

## BIODISTRIBUSI RADIOFARMAKA $^{99m}\text{Tc}$ - GLUTATION UNTUK DIAGNOSIS INFEKSI

Im Halimah, Rizky Juwita Sugiharti dan Maula Eka Sriyani

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

E-mail: [iimhalimah@batan.go.id](mailto:iimhalimah@batan.go.id)

### ABSTRAK

**BIODISTRIBUSI RADIOFARMAKA  $^{99m}\text{Tc}$ - GLUTATION UNTUK DIAGNOSIS INFEKSI.** Infeksi merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian di Indonesia. Glutation merupakan suatu tripeptida alami yang memiliki peran penting dalam reaksi detoksifikasi, melindungi sel terhadap kerusakan dari radikal bebas endogen dan eksogen, bahan oksidan dan zat elektrofilik lainnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui distribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation dalam mencit (*Mus musculus*) dan efektivitas akumulasi dalam organ target yaitu otot terinfeksi. Penelitian dilakukan terhadap 2 kelompok mencit yaitu mencit yang tidak diinfeksi bakteri (normal) dan mencit yang diinfeksi bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) pada otot paha kiri, dengan jumlah mencit dalam tiap kelompok sebanyak 9 ekor. Radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation dengan aktivitas 0,3 mCi diinjeksikan secara intra vena melalui ekor setiap mencit sebanyak masing-masing 0,1 mL. Biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation pada tikus dilakukan pada 1, 3, dan 24 jam pasca injeksi, serta akumulasi di dalam organ dan jaringan seperti otot, darah, hati, limpa, usus halus, lambung, paru-paru, ginjal, dan jantung dibandingkan antar dua kelompok mencit uji. Pada kelompok hewan normal, radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation memiliki nilai akumulasi tertinggi di dalam ginjal pada 1 jam pasca injeksi sebesar  $11,88 \pm 1,31\%$  dihitung dari dosis injeksi per gram organ (ID/g). Sementara pada kondisi hewan yang diinfeksi bakteri *E. coli* juga menunjukkan nilai akumulasi tertinggi di dalam ginjal pada 1 jam pasca injeksi yaitu sebesar  $43,17 \pm 1,05\%$  (ID/g). Selain itu, tampak juga akumulasi yang signifikan pada organ target yaitu otot paha kiri mencit yang diinfeksi bakteri sebesar  $9,79 \pm 2,44\%$  (ID/g). Hal ini mengindikasikan bahwa radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation cepat dikeluarkan dari dalam tubuh dan efektif sebagai radiofarmaka untuk diagnosis infeksi.

**Kata kunci:** bakteri *Escherichia coli*, biodistribusi, infeksi, radiofarmaka,  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation.

### ABSTRACT

**BIODISTRIBUTION OF RADIOPHARMACEUTICAL  $^{99m}\text{Tc}$ -GLUTATHIONE FOR DIAGNOSIS OF INFECTION .** Infection is one of the diseases that cause death in Indonesia. Glutathione is a natural tripeptide that has an important role in detoxification reactions, protecting cells against damage from endogenous and exogenous free radical, oxidants material and other electrophilic substances. The purpose of this study was to determine the distribution of the radiopharmaceutical  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione in mice (*Mus musculus*) and the effectiveness of accumulation in the target organ is infected muscle. The study was conducted on two groups of mice that is mice were not infected by bacteria (normal) and mice were infected by *Escherichia coli* (*E. coli*) bacteria in the left thigh muscle, and the number of mice in each group were as much as 9 mice. Radiopharmaceutical  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutathione with activity 0.3 mCi injected intravenously through the tail of each mice as much as 0.1 mL, respectively. Biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione radiopharmaceutical in rats was performed at 1, 3, and 24 hours post-injection, as well as accumulation in the organs and tissues such as muscle, blood, liver, spleen, small intestine, stomach, lung, kidney, and heart compared between two groups of test mice. On the normal group, radiopharmaceutical  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione has the highest accumulated value in the kidneys at 1 hour after injection,  $11.88 \pm 1.31\%$ , calculated based on injection dose per gram of organ (ID / g). While the condition of infected animals also showed the highest accumulated value in

*the kidney at 1 hour post-injection in the amount of  $43.17 \pm 1.05\%$  (ID / g). In addition, there were also significant accumulations in target organs, namely the left thigh muscle of mice infected with the bacteria by  $9.79 \pm 2.44\%$  (ID/g). This indicates that the radiopharmaceutical  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione is rapidly removed from the body and effective as a radiopharmaceutical for the diagnosis of infection.*

**Key words:** *Escherichia coli* bacteria, biodistribution, infection, radiopharmaceutical,  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutathione.

## 1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama kematian di awal abad 21, terutama di negara-negara berkembang. Beberapa macam penyakit infeksi di Indonesia seperti demam berdarah, flu burung, SARS, HIV, demam chikungunya, filariasis (kaki gajah), dan tuberkulosis, telah banyak menelan korban, sehingga tak hanya menimbulkan kesakitan, juga menimbulkan ketakutan bagi masyarakat di sekitarnya [1,2].

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, maupun jamur, dan dapat terjadi di masyarakat (*community acquired*) maupun di rumah sakit (*hospital acquired*). Resiko terjadinya infeksi pada seseorang ditentukan oleh tiga faktor, yaitu dosis patogen, virulensi atau derajat keganasan patogen, dan tingkat kekebalan orang tersebut [2].

Dengan dikenalnya radiofarmaka dalam dunia kedokteran nuklir, pencitraan terhadap infeksi menjadi lebih jelas karena dapat ditampilkan perubahan patofisiologi dan patobiologi pada suatu proses infeksi. Sejumlah teknik seperti penandaan leukosit, imunoglobulin, partikel koloid, neutrofil dan sitokin, bersifat spesifik untuk inflamasi, namun tidak dapat membedakan antara lesi/luka karena infeksi atau non infeksi [1].

Tantangan bagi dunia kedokteran nuklir dalam pencitraan infeksi di abad 21 adalah mengembangkan radiofarmaka yang spesifik untuk infeksi. Dalam perkembangan terakhir, diagnosis infeksi dengan metode pencitraan dilakukan dengan antibiotika bertanda radioaktif. Penggunaan antibiotika dalam metode pencitraan didasarkan pada sifat antibiotika yang dapat berikatan dengan mikroorganisme [3]. Berbagai macam antibiotika dapat digunakan dalam metode ini, seperti siprofloksasin [4,5], etambutol [6,7,8]. Glutathione merupakan tripeptida alami yang memegang peranan penting dalam reaksi detoksifikasi, melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas endogen dan eksogen, dan sebagai antioksidan. Kebutuhan

akan glutathione meningkat saat terjadi kerusakan sel dan adanya kanker [9,10].

Dengan berat molekul yang kecil, diharapkan glutathione dapat berpenetrasi dengan baik di dalam saluran kapiler yang mengalami inflamasi, kanker payudara, serta kanker kepala dan tumor [11]. Inflamasi atau peradangan merupakan suatu respons yang terjadi segera setelah terjadinya cedera pada suatu jaringan. Respons tersebut umumnya ditandai dengan adanya rasa nyeri, kemerahan, bengkak, maupun terasa hangat saat disentuh. Jaringan yang cedera tersebut dapat disebabkan karena tergores, distorsi (keseleo), iritasi oleh bahan kimia, infeksi oleh organisme patogen, dan suhu yang sangat ekstrem [12].

Penelitian terdahulu yang melakukan uji biodistribusi pada hewan dengan menggunakan  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutathione telah dilakukan oleh Ercan dkk [9]. Di dalam penelitian tersebut digunakan mencit yang diinduksi osteosarcoma, yaitu suatu jenis kanker tulang, dan mencit tersebut diberi perlakuan tanpa iradiasi dan dengan iradiasi. Selanjutnya uji biodistribusi dilakukan pada 1, 3, dan 6 jam setelah injeksi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutathione. Berdasarkan penelitian tersebut timbul dugaan bahwa radiofarmaka ini dapat juga digunakan sebagai pendeteksi dini suatu infeksi dikarenakan adanya peningkatan kadar glutathione di dalam tubuh karena terjadinya suatu kerusakan sel akibat infeksi.

Penelitian ini merupakan tahap lanjutan dari penelitian yang telah dilakukan oleh Nurlaila dan Sriyani, tahun 2010, yang telah berhasil menentukan formulasi dan karakteristik radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutathione [13,14]. Hasil yang diharapkan dalam penelitian ini adalah diperolehnya data biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutathione pada mencit yang tidak diinfeksi bakteri (normal) maupun yang diinfeksi bakteri *E. coli*, pada 1, 3, dan 24 jam setelah injeksi.

## 2. TATAKERJA (BAHAN DAN METODE)

Penelitian dilakukan di laboratorium hewan Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri Badan Tenaga Nuklir Nasional (PTNBR

BATAN) Bandung. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation dengan kemurnian radiokimia > 90%. Peralatan yang digunakan antara lain alat *Single Channel Analyzer* (Ortec) dan *Dose Calibrator* (Victoreen) sebagai pencacah radioaktivitas, neraca analitik (Mettler Toledo), *syringe* ukuran 1 mL untuk penyuntikan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation, dan seperangkat alat bedah. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat antara 20 – 30 g.

Uji biodistribusi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation pada mencit normal dilakukan dengan menyuntikkan 0,1 ml radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation dengan aktivitas 150 – 350  $\mu\text{Ci}$ , secara *intra vena* melalui ekor mencit. Selanjutnya pada interval waktu 1, 3, dan 24 jam setelah penyuntikan mencit ditimbang, didislokasi, dan dibedah untuk kemudian diambil cuplikan organ-organnya seperti: otot, darah, usus halus, hati, limpa, ginjal, jantung, paru-paru, dan lambung. Setiap organ ditimbang kemudian diukur aktivitasnya dengan alat *Single Channel Analyzer* dan dihitung persentase cacahan pada tiap gram organ [15].

Uji biodistribusi pada mencit yang diinfeksi bakteri *Escherichia coli* dilakukan sama halnya seperti pada mencit normal, namun terlebih dahulu mencit diinduksi infeksi menggunakan bakteri selama 24 jam. Sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri ( $0,9 \times 10^9$  cfu) disuntikkan secara *intra muscular* pada otot paha kiri belakang.

Setelah semua organ diketahui aktivitasnya, dilakukan perhitungan penimbunan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation per gram organ (% ID/g), dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

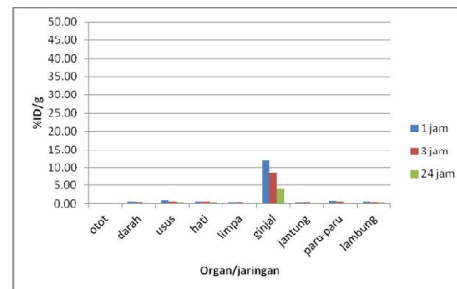
$$\%ID/g = \frac{\text{cacahan per gram organ}}{\text{cacahan dosis yang diberikan}} \times 100\%$$

Selanjutnya dilakukan analisis komparatif terhadap data yang diperoleh.

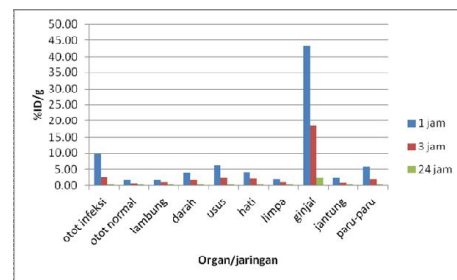
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan grafik pada Gambar 1 dan 2, dapat dilihat bahwa radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation tidak menunjukkan akumulasi yang signifikan pada kelompok mencit yang tidak diinfeksi bakteri, kecuali akumulasinya pada ginjal. Hal tersebut menunjukkan bahwa

radiofarmaka tersebut tidak diakumulasi oleh organ maupun jaringan yang sehat. Nilai persentase penimbunan (%ID/g) tertinggi terjadi pada ginjal, terutama pada kisaran waktu 1 jam setelah penyuntikan ( $11,88 \pm 1,31\%$ ), dan nilainya terus berkurang hingga kurang dari 5 % setelah 24 jam pasca injeksi radiofarmaka. Hal tersebut mengindikasikan bahwa radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation cepat diekskresikan dari tubuh melalui urin, dan terjadi penurunan aktivitas pada tiap organ seiring bertambahnya waktu.



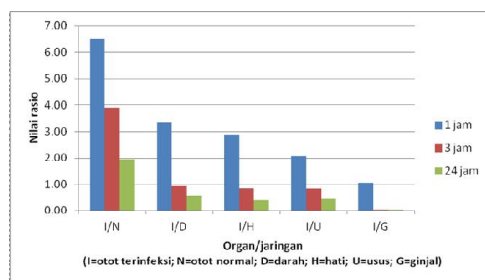
Gambar 1. Grafik biodistribusi  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation pada mencit yang tidak diinfeksi bakteri (normal).



Gambar 2. Grafik biodistribusi  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation pada mencit yang diinfeksi bakteri *E. coli*.

Pada kelompok hewan yang diinfeksi bakteri *E. coli* menunjukkan adanya peningkatan akumulasi pada seluruh organ dan jaringan, dibandingkan dengan kelompok hewan yang tidak diinfeksi bakteri. Nilai persentase penimbunan tersebut dicapai pada 1 jam setelah penyuntikan radiofarmaka, dan nilainya berkurang secara drastis pada 3 dan 24 jam setelah penyuntikan. Otot paha mencit yang diinfeksi bakteri menunjukkan nilai akumulasi yang cukup signifikan yaitu  $9,79 \pm 2,44$  %. Terjadinya akumulasi radiofarmaka yang cukup besar di organ ini diduga karena penetrasi yang baik dari senyawa glutation ke dalam pembuluh kapiler di otot paha kiri mencit yang diinfeksi bakteri. Otot paha tersebut mengalami proses

inflamasi, yaitu suatu respons yang terjadi segera setelah terjadinya cedera pada suatu jaringan. Respon tersebut umumnya ditandai dengan adanya rasa nyeri, kemerahan, bengkak, maupun terasa hangat saat disentuh. Pada saat suatu jaringan cedera, sel-sel akan melepaskan histamin, heparin, dan prostaglandin. Pelepasan senyawa-senyawa tersebut mengakibatkan terjadi pelebaran pembuluh darah sehingga aliran darah ke tempat terjadinya cedera menjadi lebih banyak. Peningkatan aliran darah akan menimbulkan warna kemerahan, peningkatan suhu, bertambahnya oksigen dan nutrisi, meningkatnya jumlah dan aktivitas fagosit, serta dikeluarkannya toksin dari tempat terjadinya cedera. Respon inflamasi tersebut akan menstimulasi regenerasi pada jaringan, sehingga jumlah patogen, toksin, maupun senyawa kimia akan mengalami penurunan jumlahnya dari dalam jaringan yang cedera [12]. Pada kelompok hewan tersebut dijumpai pula nilai persentase penimbunan yang sangat signifikan sebesar  $43,17 \pm 1.05\%$  yang menunjukkan eksresi cukup besar melalui ginjal.



**Gambar 3. Grafik rasio organ target (organ terinfeksi) terhadap non target.**

Gambar 3 menunjukkan rasio organ target terhadap organ non target di dalam nilai persentase penimbunannya. Nilai ini diperlukan agar diperoleh pencitraan terhadap organ target yang lebih jelas pada saat setiap studi diagnostik. Menurut Saha [17], untuk setiap studi diagnostik diperlukan rasio aktivitas target – non target yang besar agar diperoleh pencitraan organ target yang lebih jelas. Berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai rasio tersebut memiliki nilai yang tinggi pada 1 jam setelah injeksi radiofarmaka, sehingga dapat disimpulkan bahwa pencitraan dengan kualitas gambar yang baik akan diperoleh pada 1 jam setelah penyuntikan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation.

#### 4. KESIMPULAN

Radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -Glutation efektif dan aman digunakan sebagai radiofarmaka untuk mendiagnosis adanya infeksi.

#### 5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Sdr. Iswahyudi, Sdr. Ahmad Sidik, Sdri. Yetti Suryati, Sdri. Prina Puspa Kania, Sdr. Epy Isabela, dan Prof. Dra. Nurlaila Zainuddin, MT yang telah membantu kami dengan sepenuh hati untuk menyelesaikan penelitian ini.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

1. **JEHANGIR, M., MUSHTAQ, A., MALIK, S.A.; ROOHI, S.**, Synthesis and evaluation of  $^{99m}\text{Tc}$ -kanamycin and  $^{99m}\text{Tc}$ -isoniazid for infection imaging (Proceedings of an International Symposium, Vienna 14 – 18 November 2005), IAEA, Vienna (2005) 149 – 165.
2. **WAHJONO, H.**, 2007, “Peran Mikrobiologi Klinik Pada Penanganan Penyakit Infeksi, Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Dalam Ilmu Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang 27 Juli 2007”  
Available: [http://eprints.undip.ac.id/320/1/Hendro\\_Wahjono.pdf](http://eprints.undip.ac.id/320/1/Hendro_Wahjono.pdf), diakses 14-4- 2010.
3. **WELLING, M., FERRO-FLORES, G.; PIRMETTIS, I.**, “Technetium-99m Labelled Infection Imaging Agents”, IAEA RADIOISOTOPES AND RADIOPHARMACEUTICALS SERIES NO. 1, Eds, International Atomic Energy Agency, Vienna (2009) 137 – 156.
4. **BRITTON, K.E., WAREHAM, D.W., DAS, S.S., SOLANKI, K.K., AMARAL, H., BHATNAGAR, A., KATAMIHARDJA, A.H.S., MALAMITSKI, J., MOUSTAFA, H.M., SOROA, V.E., SUNDRAM, F.X.; PADHY, A.K.**, Imaging bacterial infection with  $^{99m}\text{Tc}$ -ciprofloxacin (infecton), *J.Clin. Pathol.*, **55** (2002) 817-823.
5. **SRIYANI, M.E.; ZAINUDDIN, N.**, Karakteristik penyimpanan kit cair radiofarmaka siprofloksasin dalam wadah tunggal, (Prosiding Seminar Nasional V SDM Teknologi Nuklir), STTN BATAN, Yogyakarta (2009) 661- 668.
6. **OEKAR, N.K., KUSTIWA; ISABELA, E.**, Pengembangan senyawa bertanda  $^{99m}\text{Tc}$ -

- etambutol untuk diagnosis tuberkulosis : 1. Penandaan etambutol dengan radionuklida teknesium-99m (Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknik Nuklir, Bandung, 2005), P3TkN-BATAN, Bandung (2005).
7. **SUGIHARTI, R.J., SUMPENA, Y., SRIYANI, M.E.; KARTINI, N.**, Evaluasi biologis radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -etambutol untuk deteksi dini infeksi tuberkulosis pada hewan percobaan, *Majalah Farmasi Indonesia* 20 (2), (2009) 55-61.
  8. **SINGH, N.; BHATNAGAR, A.**, Clinical evaluation on efficacy of  $^{99m}\text{Tc}$ -ethambutol in tubercular lesion imaging, *Tuberculosis Research and Treatment*, 2010 (2010) 1- 9.
  9. **ERCAN, M.T., SENEKOWITS-SCHMIDTKE, R.; BERNATZ, S.**, Biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione in mice with osteosarcoma: effect of gamma irradiation on tumour uptake, *Research in Experimental Medicine*, 199 (2000) 359-367.
  10. **BALENDIRAN, G.K., DABUR, R.; FRASER, D.**, The role of glutathione in cancer, *Cell, Biochemistry and Function*, 22 (2004) 343-352.
  11. **BABA, K., MORETTI, J.L.; WEINMANN, P.**, Tc-glutathione complex (Tc-GSH) labelling, chemical characterization and biodistribution in rats, *Metal-Based Drugs* 6 (6) (1999) 329- 336.
  12. **MARTINI, F.H. and NATH, J.L.**, "Fundamentals of Anatomy and Physiology", 8<sup>th</sup> ed., Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, (2009).
  13. **NURLAILA Z.; SRIYANI, M.E.**, Formulasi radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione untuk diagnosis kanker, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia* XI (2010) 77-86.
  14. **NURLAILA Z.; SRIYANI, M.E.**, Karakteristik radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, 13 (1) (2010) 1-12.
  15. **INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY**, "Radiopharmaceuticals: Manufacture of Kits. Technical Reports Series No. 466. Technetium-99m", IAEA, Vienna (2008).
  16. **ERCAN, M.T., UNLENEN, E.; AKTAS, A.**,  $^{99m}\text{Tc}$ -glutathione for imaging inflammatory lesions, *Nuclear Medicine Communications*, 15 (1994) 533- 539.
  17. **SAHA, G.B.**, "Fundamentals of Nuclear Pharmacy", 5<sup>th</sup> ed., Springer-Verlag, New York (2004).