

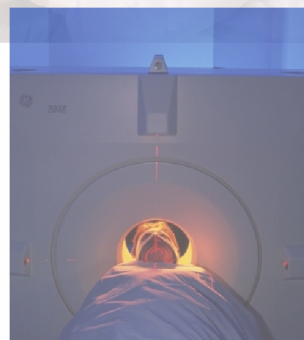
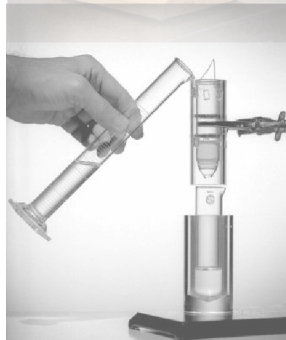


# PROSIDING

## PERTEMUAN ILMIAH RADIOISOTOP, RADIOFARMAKA, SIKLOTRON DAN KEDOKTERAN NUKLIR

Mochtar Riady Comprehensive Cancer Centre  
Siloam Hospitals Semanggi - Jakarta  
8 - 9 November 2013

*"Advanced Development of Radiopharmaceuticals,  
Molecular Imaging and Targeted Radionuclide Therapy"*



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
PUSAT RADIOISOTOP DAN RADIOFARMAKA**

GEDUNG 11, KAWASAN PUSPIPTEK, TANGERANG SELATAN, BANTEN  
TELP/FAX : (021) 756 3141  
email : prr@batan.go.id

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, karunia dan hidayahNya sehingga prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Radioisotop, Radiofarmaka, Siklotron dan Kedokteran Nuklir 2013 ini dapat disusun dan diterbitkan sesuai dengan tenggat waktu yang telah ditentukan oleh panitia. Seluruh makalah yang ada dalam prosiding ini merupakan kumpulan makalah yang telah lolos proses seleksi yang dilakukan tim reviewer dan telah disampaikan dalam kegiatan Pertemuan Ilmiah Tahunan 2013 yang diselenggarakan pada tanggal 8 – 9 Nopember 2013 di Mochtar Riady Comprehensive Cancer Centre (MRCCC) Siloam Hospitals Semanggi, Jakarta.

Prosiding ini dimaksudkan untuk menyebarluaskan informasi berupa kajian dan hasil-hasil penelitian dan pengembangan di bidang radioisotop, radiofarmaka dan siklotron serta aplikasinya dalam bidang kesehatan maupun kedokteran nuklir di Indonesia. Sesuai dengan tema Pertemuan Ilmiah Tahunan 2013 “Advanced Development of Radiopharmaceuticals, Molecular Imaging and Targeted Therapy”, diharapkan prosiding ini dapat menjadi media bagi para peneliti, pemikir, pemerhati kesehatan untuk saling bertukar ide dalam perkembangan bidang kesehatan untuk mencapai kemandirian bangsa.

Prosiding ini tentu saja tidak luput dari kekurangan, namun dengan mengesampingkan kekurangan tersebut, terbitnya prosiding ini diharapkan dapat membantu para peneliti, pemikir dan pemerhati kesehatan dalam mencari referensi dan menambah motivasi untuk melaksanakan penelitian dan pengembangan di bidang radioisotop, radiofarmaka, siklotron dan kedokteran nuklir.

Jakarta, Desember 2013  
Tim editor

**PENASEHAT**

Prof. DR. Dr Johan S Masjhur, SpPD-KEMD, SpKN	(PKNI/PKBNI)
Dr. A Hussein S Kartamihardha, SpKN, MHKes	(PKNI/PKBNI)
DR. Abdul Mutalib	(Universitas Padjajaran)

**PENGARAH**

Dra. Siti Darwati MSc	(PRR-BATAN)
Dr. Trias Nugrahadi, SpKN	(PKNI/PKBNI)

**TIM EDITOR**

Dr. Basuki Hidayat, SpKN	(RSHS-Bandung)
DR. Rohadi Awaluddin	(PRR-BATAN)
DR. Martalena Ramli	(PRR-BATAN)
Drs. Hari Suryanto, M.Sc	(PRR-BATAN)
Dr Resnaldy, SpKN	(PKNI/PKBNI)

**Prosiding**

Fath Priyadi, V. Yulianti Susilo, Wira Y. Rahman

---

---

## LAPORAN KETUA PANITIA

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Puji syukur kita panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas ijin-Nya Pertemuan Ilmiah Tahunan Radioisotop, Radiofarmaka, Siklotron dan Kedokteran Nuklir Tahun 2013 ini dapat terwujud. Penyelenggaraan Pertemuan Ilmiah Tahunan ini merupakan kolaborasi antara Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka - BATAN dan PKNI/PKBNI dengan mengangkat tema : "Advanced Development of Radiopharmaceuticals, Molecular Imaging and Targeted Radionuclide Therapy".

Kegiatan ini bertujuan untuk mendapatkan informasi perkembangan terbaru mengenai radiofarmaka, molecular imaging, dan targeted radionuclide therapy, meningkatkan intensitas interaksi antara pelaku kegiatan litbang di bidang radioisotop, radiofarmaka, dan siklotron dengan para klinisi Kedokteran Nuklir serta mitra industri, sehingga terbentuk kegiatan yang saling bersinergi dari tahap litbang sampai pada tahap pemanfaatannya secara luas khususnya dalam bidang kedokteran nuklir.

Sebagaimana kita ketahui bersama bahwa Kedokteran nuklir saat ini merupakan salah satu pelayanan kesehatan yang berperan penting dibidang kesehatan dan kedokteran di Indonesia yang dibuktikan dengan adanya peningkatan penggunaan modalitas diagnosis dan terapi di pusat pelayanan kedokteran nuklir beberapa rumah sakit di Indonesia baik rumah sakit pemerintah maupun swasta.

Pertemuan ilmiah tahunan 2013 ini dihadiri kurang lebih 200 orang dengan acara yang mencakup plenary session berupa presentasi dari keynote speaker yang berasal dari dalam maupun luar negeri, workshop dan presentasi secara oral dari peserta penyaji serta diskusi yang diikuti oleh lembaga litbang, mitra pengguna/rumah sakit maupun mitra industri, akademisi serta pengambil kebijakan.

Besar harapan kami kegiatan Pertemuan Ilmiah Tahunan ini dapat berlanjut untuk masa yang akan datang. Akhir kata, kami mohon maaf apabila ada kekurangan dalam penyelenggaraan kegiatan ini.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Ketua Panitia Pelaksana  
Didik Setiaji

---

---

**KATA SAMBUTAN**  
**KEPALA PUSAT RADIOISOTOP DAN RADIOFARMAKA**

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, segala puji dan syukur kita panjatkan kepada Allah SWT atas nikmat dan karunia-Nya sehingga acara Pertemuan Ilmiah Tahunan Radioisotop, Radiofarmaka, Siklotron dan Kedokteran Nuklir Tahun 2013 dapat dilaksanakan dengan baik sampai dengan terbitnya prosiding. Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Tim Editor dan semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian prosiding ini.

Kami berharap prosiding ini dapat digunakan sebagai dokumentasi karya ilmiah para peneliti dan praktisi dalam bidang kesehatan khususnya kedokteran nuklir yang telah dipresentasikan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan Radioisotop, Radiofarmaka, siklotron dan Kedokteran Nuklir Tahun 2013 pada tanggal 8 – 9 Nopember 2013 di *Mochtar Riady Comprehensive Cancer Centre Siloam Hospitals Semanggi*, Jakarta. Pertemuan ilmiah ini mengangkat tema **“Advanced Development of Radiopharmaceuticals, Molecular Imaging and Targeted Therapy”** dengan melibatkan para peneliti dari Pusat Radioisotop Dan Radiofarmaka (PRR) dan beberapa Satker dilingkungan BATAN maupun perguruan tinggi, para praktisi kedokteran nuklir serta pembicara tamu dari luar negeri yaitu USA/Korea, Singapura, China dan Australia.

Harapan kami semoga prosiding ini dapat dijadikan referensi bagi berbagai pihak terutama para peneliti, pemikir dan pemerhati kesehatan dalam penelitian dan pengembangan radioisotop, radiofarmaka dan siklotron, serta aplikasinya dalam bidang kedokteran nuklir sehingga dapat meningkatkan kualitas pelayanan kesehatan bagi masyarakat luas.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Kepala Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka  
Dra. Siti Darwati, M.Sc

## DAFTAR ISI

<b>Kata Pengantar</b> .....	i
<b>Penasehat, Pengarah, Tim Editor</b> .....	ii
<b>Laporan Ketua Panitia</b> .....	iii
<b>Kata Sambutan Kepala Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka</b> .....	iv
<b>Daftar Isi</b> .....	v
<b>Optimising Radiation Safety Practices in Nuclear Medicine Departement : a Study From Australian Hospital</b> .....	1
<i>Nur Rahmah Hidayati</i>	
<b>Unjuk Kerja Kolom Generator <sup>90</sup>Sr/<sup>90</sup>Y Berbasis Fasa Diam Alumina</b> .....	11
<i>Sulaiman, Adang H.G., Karyadi, Sri Aguswarini, A. Mutalib, Gatot S.</i>	
<b>Penggunaan Ra-223 Dalam Targeted Alpha Therapy untuk Kanker Prostat</b> .....	17
<i>Hilary Reinhart</i>	
<b>Identifikasi Radionuklida Hasil Iradiasi Ytterbium Alam Menggunakan Spektrometer Gamma</b> .....	26
<i>Triani W., Endang S., Umi NS., Triyanto, Sunarhadijoso S.</i>	
<b>Simulasi Dosis Radial Sumber Brakiterapi Iridium-192 Tipe H-01 dengan Menggunakan MCNPX 2.6.0</b> .....	33
<i>Anik Purwaningsih</i>	
<b>Penatalaksanaan Kesehatan untuk Pekerja Radiasi yang Menerima Dosis Berlebih</b> .....	39
<i>Suhaedi Muhammad, Rr.Djarwanti, RPS, Rimin Sumantri</i>	
<b>Elektroplating Nikel pada Keping Emas untuk Produksi Radioisotop Cu-64 Menggunakan Cyclotron</b> .....	44
<i>Herlan Setiawan, Cahyana A, Daya Agung, M Subechi, Hotman L, Sriyono, Wira YR</i>	
<b>Produksi Renium-188 Menggunakan Bahan Sasaran Tungsten Alam dan Diperkaya</b> .....	51
<i>Indra Saptiama, Herlina, Hotman Lubis, Sriyono, Hambali</i>	
<b>Kajian Keselamatan pada Pengawasan Proses Produksi <sup>18</sup>FDG di Rumah Sakit Kanker Dharmais</b> .....	59
<i>Rr.Djarwanti RPS, Rohmansyur, Hadirahman, Uteng, Herta, Nurhuda</i>	
<b>Sintesis dan Uji Stabilitas Senyawa Nukleotida Bertanda [<math>\gamma</math>-<sup>32</sup>P]ATP</b> .....	64
<i>Wira Y Rahman, Endang Sarmini, Herlina, Triyanto, Hambali, Abdul Mutalib, Santi Nurbaiti</i>	
<b>Optimasi Preparasi Nanopartikel Emas (AuNPs) Terbungkus PAMAM Dendrimer Generasi 4</b> .....	70
<i>Anung Pujiyanto, Herlan Setiawan, Mujinah, Hotman Lubis, Dede K, Adang Hardi G, Rien Ritawidya, Abdul Mutalib</i>	

<b>Validasi Parameter Medan Gaya Program ChemBio3D 11.0 .....</b>	<b>78</b>
<b>untuk Disain Molekuler Senyawa Kompleks Radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc</b>	
<i>Maiyesni</i>	

## SINTESIS DAN UJI STABILITAS SENYAWA NUKLEOTIDA BERTANDA [ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP

Wira Y Rahman<sup>1\*</sup>, Endang Sarmini<sup>1</sup>, Herlina<sup>1</sup>, Triyanto<sup>1</sup>, Hambali<sup>1</sup>, Abdul Mutalib<sup>1</sup>  
<sup>2</sup>Santi Nurbaiti

<sup>1</sup> Center for Radioisotope and Radiopharmaceuticals (PRR) - BATAN)

<sup>2</sup>Kelompok Keahlian Kimia ITB

wira@batan.go.id

### ABSTRAK

**SINTESIS DAN UJI STABILITAS SENYAWA NUKLEOTIDA BERTANDA [ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP.** Nukleotida bertanda fosfor-32 ( $^{32}$ P) [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-adenosine triphosphate {[ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP} salah satu senyawa yang banyak digunakan dalam penelitian biologi molekul. Untuk dapat menunjang penelitian biologi molekul di Indonesia, telah dilakukan pembuatan senyawa nukleotida bertanda [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP melalui reaksi enzimatik menggunakan prekursor DL-glyceraldehyde 3-phosphate, nukleotida adenosine diphosphate (ADP) dan  $H_3^{32}PO_4$ , serta enzim glyseraldehyd 3-phosphat dehydrogenase, 3-phosphoglycerat-kinase dan laktat dehidrogenase. Uji stabilitas dilakukan untuk mengetahui kondisi penyimpanan yang baik sehingga senyawa nukleotida bertanda [ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP tetap stabil. Dari proses sintesis tersebut berhasil diperoleh [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP dengan rendemen pembentukannya 96,48 % dan aktivitas total hasil fraksinasi 17,775 mCi. Dan hasil uji stabilitas senyawa nukleotida bertanda [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP tetap stabil pada temperature penyimpanan 2 - 8°C, selama 22 hari penyimpanan. Dengan berhasilnya dilakukan sintesis dan uji stabilitas senyawa nukleotida bertanda [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP maka Pusat Radiosotop dan Radiofarmaka dapat menyediakan nukleotida bertanda dimaksud di atas untuk menunjang penelitian biologi molekul di Indonesia.

Kata kunci : sintesis, [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-adenosine triphosphate, reaksi enzimatik, uji stabilitas

### ABSTRACT

Adenosine triphosphate-labelled with  $\gamma$ - $^{32}$ P ([ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP) has been widely used in the biotechnology research, usually as a tracer to study aspects of physiological and pathological processes. In order to support biotechnology research in Indonesia, a process for production of [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP with enzymatic reaction was used as precursors DL-glyceraldehydde 3-phosphate, Adenosine Diphosphate (ADP) and  $H_3^{32}PO_4$ , and enzyme glyceraldehid 3-phosphate dehydrogenase, 3-phosphoglyceric phosphokinase and lactate dehydrogenase. Stability test conducted to determine the conditions of good storage so that compounds labeled nucleotides [ $\gamma$ - $^{32}$ P] ATP fixed stable. Obtained from the synthesis process [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP with a yield of 96.48% and a total activity of 17.775 mCi fractionation results. And the results of stability test compounds labeled nucleotides [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP fixed stable at storage temperatures of 2-8 ° C, during 22 days of storage. With the success of the synthesis and optimization is done incubation time of synthesis labeled nucleotide, the result suggested can be used for producing [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ATP to support the provision of radiolabeled nucleotide for biotechnology research in Indonesia.

Key words : synthesis, [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-adenosine triphosphate, enzymatic reaction, stability test



## PENDAHULUAN

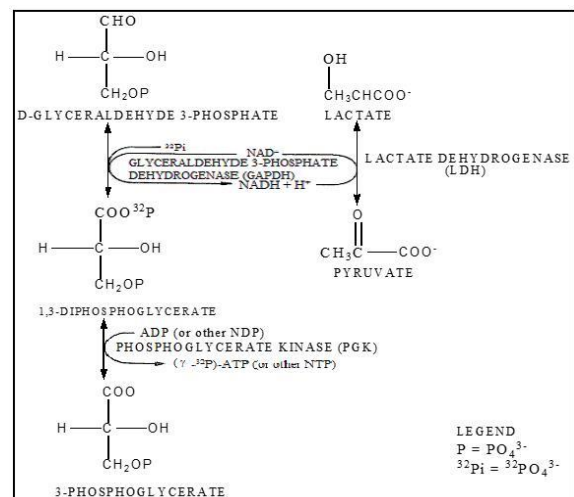
Pemanfaatan teknologi nuklir untuk kesejahteraan manusia telah merambah berbagai bidang kehidupan seperti kesehatan, industri, riset kebumihan, energi, pangan dan pertanian, ilmu fisika, kimia, kelautan, hidrologi, dan lain-lain. Selama dekade terakhir ini aplikasi radioisotop telah berkembang dengan cepat, tidak hanya digunakan dalam pencitraan untuk memperoleh informasi fungsional suatu senyawa, melainkan juga untuk mendalami berbagai proses fisiologi dan patologi. [1,2,3]

Salah satu aplikasi teknologi nuklir dalam bidang kesehatan yang dikombinasikan dengan teknik biologi molekuler adalah mendeteksi virus, kuman atau bakteri penyebab penyakit atau yang telah bermutasi. Deteksi ini dilakukan melalui penentuan urutan asam nukleat DNA virus, hibridisasi *dot blot*. Teknik hibridisasi membutuhkan pelacak (*probe*) yang berperan untuk mendeteksi fragmen DNA-nya yang spesifik tersebut. Pelacak merupakan asam nukleat rantai pendek beruntai tunggal (untai tunggal RNA atau DNA) yang memiliki sekuen spesifik yang akan dideteksi dan berlabel radioaktif P-32, salah satunya adalah  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  [4,5,6]. Teknik penggunaan pelacak DNA/RNA untuk mendeteksi gen atau fragmen DNA yang diinginkan atau untuk mendeteksi klon yang benar dikenal dengan nama teknik *Southern Blotting* [7,8,9].

Penelitian ini bertujuan untuk membuat senyawa nukleotida bertanda  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  dengan stabilitas radiokimia yang baik sehingga bisa diaplikasikan untuk penelitian dalam bidang biologi molekuler. Sintesis  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  dilakukan menggunakan reaksi enzimatik.

Proses sintesis nukleotida bertanda P-32 dimulai dari DL-gliseraldehid 3-fosfat, yang bereaksi dengan asam fosfat ( $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ ) menghasilkan 1,3-disfosfogliseraldehid.

Senyawa 1,3-difosfogliseraldehid diubah menjadi asam 1,3-difosfoglisarat dengan bantuan enzim gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase, kofaktor ion  $\text{Mg}^{++}$  serta koenzim  $\text{NAD}^+$ . Selama reaksi berlangsung molekul  $\text{NAD}^+$  akan berubah menjadi  $\text{NADH}$ . Molekul  $\text{NADH}$  ini dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase akan berubah kembali menjadi  $\text{NAD}^+$  disertai perubahan asam piruvat menjadi asam laktat. Senyawa 1,3-difosfoglisarat selanjutnya berubah menjadi 3-fosfoglisarat dengan bantuan enzim fosfoglisarat kinase, disertai dengan perubahan  $\text{ADP}$  menjadi  $\text{ATP}$ . Kemudian dilakukan pemurnian dengan menggunakan kromatografi penukar anion DEAE-Sephadex.



Gambar 1. Reaksi enzimatik sintesis ADP menjadi ATP dengan penambahan fosfat radioaktif ( $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ )

Nukleotida bertanda  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  hasil sintesis tersebut perlu dilakukan uji kestabilan radiokimianya pada kondisi penyimpanan temperatur  $2\text{-}8^\circ\text{C}$ . Dari kemurnian radio-kimianya dapat diketahui kestabilannya pada kondisi penyimpanan tersebut, sehingga pada saat digunakan nukleotida bertanda  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  tetap pada kondisi terbaik.

## METODOLOGI

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah  $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$  bebas

pengembangan dengan kemurnian radiokimia diatas 97% yang dibuat oleh Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR). Enzim gliseraldehid-3-phosphat dehidrogenase (80 unit/mg) 10 mg/ml, phosphogliserat kinase (450 unit/mg) 10 mg/ml, dithiothreitol, tris-HCl, DL-gliseraldehid 3-fosfat dari Sigma Aldrich. Sedangkan laktat dehidrogenase (250 unit/mg) 5 mg/ml, adenosin di-fosfat (ADP),  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), magnesium klorida dari E.Merck<sup>[13]</sup>.

Bahan penunjang yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu kolom kromatografi Dowex AG 50 (1x8), kolom kromatografi DEAE-Sephadex dengan pendingin, kromatografi lapisan tipis (KLT), plastik polyethyleneimine (PEI) cellulose dari E.Merck, kertas indikator pH universal, peralatan gelas dan tabung mikro<sup>[13]</sup>.

Peralatan yang digunakan yaitu sentrifuga berpendingin ( *refrigerated centrifuge*) (Allegra Beckman Coulter), penangas air (Memmert), Mini KLT Scanner (Bioscan AR-2000), dan *Liquid Scintillation Counter* (LSC) (MicroBeta Trilux)<sup>[13]</sup>.

### Cara Kerja

Campuran pereaksi yang digunakan dibuat dalam tabung mikro 2 mL, komposisinya seperti table berikut :

Tabel 1. Komponen pereaksi yang digunakan

Komponen	Volume, $\mu$ L
Larutan A	100
H <sub>2</sub> O	25
0,5 M Tris-HCl	50
0,3 M Magnesium Chloride	20
0,125 M Natrium piruvat	12,5
5 mM ADP	12,5
0,2 M Dithiothreitol	30
0,02 M DL-glyceraldehyde	25
20 mM $\beta$ -NAD	25

Campuran B (buffer enzim)	50	
Air (aquabidest)	50 $\mu$ l	42,5 $\mu$ l
0,5 M Tris-HCl		2,5
0,3 M Magnesium Chloride		2,5 $\mu$ l
0,2 M Dithiothreitol		2,5 $\mu$ l
Campuran enzim	12	
Glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase	50 $\mu$ l	(40 units)
Lactate dehydrogenase	50 $\mu$ l	(62,5 units)
3-phosphoglycerate phosphokinase	50 $\mu$ l	(225 units)

Campuran enzim tersebut disentrifugasi pada kecepatan 15000 rpm selama 20 menit. Setelah diambil supernatannya, endapan enzim kemudian dilarutkan dengan 10  $\mu$ L campuran B

#### 1. Proses sintesis [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]ATP

Ke dalam tabung mikro bervolume 1,5 ml dimasukkan 40  $\mu$ l H<sub>3</sub><sup>32</sup>PO<sub>4</sub> (aktivitas terukur) diatur pH 7-9 dengan larutan 5M NaOH. Selanjutnya ke dalam larutan tersebut ditambahkan berturut-turut 40  $\mu$ l larutan campuran A dan 10  $\mu$ l campuran enzim. Inkubasi dilakukan selama (t) menit dan dicuplik setiap waktu tertentu selama waktu tertentu. Reaksi dihentikan dengan memasukkan tabung mikro ke dalam penangas air bersuhu 70°C selama 3 menit untuk menghentikan reaksi enzimatik. Kemudian dilakukan proses pemisahan dengan menggunakan kolom penukar ion DEAE-Sephadex.

#### 2. Proses pemisahan [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]ATP hasil sintesis

Hasil proses penandaan dipisahkan dengan menggunakan kolom DEAE-Sephadex. Kolom dielusi dengan NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0,01 M, NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0,1 M, NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0,23 M dan NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0,4 M.

#### 3. Analisa hasil sintesis [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]ATP

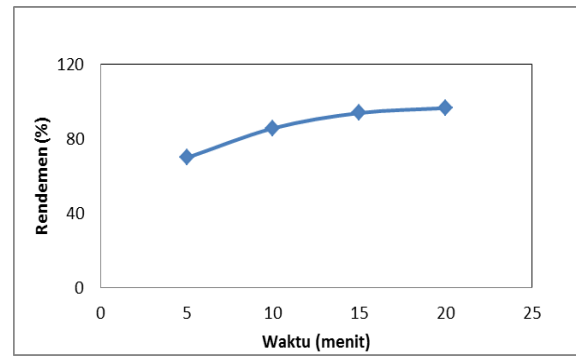
Hasil sintesis dianalisa kemurnian radiokimianya menggunakan KLT PEI Cellulose sebagai fasa diam dan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

0,5 M pH 3,5 sebagai fasa gerak. Kemudian ditentukan  $R_f$ -nya dengan *Bioscanner*.

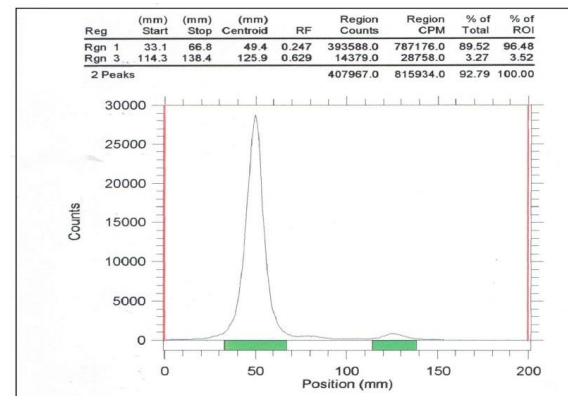
4. Pengkondisian hasil sintesis  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  dalam 0,05 M Tricine pH 7,6  
Hasil fraksinasi dikeringkan dalam freeze dryer sampai benar-benar kering (48 jam). Kemudian dicuci dengan aquabidest dan kembali dikeringkan. Hasil pengeringan dilarutkan dengan 0,05 M Tricine pH 7,6, dan diperiksa kemurnian radiokimianya menggunakan KLT *PEI Cellulose*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses sintesis nukleotida bertanda  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  menggunakan radioisotop P-32 dengan aktivitas 20,00 mCi, sebanyak 300  $\mu\text{L}$ . Pembentukan  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  diamati dengan cara mencuplik sejumlah tertentu sampel setiap 5 menit reaksi yang kemudian dianalisis dengan sistim KLT dengan menggunakan *PEI Cellulose* sebagai fasa diam dan larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 M pH 3,5 sebagai fasa gerak<sup>[11]</sup>. Gambar 2. memperlihatkan rendemen reaksi enzimatis, pada 5 menit pertama sudah terbentuk 69,76%  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ . Dengan bertambahnya waktu inkubasi rendemen pembentukan  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  juga bertambah, tetapi dari menit ke-15 dan ke-20 pertambahannya sudah tidak signifikan. Terlihat pada menit ke-15 rendemennya mencapai 93,63%, sedangkan pada saat 20 menit inkubasi mencapai 96,48%,  $R_f$  0,247. Dari kromatogram yang sama juga dapat dilihat masih terdapat 3,52%  $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$  ( $R_f$  0,629) bebas (Gambar 3.).

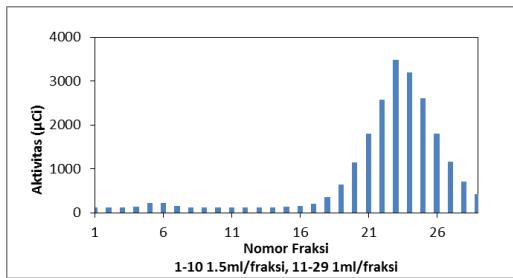


Gambar 2. Rendemen nukleotida bertanda P-32  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  dengan waktu inkubasi 20 menit



Gambar 3. Radiokromatogram pembentukan  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  setelah inkubasi 20 menit

Untuk mendapatkan kemurnian radiokimia  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  yang tinggi ( $> 90\%$ ) dilakukan proses pemurnian dengan menggunakan kolom DEAE-Sephadex menggunakan eluen larutan  $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$  pH 7,5 dengan berbagai variasi konsentrasi<sup>[11]</sup>. Elusi pertama dilakukan dengan larutan  $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$  0,01 M yang bertujuan untuk mengeluarkan enzim sisa hasil sintesis  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ . Elusi berikutnya dilakukan dengan menggunakan larutan  $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$  0,1 M untuk menghilangkan ADP dan ATP yang tidak bereaksi dan dilanjutkan dengan larutan  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  0,23 M untuk menghilangkan sisa P-32. Kolom kemudian dielusi dengan larutan  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  0,4 M untuk mendapatkan  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ . Gambar 4 memperlihatkan profil elusi pemurnian  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  dengan kolom kromatografi penukar anion DEAE-Sephadex.

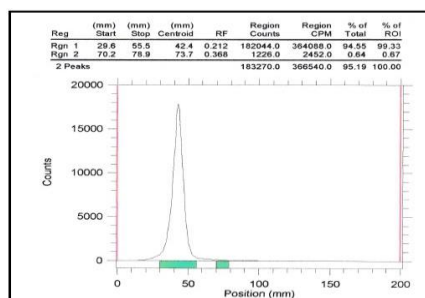


Gambar 4. Profil elusi pemisahan [γ-<sup>32</sup>P]ATP dengan kolom kromatografi penukar anion DEAE Sephadex menggunakan NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> sebagai larutan pengelusi

Hasil analisa terhadap fraksi-fraksi yang diperoleh dilakukan dengan KLT dan didapat bahwa fraksi 5, 6 dan 7 ( $R_f = 0,6$ ) merupakan P-32 yang tidak bereaksi (data tidak ditampilkan). Sedangkan untuk setiap hasil fraksinasi yang mempunyai aktivitas yang tinggi dilakukan analisa menggunakan KLT PEI Cellulose. Dari hasil analisa tersebut fraksi 22 sampai dengan fraksi 27 memiliki nilai  $R_f = 0,2$ , mengindikasikan fraksi tersebut merupakan [γ-<sup>32</sup>P]ATP (Tabel 2.) Dan P-32 yang tidak bereaksi tidak terdapat lagi dalam hasil fraksinasi, terlihat dengan tidak adanya nilai  $R_f = 0,6$  sebagai indikasi adanya P-32.

Tabel 2. Hasil analisa fraksi 22 sampai dengan fraksi 27

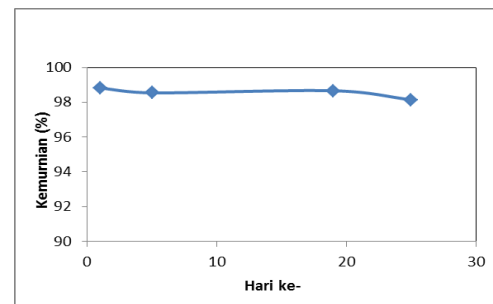
Fraksi	R <sub>f</sub>	% Kemurnian	R <sub>f</sub>	% Kemurnian
22	0.203	94.12	0.343	5.88
23	0.224	97.77	0.369	2.23
24	0.234	97.66	0.383	2.34
25	0.225	98.87	0.382	1.13
26	0.212	99.33	0.368	0.67
27	0.216	99.61	0.362	0.39



Gambar 5. Radiokromatogram hasil pemisahan fraksi 26

Analisa dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 2, Gambar 5. adalah hasil analisa dari salah satu fraksi yaitu fraksi 26 dengan kemurnian yang paling baik dengan kemurnian 99,33% dan aktivitas 1,808 mCi.

Masing-masing fraksi tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan freeze dryer dan dikondisikan dengan larutan 0,05 M Tricine pH 7,6. Kemudian disimpan dalam container pada temperatur 2-8°C, dan pada selang waktu tertentu dicuplik serta dianalisa kestabilannya dengan menggunakan KLT PEI Cellulose. Dari pengamatan tersebut terlihat bahwa nukleotida bertanda [γ-<sup>32</sup>P]ATP tetap stabil pada temperature penyimpanan 2-8°C, selama dua kali waktu peluruhan P-32 ( $T_{1/2} = 14,3$  hari).



Gambar 6. Hasil uji kestabilan nukleotida bertanda [γ-<sup>32</sup>P]ATP yang disimpan dalam kontainer pada temperatur 2 - 8°C

## KESIMPULAN

Hasil sintesis senyawa nukleotida bertanda [γ-<sup>32</sup>P]ATP menggunakan radioisotop P-32 dengan aktivitas 20,00 mCi memberikan rendemen pembentukan sebesar 96,48%. Waktu inkubasi selama 20 menit dengan aktivitas hasil fraksinasi sebesar 17,755 mCi. Dari uji kestabilan terlihat bahwa senyawa nukleotida bertanda [γ-<sup>32</sup>P]ATP yang disimpan dalam kontainer pada temperatur 2-8°C tetap stabil sampai hari ke 25, atau selama dua kali waktu paruh P-32 ( $T_{1/2} = 14,3$  hari).

## DAFTAR PUSTAKA

1. FATCHIYAH DAN ESTRI LARAS ARUMNINGTYAS. "Kromosom, Gen, DNA, Synthesis Protein dan Regulasi", Laboratorium Biologi Molekuler dan Selluler Universitas Brawijaya, Malang, 2006
2. NUNUK PRIYANI, "Sifat Fisik dan Kimia DNA", Program Studi Biologi dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, 2004
3. DWI SURYANTO, "Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler", Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
4. SUHARSONO, "Struktur dan Ekspresi Gen", Jurusan Biologi FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
5. LEHRINGER, A.L, "Dasar-Dasar Biokimia Jilid I", Erlangga, Jakarta, 1982
6. ARIS TJAHOLEKSONO, "Teknologi DNA Rekombinan", Jurusan Biologi FMIPA, Institut Pertanian Bogor, hal 1 - 16.
7. MUKH. SYAIFUDIN DAN DEVITA TETRIANA, "Analisis Mutasi Gen inhA untuk Uji Resistensi M.Tuberculosis terhadap Isoniazid dengan Metode SSCP radioaktif", Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN, Jakarta.
8. MARIA LINA R, BUDIMAN BELA DAN ANDI YASMON, "Deteksi Mutasi Gen KATG (*Myobacterium Tuberculosis*) dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) – Hibridisasi *Dot Blot* menggunakan Pelacak Oligonukleotida Bertanda  $^{32}\text{P}$ ", Jurnal Aplikasi Isotop dan Radiasi, 2000.
9. BUDIAWAN, "Pengembangan Teknik  $^{32}\text{P}$ -Postlabelling untuk Mendeteksi Dini Resiko Kanker", Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi, 2000.
10. F. SAKAMOTO, M. IZUMO, K. HASHIMOTO, Y. FUJI, "Study of Optimum Condition for Synthesis of  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  with High Specific Radioactivity", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol. 239, 1998, No.2 (1999) 423-427.
11. PAUL F. SCHENDEL AND ROBERT D. WELLS, "The Synthetic and Purification of  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$  Adenosine Triphosphate with High Specific Activity", The Journal of Biology Chemistry, Vol. 248, No. 23, (8319 – 8321) Issue of December 10.
12. JHONSON, ET AL, "Enzymatic Process for Preparing  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{-Labeled}$  Nucleotides", United State Patent, June, 1980.
13. WIRA Y RAHMAN, ENDANG SARMINI, HERLINA, DKK, " Sintesis ATP Bertanda P-32 sebagai Perunut Biologi Molekul", Pertemuan Ilmiah Radioisotop, Radiofarmaka dan Siklotron, 2010.