

APLIKASI IPTEK NUKLIR DALAM PENGEMBANGAN OBAT BAHAN ALAM

Nanny Kartini Oekar*, Aang Hanafiah Ws.*, Eva Maria Widyasari*, Isti Daruwati*,
Aditya Trias Pradana**, Miftah Luthpi***

*) Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri, BATAN, Jl. Tamansari No.71, Bandung, 40132

***) Sekolah Farmasi, ITB, Jl. Ganeça No.10, Bandung.

****) Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jl. Soekarno Hatta No. 354, Bandung

e-mail: nannykartini@gmail.com

ABSTRAK

APLIKASI IPTEK NUKLIR DALAM PENGEMBANGAN OBAT BAHAN ALAM. Aplikasi iptek nuklir dalam penelitian dan pengembangan ilmu kefarmasian, khususnya dalam uji non-klinis dan klinis senyawa obat atau bahan obat, memiliki peran yang sangat penting. Beberapa senyawa bertanda radioisotop dan teknologi pencitraan terus dikembangkan baik dalam studi farmakokinetika maupun farmakodinamika. Senyawa bertanda radioisotop dapat digunakan sebagai alat ("tools") untuk mempelajari ataupun identifikasi dini berbagai permasalahan yang terkait dengan bioavailabilitas dan bio-interaksi yang dapat menjadi sumber ketidaktepatan diagnostik ataupun terapi di kemudian hari. Dalam karya tulis ilmiah ini dipaparkan kajian teknis penerapan iptek nuklir dalam proses pengembangan obat yang berasal dari bahan alam, seperti virgin coconut oil, kurkumin dan streptokinase, diawali dengan teknik penandaan dengan radioisotop iodium-131, dan dilanjutkan dengan penetapan karakteristiknya. Walaupun efisiensi penandaan bahan alam tersebut menunjukkan hasil yang sangat beragam, atau bahkan ada yang memberikan hasil penandaan yang rendah, namun tingkat kemurnian radiokimia sebagai salah satu persyaratan uji sediaan dari ke tiga senyawa tersebut rata-rata berada di atas 95%. Kajian farmakokinetika, seperti biodistribusi, blood clearance, urinary clearance, dan penentuan waktu paruh biologis ke tiga senyawa yang ditandai dengan radioisotop ini sangat mudah dipelajari, tidak membutuhkan proses ekstraksi, dan sensitif dalam pengukurannya. Diharapkan, teknik nuklir, khususnya penggunaan senyawa bertanda radioisotop mempunyai peluang untuk dapat lebih dimanfaatkan sebagai jalan pintas dalam proses penemuan dan pengembangan obat baru, terutama dalam penghematan waktu dan biaya.

Kata kunci: aplikasi iptek nuklir, pengembangan dan penemuan obat, senyawa bahan alam, farmakokinetika

ABSTRACT

APPLICATIONS OF NUCLEAR SCIENCE AND TECHNOLOGY IN THE RESEARCH AND DEVELOPMENT OF NATURAL DRUG MATERIAL. Applications of nuclear science and technology in the research and development of pharmaceutical sciences, especially in non-clinical trials and clinical drug compounds, has a very important role. Some of radioisotope labeled compounds and imaging technologies continue to be developed in both the pharmacokinetics and pharmacodynamics studies. Radioisotope labeled compounds can be used as a tool to study the early identification or problems related to bioavailability and bio-interactions that can be a source of therapeutic or diagnostic inaccuracy in the future. In this scientific paper presented the technical review of the application of nuclear science and technology in the development of drugs derived from natural materials, such as virgin coconut oil, curcumin and streptokinase, preceded by labeling technique with radioisotope iodine-131, and continued with the establishment of its characteristics. Although the labeling efficiency of natural materials showed very variable results or even give no significant yields, but the level of radiochemical purity test as a requirement for the preparation of the three compounds is above 95%. Pharmacokinetics studies, such as bio-distribution, blood clearance, urinary clearance, and

the biological half-life determination of the three compounds characterized by a radioisotope is very easy to learn, does not require the extraction process, and sensitive in the measurement. In expectation, nuclear techniques, in particular the use of radioisotope labeled compounds have the opportunity to be able to be used as a shortcut in the process of discovery and development of new drugs, especially in a time and cost savings.

Keywords: application of nuclear science and technology, drug discovery and drug development, natural material compounds, pharmacokinetics.

1. PENDAHULUAN

Berkembangnya penemuan obat baru baik melalui sintesis maupun non sintesis tidak terlepas dari munculnya beragam penyakit sebagai akibat dari perubahan pola hidup dan tata lingkungan. Hal ini berdampak pula pada perkembangan ilmu kefarmasian [1,2].

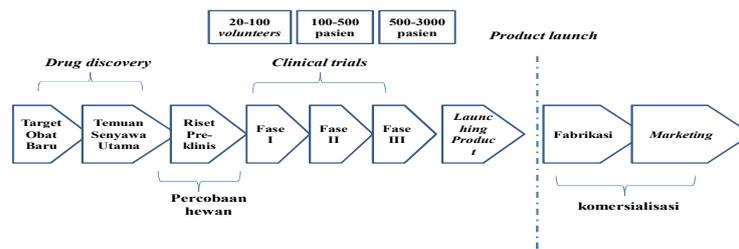
Hingga saat ini banyak *scientists* berparadigma kembali ke “*nature*” dalam menemukan senyawa / bahan aktif untuk mengobati penyakit. Para *scientists* berkeyakinan bahwa “*nature*” (bahan alam) masih menawarkan substansi penting, bahkan saat ini telah ditemukan ratusan substansi kimia yang berasal dari tanaman atau preparat biologis, dan dianggap sebagai obat penting di berbagai Negara di dunia. Beberapa diantaranya telah berhasil diisolasi dalam bentuk substansi kimia sederhana atau dalam bentuk ekstrak yang dimasukkan ke dalam kapsul, tablet ataupun bentuk cairan. Di beberapa Negara, termasuk di Indonesia, obat herbal telah difabrikasi dan dipasarkan untuk berbagai kegunaan, seperti untuk penanganan hipertensi, penyakit hati, kadar kolesterol tinggi, kanker dll.[3,4]

Kementerian Negara Ristek RI dalam kebijakan arah pengembangan iptek kesehatan mecantumkannya secara nyata dalam buku putih Penelitian, Pengembangan dan Penerapan Iptek di Bidang Kesehatan dan Obat 2005-2025 demi terwujudnya Visi Indonesia Sehat 2025. Visi, misi dan tujuan tersebut didukung oleh beberapa penelitian dan pengembangan yang salah satunya adalah di bidang bahan baku obat, sediaan obat, perbekalan farmasi dan alat kesehatan ⁽⁵⁾. Karena itu, lembaga penelitian,

perguruan tinggi dan industri farmasi dan alat kesehatan mengarahkan penelitiannya untuk mendukung visi dan misi ini. Penelitian dalam pengembangan produk obat (*drug development*) untuk mencapai hasil pengobatan yang lebih baik atau untuk menurunkan atau menghilangkan efek samping yang tidak diinginkan dari suatu produk, secara terus-menerus dilakukan oleh berbagai pihak tadi. Demikian juga penelitian untuk menemukan obat atau bahan obat baru (kandidat obat) yang dikenal dengan istilah *drug discovery*, terutama yang berbasis bahan alam (*back to nature*) merupakan kegiatan yang sangat gencar dilakukan oleh berbagai pihak yang merasa bertanggung jawab untuk mengisi misi di bidang kesehatan yang telah digariskan oleh Buku Putih tersebut [5].

Permasalahan penemuan obat baru dan atau pengembangan obat yang terjamin keamanan dan efikasinya, pada umumnya terletak pada faktor biaya, lamanya waktu, serta tahapan penelitian yang harus dilalui. Dalam beberapa pustaka dinyatakan bahwa untuk penemuan atau pengembangan satu jenis obat dari sejak awal diteliti hingga dapat digunakan pada pasien dibutuhkan biaya investasi jutaan dolar dengan proses waktu penemuan antara 12 hingga 20 tahun [6,7,8].

Begitu juga dengan tahapan seleksi bahan yang pada awalnya bisa berjumlah ratusan atau bahkan ribuan bahan obat, namun pada akhirnya hanya satu jenis obat saja yang memenuhi persyaratan [1]. Gambar skematik berikut menunjukkan proses penemuan obat baru hingga mencapai tahap komersialisasi [3].



Gambar 1. Proses Penemuan dan Pengembangan Obat

Dengan melalui proses yang sedemikian lama dan dengan biaya yang tidak murah, nampaknya beberapa negara berkembang akan semakin tertinggal dari negara maju, karena itulah peran inovasi teknologi sangat diperlukan. Salah satu alternatif inovasi yang dapat dikembangkan adalah dimanfaatkannya teknologi nuklir yang dalam beberapa hal memiliki nilai lebih dibandingkan cara-cara konvensional, seperti mudahnya terdeteksi dan dapat segera dikuantifikasi tanpa melalui proses isolasi dll.

Bahan obat yang akan diteliti pada umumnya ditandai dengan radioisotop sejenis, seperti tritium, karbon-14, fosfor-32, sulfur-35, nitrogen-15, atau iodium-131, dengan syarat unsur penanda tersebut terikat stabil pada molekul yang ditandai, membentuk senyawa bertanda dengan tingkat kemurnian radiokimia di atas 90%, serta sifat kimiawi atau biologis, molekul yang ditandai tidak mengalami perubahan [2,9].

Dalam makalah ini dipaparkan peran iptek nuklir dalam mempelajari parameter farmakokinetika, khususnya pola biodistribusi beberapa hasil penelitian terkait pengembangan obat bahan alam VCO (*virgin coconut oil*) yang diyakini masyarakat sebagai bahan alam yang dapat mengobati beberapa penyakit terutama infeksi, Kurkumin yang dikenal sebagai *hepato-protector*, dan Rekombinan Streptokinase sebagai *thrombolytic agent*, diawali dengan proses penandaan dengan radioisotop iodium-131.

2.TATA KERJA

2.1.Bahan dan peralatan

Bahan kimia umum yang digunakan adalah kloramin-T (Sigma-Aldrich), NaOH, HCl, kloroform, metanol, etanol, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, natrium metabisulfit, kalium iodida, kalium iodat, amonium asetat semuanya buatan E.Merck. Bahan lain adalah air untuk injeksi dan larutan NaCl fisiologis buatan IPHA Laboratories.

Bahan kimia khusus (bahan alam) yang digunakan adalah virgin coconut oil (VCO) [8], kurkumin [9], dan streptokinase (SK)[10]. Radioaktif yang digunakan adalah iodium-131 berupa Na¹³¹I buatan PT. Batan Teknologi, Serpong. Bahan untuk kromatografi adalah resin Dowex (1x8)Cl⁻ mesh 80-100 dan 50-100 dan kertas kromatografi Whatman 1, dan lapis tipis TLC-SG (E.Merck).

Alat yang digunakan alat pencacah saluran tunggal (*single channel analyzer*), timbangan analitis (Metler), pengaduk vortex, *dose calibrator* (Victoreen), elektroforesis kertas, seperangkat alat kromatografi kertas/lapis tipis menaik dan kromatografi kolom.

2.2. Reaksi penandaan dengan radioaktif ¹³¹I

Reaksi iodinasi sering digunakan untuk menandai senyawa obat terutama bahan alam. Beberapa metode penandaan dapat digunakan, tetapi dalam penelitian ini hanya menggunakan 2 metode yaitu metode iodium-monoklorida dan metode kloramin-T. Pada dasarnya penandaan senyawa organik dengan iodium-131 radioaktif adalah reaksi oksidasi-reduksi (redoks) menggunakan bahan oksidator kloramin-T atau monoiodo klorida (ICl) yang akan mengoksidasi ion negatif ¹³¹I⁻ menjadi bentuk ¹³¹I₂.

2.3. Radioiodinasi dengan metode iodium-monoklorida (ICl)

Dalam penelitian ini senyawa yang ditandai dengan ¹³¹I menggunakan metode iodium-monoklorida ada tiga macam yaitu:

1. *Virgin coconut oil* (VCO) yang ada di pasaran dengan nama dagang Laurivera [8].

2. Nano-partikel kurkumin, yaitu senyawa kurkumin yang telah dibuat menjadi bentuk partikel ukuran nano (Aditia) [9].

2.3.1. Penyiapan larutan iodium monoklorida (ICl)
Sebanyak 0,5 mL larutan kalium iodida 1M dicampur dengan 0,5 mL larutan kalium iodat 0,5 M kemudian ditambah 1,5 mL HCl 10N. Campuran dikocok dalam corong pisah gelas dan iodium monoklorida (ICl) yang terbentuk dipisahkan dari iodium (I₂) dengan cara ekstraksi beberapa kali menggunakan kloroform sampai fase kloroform tidak berwarna ungu. Fase air yang mengandung ICl berwarna kuning muda disimpan di lemari es untuk digunakan dalam proses penandaan biomolekul, dan stabil selama satu minggu.

2.3.2. Proses penandaan

Sejumlah tertentu bahan alam yang akan ditandai, berkisar antara 1-5 mg senyawa yang berupa padat dan 1-10 uL untuk senyawa yang berupa liquid (cair) dicampur atau diencerkan dengan sejumlah kloroform dan dikocok kuat dengan pengaduk *vortex*. Campuran ini berupa larutan stok bahan alam yang akan digunakan selanjutnya dalam proses penandaan.

Sejumlah tertentu larutan stok bahan alam dimasukkan ke dalam vial gelas 2 mL kemudian ke dalamnya ditambahkan 250 uL kloroform, 100-150 uL larutan ICl asli atau diencerkan 5-10 kali dengan aquadest (tergantung kebutuhan) dan dimasukkan 50 uL larutan radioisotop Na¹³¹I, campuran dikocok kuat dengan pengaduk vortex selama 5 menit. Besarnya radioaktivitas dari campuran ini diukur dengan alat *dose calibrator*, kemudian disimpan pada kondisi tertentu yang sesuai selama waktu tertentu pula. Setelah masa inkubasi selesai, reaksi penandaan dihentikan dengan cara menambahkan larutan natrium metabisulfit 1N ke dalam campuran tersebut sampai fase kloroform tidak berwarna ungu lagi. Fase kloroform dan fase air dipisahkan dengan cara membalikkan vial yang berisi campuran, dan fase air ditarik keluar menggunakan *syringe*. Fase air dicuci dengan 2 x 250 uL kloroform, dan setelah fase kloroform dicampur dicuci dengan air sebanyak 2 x 250 uL. Masing-masing fase air dan kloroform diukur aktivitasnya dengan alat *dose calibrator*. Efisiensi penandaan dapat dihitung dari hasil pengukuran aktivitas tersebut dengan persamaan seperti di bawah ini.

$$\text{Efisiensi Penandaan} = \frac{\text{Akt. Fase kloroform}}{\text{Akt. Fase (kloroform+air)}} \times 100\%$$

2.4. Penandaan dengan metode kloramin-T

Metode ini sering digunakan untuk menandai senyawa protein atau peptida. Dalam proses penandaan dengan metode kloramin-T yang perlu diperhatikan adalah kondisi penandaan harus dicari yang optimal agar menghasilkan senyawa bertanda ¹³¹I-bahan alam dengan efisiensi penandaan yang tinggi (maksimal), tetapi kloramin-T yang digunakan tidak merusak strukturnya. Bahan alam yang ditandai dengan metode ini adalah senyawa streptokinase (SK) yang telah diisolasi dari *E.coli* [14]. Sejumlah tertentu streptokinase dalam orde miligram dilarutkan dalam 50 uL larutan dapar PBS (dapar fosfat salin) pH 7,4 dicampur dengan sejumlah tertentu larutan kloramin-T kemudian diaduk menggunakan pengaduk vortex selama 30-60 detik pada suhu kamar. Untuk menghentikan reaksi segera ditambahkan larutan natrium metabisulfit dengan konsentrasi 2 kali konsentrasi kloramin-T yaitu berkisar antara 20-500 ug.

Hasil reaksi tersebut kemudian ditentukan efisiensi penandaannya dengan metoda kromatografi kertas menaik menggunakan fase diam kertas Whatman 1 (1x 15 cm) dan fase gerak metanol 85 %.

2.5. Pemurnian dan karakterisasi hasil penandaan

Proses radioiodinasi hampir selalu menghasilkan efisiensi penandaan yang agak rendah apabila dibandingkan dengan penandaan menggunakan radionuklida teknesium-99m. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa bertanda ¹³¹I-bahan alam selalu mengandung pengotor radiokimia berupa radioiodium bebas dan karena itu harus dilakukan proses pemurnian.

Metode pemurnian yang digunakan tergantung pada senyawa bertanda iodium-131 yang akan dimurnikan. Senyawa bertanda ¹³¹I-VCO dimurnikan dengan metode ekstraksi kloroform:air seperti yang telah dijelaskan pada subbab 2.3.2. Akhir dari proses ekstraksi akan diperoleh senyawa bertanda ¹³¹I-bahan alam berada dalam fase kloroform dan pengotor radiokimia dalam fase air. Untuk menghindari adanya sedikit air yang tertinggal dalam fase kloroform, maka ke dalam fase kloroform ditambahkan secukupnya kristal Na₂SO₄ eksikatus dan

campuran dibiarkan 30-60 menit. Kemudian fase kloroform dipindahkan ke dalam vial lain yang kering menggunakan *syringe*. Masing-masing hasil pemisahan diukur radioaktivitasnya dan biasanya terjadi peningkatan aktivitas jenis dari senyawa bertanda tersebut.

Senyawa bertanda ^{131}I -kurkumin dan ^{131}I -streptokinase dimurnikan menggunakan metode kromatografi kolom. Kurkumin bertanda iodine-131 yang berada dalam pelarut kloroform, dialiri gas nitrogen sampai kering kemudian dilarutkan kembali dalam etanol absolut dan dilewatkan pada kolom berisi Dowex(Cl⁻) mesh 80-100 yang telah diaktivasi dengan cara merendamnya dalam HCl 1N selama 1 jam, kemudian dielusi dengan etanol absolut sampai pH-nya netral. Senyawa ^{131}I -kurkumin dilewatkan ke dalam kolom tersebut dan dielusi dengan etanol. Fraksi-fraksi yang diperoleh diukur radioaktivitasnya, dan puncak yang berisi senyawa ^{131}I -kurkumin murni dalam pelarut etanol dapat terpisah dari pengotor radiokimianya. Senyawa bertanda ^{131}I -streptokinase dimurnikan dengan cara yang sama yaitu melalui kolom resin Dowex(Cl⁻) dengan ukuran mesh 50-100. Fraksi yang mengandung ^{131}I -streptokinase diperoleh dengan mengelusi kolom tersebut dengan larutan dapar fosfat salin (PBS) 0,02N pH 7,4 kemudian dari hasil elusi ^{131}I -SKA akan terpisah dari pengotor radiokimia berupa ^{131}I -iodida bebas.

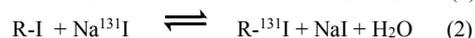
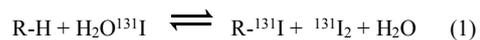
Tingginya persentase kemurnian radiokimia dari kedua senyawa bertanda tersebut ditentukan dengan metode kromatografi kertas menaik menggunakan kertas Whatman (1x10 cm) sebagai fase diam dan fase gerak larutan NaCl 0,9 % untuk ^{131}I -kurkumin dan larutan metanol:air (85:15) untuk ^{131}I -streptokinase.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Radioiodinasi sering digunakan untuk menandai bahan obat atau senyawa biologis. Iodium adalah unsur metalik termasuk dalam halogen group VII-A, mempunyai nomor atom 53 dan isotop stabilnya hanya iodine-127 (^{127}I). Sedangkan isotop radioaktifnya ada empat yaitu ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I dan ^{131}I . Dari seluruh radioisotop tersebut ^{123}I mempunyai $T_{1/2}=13,2$ jam dengan energi foton 159 keV sangat cocok untuk penggunaan diagnostik *invivo*, tetapi harganya mahal karena harus diproduksi oleh cyclotron. Radioisotop ^{125}I sangat umum digunakan untuk menandai antigen atau senyawa lain yang dapat dimanfaatkan dalam penentuan *invitro*, karena mempunyai $T_{1/2}$ yang lebih panjang (60 hari), tetapi tidak cocok untuk pemanfaatan *invivo* karena energinya rendah hanya 27-35 keV. Radioisotop

iodine-131 mempunyai waktu paruh 8 hari dan energi foton (β) 364 keV digunakan dalam pencitraan (*scanning uptake*) tiroid di kedokteran nuklir, selain itu karena energinya optimal tinggi sangat luas pemanfaatannya di bidang lain terutama dalam pengembangan obat-obatan (*drug development*) dan dalam kegiatan penemuan obat baru (*drug discovery*) terutama dalam prosedur *invivo* [3].

Prinsip dasar proses radioiodinasi suatu senyawa adalah reaksi oksidasi-reduksi dari ion iodine. Dalam bentuk teroksidasi, iodine berikatan kuat dengan berbagai molekul, tetapi sebaliknya dalam bentuk tereduksi tidak demikian. Iodium umumnya dapat dioksidasi ke bentuk ion I^+ oleh bermacam-macam oksidator. Molekul bebas iodine berbentuk struktur I^-I^- dalam larutan air. Kadang-kadang bentuk I^+ yang elektrofilik tidak ada dalam bentuk bebas, tetapi membentuk kompleks dengan molekul-molekul nukleofilik seperti air menjadi bentuk H_2OI^+ disebut ion iodonium terhidrasi atau dengan piridin membentuk HOI disebut asam hipoiodida. Molekul HOI dipercaya sebagai ion yang penting dalam proses iodinasi. Reaksi iodinasi terjadi dengan cara substitusi elektrofilik dari ion hidrogen pada senyawa yang ditandai oleh ion iodonium, seperti reaksi (1), atau substitusi nukleofilik (*isotope exchange*) dimana ion iodine radioaktif akan menggantikan ion iodine non-radioaktif yang ada dalam molekul, seperti reaksi (2) [9].



Virgin coconut oil (VCO) adalah salah satu bahan alam dari buah kelapa berupa minyak hasil pemisahan dari santan secara tradisional. Minyak ini mengandung berbagai asam lemak jenuh rantai menengah atau *medium chain saturated fatty acids* (MCFA) sebanyak 60-62%. Beberapa studi yang telah dilakukan membuktikan bahwa MCFA dapat mencegah dan menghilangkan banyak penyakit karena sifat antimikrobanya. Selain itu MCFA juga mempunyai kemampuan meningkatkan sistem imun, dan membantu penyerapan magnesium, kalsium dan asam amino oleh tubuh. Walaupun berbagai studi telah dilaksanakan tetapi pengungkapan secara ilmiah terkait dengan cara kerja dan nasibnya di dalam tubuh masih sangat jarang

ditemukan dalam pustaka. Untuk dapat mengembangkan penelitian tentang VCO, terutama secara *invivo*, maka diteliti tentang pembuatan VCO bertanda radioiodida ^{131}I [12]. Tingginya efisiensi penandaan, persentase kemurnian radiokimia dan karakteristik fisikokimia lainnya dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Senyawa kedua yang ditandai dengan iodium-131 melalui metode iodium monoklorida dalam penelitian ini adalah kurkumin. Kurkuminoid adalah suatu senyawa dari bahan alam yang banyak terdapat pada genus *Curcuma*. Pada umumnya, kurkuminoid terdiri dari tiga jenis senyawa, yaitu kurkumin, desmetoksikurkumin, dan bis-desmetoksikurkumin [13]. Aktivitas kurkuminoid sudah banyak dipublikasi, meliputi antioksidan, antibakteri, antiradang, kemopreventif kanker dan kemoterapi seperti yang diteliti oleh Sharma, 2005 [18]. Kurkumin atau dengan nama kimia [1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion] bersifat tidak stabil pada pH normal dan dapat terdegradasi dalam waktu 30 menit menjadi trans-6-(4'-hidroksi-metoksifenil)-2-4-dikso-5-heksanal, asam ferulat, feruloilmetan dan vanilin. Selain peka terhadap cahaya, kurkumin pada kondisi sedikit asam atau pada medium dapar fosfat penguraian kurkumin menjadi lebih lambat. Beberapa studi telah dilakukan untuk mengetahui ketersediaan hayati dan uptake pada organ

Senyawa kurkumin yang akan ditandai dengan radioiodium-131 melalui metode iodium monoklorida dibentuk dahulu menjadi bentuk nanopartikel dengan penambahan bahan polivinil piroolidon (PVP). Pola biodistribusi dari nanokurkumin ini dapat diketahui setelah partikel tadi ditandai dengan radioiodium-131. Senyawa bertanda ^{131}I -nano-kurkumin dalam keadaan murni dapat digunakan untuk mengetahui atau mempelajari pola biodistribusinya dalam hewan uji [13].

Streptokinase (SK) adalah suatu obat trombolitik yang dalam perdagangan berasal dari *Streptococcus equisimilis* (Caballero dkk, 1999)[18]. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Isti, 2012 [14], SK diperoleh dari *S. pyrogenes* M12 galur CS24 yang telah direkayasa secara mutagenik menghasilkan Streptokinase lain yang diberi nama dengan SKA. Senyawa SKA ini diharapkan mempunyai beberapa keunggulan secara *in vivo* dibandingkan dengan bentuk aminya [14]. Untuk membuktikan hal tersebut maka dilakukan penandaan senyawa SKA tersebut dengan radioaktif iodium-131. Streptokinase adalah senyawa berbasis protein yang mempunyai banyak gugus sulfhidril sehingga akan sangat mudah ditandai atau bereaksi dengan radioiodium.

Proses penandaan menggunakan metode kloramin-T yang merupakan oksidator kuat dan apabila lamanya waktu reaksi penandaan tidak diperhatikan dapat merusak ikatan sulfida dari gugus sulfhidril tersebut [15]. Karena itu, waktu reaksi sangat berpengaruh terhadap efisiensi penandaan dan tingginya kemurnian radiokimia dari senyawa bertanda yang dihasilkan. Lamanya reaksi merupakan parameter yang kritis. Seperti halnya senyawa sebelumnya, maka ^{131}I -SKA juga dihasilkan dengan efisiensi penandaan yang rendah, sehingga harus melalui proses pemurnian yang akan memisahkan senyawa bertanda ^{131}I -SKA dari pengotor radiokimianya. Pemurnian dilakukan dengan metode kromatografi kolom yang berisi resin penukar ion Dowex 1x8 (Cl-) ukuran 50-100 mesh.

Pada Tabel 1 berikut ini ditampilkan metode penandaan dan metode pemurnian dari ketiga macam senyawa bertanda iodium-131 yang dibuat .

Tabel 1. Metode penandaan dan pemurnian senyawa bahan alam bertanda iodium-131

No.	Nama Bahan Alam	Metode	
		Penandaan	Pemurnian
1.	^{131}I -VCO	Iodium-monoklorida	Ekstraksi kloroform/air
2.	^{131}I -Nano-kurkumin	Iodium-monoklorida	Kromatografi Kolom
3.	^{131}I -Streptokinase (SKA)	Kloramin-T	Kromatografi kolom

Data dikutip dari pustaka [12,13,14].

Keberhasilan penandaan sangat tergantung pada jumlah dan sifat kemurnian kimia dari bahan alam yang ditandai. Tabel 2 menunjukkan betapa pembuatan senyawa bertanda iodium-131 sangat tergantung kepada parameter tersebut.

Seperti terlihat pada Tabel 2, efisiensi penandaan senyawa nanokurkumin dan streptokinase (SKA) yang dihasilkan dari kedua bahan alam tersebut sangat rendah, hal ini disebabkan karena kedua bahan alam tersebut telah melewati proses pembuatan dan rekayasa mutan juga melewati proses pemurnian kimia yang panjang, sehingga jumlah yang dihasilkan sulit untuk diketahui dengan pasti [13,14]. Tetapi setelah melewati proses pemurnian menghasilkan kemurnian radiokimia yang tinggi dan dapat

dimanfaatkan untuk keperluan penelitian selanjutnya.

Tabel 2. Karakteristik fisiko-kimia senyawa bahan alam bertanda iodium-131

No.	Nama Bahan Alam	Karakteristik	
		Effisiensi Penandaan (%)	Kemurnian radiokimia (%)
1.	¹³¹ I-VCO	75,7 ± 19,3	95,9 ± 2,6
2.	¹³¹ I-Nano-kurkumin	5 - 15	>90
3.	¹³¹ I-Strepto-kinase (SKA)	7,88 - 35,11	97,70

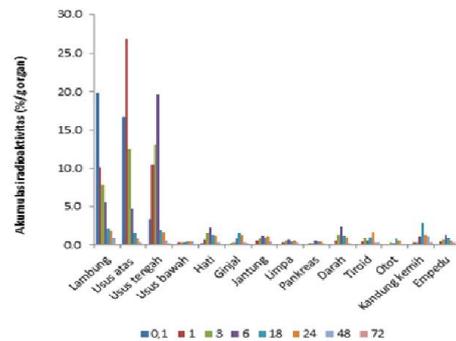
Data dikutip dari pustaka [12,13,14].

Berbeda halnya dengan *virgin coconut oil* (VCO) dimana sediaan ini telah tersedia di pasaran dalam keadaan murni dengan jumlah atau kadar yang telah diketahui dengan pasti. Selain itu, karena VCO sangat banyak mengandung bermacam-macam asam lemak jenuh yang sangat mudah berikatan dengan radioiodium-131, menghasilkan senyawa bertanda ¹³¹I-VCO dengan efisiensi penandaan yang relatif tinggi (sekitar 70-80 %). Setelah dimurnikan menghasilkan senyawa bertanda dengan kemurnian radiokimia yang tinggi lebih besar dari 95%.

Di dalam bidang *drug discovery* dan *drug development*, tahap yang paling kritis adalah menentukan bagaimana biodistribusi obat yang diteliti tersebut apabila diberikan pada mahluk hidup. Selain itu, untuk mengetahui pola farmakokinetikanya baik di dalam darah atau organ-organ lain di dalam tubuh merupakan penelitian yang rumit dan membutuhkan waktu dan biaya yang tidak sedikit disamping memerlukan peralatan yang bermacam-macam juga keahlian dari personel peneliti yang berlainan (4,6,7). Suatu terobosan dalam riset, untuk memperpendek tahapan penelitian tersebut, yaitu dengan memanfaatkan suatu senyawa bertanda radioaktif. Senyawa bertanda radioaktif dapat digunakan dalam penelitian tersebut karena mereka memancarkan sinar gamma (γ) atau beta (β) yang dapat dideteksi dengan detektor radioaktif dari luar tubuh.

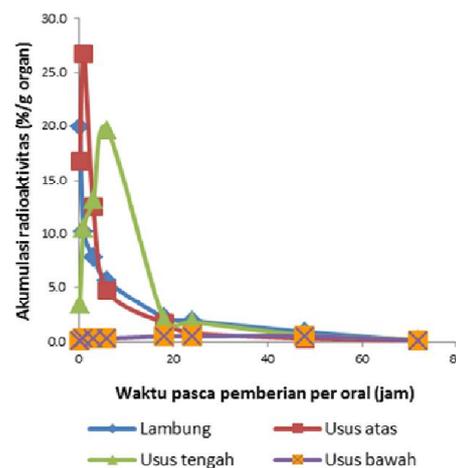
Gambar 2, contoh yang menunjukkan gambaran pola biodistribusi senyawa bertanda ¹³¹I-VCO setelah pemberian per oral melalui sonde pada hewan uji mencit putih (*Muss musculus*) galur *Swiss Webster* setelah 5, 60 menit, 3, 6, 18, 24, 48 dan 72 jam [16].

Tingginya radioaktivitas yang terakumulasi pada masing-masing organ setelah mencit tersebut dibius dan dibedah, dapat diukur dengan alat pencacah saluran tunggal (*single channel analyzer*), menunjukkan besarnya akumulasi senyawa bertanda tersebut pada organ-organ yang diteliti.



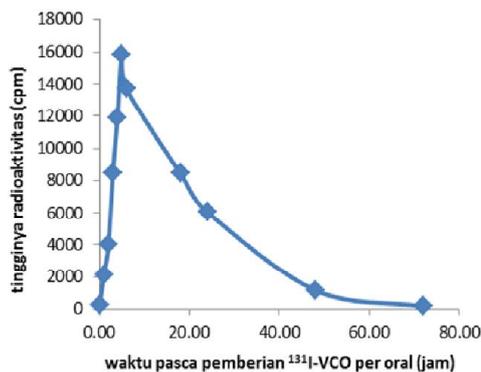
Gambar 2. Biodistribusi ¹³¹I-VCO dalam organ hewan uji mencit *Muss musculus* pasca pemberian per oral [16].

Dari kurva biodistribusi seperti pada Gambar 2, dapat diketahui dan di analisis pada organ mana dan dalam waktu berapa lama terjadi akumulasi tertinggi dari sediaan ¹³¹I-VCO setelah diberikan per oral. Selain itu dapat diketahui berapa lama terjadinya proses eliminasi senyawa ¹³¹I-VCO pada organ-organ tersebut.



Gambar 3. Biodistribusi ¹³¹I-VCO dalam saluran gastro intestinal mencit pasca pemberian oral.

Pada Gambar 3, dijelaskan pola biodistribusi ^{131}I -VCO pada saluran gastro-intestinal. Salah satu keunggulan dengan memanfaatkan teknik nuklir ini adalah dapat diketahui distribusi dan perubahannya per satuan waktu di dalam lambung, usus bagian atas, tengah dan bawah. Dengan cara yang sama dapat diketahui pula biodistribusinya dalam organ-organ lain yang ingin diteliti (*organ of interest*).



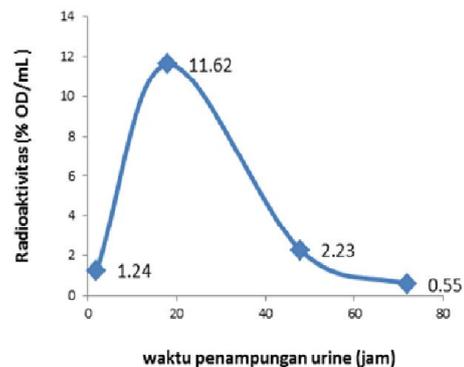
Gambar 4. Pola kinetika ^{131}I -VCO dalam darah hewan mencit *Muss musculus* [16].

Gambar 4, menunjukkan pola kinetika ^{131}I -VCO setelah pemberian oral pada hewan uji mencit jenis yang sama dengan percobaan biodistribusi kemudian tinggi radioaktivitasnya yang terdapat dalam darah yang diambil pada waktu-waktu tertentu diukur/dicacah, tingginya cacahan menunjukkan besarnya konsentrasi sediaan tersebut yang dihitung dalam per gram darah. Apabila pola kinetiknya diamati terlihat adanya dua kompartemen dimana fase yang pertama pada interval waktu 5 menit sampai dengan 5 jam pasca pemberian oral, merupakan proses absorpsi dari saluran cerna ke dalam darah, sehingga radioaktivitasnya dalam darah terus meningkat. Fase selanjutnya yaitu dari 5-6 jam terjadi sedikit penurunan dan kemudian dari 6 sampai dengan 72 jam terjadi penurunan radioaktivitas yang drastis, hal ini menunjukkan terjadinya fase eliminasi dari darah dan tentu saja juga merupakan fase distribusi dari darah ke organ-organ lain.

Selain kinetika dalam darah, senyawa bahan alam bertanda radioaktif dapat juga berperan dalam penentuan *renal clearance* atau *urine clearance* dari suatu bahan alam yang diteliti. Gambar 5 menunjukkan pola *urine clearance* dari senyawa ^{131}I -VCO setelah pemberian oral.

Terlihat pada Gambar 5, bahwa setelah pemberian oral senyawa ^{131}I -VCO, ekskresi lewat ginjal mencapai puncaknya pada 18 jam setelah

pemberian per oral, yang kemudian pada 48 jam hanya tinggal 2,23 %. Dengan bertambahnya waktu pada 72 jam radioaktivitas dalam urine hanya tinggal 0,55 % OD per mililiter.



Gambar 5. Pola keluaran ^{131}I -VCO pada urine hewan mencit *Muss musculus*

Pada Tabel 3, ditampilkan pemanfaatan dari ketiga senyawa bahan alam yang telah ditandai dengan radioiodium-131 dalam bidang *drug development* dan *drug discovery*.

Tabel 3. Pemanfaatan senyawa bahan alam bertanda iodium-131.

No.	Nama Bahan Alam	Pemanfaatan			
		BD	FK	BC	UC
1.	^{131}I -VCO	+	+	+	+
2.	^{131}I -Nano-kurkumin	+	iv & po	-	-
3.	^{131}I -Streptokinase (SKA)	+	+	-	-

Keterangan: BD: Biodistribusi, FK: farmakokinetika, BC: blood clearance, UC: urine clearance, iv: intravena, po: per-oral. Tanda (+) : sudah dimanfaatkan; tanda (-): belum dimanfaatkan.

4. KESIMPULAN

Senyawa yang berasal dari berbagai bahan alam yaitu virgin coconut oil (VCO), nano-kurkumin (NK) dan streptokinase (SKA) telah dapat ditandai dengan radioiodium-131 masing-masing melalui salah satu dari dua metode penandaan yaitu metode iodium-monoklorida atau metode

kloramin-T. Keberhasilan penandaan tergantung pada kuantitas dan kualitas dari bahan alam tersebut yang umumnya diperoleh setelah melewati proses isolasi yang panjang. Proses penandaan dengan iodium-131, walaupun menghasilkan efisiensi penandaan yang relatif rendah seperti pada NK dan SKA, tetapi setelah melewati proses pemurnian, mempunyai kemurnian radiokimia yang tinggi di atas 90%, dan selanjutnya senyawa bertanda tersebut dapat digunakan untuk penelitian tahap berikutnya dalam bidang pengembangan obat dan penemuan obat baru.

Senyawa bahan alam bertanda radioiodium-131 dengan kemurnian radiokimia yang tinggi yaitu ¹³¹I-VCO, ¹³¹I-NK dan ¹³¹I-SKA dapat dimanfaatkan untuk penelitian biodistribusi, farmakokinetika, *blood clearance* dan lain sebagainya di dalam suatu rangkaian penelitian dalam upaya menghasilkan obat-obatan yang berasal dari alam. Sehingga panjangnya tahapan penelitian di bidang penemuan dan pengembangan obat baru yang biasanya membutuhkan waktu yang lama, dan peralatan yang canggih dan biaya yang tinggi, akan dapat diperpendek dan dipermudah dengan memanfaatkan sinar radioaktif yang dipancarkan oleh senyawa bertanda tersebut.

Dengan demikian, salah satu bidang kepakaran yang berbasis teknik nuklir ini diharapkan dapat memberikan solusi dan motivasi bagi para peneliti lain yang berkecimpung di pengembangan bahan alam untuk terus berkarya sehingga menghasilkan suatu bahan obat berasal dari alam yang bermanfaat dan terstandarisasi secara ilmiah yang sangat dibutuhkan oleh masyarakat Indonesia.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang tak terhingga kami ucapkan kepada semua pihak yang tidak mungkin di sebutkan satu persatu, atas bantuannya sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. **PHARMACEUTICAL RESEARCH AND MANUFACTURERS OF AMERICA**, "Pharmaceutical Industry Profile 2006", Washington, DC: PhRMA; March, 2006.
2. **PENNER N, KLUNK LJ, PRAKASH C**. Human Radiolabeled Mass Balance Studies: Objectives, Utilities and Limitations. *Biopharm Drug Dispos* 2009;30:185-203.
3. **SALVADORI PA**, "Radiopharmaceuticals, Drug Development and Pharmaceutical Regulations in Europe Current Radiopharmaceuticals"; 2008; 1, 7-11, Bentham Science Publishers Ltd.
4. **DIMASI JA**, "New Drug Development in the United States from 1963-1999," *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 69,no.5 (2001): 286-296.
5. **KEMENTRIAN RISET DAN TEKNOLOGI RI**, "Penelitian dan Pengembangan Iptek Bidang Kesehatan dan Obat", Buku Putih Indonesia 2005-2025: Jakarta: 2006.
6. **DIMASI JA, HANSEN RW, GRABOWSKI HG**, "The Price of Innovation: New Estimates of Drug Development Costs" ; 22 (2003): 151-185.
7. **PHARMACEUTICAL RESEARCH AND MANUFACTURERS OF AMERICA**, based on data from Tufts University, Tufts Center for the Study of Drug Development (1995).
8. **MEADOWS M**, (2002) *The FDA's Drug Review Process: Ensuring Drugs are Safe and Effective*. FDA
9. **SAHA GB**, Radiopharmaceutical and Method of Radiolabeling in "Fundamental of Nuclear Pharmacy", Springer, Cleveland, USA; 2004: 79, 92-3.
10. **ZOLLE I**, "Technetium - 99m Pharmaceuticals ", Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine, Springer, Berlin-Heidelberg; 2007 : 7
11. **IAEA**, "Technetium-99m radiopharmaceuticals: Manufacture of Kits", Technical Reports Series No. 466, IAEA-Austria, 2008: 51-4.
12. **HANAFIAH AWS, WIDYASARI EM, KARTINI NO**, Pembuatan, Pemurnian dan Stabilitas Virgin Coconut Oil (VCO) Bertanda Radioiodium-131, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, XII(2): 2011; 75-84.
13. **PRADANA AT**, Studi Ketersediaan Hayati Absolut dan Biodistribusi Kurkumin nanopartikel pada Hewan Percobaan, Tesis Magister Farmasi: Sekolah Farmasi-ITB, Bandung, 2012.
14. **DARUWATI I**, Pengaruh Substitusi K59Q dan K386Q pada Streptokinase-A terhadap profil Farmakokinetik dan Biodistribusinya di Mencit Galur Swiss, Tesis Magister Farmasi: Sekolah Farmasi ITB, Bandung, 2012.

15. **NURLAILA Z**, Radiofarmaka Peptida untuk Diagnosis dan Terapi, majalah Kedokteran Indonesia, 57(8); 2007; 265-73.
16. **LUTPHI M**, Uji Farmakokinetika Virgin Coconut Oil (VCO) dengan Teknik Nuklir, Skripsi Sarjana Farmasi: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia: Bandung: 2012.
17. **SHARMA RA, GESCHER AJ, STEWARD WP**, Curcumin: The Story So Far, in Eur. J Cancer, 41; 2005; 1955-1968.
18. **CABALLERO AR, LOTTENBERG R, JOHNSTON KH**, Cloning, Expression, Sequence Analysis and Characterization of Streptokinases Secreted by Porcine and Equine Isolates of *Streptococcus equisimilis*, Journal of Infection Immunity, 67(12):1999; 6478-6486.

DISKUSI

Taufik

Obat dicobakan ke hewan tidak apa apa, tapi beda dengan manusia. Bagaimana cara mengantisipasi dampak negatifnya?

Nanny Kartini Oekar

Ada fase preklinis dan uji fase 1, 2, 3. Selain itu ada uji toksisitas pada hewan uji. Jika pada hewan selamat bisa diuji ke manusia. Karena ada beberapa hewan uji yang mirip dengan manusia.