HMPAO-SDP bertanda teknesium-99m (^{99m}Tc) atau indium-111 (^{111}In) (Nurlaila, 2002; Owunwanne *et al.*, 1995). Pencitraan menggunakan radiofarmaka ini, walaupun cukup spesifik untuk mendeteksi *inflammatory foci*, tetapi metode ini tidak dapat membedakan antara infeksi dan inflamasi steril (*non-infective inflammatory*) (Winter *et al.*, 2001). Hal ini disebabkan karena radio-farmaka hanya dapat mendeteksi suatu proses yang spesifik yaitu proses inflamasi yang juga dapat ditemui pada infeksi.

Untuk mengatasi masalah ini, telah dikembangkan radiofarmaka menggunakan ligan antibiotika siprofloksasin yang mempunyai spektrum luas. Siprofloksasin merupakan senyawa kuinolin dengan nama kimia (1-siklopropil-6-fluor-1,4-dihidro-4-okso-7-(piperazinil)-3-kuinolin asam karbonat). Antibiotika ini mempunyai aktivitas, baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Siprofloksasin dapat membentuk khelat dengan logam dan dapat mengikat enzim *DNA-gyrase* di mana enzim ini membantu DNA untuk menjadi bentuk spiral tunggal dari bentuk spiral ganda pada saat bakteri membelah diri (Das *et al.*, 2002).

^{99m}Tc -siprofloksasin merupakan radiofarmaka yang digunakan untuk diagnosis daerah infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Winter *et al.*, 2001). Radiofarmaka ini telah dapat diformulasi di P3TkN-BATAN, menggunakan Sn-tartrat sebagai reduktor (Hasan Basry *et al.*, 2005).

Untuk menjamin bahwa sediaan ini dapat digunakan dan dipasarkan pada konsumen, maka sediaan harus mempunyai karakteristik tertentu. Karakteristik fisikokimia dan biologis memegang peranan penting dalam penyebaran serta penimbunan radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin di dalam tubuh. Beberapa sifat tersebut antara lain kemurnian radiokimia, lipofilisitas dan ikatan protein plasma (Theobald, 1989). Data ini merupakan informasi yang sangat penting bagi pengguna dalam menjamin keberhasilan aplikasinya.

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian formulasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin, mengingat sifat karakteristik dari radiofarmaka ini memegang peranan penting dalam keberhasilan diagnosis. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian beberapa sifat fisikokimianya agar sesuai dengan keperluan diagnosis yang diinginkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat dan karakteristik radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin yang diformulasi oleh P3TkN-BATAN, meliputi kemurnian radio-kimia, stabilitas sediaan, lipofilisitas atau koefisien partisi dalam pelarut organik/anorganik dan ikatan protein plasma. Di samping itu, dilakukan juga pengujian aktivitas biologis ^{99m}Tc -siprofloksasin secara *in-vitro* (Gano *et al.*, 1998).

Metodologi

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah siprofloksasin HCl (Zhejiang Xianju Shifang Pharmaceutical-Cina), stanum-tartrat (Sigma), asetonitril, n-oktanol (TCI), larutan NaCl fisiologis dan akuabides steril (IPHA Laboratories). Bahan lainnya adalah radionuklida ^{99m}Tc dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ buatan P3TkN-BATAN, plasma darah manusia yang berasal dari *volunteer*, kertas Whatman 3MM, asam klorida, asam trikoloro asam asetat, dan pereaksi-pereaksi lain produksi E.Merck dengan tingkat kemurnian pro analisis. Untuk pengujian aktivitas biologis digunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* biakan

Biofarma, *nutrient agar* serta *trypton soya broth* (TSB) (Difco).

Beberapa peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitis (Sauter), alat sentrifuga, pencacah saluran tunggal (C.Schlumberger) dengan detektor NaI(Tl), kalibrator dosis, pengaduk (Vortex), inkubator, otoklaf, *laminar air flow* serta seperangkat alat kromatografi kertas menaik.

Cara Penelitian

1. Penyiapan larutan siprofloksasin

Sebanyak 10 mg siprofloksasin dilarutkan dalam 1 ml larutan NaCl fisiologis steril bebas oksigen sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/ml. Selanjutnya larutan dialiri gas nitrogen selama 5 menit (flakon A).

2. Penyiapan larutan Stanum-tartrat

Ke dalam 5 mg Sn-tartrat ditambahkan 0,1 ml HCl 1M, kemudian ditambahkan akuabides steril sampai volume tepat 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/ml. Selanjutnya, larutan dialiri gas nitrogen selama 5 menit (flakon B) (Hasan Basry *et al.*, 2005).

3. Penyiapan radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin

Ke dalam sebuah flakon dimasukkan 0,2 ml larutan siprofloksasin (10 mg/ml) yang diambil dari flakon A dan 0,4 ml larutan Sn-tartrat yang diperoleh dari flakon B (1mg/ml). Larutan dikocok agar homogen, kemudian ditambah 0,4 ml larutan ^{99m}Tc-pertechnetat dengan aktivitas tidak kurang dari 5 mCi. Campuran dikocok, dialiri gas N₂, kemudian diinkubasi pada temperatur kamar selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan pengujian kemurnian radio-kimianya serta uji karakteristik lainnya.

4. Pengujian kemurnian radiokimia radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin

Pengujian kemurnian radiokimia radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin dilakukan dengan kromatografi kertas menaik menggunakan kertas Whatman 3MM (1x10 cm) sebagai fase diam serta fase gerak larutan asetonitril 50%. Kromatogram dikeringkan, dipotong-potong sepanjang 1 cm dan dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal, detektor NaI(Tl)

5. Pengujian stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin

Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin ditentukan dengan melihat kemurnian radiokimia dari radiofarmaka tersebut pada waktu tertentu (0, 1, 2, 3, 4 dan 5 jam) setelah penandaan dengan radionuklida ^{99m}Tc. Pengujian kemurnian radiokimia

dilakukan dengan cara kromatografi kertas menaik seperti di atas.

6. Penentuan lipofilisitas radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin dan senyawa siprofloksasin

Sebanyak 10 – 50 µl (tergantung radioaktivitas) radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin dimasukkan ke dalam tabung sentrifuga yang telah berisi 2 ml n-oktanol dan 2 ml larutan NaCl fisiologis pH 3,0. Larutan dicampur menggunakan pengaduk *vortex* selama 1 menit, disentrifugasi dengan kecepatan 3000 putaran per menit selama 10 menit, kemudian sebanyak 50 – 100 µl masing-masing fraksi diambil dan dicacah. Lapisan oktanol yang ada di dalam tabung sentrifuga dipindahkan ke dalam tabung lain yang telah berisi larutan NaCl fisiologis pH 3,0 dengan volume yang sama. Setelah larutan dicampur dan disentrifugasi, sebanyak 50 – 100 µl masing-masing fraksi diambil dan dicacah. Pengerjaan ini diulangi lagi sampai diperoleh nilai koefisien partisi yang relatif konstan. Lipofilisitas dinyatakan sebagai koefisien partisi yang dihitung sebagai berikut :

$$\text{Lipofilisitas} = \text{Koefisien Partisi} = (P) = \frac{\text{Cacahan fase oktanol}}{\text{Cacahan fase NaCl fisiologis}}$$

Penentuan lipofilisitas siprofloksasin dilakukan dengan cara yang sama seperti di atas. Sebanyak 50 µl larutan bahan baku siprofloksasin (2 mg/1,5 ml) dimasukkan ke dalam tabung sentrifuga yang telah berisi 2 ml n-oktanol dan 2 ml larutan NaCl fisiologis pH 3,0. Selanjutnya dilakukan seperti prosedur di atas, akan tetapi sejumlah volume (100 µl) masing-masing fraksi diukur menggunakan spektrometer UV pada panjang gelombang 280 nm. Besarnya lipofilisitas dinyatakan sebagai koefisien partisi yang dihitung sebagai berikut :

$$\text{Lipofilisitas} = \text{Koefisien Partisi} = (P) = \frac{\text{Serapan fase oktanol}}{\text{Serapan fase NaCl fisiologis}}$$

7. Penentuan ikatan protein plasma radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin

Penentuan ikatan protein plasma radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin dilakukan menggunakan plasma darah manusia yang berasal dari 2 *volunteer* yang berbeda.

Sebanyak 50 µl radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin ditambahkan ke dalam tabung sentrifuga yang berisi 2 ml plasma darah manusia. Campuran diaduk dengan pengaduk *vortex* selama lebih kurang 1 menit, lalu diinkubasi pada temperatur 37°C selama 10 menit. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan 1 ml larutan NaCl fisiologis dan 1 ml

larutan asam trikloro asetat (TCA) 5%, diaduk dengan pengaduk *vortex*, disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 putaran per menit. Supernatan dipisahkan, kemudian ke dalam endapan ditambahkan 1 ml larutan NaCl fisiologis dan 1 ml larutan TCA 5% seperti di atas. Supernatan dipisahkan, selanjutnya endapan dan total supernatan dicacah dengan pencacah saluran tunggal. Percobaan dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan. Persen ikatan protein plasma dihitung dengan cara sebagai berikut :

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

8. Penentuan aktivitas biologis *in-vitro* radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin

Sebanyak 100 μl radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin diletakkan pada biakan plat agar (media *nutrient agar*) yang masing-masing berisi bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Biakan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Cara yang sama dilakukan juga dengan menggunakan larutan siprofloksasin dalam NaCl fisiologis serta larutan siprofloksasin yang mengandung Sn-tartrat sebagai standard (konsentrasi siprofloksasin 20 -2000 $\mu\text{g/ml}$). Aktivitas biologis masing-masing cuplikan dievaluasi dengan mengukur diameter lingkaran inhibisi yang terjadi.

9. Penentuan uptake *in-vitro* radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin pada bakteri

Sebanyak 100 μl radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dimasukkan ke dalam 2 ml larutan NaCl fisiologis (0,9%) yang masing-masing mengandung $\approx 10^7$ sel bakteri *S. aureus* dan *E.coli*. Suspensi diinkubasi pada temperatur 37 °C selama beberapa waktu (1, 2, 3, 4, 20, dan 24 jam) sambil dikocok, kemudian disentrifugasi. Supernatan dipisahkan, endapan dicuci dengan 0,5 ml larutan NaCl fisiologis dan dicacah. Prosedur yang sama dilakukan juga terhadap larutan natrium perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) sebagai kontrol. *Uptake* pada bakteri dinyatakan dalam persen yang dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Uptake pada bakteri (\%)} = \frac{\text{Cacahan endapan}}{\text{Cacahan endapan} + \text{cacahan supernatan}} \times 100 \%$$

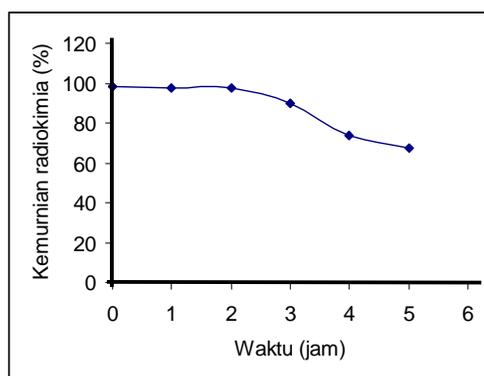
Hasil Dan Pembahasan

Salah satu faktor yang sangat penting dalam keberhasilan klinis suatu radiofarmaka adalah kemurnian radiokimia dari radiofarmaka. Radiofarmaka dengan hasil klinis yang baik umumnya mempunyai kemurnian radio-

kimia antara 95 – 100 %. Akan tetapi ada beberapa radiofarmaka yang telah memenuhi persyaratan klinis dengan kemurnian radiokimia $\geq 90 \%$, karena dari aplikasi klinis telah memberikan keberhasilan dalam pencitraan dengan kamera gamma (Owunwanne *et al.*, 1995). Kemurnian radiokimia merupakan hal yang mutlak dan harus ditentukan 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.

Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin menggunakan metode kromatografi kertas menaik (Whatman 3MM) dengan fase gerak larutan asetonitril 50 % dapat memisahkan pengotor radiokimia dalam bentuk ($^{99m}\text{TcO}_4$) yang berada pada $R_f = 0,9 - 1,0$, sedangkan pengotor dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) berada pada R_f yang sama dengan ^{99m}Tc -siprofloksasin yaitu pada $R_f = 0,0$. Pemisahan secara kimia untuk kedua senyawa ini sulit dilakukan karena $^{99m}\text{TcO}_2$ berupa koloid dan ^{99m}Tc -siprofloksasin merupakan molekul besar yang sulit terelusi. Untuk memastikan bahwa yang terbentuk adalah ^{99m}Tc -siprofloksasin dapat dilakukan pengujian secara biologis dengan metode penyidikan menggunakan hewan percobaan, di mana tidak terjadi akumulasi aktivitas di hati, yang memberikan indikasi bahwa sediaan tersebut bukan pengotor dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) (Hasan Basry *et al.*, 2005). Pengujian kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -siprofloksasin yang dilakukan menggunakan metode kromatografi kertas menaik (Whatman 3MM) dengan fase gerak larutan asetonitril 50%, dengan lima kali pengulangan memberikan hasil sebesar $98,04 \pm 0,51 \%$. Produk rumah sakit Saint Bartholomew's, Inggris menetapkan kemurnian radiokimia harus $\geq 95 \%$ (Britton *et al.*, 2002), yang berarti bahwa hasil ini memenuhi persyaratan.

Hasil pengujian stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan tiga kali pengulangan (Gambar 1). Terlihat bahwa radiofarmaka tersebut stabil selama 2 jam bila disimpan pada temperatur kamar, dengan kemurnian radiokimia masih di atas 95 %.



Gambar 1. Stabilitas radiofarmaka ^{99m}Tc-siproflok-sasin yang disimpan pada temperatur kamar

Penyimpanan dalam waktu lebih dari 2 jam menunjukkan kemurnian radiokimia lebih kecil dari 90%. Dari hasil pemeriksaan ini dapat dinyatakan bahwa pada pemakaiannya, sediaan tersebut masih dapat digunakan sampai 2 jam setelah proses pencampuran dengan radionuklida ^{99m}Tc.

Lipofilisitas didefinisikan sebagai afinitas suatu senyawa terhadap fase lipid yang menggambarkan kemampuan senyawa tersebut untuk berpenetrasi ke dalam membran lipid secara *in vivo*. Besarnya lipofilisitas suatu radiofarmaka dapat diketahui secara *in-vitro* dengan jalan mengukur nilai koefisien partisinya dalam campuran pelarut oktanol-air, yang dinyatakan dengan besaran P.

Akumulasi suatu senyawa pada organ tertentu sangat dipengaruhi oleh kemampuan senyawa tersebut menembus membran lipid dengan lipofilisitas yang cukup, karena bila terlalu tinggi senyawa tersebut akan dikeluarkan oleh membran secara perlahan-lahan. Grafik hubungan antara persen akumulasi suatu senyawa dalam suatu organ dengan lipofilisitas berbentuk parabola (Theobald, 1989).

Penentuan lipofilisitas terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc-siproflok-sasin dan siproflok-sasin

Tabel I. Lipofilisitas atau koefisien partisi oktanol-air radiofarmaka ^{99m}Tc-siproflok-sasin dan siproflok-sasin (n = 6)

Sediaan	Koefisien partisi
^{99m} Tc-siproflok-sasin	0,088 ± 0,003
Siproflok-sasin	0,524 ± 0,005

sebagai bahan awal atau ligan (Tabel I). Dari 6

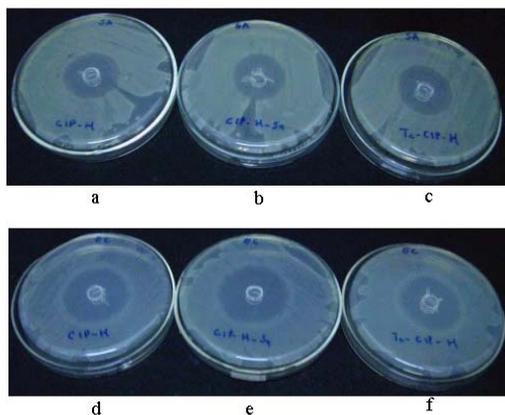
kali pengulangan diperoleh nilai koefisien partisi oktanol-air untuk radiofarmaka ^{99m}Tc-siproflok-sasin dan siproflok-sasin masing-masing sebesar $P = 0,088 \pm 0,003$ dan $P = 0,524 \pm 0,005$. Dari hasil pengujian ini terlihat bahwa senyawa siproflok-sasin mempunyai lipofilisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ^{99m}Tc-siproflok-sasin. Hal ini berarti bahwa penandaan dengan radionuklida ^{99m}Tc mengubah struktur kimia senyawa siproflok-sasin. Dari penentuan lipofilisitas radiofarmaka ^{99m}Tc-siproflok-sasin dan ligan siproflok-sasin yang dilakukan oleh peneliti terdahulu diperoleh hasil dengan nilai masing-masing sebesar 0,087 dan 0,52 (Gano *et al.*, 1998). Pengujian menunjukkan bahwa diperoleh hasil yang mendekati dengan hasil yang terdahulu. Menurut Gano (1998), molekul siproflok-sasin hanya dapat berikatan pada 1 atau 2 tempat (*sites*) dalam koordinasi dengan Tc, dan dalam pembentukan kompleks kemungkinan melibatkan lebih dari 1 molekul siproflok-sasin.

Radiofarmaka untuk tujuan diagnosis dengan metode penyidikan umumnya diberikan secara intra vena, sehingga akan terjadi keseimbangan antara konsentrasi radiofarmaka yang bebas dalam plasma dan terikat pada komponen darah, seperti protein plasma dan permukaan sel darah. Kuatnya ikatan dan posisi keseimbangan sangat berpengaruh terhadap sifat biologi radiofarmaka tersebut (Theobald, 1989). Ikatan pada protein plasma umumnya mempunyai derajat yang sangat bervariasi dan biasanya ikatan yang terjadi adalah dengan albumin, walaupun tidak tertutup kemungkinan terjadi juga ikatan dengan globulin dan protein yang lain. Tingkat dan kekuatan ikatan protein plasma sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain muatan molekul radiofarmaka, pH, sifat protein dan konsentrasi anion dalam plasma. Ikatan protein memberikan efek yang signifikan dalam distribusi pada jaringan, *uptake* pada organ yang diinginkan serta *plasma clearance*. Oleh karena itu, penentuan tingkat ikatan protein plasma dari radiofarmaka harus dilakukan (Saha, 1986).

Penentuan ikatan protein plasma radiofarmaka ^{99m}Tc-siproflok-sasin dilakukan secara *in-vitro* dengan 4 kali pengulangan terhadap plasma darah manusia dari 2 orang *volunteer*. Dari hasil percobaan diperoleh harga sebesar

Tabel II. Lipofilisitas atau koefisien partisi oktanol-air radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin dan siprofloksasin (n = 6)

Sediaan	Diameter inhibisi (cm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Siprofloksasin	3,57 ± 0,28	4,55 ± 1,20
Siprofloksasin + Sn-tartrat	3,21 ± 0,10	4,40 ± 0,40
^{99m} Tc-siprofloksasin	3,77 ± 0,16	4,29 ± 0,40

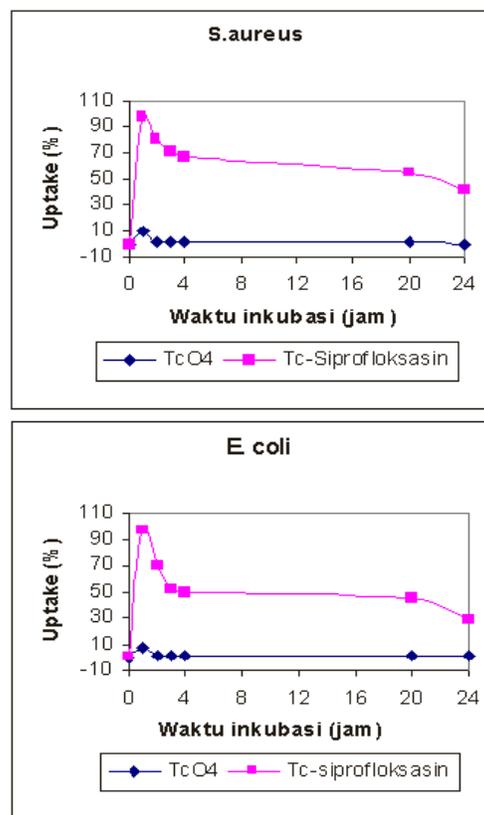


Gambar 2. Pengujian aktivitas biologis menggunakan plat agar biakan bakteri *S. aureus* : siprofloksasin (a), siprofloksasin + Sn-tartrat (b), ^{99m}Tc-siprofloksasin (c); dan plat agar biakan *E. coli* : siprofloksasin (d), siprofloksasin + Sn-tartrat (e), ^{99m}Tc-siprofloksasin (f)

64,20 ± 1,74 %. Hasil ini menunjukkan bahwa radiofarmaka tersebut mempunyai ikatan protein plasma yang sedikit lebih tinggi dari yang diperoleh oleh peneliti terdahulu yaitu sebesar 56,80 ± 7,40 % (Gano *et al.*, 1998). Hal ini mungkin disebabkan beberapa faktor individu plasma masing-masing manusia (*volunteer*) tersebut.

Antibiotika yang digunakan untuk tujuan pengobatan harus diketahui dengan pasti aktivitas biologisnya terhadap mikroorganisme tertentu seperti yang dinyatakan dalam Anonim (1995). Demikian pula halnya terhadap sediaan ^{99m}Tc-siprofloksasin, dimana telah melalui proses penandaan dan telah terjadi perubahan struktur molekul siprofloksasin sehingga harus diuji besarnya aktivitas biologis terhadap mikroorganisme tersebut.

Hasil pengujian aktivitas biologis radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin secara *in-vitro*



Gambar 3. Uptake ^{99m}Tc-siprofloksasin dan Na^{99m}TcO₄ oleh bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (n = 3)

terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan bahwa siprofloksasin tersebut tidak kehilangan aktivitas biologisnya pada kondisi setelah ditandai dengan radionuklida ^{99m}Tc. Hal ini terbukti bila hasilnya dibandingkan dengan siprofloksasin sebagai bahan awal, ke duanya memberikan sifat inhibisi terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Ukuran diameter lingkaran inhibisi yang terjadi pada media biakan yang dilakukan terhadap masing-masing mikroba dengan 5 kali pengulangan ditampilkan pada Tabel II. Hasil pengujian aktivitas biologis siprofloksasin menggunakan plat agar biakan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Gambar 2).

Di samping itu, untuk mengetahui akumulasi radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin pada daerah sasaran dapat dilakukan pengujian *uptake* radiofarmaka tersebut pada bakteri secara *in-vitro*. Dari hasil percobaan dengan 3 kali pengulangan diperoleh *uptake* maksimum ^{99m}Tc-siprofloksasin sebesar 97,30 ± 1,01 % dan 96,03 ± 2,10 % masing-masing pada 1 jam

pertama kontak dengan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, sedangkan *uptake* larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ pada 1 jam pertama untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing hanya sebesar $9,16 \pm 0,41$ % dan $6,36 \pm 0,25$ %. Pengujian dalam waktu inkubasi selama 4 jam masih memberikan *uptake* yang cukup tinggi baik terhadap bakteri *S. aureus* ($67,41 \pm 0,26\%$) maupun *E. coli* ($49,24 \pm 0,98\%$), demikian pula bila inkubasi dilanjutkan hingga 24 jam diperoleh *uptake* sebesar $41,10 \pm 0,10\%$ (*S. aureus*) dan $29,08 \pm 0,31\%$, sedangkan *uptake* larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ hanya berkisar 1% dan 0,5% masing-masing untuk waktu inkubasi 4 jam dan 24 jam untuk kedua jenis bakteri tersebut (Gambar 3). Dari hasil pengujian ini menunjukkan bahwa radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin sangat spesifik terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Kesimpulan

Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin yang diformulasi di P3TkN mempunyai kemurnian radiokimia $98,04 \pm 0,51$ dengan lipofilisitas (P) = $0,088 \pm 0,003$ dan ikatan protein plasma manusia sebesar $64,20 \pm 1,74$ %.

Siprofloksasin bahan awal bersifat lebih lipofil bila dibandingkan dengan siprofloksasin yang telah ditandai dengan radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$ yaitu radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin, yang berarti bahwa kedua senyawa tersebut mempunyai struktur kimia yang berbeda.

Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin masih mempunyai aktivitas biologis yang hampir

identik dengan siprofloksasin sebagai bahan awal, yang ditunjukkan dengan ukuran diameter inhibisi yang hampir sama masing-masing sebesar $3,77 \pm 0,16$ cm dan $3,57 \pm 0,28$ cm terhadap *S. aureus* serta $4,29 \pm 0,40$ cm dan $4,55 \pm 1,20$ cm terhadap *E. coli*. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin memberikan *uptake* yang sangat spesifik terhadap *S. aureus* dan *E. coli* sehingga senyawa bertanda ini dapat digunakan sebagai radiofarmaka penyidik infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.

Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin masih dapat digunakan selama 2 jam setelah penandaan dengan radionuklida teknesium- $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan ke arah penyiapan siprofloksasin dengan formula dalam bentuk kit kering sehingga memudahkan dalam pemakaian di rumah sakit dan dapat meningkatkan stabilitas komponen-komponen pembuat radiofarmaka.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sdr. Yeti Suryati, Sdr. Iswahyudi dan Sdr. Rizky Juwita Sugiharti yang telah banyak memberikan bantuan hingga terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 891 – 899.
- Britton K.E., Wareham D.W., Das S.S., Solanki K.K., Amaral H., Bhatnagar A., Kartamihardja A.H.S., Malamitsi J., Moustafa H.M., Soroa V.E., Sundram F.X., Padhy A.K., 2002, Imaging bacterial infection with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ciprofloxacin (Infecton), *J. Clin. Pathol.*, 55, 817 – 823.
- Das S.S., Hall A.V., Wareham D.W., Britton K.E., 2002, Infection imaging with radiopharmaceuticals in the 21st century, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45, 223 – 228.
- Gano L., Patricio L., Cantinho G., Pena H., Martins T., Marques E., 1998 *Ciprofloxacin in imaging of infective versus sterile inflammation*, IAEA-TecDoc 1029, Vienna, 213- 220.
- Hasan Basry T., Nurlaila Z., Rukmini I., 2005, Formulasi radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -siprofloksasin untuk diagnosis infeksi. Seminar Nasional Sains dan Teknik Nuklir 2005, Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN, Bandung.
- Nurlaila Z., 2002, Radiofarmaka untuk deteksi inflamasi dan infeksi, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, 3(1), 15 – 30.

- Owunwanne A., Patel M., Sadek S., 1995, *The Handbook of Radiopharmaceuticals*, 1st ed., Chapman & Hall Medical, London, 9 – 12.
- Saha G. B., 1986, *Fundamental of Nuclear Pharmacy*, 2nd ed., Springer-Verlag, New York, 74 - 75.
- Theobald A., 1989, *Radiopharmaceuticals Using Radioactive Compounds in Pharmaceutics and Medicine*, Ellis Horwood Limited, New York, 28 – 57.
- Winter F.D., Van De Wille C., Dumont F., 2001, Biodistribution and dosimetry of ^{99m}Tc-ciprofloxacin a promising agent for the bacterial infection, *Eur.J. Nucl. Med.*, 28, 570 – 574.