

PENGAMATAN KANDUNGAN AIR JARINGAN

DAN

PENGARUH INJEKSI P.Z.I. PADA TIKUS PUTIH DENGAN N.M.R. PULSA

Agus Suatmadji, Hari Suryanto, Kunto Wiharto, M.Munawir,Z.

Pusat Penelitian Bahan Murni dan Instrumentasi

Badan Tenaga Atom Nasional

Yogyakarta

I N T I S A R I

Telah diselidiki pengaruh kandungan air jaringan serta injeksi P.Z.I.(Protamin Zinc Insuline) pada tikus terhadap hasil pengamatan jaringan dengan N.M.R.(Nuclear Magnetic Resonance) pulsa. Dari hasil pengamatan terhadap jaringan hati dan otot tikus putih yang direndam dalam larutan Na Cl hipertonis (Na Cl 3,6%) maupun jaringan hati dan otot tikus putih yang mendapat injeksi P.Z.I. sebelumnya, didapatkan kenaikan harga selang relaksasi spin-kisi ( $T_1$ ) proton. Hal tersebut menunjukkan bahwa selang relaksasi spin-kisi ( $T_1$ ) proton dipengaruhi baik oleh kandungan air maupun metabolisme Karbohidrat dalam jaringan.

A B S T R A C T

A study has been made upon the influence either of water content of albino rat tissues or of P.Z.I.(Protamin Zinc Insuline) injection to albino rat on the relaxation time ( $T_1$ ) proton, observed by means of a pulsed N.M.R.(Nuclear Magnetic Resonance), of either the muscular or hepatic tissues.

From the observation of  $T_1$  values carried out either on the hepatic and muscular tissues previously submerged in a hypertonic solution of Saline (3,6% of NaCl) or on those of albino rats previously injected with P.Z.I., it was found that the  $T_1$  values were influenced either by the water content of tissues or by carbohydrate metabolism in the tissues as well, which was indicated by the increase of the  $T_1$  values.

## I. PENDAHULUAN

Selang relaksasi ( $T_1$ ) proton dari berbagai jaringan telah diselidiki dengan menggunakan teknik N.M.R. pulsa (6). Dari beberapa pengamatan yang telah dilakukan, terbukti bahwa setiap jenis jaringan mempunyai harga  $T_1$  yang karakteristik. Demikian juga telah dilakukan penelitian tentang jaringan kanker yang ternyata mempunyai harga  $T_1$  yang berbeda dengan jaringan normal (2,3,5,6,7,8). Hal-hal yang disebutkan di atas sangat menarik bagi peneliti-peneliti yang akan memanfaatkan teknik N.M.R. pulsa ini untuk berbagai keperluan dibidang biologi dan kedokteran.

Untuk mengembangkan penggunaan teknik N.M.R. pulsa terutama untuk keperluan diagnosa dibidang kedokteran, haruslah diketahui berbagai hal yang dapat mempengaruhi harga  $T_1$ . Dengan demikian dapatlah diramalkan beberapa kelainan yang bisa diamati dengan teknik N.M.R. pulsa ini.

### Kandungan air dalam sel.

Telah diketahui bahwa sel tubuh hewan maupun manusia merupakan sebuah kantung yang berisi zat organik dan ion-ion didalam air. Kemudian diketahui bahwa di dalam jaringan otot

yang mengandung 80% air, maka 72% terdiri dari air dalam "fase mayor" dan 8% adalah air dalam "fase minor" (6,8).

Fase minor adalah fase dimana susunan molekul-molekul air dalam keadaan paling teratur, sedang fase mayor adalah fase dimana susunan molekul-molekul air dalam keadaan kurang teratur, dan air bebas di luar sel/jaringan adalah susunan yang paling tidak teratur. Dengan perkataan lain, molekul air pada fase mayor mempunyai kebebasan bergerak lebih besar dibanding dengan fase minor, tetapi lebih kecil bila dibanding dengan air bebas. Dalam beberapa penelitian yang telah dilakukan, ternyata harga  $T_1$  dari air fase mayor adalah lebih besar daripada fase minor dan lebih kecil daripada air bebas (8).

Albert Szent-Gyorgi, seorang ahli biologi mengatakan bahwa didalam sel kanker didapatkan susunan yang kurang teratur dibandingkan dengan sel normal. Hal tersebut dikatakannya sebagai penyebab terjadinya proses mitosis (pembelahan sel) yang tidak terkontrol. Pernyataan tersebut diperkuat dengan adanya hasil eksperimen dari Damadian yang menunjukkan bahwa selang relaksasi  $T_1$  dari jaringan kanker adalah lebih besar daripada harga  $T_1$  jaringan normal (2,7,8).

Bertitik tolak dari beberapa kenyataan di atas, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perubahan kandungan air di dalam sel terhadap harga  $T_1$  jaringan yang diamati dengan N.M.R. pulsa.

Seperti telah diketahui bahwa membran sel pada jaringan biologis pada umumnya bersifat permeable terhadap air, dimana hal tersebut sangat penting dalam pengaturan keseimbangan cairan tubuh. Dalam keadaan dimana cairan diluar sel meningkat tekanan osmosenya, maka cairan didalam sel akan keluar hingga

tercapai kesetimbangan osmose. Tekanan osmose yang sesuai dengan keadaan cairan tubuh disebut isotonis, dimana keadaan ini sama dengan tekanan osmose dari larutan NaCl 0,936% (9,36 g/kg). Hubungan antara tekanan osmose dan konsentrasi larutan dinyatakan dalam persamaan (6) :

$$OP = \varnothing \frac{N}{V} RT \dots\dots\dots(1)$$

- OP = tekanan osmotik (Osmotic Pressure)
- $\varnothing$  = koefisien osmotik
- N = jumlah mole partikel
- V = volume larutan
- R = konstanta gas
- T = suhu mutlak

Persamaan tersebut di atas dapat disederhanakan :

$$OP = K (\varnothing C) \dots\dots\dots(2)$$

- K = konstanta
- C = konsentrasi larutan

Dengan demikian maka tekanan osmose sebanding dengan konsentrasi larutan.

Larutan NaCl dengan konsentrasi lebih besar dari 0,936% disebut larutan hipertonis, sedangkan larutan NaCl dengan konsentrasi lebih kecil dari 0,936% disebut larutan hipotonis (4,6).

Dari hasil penelitian dengan merendam jaringan hati dan otot tikus dalam larutan NaCl hipertonis yang dibandingkan dengan jaringan hati dan otot tikus yang direndam dalam larutan NaCl isotonis, ternyata bahwa jaringan yang direndam dalam larutan NaCl hipertonis mempunyai harga  $T_1$  yang lebih kecil daripada jaringan yang direndam dalam NaCl isotonis.

## Metabolisme Karbohidrat

Didalam tubuh dikenal berbagai macam metabolisme, di antaranya adalah metabolisme karbohidrat.

Metabolisme karbohidrat ini sangat menonjol dalam organ hati dan otot, dimana karbohidrat berfungsi sebagai sumber energi. Karbohidrat dalam keadaan tak digunakan sebagai energi, disimpan dalam bentuk glikogen di dalam sel berupa suatu molekul yang besar, dan akan dipecah sebagai glukose bila dibutuhkan untuk energi (4).

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Blinc dan kawan-kawan (9), dilaporkan bahwa selang relaksasi  $T_1$  larutan TMV (Tobacco Mosaic Virus) menurun dengan penambahan TMV ke dalam larutan tersebut. Hal ini disebabkan oleh adanya penambahan kandungan asam inti (RNA) dalam larutan, sehingga menambah jumlah air dalam fase minor, dan dengan demikian akan mengurangi jumlah air dalam fase mayor. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan dan struktur zat organik di dalam sel mempengaruhi harga  $T_1$ .

Dengan adanya fakta-fakta tersebut diatas, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh kandungan karbohidrat di dalam sel terhadap harga  $T_1$ . Dengan memberikan injeksi P.Z.I. pada tikus sebelum diambil jaringan hati dan ototnya, diharapkan akan terjadi perubahan kandungan glukose didalam sel, yaitu terjadi pemasukan glukose ke dalam sel yang diikuti oleh proses glycogenesis (perubahan glukose menjadi glikogen). Dari hasil yang didapatkan dengan pengamatan N.M.R. pulsa diperoleh harga  $T_1$  yang lebih tinggi pada jaringan tikus yang mendapat injeksi P.Z.I. sebelumnya dibandingkan dengan jaringan tikus yang tidak men-

dapat injeksi P.Z.I. Hal ini menunjukkan bahwa harga  $T_1$  dipengaruhi oleh metabolisme karbohidrat di dalam sel.

Pada penelitian sebelumnya telah diamati perubahan harga  $T_1$  selama terjadinya proses pembusukan pada jaringan hati tikus (1). Didapatkan penurunan harga  $T_1$  sampai beberapa jam dan kemudian konstan. Hal ini disebabkan oleh adanya proses glycogenolysis (perubahan glikogen menjadi glukose) yang diikuti oleh proses glycolysis (pemecahan glukose) yang akhirnya membentuk asam laktat (4). Proses ini berjalan secara anaerobik dan berlangsung terus hingga semua kandungan glikogen didalam sel habis. (grafik 1).

## II. TATA KERJA

### II.A. Bahan dan alat yang digunakan

1. Tikus putih betina, strain Wistar yang diperoleh dari Fakultas Farmasi UGM dan telah diadaptasi di Pusat Penelitian Bahan Murni dan Instrumentasi, Badan Tenaga Atom Nasional, Yogyakarta. Berumur antara 3 - 4 bulan dengan berat badan 200 - 250 gram.
2. Larutan NaCl 0,936 %
3. Larutan NaCl 3,6 %
4. P.Z.I. (Protamin Zinc Insuline)
5. Disposable spuit injeksi
6. Minispec P20 buatan Bruker
7. Alat-alat gelas yang diperlukan

## II.B.Cara Kerja

### 1.Pengamatan kandungan air jaringan

- a. Digunakan 16 ekor tikus putih betina.
- b. Dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing 8 ekor tikus (kelompok A) dan 8 ekor tikus (kelompok B).
- c. Kelompok A : Setelah tikus dibunuh dengan inhalasi ether, diambil jaringan hati dan ototnya, dan dimasukkan dalam NaCl 0,963 %.
- d. Kelompok B : Setelah tikus dibunuh dengan inhalasi ether, diambil jaringan hati dan ototnya, dan dimasukkan dalam NaCl 3,6 %.
- e. Setelah direndam selama 60 menit, jaringan dikeringkan dengan kertas pengering, kemudian diamati harga  $T_1$  nya dengan alat Minispec P 20. Metode yang digunakan : 180 -  $\tau$  - 90.

### 2.Pengaruh injeksi P.Z.I.

- a. Digunakan 10 ekor tikus putih betina.
- b. Dikelompokkan menjadi 2 kelompok, masing-masing 5 ekor tikus (kelompok C) dan 5 ekor tikus (kelompok D).
- c. Kelompok C : disuntik masing - masing tikus dengan P.Z.I. 40 U.I. intraperitoneal.
- d. Kelompok D : Tidak diberikan perlakuan apapun.
- e. Pada saat 2 jam setelah pemberian injeksi P.Z.I. semua tikus dibunuh dengan inhalasi ether, kemudian diambil jaringan hati dan ototnya dan diamati harga  $T_1$  nya dengan alat Minispec P 20. Metode yang digunakan : 180 -  $\tau$  - 90

### III. DATA PERCOBAAN dan PERHITUNGAN

#### A. Pengamatan kandungan air jaringan

Tabel 1. Harga  $T_1$  jaringan hati  
(satuan msec)

No.	Kelompok A	Kelompok B
1.	306,33	203,85
2.	331,95	258,41
3.	355,38	226,50
4.	306,50	226,50
5.	332,45	231,98
6.	307,60	255,10
7.	312,59	250,73
8.	314,34	242,95

Tabel 2. Harga  $T_1$  jaringan otot  
(satuan msec)

No.	Kelompok A	Kelompok B
1.	672,45	591,56
2.	622,73	596,72
3.	730,09	624,07
4.	661,63	631,52
5.	697,55	585,63
6.	678,97	655,38
7.	697,84	578,00
8.	785,42	748,07



B. Pengaruh injeksi P.Z.I.

Tabel 3. Harga  $T_1$  jaringan hati  
(satuan msec)

No.	Kelompok C	Kelompok D
1.	308,8	279,4
2.	378,9	274,79
3.	350,3	273,4
4.	376,4	234,3
5.	358,9	259,4

Tabel 4. Harga  $T_1$  jaringan otot  
(satuan msec)

No.	Kelompok C	Kelompok D
1.	586,7	500,8
2.	568,4	498,4
3.	528,1	505,2
4.	530,0	451,59
5.	535,6	446,63

c: "t" Test of significance between two sample means

Tabel 1.

Data kelompok A dan B adalah data harga  $T_1$  hati tikus, dimana :

Kelompok A : direndam dalam NaCl 0,936 %

Kelompok B : direndam dalam NaCl 3,6 %

Hasil perhitungan menunjukkan :  $p < 0,01$  (sangat bermakna).

Jadi jaringan hati yang direndam dalam NaCl 0,936 % harga  $T_1$  nya lebih tinggi dari pada yang direndam dalam NaCl 3,6 %.

Tabel 2.

Data kelompok A dan B adalah data harga  $T_1$  otot tikus, dimana :

Kelompok A : direndam dalam NaCl 0,936 %

Kelompok B : direndam dalam NaCl 3,6 %

Hasil perhitungan menunjukkan :  $0,01 < p < 0,05$  (bermakna).

Jadi jaringan otot yang direndam dalam NaCl 0,936 % harga  $T_1$  nya lebih tinggi dari pada yang direndam dalam NaCl 3,6 %.

Tabel 3.

Data kelompok C dan D adalah data harga  $T_1$  hati tikus, dimana :

Kelompok C : Kelompok yang mendapat injeksi P.Z.I.

Kelompok D : Kelompok yang tidak mendapat injeksi P.Z.I.

Hasil perhitungan menunjukkan :  $p < 0,01$  (sangat bermakna).

Jadi jaringan hati tikus yang mendapat injeksi P.Z.I. harga  $T_1$  nya lebih tinggi daripada yang tidak mendapat injeksi P.Z.I.

Tabel 4.

Data kelompok C dan D adalah data harga  $T_1$  jaringan otot tikus, dimana :

Kelompok C : Kelompok yang mendapat injeksi P.Z.I.

Kelompok D : Kelompok yang tidak mendapat injeksi P.Z.I.

Hasil perhitungan menunjukkan :  $0,01 < p < 0,05$  (bermakna).

Jadi jaringan otot tikus yang mendapat injeksi P.Z.I. harga  $T_1$  nya lebih tinggi daripada yang tidak mendapat injeksi P.Z.I.

#### IV. DISKUSI

Pada percobaan ini tampak bahwa perendaman jaringan dalam NaCl hipertonis menyebabkan turunnya harga selang relaksasi spin-kisi ( $T_1$ ) proton jaringan. Pada jaringan yang direndam dalam larutan hipertonis, akan terjadi pengeluaran cairan intracelular. Hal ini akan menyebabkan turunnya kandungan air dalam fase mayor, yang akan menyebabkan turunnya harga  $T_1$  jaringan.

Pada percobaan dengan menginjeksikan P.Z.I. 40 UI. pada tikus, maka akan terjadi pemasukan glukose kedalam sel, dan kemudian terjadi proses yang merubah glukose menjadi glikogen (proses glycogenesis). Keadaan ini ternyata merubah harga  $T_1$  yang diamati dengan NMR pulsa. Pada jaringan tikus yang mendapat injeksi P.Z.I. dimana akan terjadi proses : pemasukan glukose kedalam sel ---- perubahan glukose menjadi glikogen, didapatkan harga  $T_1$  yang meningkat. Bila dibandingkan dengan hasil percobaan yang pernah dilakukan tentang pengaruh proses pembusukan terhadap harga  $T_1$ , dimana terjadi proses : perubahan glikogen ----- glukose ---- asam laktat , didapatkan harga  $T_1$  yang semakin menurun dan setelah beberapa jam kemudian harga  $T_1$  menjadi konstan. Maka dapat diambil kesimpulan bahwa bertambahnya glikogen didalam sel menyebabkan kenaikan harga  $T_1$  dan bila glikogen berubah menjadi glukose menyebabkan penurunan harga  $T_1$ . Pada pemberian injeksi P.Z.I., dengan adanya pemasukan molekul-molekul glukose kedalam sel akan menyebabkan cairan dalam sel menjadi hipertonis dan akan menarik cairan dari luar sel. Hal ini akan menyebabkan terjadinya perubahan/penambah-



an air fase mayor, sehingga diduga bahwa proses pemasukan glukose kedalam sel ikut juga berperan dalam meningkatkan harga  $T_1$ . Kemudian proses berikutnya adalah perubahan glukose menjadi glikogen. Proses ini tidak menyebabkan perubahan tekanan osmose dalam sel, sehingga tidak ada penambahan cairan dari luar sel. Perubahan yang terjadi adalah perubahan dari bentuk molekul kecil (glukose) ke molekul yang besar (glikogen) dalam jumlah yang tetap (glukose + glikogen), sehingga ada kemungkinan terjadinya penurunan jumlah air minor (bound water) akibat perubahan luas permukaan yang berarti bertambahnya air fase mayor dan menyebabkan terjadinya kenaikan harga  $T_1$ .

#### V. KESIMPULAN

Harga selang relaksasi spin kisi ( $T_1$ ) proton jaringan dipengaruhi baik oleh perubahan kandungan air jaringan maupun oleh metabolisme karbohidrat didalam sel. Oleh karena perubahan kimia dalam sel akan menimbulkan perubahan fisis dan sebaliknya, maka perubahan fisiologis didalam sel akan mempengaruhi harga  $T_1$  jaringan. Dengan demikian untuk keperluan diagnose dengan teknik NMR perlu diperhatikan hal-hal yang bisa mempengaruhi harga  $T_1$  tersebut, sehingga dapat dihindari terjadinya kesalahan diagnose. Dilain pihak dapat diharapkan teknik NMR pulsa ini bisa digunakan untuk alat diagnose penyakit-penyakit dengan kelainan metabolisme karbohidrat didalam jaringan tertentu.

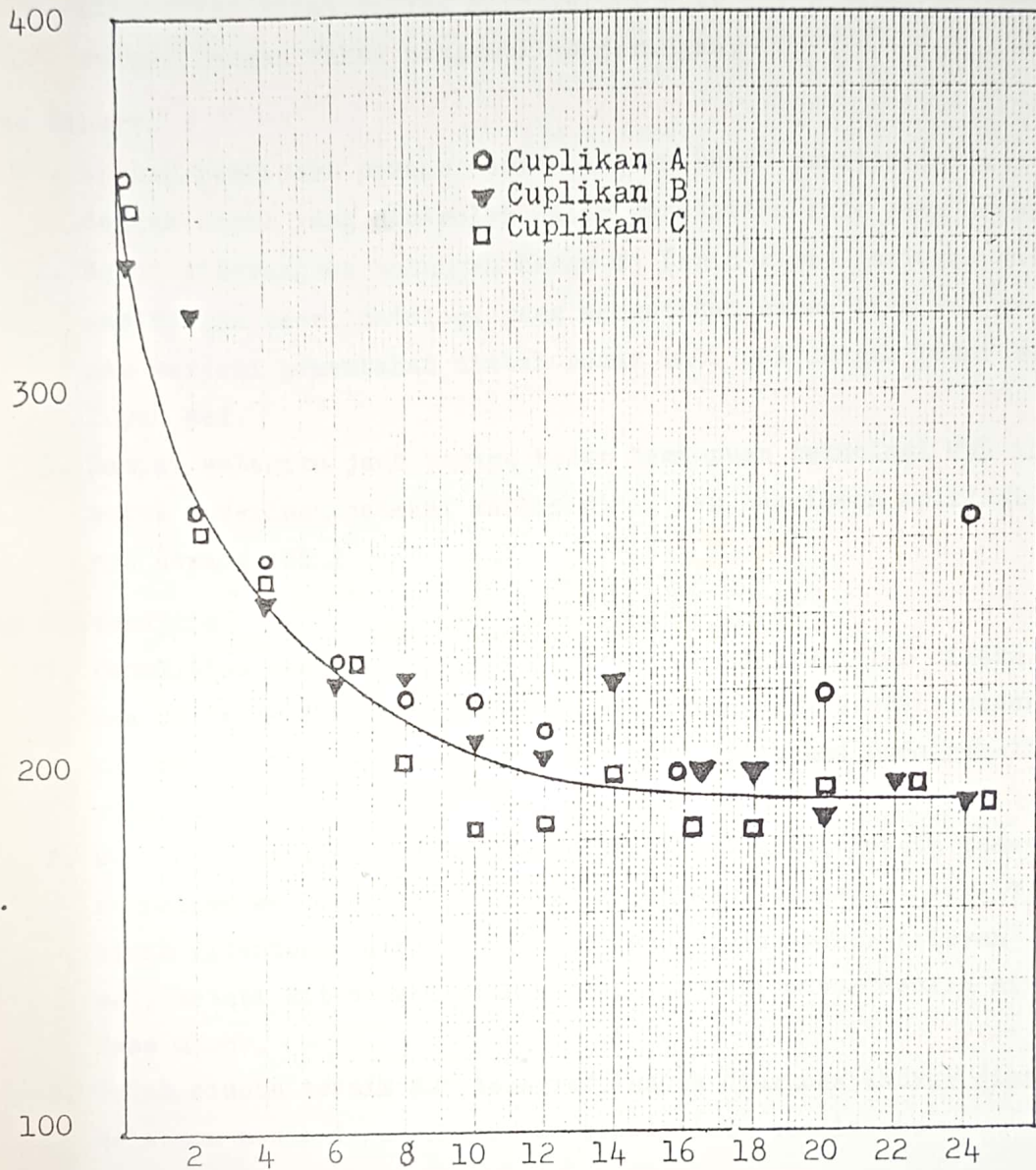
## Ucapan terima kasih

Penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Sdr. S. Mariman dan Sdr. Noor Yudhi yang telah membantu terwujudnya paper ini.

## KEPUSTAKAAN

1. Agus Suatmadji et al., Pengaruh proses pembusukan terhadap selang relaksasi spin-kisi ( $T_1$ ) proton hepar tikus, Seminar Perhibi, ITB, Agustus 1982.
2. Damadian R. et al., Tumor detection by nuclear magnetic resonance, Science 1971.
3. Damadian R. et al., Human tumors detected by NMR, Proc. Nati. Acad. Sci. USA 1974.
4. Guyton, Textbook of Medical Physiology.
5. Hollis DP, et al., NMR studies of several experimental and human malignant tumors, Cancer Res. 1973.
6. Otto Glasser, Ph.D., Medical Physics.
7. Robert Hefkens, M.D., et al., Nuclear Magnetic Resonance imaging of the abnormal live rat and correlations with tissue characteristics, Radiology 141 : 211 - 218, October 1981.
8. R.S. Chaughule, NMR a new eye on cancer, Science Today, June 1978.
9. U.V. Wagh, et al., Studies on proton spin-lattice relaxation time ( $T_1$ ) in experimental cell cultures, Physiol. Chem. & Physics 9 (1977).

Grafik 1.



Hubungan antara harga selang relaksasi spin-kisi ( $T_1$ ) proton dengan selang waktu pengamatan tiap-tiap 2 jam selama 24 jam

TANYA JAWAB, SARAN dan RALAT

Gogot Suyitno :

1. Pertimbangan apa sehingga dipilih PZI sebagai bahan untuk meningkatkan glikogenesis pada percobaan ini ?

Agus Suatmadji :

1. Karena PZI bersifat "long-acting", sehingga hasil penelitian diharapkan tidak banyak dipengaruhi oleh waktu mulai injeksi sampai dengan waktu pengambilan jaringan.

Kunto Wiharto :

1. Apakah pembicara pernah membandingkan hasil penelitiannya dengan hasil yang diperoleh dalam penelitian lain yang serupa?
2. Mohon diterangkan hubungan harga  $T_1$  (spin-kisi) jaringan ganas dengan teori patologi yang mengatakan bahwa pada sel ganas terjadi penambahan nisbah besar inti sel dengan besar seluruh sel.
3. Sampai sebegitu jauh berapa besar kemampuan teknologi NMR ini untuk keperluan deteksi kanker dini, dan bagaimana aplikasinya dewasa ini ?

Agus Suatmadji :

1. Penelitian dengan penggunaan cairan hipertonis telah dilakukan UV Waugh dkk. dengan hasil penelitian yang sesuai, sedangkan penelitian dengan injeksi PZI baru dilakukan pada penelitian ini.
2. Menurut Damadian, proses "kankerisasi" disertai dengan pemasukan cairan ke dalam sel, sedangkan pengaruh terhadap harga  $T_1$  tidak ditentukan oleh nisbah inti sel dengan besar seluruh sel, tetapi ditentukan oleh nisbah air fase mayor dengan air fase minor.
3. Telah dicoba teknik NMR tomografi untuk diagnose kanker dini, walaupun masih terus dilakukan penelitian-penelitian.