

## PENENTUAN PROFIL ELUSI $^{125}\text{I}$ SEBAGAI PERUNUT UNTUK TUJUAN RADIOIMMUNOASSAY (RIA)

Maiyesni, Mujinah, Dede Kurniasih, Witarti, Triyanto, Herlan S.

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka, PTRR-Batan  
Kawasan Puspiptek, Serpong, Tangerang Selatan, 15313  
E-mail: maiyesni@yahoo.com

Diterima: 29-02-2016

Diterima dalam bentuk revisi: 25-04-2016

Disetujui: 17-06-2016

### ABSTRAK

**PENENTUAN PROFIL ELUSI  $^{125}\text{I}$  SEBAGAI PERUNUT UNTUK TUJUAN RADIO-  
IMMUNOASSAY (RIA).** Manfaat  $^{125}\text{I}$  sudah banyak diketahui.  $^{125}\text{I}$  dapat digunakan antara lain sebagai perunut dalam teknik *Radioimmunoassay* (RIA) untuk deteksi dini berbagai penyakit kanker, menentukan kesuburan hewan ternak serta cemaran mikotoksin di dalam pangan secara invitro.  $^{125}\text{I}$  yang dibutuhkan dalam teknik ini disamping harus mempunyai kemurnian radiokimia > 95 %, konsentrasi radioaktivitas juga tinggi, sehingga volume  $^{125}\text{I}$  haruslah sekecil mungkin. Dengan demikian perlu dipelajari profil elusi  $^{125}\text{I}$  dari kolom reduktor Jones saat proses peningkatan kemurnian radiokimia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan volume optimal eluat dengan efisiensi dan kemurnian radiokimia yang dapat diterima. Pada penelitian ini kondisi kolom yang dipilih adalah kolom dengan pH basa. Kolom reduktor Jones yang mengandung  $^{125}\text{I}$  dielusi dengan larutan NaOH 0,01N secara fraksinasi volume 1 ml. Radioaktivitas masing-masing fraksi diukur menggunakan *dose calibrator*. Penentuan kemurnian radiokimia dilakukan pada fraksi yang memiliki radioaktivitas tertinggi dan fraksi gabungan dengan metode kromatografi kertas. Radioaktivitas tertinggi ditunjukkan pada fraksi kedua yaitu 16,59 mCi dengan efisiensi 33,95 % dan fraksi gabungan yaitu 50,19 mCi dengan efisiensi 92,26 %. Kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  bulk, fraksi kedua dan fraksi gabungan berturut-turut adalah 41,50, 97,5 dan 98,50 %. Volume optimal eluat adalah 7 ml serta pH  $^{125}\text{I}$  sebelum dan sesudah fraksinasi adalah 10 - 11.

**Kata kunci:** fraksinasi, kemurnian radiokimia, profil elusi, reduktor Jones.

### ABSTRACT

**DETERMINATION OF ELUTION PROFILE THE  $^{125}\text{I}$  AS A TRACER FOR RADIO-  
IMMUNOASSAY (RIA).** The benefits of  $^{125}\text{I}$  isotope was well known.  $^{125}\text{I}$  are used as radiotracer in Radioimmunoassay (RIA) technique for early detection of cancer, determine of hormone content which related with fertility of livestock and also for contamination detection of mycotoxins on food by in vitro.  $^{125}\text{I}$  which is needed in this technique not only must have high radiochemical purity above 95 % but also high radioactivity concentration, so that  $^{125}\text{I}$  volume which is use must as little as possible. Therefore,  $^{125}\text{I}$  elution profile for increasing radiochemical purity using a reductor Jones column should be studied. Aim of this study is to determine the optimum volume of eluate which have efficiency and radiochemical purity that can be accepted. The preliminary study was conducted to determine the optimal conditions of reductor Jones column. Reductor Jones column is conditioned on neutral and alkaline pH. At this elution study, the columns conditions selected is alkaline pH. Reductor Jones column which containing  $^{125}\text{I}$  eluted with NaOH 0,01 N solution by fractionated in 1mL. The radioactivity of each fraction is measured with dose calibrator. Determination of the radiochemical purity of carried out on the fraction which have the highest radioactivity and the combined fractions using paper chromatography. Highest radioactivity is shown in the second fraction at 16,59 mCi with efficiency 33,95 % and combined fractions at 50,19 mCi with efficiency 92,26 %. The radiochemical purity of  $^{125}\text{I}$  bulk, second fraction and combined fractions are 41,50 %, 97,5 % dan 98,50 %, respectively. Optimum fraction is 7 mL and pH of  $^{125}\text{I}$  before and after fractionation

are 10 - 11. By studying the elution profile can be known that the optimal volume is the smallest total volume of eluent with efficiency and radiochemical purity level that can be accepted.

**Keywords:** fractionation, radiochemical purity, elution profiles, reductor jones.

## 1. PENDAHULUAN

Radioisotop  $^{125}\text{I}$  merupakan salah satu radioisotop yang telah cukup dikenal luas karena manfaatnya.  $^{125}\text{I}$  di Indonesia telah digunakan di berbagai bidang antara lain: 1. Bidang kesehatan yaitu: a. Sebagai *tracer*/perunut untuk pereaksi kit *Radio-immunoassay* (RIA) maupun *Immunoradiometric assay* (IRMA) seperti kit PSA, CA125, CA 153 untuk deteksi dini berbagai penyakit kanker secara invitro. b. *Radioligand binding assay* untuk menentukan interaksi molekul obat dengan molekul target suatu penyakit. c. *seed brachytherapy*, untuk terapi berbagai jenis kanker, merupakan terapi yang terarah dilokasi penyakitnya jadi memiliki efek samping minimal, dan mudah pengerjaannya. 2. Bidang pertanian dan peternakan yaitu menentukan kandungan hormon berkaitan dengan kesuburan hewan ternak serta cemaran *mycotoxin* di dalam pangan. 3. Bidang Energi yaitu sebagai perunut dalam eksplorasi energi geotermal (1-6)

Penggunaan  $^{125}\text{I}$  pada teknik *Radioimmunoassay* (RIA) memerlukan persyaratan tertentu antara lain harus mempunyai konsentrasi radioaktivitas dan kemurnian radiokimia tinggi. Teknik *Radioimmunoassay* (RIA) merupakan teknik analisis yang didasarkan pada prinsip imunologi yang menggunakan perunut radioaktif. Teknik ini spesifik karena

didasarkan pada reaksi imunologi antara antigen dan antibodi tertentu saja. Oleh karena teknik RIA ini sangat khas maka zat-zat yang ada dalam cuplikan dapat langsung dianalisis tanpa perlu dipisahkan dari matriks yang kompleks. Penggunaan zat radioaktif menyebabkan teknik ini sangat peka, karena radioaktivitas perunut dapat diukur dengan peralatan yang sangat peka. Disamping itu teknik RIA juga dapat digunakan untuk menentukan kandungan hormon berkaitan dengan kesuburan hewan ternak serta cemaran *mycotoxin* di dalam pangan. Metode ini juga memberi keuntungan waktu analisis pendek, jumlah cuplikan kecil, jenis pereaksi sedikit dan menghindarkan kehilangan analit dalam proses analisis (7-10). Dalam rangka menghilangkan ketergantungan terhadap impor dalam memenuhi kebutuhan radioisotop  $^{125}\text{I}$  dalam negeri, PTRR - BATAN sejak tahun 1994 telah berhasil memproduksi  $^{125}\text{I}$ . Namun  $^{125}\text{I}$  yang di hasilkan oleh PTRR - BATAN kualitasnya kurang baik terkait dengan rendahnya kemurnian radiokimianya. Oleh karena itu perlu dilakukan perbaikan kualitas untuk meningkatkan kemurnian radiokimianya (4).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk memperbaiki kualitas  $^{125}\text{I}$  tersebut akan tetapi belum mencapai hasil seperti yang diharapkan. Pujiyanto A. (2008) telah melakukan penelitian untuk meningkatkan kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  dengan

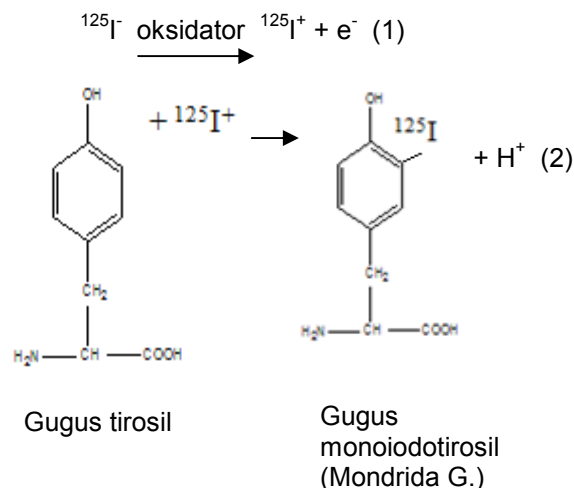
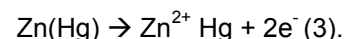
menggunakan natrium sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) sebagai reduktor. Diperoleh kemurnian radiokimia sangat baik yaitu diatas 95 %. Namun dengan penambahan senyawa kimia tersebut disamping menurunkan konsentrasi sediaan radioisotop  $\text{Na}^{125}\text{I}$  juga mengakibatkan terganggunya pembentukan  $\text{I}^+$  oleh oksidator. Hal ini disebabkan seringkali pada proses penandaan itu sendiri memerlukan kondisi oksidatif karena diperlukan spesi  $^{125}\text{I}^+$  yang bersifat elektrofilik aktif dalam mengikatkan  $^{125}\text{I}$  pada struktur senyawa substratnya.

Keberadaan  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  yang bersifat reduktor di dalam sediaan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  dapat menghalangi pembentukan  $^{125}\text{I}^+$  sehingga mengganggu proses iodinasi. Karena itu sediaan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  juga disyaratkan tidak mengandung spesi reduktor dalam jumlah yang signifikan (4, 5, 7, 11).

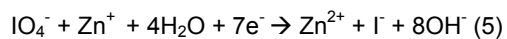
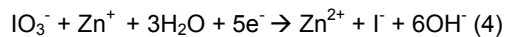
Oleh karena itu perlu dikembangkan sistem peningkatan kualitas yang mampu menghilangkan pengotor dalam bentuk radiokimia yang sebelumnya sangat sulit untuk dikurangi. Dengan melakukan modifikasi terhadap alur proses pemurnian yaitu menempatkan suatu sistem yang

mampu mengubah pengotor menjadi produk, dalam hal ini pengotor iodat ( $\text{IO}_3^-$ ) dan periodat ( $\text{IO}_4^-$ ) menjadi iodida ( $\text{I}^-$ ). Dengan demikian diharapkan produk  $^{125}\text{I}$  tidak hanya memenuhi persyaratan sesuai dengan penggunaannya tapi juga dapat meningkatkan radioaktivitasnya. Sistem yang dikembangkan dalam modifikasi ini terdiri dari reduktor Jones, yaitu suatu zink amalgama ( $\text{ZnHg}$ ) yang berbentuk padatan. Reduktor Jones termasuk reduktor logam yang sangat serbaguna, mudah digunakan dan dihilangkan dari sistem serta dapat menyesuaikan tingkat oksidasi sampel. Disamping itu karena berbentuk amalgama dapat melakukan reduksi dengan sempurna sehingga proses lebih cepat dan dapat digunakan secara berulang. Reduktor Jones berbentuk padatan sehingga mudah dipisahkan dari produk sehingga diharapkan tidak mengganggu dalam proses penandaan pada teknik RIA (12)

Reaksi ionik  $^{125}\text{I}$  dengan reduktor Jones secara umum adalah:



Logam Zn yang sudah dalam bentuk amalgam mudah sekali melepaskan elektronnya dan  $\text{IO}_3^-$  atau  $\text{IO}_4^-$  mudah menangkap elektron membentuk ion  $\text{I}^-$ .



Pada teknik ini reduktor Jones cukup dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Selanjutnya  $^{125}\text{I}$  bulk dalam bentuk larutan natrium iodida-125 ( $\text{Na}^{125}\text{I}$ ) dilewatkan ke dalam kolom yang telah berisi reduktor Jones tersebut. Sirkulasi larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  melewati kolom dilakukan secara otomatis dengan bantuan pompa vakum di dalam *hot cell* sehingga mengurangi paparan radiasi terhadap operator yang melakukannya (4, 12 - 14).

$^{125}\text{I}$  merupakan radioisotop yang paling banyak digunakan dalam teknik RIA. Hal ini terkait dengan iodium sebagai golongan halogen sangat reaktif pada proses reaksi kimia terutama dengan protein yang berasal dari tirosin dan histidin.  $^{125}\text{I}$  yang digunakan pada teknik invitro pada RIA dalam bentuk larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$ . Untuk keperluan ini larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  disamping harus memiliki kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}^-$  tinggi (> 95 %) juga harus memiliki konsentrasi radioaktivitas yang cukup tinggi (> 250 mCi/ml). Konsentrasi radioaktivitas berkaitan erat dengan volume larutan, yaitu semakin kecil volumenya maka konsentrasi keradioaktifan semakin tinggi. Sehingga menjadi faktor sangat penting untuk menentukan volume elusi terkecil namun dapat mengelusi hampir semua  $^{125}\text{I}$  di dalam reduktor Jones dengan mempelajari profil

elusinya (2,8-10). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan profil elusi dari larutan  $^{125}\text{I}$  dalam bentuk  $\text{Na}^{125}\text{I}$  yang keluar dari kolom reduktor Jones sehingga diperoleh volume optimal eluen dengan efisiensi dan kemurnian radiokimia tinggi. Kolom reduktor Jones yang mengandung  $^{125}\text{I}$  dielusi dengan larutan pengelusi NaOH 0,01 N secara fraksinasi dengan volume 1 ml. Setiap hasil fraksinasi ditentukan radioaktivitasnya dengan *dose calibrator* dan kemurnian radiokimia dengan metode kromatografi kertas.

## 2. TATA KERJA

### 2.1 Bahan dan Peralatan

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah: kolom kromatografi (lokal), pompa vakum mini, *dose calibrator* (atom-lab), *Gamma counter* (Nucleus model 600B), alat pencacah otomatis (Bioscan AR200) dan berbagai peralatan gelas. Bahan yang digunakan diantaranya adalah : *Zink Coarse Powder Gr for filling reduktor* (Merck), *Mercury (II) Chloride* (Merck), metanol pa (Merck), kertas Whatman no.1, NaOH (Merck), HCl (Merck),  $\text{H}_2\text{O}$  demin.

### 2.2 Pembuatan Kolom Reduktor Jones

Sebelum melakukan penelitian penentuan profil elusi, terlebih dahulu dilakukan preparasi pada pembuatan reduktor Jones. Kolom reduktor Jones dibuat melalui dua cara yang disebut sebagai kondisi 1 dan kondisi 2. Kondisi 1 : Campuran serbuk Zn dan  $\text{HgCl}_2$  2 % dibiarkan bercampur selama 10 menit sehingga membentuk serbuk Zn-Hg (Zn amalgama = reduktor Jones), lalu

dipisahkan dari sisa larutan  $\text{HgCl}_2$ . Reduktor Jones yang terbentuk didekantasi dengan  $\text{H}_2\text{O}$  demin secukupnya untuk menghilangkan sisa Hg yang tidak terikat dengan logam Zn. Selanjutnya untuk mengaktivasi reduktor Jones ditambahkan 10 ml HCl 5 %, diaduk selama  $\pm 5$  menit. Dipisahkan reduktor Jones dari larutan HCl dan dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Kolom yang berisi reduktor Jones dipadatkan dengan pompa vakum. Selanjutnya kolom reduktor Jones di cuci dengan  $\text{H}_2\text{O}$  demin sampai pH netral sambil tetap divakum.

Kondisi 2: Semua tahapan pada pembuatan kolom reduktor Jones kondisi 1 dilakukan kembali, setelah itu kolom dielusi dengan NaOH 0,01 N sampai pH-nya mencapai 10 - 11. Peningkatan kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  dilakukan dengan memasukkan  $^{125}\text{I}$  (dalam bentuk  $\text{Na}^{125}\text{I}$ ) ke dalam kolom masing-masing. Setelah itu diinkubasi  $\pm 10$  menit, kemudian tiap kolom dielusi dengan larutan NaOH 0,01 N.

### 2.3 Penentuan Profil Elusi Larutan Natrium Iodida ( $\text{Na}^{125}\text{I}$ )

Profil elusi dilakukan pada salah satu kondisi kolom reduktor Jones yang memberikan kemurnian radiokimia tertinggi. Disiapkan  $^{125}\text{I}$  *bulk* dalam bentuk larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  dengan aktivitas  $\pm 50$  mCi.

Larutan  $^{125}\text{I}$  *bulk* memiliki pH 6,5-7,0 sehingga perlu dinaikkan pHnya menjadi basa (10-11) dengan menambahkan NaOH 0,01 N.

Selanjutnya jika volume larutan *bulk* kurang dari 1 ml, maka diencerkan dengan NaOH 0,01 N sampai volume 1 ml.

Pengenceran dilakukan untuk membuat volume  $^{125}\text{I}$  yang dimasukkan ke dalam kolom sama untuk setiap proses terkait perbedaan konsentrasi radioaktif  $^{125}\text{I}$  *bulk*. Larutan  $^{125}\text{I}$  *bulk* dimasukkan ke dalam kolom reduktor Jones. Dilakukan fraksinasi terhadap kolom reduktor Jones dengan volume masing - masing 1 ml menggunakan larutan NaOH 0,01N. Setiap hasil fraksinasi ditampung dalam vial yang berbeda. Setiap vial diukur aktivitas radioaktifnya menggunakan *dose calibrator*. Selanjutnya ditentukan kemurnian radiokimia dari vial yang memiliki aktivitas radioaktif tertinggi dan dari volume total dengan menggabungkan semua hasil fraksinasi. Penentuan kemurnian radiokimia dilakukan dengan metode kromatografi kertas menggunakan kertas Whatman no.1 sebagai fasa diam, dan campuran metanol air dengan perbandingan 3 : 1 sebagai fasa gerak. Untuk menghitung kadar kemurnian radiokimia menggunakan *gamma counter* dan *bioscan* 2000R.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian profil elusi, terlebih dahulu dilakukan preparasi pada pembuatan kolom reduktor Jones. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal kolom yaitu kondisi yang akan dijadikan sebagai pengerjaan selanjutnya. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan mengatur pH kolom yaitu pH netral (kondisi 1) dan pH basa yaitu 10 - 11 (kondisi 2). Hasil Kemurnian radiokimia kondisi kedua tersebut dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1 : Kemurnian Radiokimia Larutan  $^{125}\text{I}$  Setelah Reduksi Dengan Kolom Reduktor Jones.

No	Ion	Larutan <i>Bulk</i> (%)	Kondisi1 (%)	Kondisi 2 (%)
1.	Iodida ( $\text{I}^-$ )	50,46	97,57	98,84
2.	Iodat ( $\text{IO}_3^-$ )	23,37	0	0
3.	Periodat ( $\text{IO}_4^-$ )	26,04	2,43	1,16

Dari Tabel 1 di atas terlihat kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  larutan *bulk* dalam bentuk iodida ( $\text{I}^-$ ) sebelum direduksi masih rendah yaitu 50,46 %, dengan pengotor radiokimia dalam bentuk iodat ( $\text{IO}_3^-$ ) dan periodat ( $\text{IO}_4^-$ ) masing - masing 23,37 dan 26,04 %. Tabel 1 di atas juga memperlihatkan terjadi peningkatan kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  setelah reduksi baik dengan perlakuan kolom kondisi 1 maupun kolom kondisi 2. Kemurnian radiokimia hasil reduksi dengan kolom kondisi 1 adalah 97,57 % dengan pengotor radiokimia yang berasal dari periodat 2,43 % dan iodat tidak terdeteksi. Sementara kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  pada kolom kondisi 2 adalah 98,84 % dengan pengotor radiokimia yang berasal dari periodat 1,16 % sedangkan pengotor radiokimia dalam bentuk iodat juga tidak ditemukan.

Kemurnian radiokimia setelah direduksi dengan reduktor Jones baik pada kondisi kolom 1 maupun kolom 2 keduanya memberikan hasil > 95 %. Kedua perlakuan tersebut memberikan hasil kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  kurang berbeda secara signifikan. Namun demikian pada penelitian selanjutnya dalam hal ini penentuan profil elusi dipilih kolom kondisi 2 (pH 10 - 11). Pertimbangan ini disebabkan karena dikhawatirkan pada pH asam atau netral sebagian  $^{125}\text{I}$  dapat berubah menjadi gas  $\text{I}_2$

yang memiliki sifat mudah menguap. Pembentukan  $\text{I}_2$  disamping akan mengurangi radioaktivitas produk  $^{125}\text{I}$  juga berbahaya bagi lingkungan. Sebaliknya jika pH terlalu basa dapat membentuk endapan. Hal ini kemungkinan disebabkan terlarutnya Hg dari reduktor Jones yang selanjutnya bereaksi dengan iodat ( $\text{IO}_3^-$ ) membentuk endapan ( $\text{HgIO}_3$ ) (12).

### 3.2 Profil Elusi $\text{Na}^{125}\text{I}$

Pemeriksaan profil elusi bertujuan untuk menentukan volume optimal eluat dengan efisiensi dan kemurnian radiokimia tinggi. Artinya volume eluat terkecil yang dapat mengelusi hampir semua  $^{125}\text{I}$  dari kolom reduktor Jones namun dengan kemurnian radiokimia tinggi. Penentuan profil elusi  $^{125}\text{I}$  menjadi hal yang krusial terkait dengan penggunaan  $^{125}\text{I}$  dalam teknik RIA. Oleh karena  $^{125}\text{I}$  yang digunakan pada teknik ini memiliki persyaratan tertentu, yaitu kemurnian radiokimia > 95 % dan konsentrasi radioaktivitas yang tinggi. Konsentrasi radioaktivitas berkaitan erat dengan volume larutan dimana semakin kecil volumenya maka konsentrasi keradioaktifan semakin tinggi.

Produk  $^{125}\text{I}$  dalam bentuk larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  hasil produksi PTRR-BATAN masih memiliki kemurnian radiokimia < 95% sehingga tidak bisa langsung digunakan

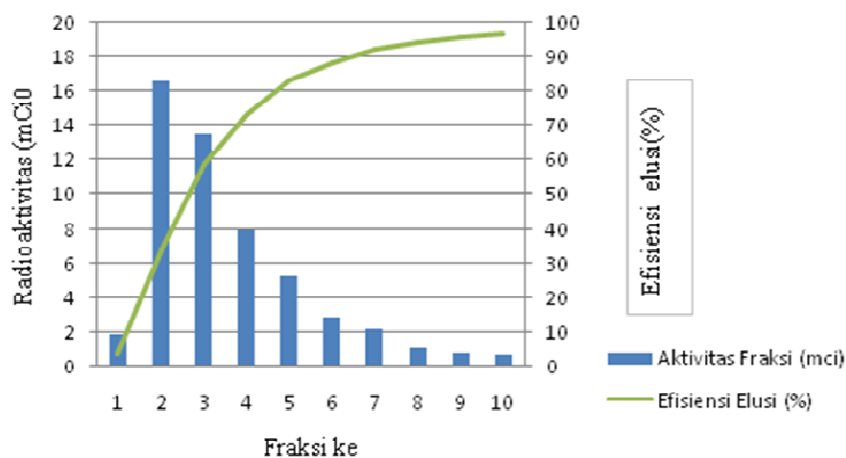
untuk kebutuhan teknik RIA. Hal ini disebabkan karena kemurnian radio-kimia  $< 95\%$  dapat mengganggu proses penandaan protein dengan  $^{125}\text{I}$  (4).

Sebelum dilakukan peningkatan kemurnian radiokimia harus dipastikan pH larutan  $^{125}\text{I}$  bulk dalam kondisi basa dengan menambahkan NaOH 0,01 N agar iodium tidak mudah menguap. Peningkatan kemurnian radiokimia dilakukan dengan melewati larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  kedalam kolom yang berisi reduktor Jones yang berfungsi mereduksi iodium dalam bentuk kimia periodat ( $\text{IO}_4^-$ ) dan iodat ( $\text{IO}_3^-$ ) menjadi iodida ( $\text{I}^-$ ).

Profil elusi dilakukan dengan cara fraksinasi terhadap kolom reduktor Jones dengan volume fraksi masing - masing 1 ml kemudian diukur radioaktivitas nya. Radioaktivitas  $^{125}\text{I}$  yang dimasukkan ke dalam kolom reduktor Jones tidak boleh terlalu besar. Hal ini bertujuan untuk menghindari kemungkinan putusanya ikatan Hg dengan Zn akibat paparan radiasi yang

terlalu besar dan efisiensi penggunaan  $^{125}\text{I}$ . Namun tidak terlalu kecil sehingga tidak kesulitan pada saat penentuan radioaktivitas dan kemurnian radiokimia masing - masing fraksi. Pada penelitian ini digunakan radioaktivitas  $^{125}\text{I}$  yang moderat yaitu 54,4 mCi. Hasil profil elusi  $^{125}\text{I}$  dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini :

Gambar 1 untuk radioaktivitas, terlihat pada fraksi ke 1 baru sebagian kecil yang dapat terelusi yaitu 1,88 mCi  $^{125}\text{I}$ , (sebagian besar  $^{125}\text{I}$  masih tertahan di dalam kolom). Sementara seiring bertambahnya volume pengelusi maka  $^{125}\text{I}$  yang terelusi setiap fraksi semakin meningkat. Radioaktivitas  $^{125}\text{I}$  meningkat tajam pada fraksi kedua dan fraksi ketiga dengan radioaktivitas tertinggi terjadi pada fraksi kedua yaitu 16,59 mCi. Elusi selanjutnya terjadi penurunan radioaktivitas terutama pada fraksi ke 9 dan 10 berturut-turut 0,74 dan 0,67 mCi, seiring dengan semakin berkurangnya  $^{125}\text{I}$  di dalam kolom.



Gambar 1 : Profil Elusi Nomor Fraksi  $^{125}\text{I}$  Terhadap Radioaktivitas (Diagram Batang) dan Nomor Fraksi Terhadap Efisiensi Elusi (Diagram Garis)

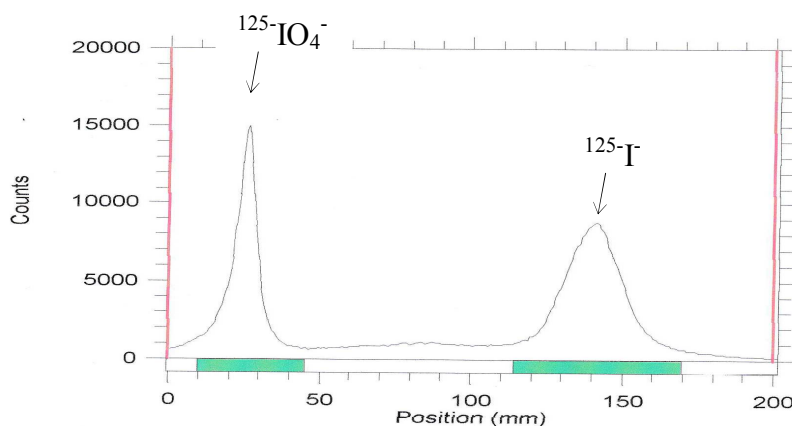
Dari Gambar 1 dapat dilihat untuk efisiensi elusi, pada fraksi kesatu efisiensi elusi masih sangat kecil yaitu 3,25 %, karena sebagian besar  $^{125}\text{I}$  masih tertahan di dalam kolom. Efisiensi elusi terus meningkat seiring dengan bertambahnya volume eluen. Peningkatan efisiensi elusi tertinggi terjadi pada fraksi kedua dan ketiga berturut-turut 33,96 % dan 58,77 % terkait dengan radioaktivitas tertinggi juga terdapat pada fraksi tersebut. Pada fraksi ketujuh efisiensi elusi telah mencapai > 90 % yaitu sebagian besar radioaktivitas  $^{125}\text{I}$  telah terelusi. Setelah fraksi tersebut penambahan volume eluen tidaklah menambah efisiensi elusi  $^{125}\text{I}$  secara signifikan akan tetapi dapat menurunkan konsentrasi radioaktif. Sebaliknya jika elusi dihentikan sampai fraksi ketiga, konsentrasi keradioaktifan relatif tinggi namun baru sekitar < 60 %,  $^{125}\text{I}$  yang terelusi sehingga tidak tercapai efisiensi elusi yang optimal.

Dengan demikian dari profil elusi tersebut terlihat bahwa elusi lebih efektif dilakukan sampai fraksi ketujuh. Oleh karena hampir semua  $^{125}\text{I}$  telah terelusi namun volume eluat tidak terlalu besar. Jika

volume eluat terlalu besar akan menyulitkan dalam proses pengkisan. Hal ini disebabkan karena pada proses tersebut kemungkinan dapat menurunkan radioaktivitas dan kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  yang menjadi persyaratan penting dalam teknik diagnosis RIA (2,4).

### 3.3 Kemurnian Radiokimia

Kemurnian radiokimia merupakan salah satu parameter yang sangat penting pada sediaan radiofarmaka baik untuk tujuan diagnosis maupun terapi termasuk pada proses teknik invitro RIA, karena sangat menentukan keberhasilan pada penandaan protein menggunakan  $^{125}\text{I}$ . Metode yang umum digunakan untuk penentuan kemurnian radiokimia adalah metode radiokromatografi, yaitu metode kromatografi yang dipadukan dengan pengukuran radioaktivitas. Penentuan kemurnian radiokimia pada penelitian ini menggunakan metode kromatografi kertas yang hasilnya dibaca menggunakan Bioscan R2000 (2,15). Kemurnian radiokimia larutan  $^{25}\text{I}$  bulk (sebelum direduksi) dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2 : Kemurnian Radiokimia Larutan  $^{25}\text{I}$  Bulk (Fasa diam : kertas whatman no.1; Fasa gerak, MeOH : H<sub>2</sub>O : 3:1)



Dari Gambar 2 di atas terlihat bahwa kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}$  dalam bentuk  $^{125}\text{I}^-$  masih sangat rendah yaitu 41,50 % sehingga jauh dari persyaratan jika digunakan dalam teknik RIA. Rendahnya kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* kemungkinan disebabkan adanya oksigen yang terperangkap di dalam fasilitas ataupun botol produk sewaktu proses produksi dan penyimpanan. Oksigen tersebut dapat berperan sebagai oksidator sehingga terjadi perubahan tingkat oksidasi  $\text{I}^-$  menjadi  $\text{IO}_3^-$  dan  $\text{IO}_4^-$  yang mengakibatkan rendahnya kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* dalam bentuk  $^{125}\text{I}^-$  (iodida). Pada Gambar 2 juga menunjukkan pada posisi 3 cm terdapat pengotor radiokimia  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* berasal dari  $\text{IO}_4^-$ , sementara  $\text{IO}_3^-$  seharusnya pada posisi 8 cm tidak terlihat. Dengan demikian pengotor radiokimia  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* hanya berasal dari  $\text{IO}_4^-$  sebesar 58,50 % (2,12).

Rendahnya kemurnian radiokimia  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* menyebabkan perlu dicari suatu reduktor yang dapat mengatasi masalah tersebut, namun reduktor tersebut dapat dipisahkan dari produk agar tidak mengganggu pada proses penggunaan  $^{125}\text{I}$  selanjutnya. Pada penelitian ini digunakan reduktor Jones. Reduktor Jones termasuk reduktor logam serbaguna, mudah digunakan dan dapat mereduksi sampai bilangan oksidasi terendah. Disamping itu karena berbentuk amalgama dapat melakukan reduksi dengan sempurna sehingga proses lebih cepat serta dapat digunakan secara berulang. Selain itu reduktor Jones berbentuk padatan dengan demikian mudah dipisahkan dari produk

sehingga diharapkan tidak mengganggu dalam proses penandaan protein dengan  $^{125}\text{I}$  pada teknik RIA (4,13).

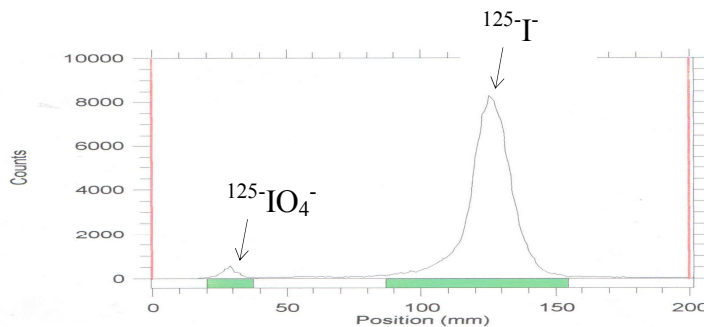
Peningkatan kemurnian radiokimia larutan  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* dilakukan dengan memasukkan ke dalam kolom reduktor Jones yang telah dikondisikan pada pH 10-11 menggunakan NaOH 0,01 N. Selanjutnya  $^{125}\text{I}^-$  *bulk* tersebut dielusi dengan NaOH 0,01 N sampai volume optimal. Logam Zn yang sudah dalam bentuk amalgam pada reduktor Jones mudah sekali melepaskan elektronnya sementara  $\text{IO}_3^-$  atau  $\text{IO}_4^-$  mudah menangkap elektron membentuk ion  $\text{I}^-$ . Dengan demikian diharapkan setelah melalui proses reduksi tersebut terbentuk produk yang diinginkan dalam bentuk radiokimia ( $^{125}\text{I}^-$ ) (6,13).

Pengujian kemurnian radiokimia setelah direduksi dengan reduktor Jones dilakukan terhadap fraksi dengan aktivitas tertinggi (fraksi kedua) dan fraksi gabungan (fraksi pertama sampai fraksi ketujuh). Pemilihan fraksi kedua dan fraksi gabungan karena memiliki radioaktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi yang lain. Dengan demikian diharapkan dapat mudah terdeteksi radioaktivitasnya oleh alat pencacah (Bioscan AR200). Hasil kemurnian radiokimia fraksi kedua dan fraksi gabungan dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.

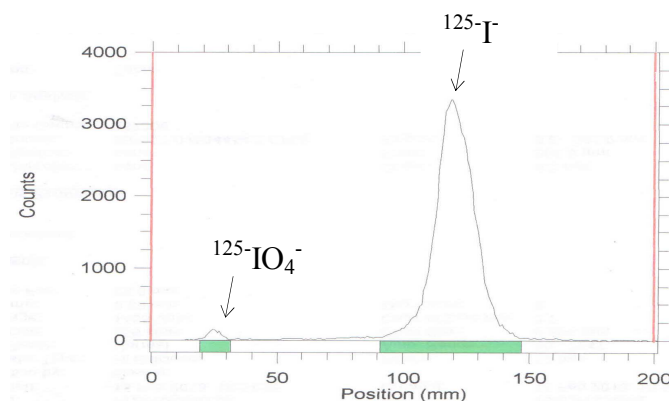
Gambar 3 menunjukkan bahwa terbentuk dua puncak yaitu pada posisi 4 cm dan pada posisi 12 cm dari titik penotolan sampel. Terdapatnya puncak pada posisi 4 cm menunjukkan masih terdapat pengotor radiokimia di dalam larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  iodium

dalam bentuk iodat ( $\text{IO}_4^-$ ). Kemurnian radiokimia larutan  $\text{Na}^{125}\text{I}$  dalam bentuk  $^{125}\text{I}^-$  diperoleh sebesar 97,50 %. Dengan demikian kemurnian radiokimia pada fraksi ketiga dengan konsentrasi radioaktif terbesar memenuhi persyaratan untuk

digunakan pada teknik RIA (>95 %). Selanjutnya kemurnian radiokimia untuk fraksi gabungan (fraksi 1-7) dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini.



Gambar 3 : Kemurnian Radiokimia larutan  $^{25}\text{I}$  Fraksi kedua (Fasa diam : kertas whatman no.1; Fasa gerak, MeOH :  $\text{H}_2\text{O}$  : 3:1)



Gambar 4 : Kemurnian Radiokimia larutan  $^{25}\text{I}$  Fraksi Gabungan (Fasa diam : kertas whatman no.1; Fasa gerak, MeOH :  $\text{H}_2\text{O}$  : 3:1)

Gambar 4 menunjukkan kemurnian radiokimia gabungan dari fraksi gabungan yaitu dari fraksi pertama sampai fraksi ke tujuh dengan berbagai konsentrasi radioaktif dicampur menjadi satu lalu ditentukan kemurnian radiokimianya. Kemurnian radiokimia fraksi gabungan adalah 98,5 % sedikit lebih tinggi dibanding kemurnian radiokimia fraksi kedua. Dengan demikian volume pengelusi sampai batas tertentu tidak mempengaruhi tingkat kemurnian radiokimia. Kemurnian radiokimia fraksi

gabungan lebih tinggi, kemungkinan disumbangkan oleh setelah fraksi kedua. Hal ini disebabkan larutan  $^{125}\text{I}$  dari fraksi ketiga dan seterusnya memiliki kesempatan lebih lama bersentuhan dengan reduktor Jones. Dengan demikian reduktor Jones dapat mereduksi iodium dalam bentuk iodat ( $\text{IO}_3^-$ ) dan periodat ( $\text{IO}_4^-$ ) menjadi bentuk iodida ( $\text{I}^-$ ) lebih sempurna. Meskipun penambahan volume pengelusi tidak mempengaruhi tingkat kemurnian radiokimia namun volume larutan pengelusi

harus dibatasi sekecil mungkin. Hal ini karena akan menurunkan konsentrasi radioaktif yang nantinya akan berpengaruh terhadap kualitas penandaan dan imunologi pada teknik RIA. Jika volume larutan terlalu besar maka diperlukan waktu pengkisan yang lebih lama. Dampak dari proses pengkisan adalah menurunkan kemurnian radiokimia akibat terjadinya oksidasi selama proses pengkisan sehingga harus dihindari (3,4,10).

#### 4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa dengan mempelajari profil elusi dapat diketahui bahwa volume efektif dari larutan pengelusi Na<sup>125</sup>I dari kolom reduktor Jones adalah 7 ml dengan efisiensi > 90 % dan kemurnian radiokimianya > 95 % sehingga memenuhi syarat untuk digunakan pada teknik RIA. Penentuan profil elusi ini difokuskan yaitu pada penentuan volume optimal yaitu volume total eluan terkecil namun dengan efisiensi tinggi dan tingkat kemurnian radiokimia yang dapat diterima. Kolom reduktor Jones yang dipakai adalah kolom kondisi 2 (pH 10-11).

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bapak Hotman Lubis sebagai Kepala Bidang Radioisotop dan Ibu Siti Darwati sebagai Kepala Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka PTRR-BATAN, atas semua sarana dan kemudahan sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Sunarhadijoso Soenarjo yang telah memberikan bimbingan

serta masukan dan saran di dalam penelitian ini.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

1. Somessari SL, et al. Automation System for Quality Control in Manufacture of Iodine-125 Sealed Sources Used in Brachytherapy. *Journal of Physical Science and Application* 2013: II (6);380-386.
2. Lubis H, dkk. Evaluasi Pembuatan Iodium-125 Menggunakan Sasaran Gas Xenon-124 Diperkaya 99,98 %. *Prosiding Seminar Nasional SDM Teknologi Nuklir VII Yogyakarta*. 2011.
3. Awaludin R, dkk. Radioaktivitas iodium-125 pada uji produksi menggunakan target xenon-124 diperkaya. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia* 2009:X(1);1-10.
4. Maiyesni, dkk. Peningkatan Kemurnian Radiokimia Iodium-125 Produksi PRR dengan Natrium Metabisulfid dan Reduktor Jones, *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir, Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan-BATAN Yogyakarta* 2011.
5. Gina Mondrida, dkk. Optimasi Penandaan Ca 15.3 dengan Na<sup>125</sup>I Produksi PRR Sebagai Perunut Kit Irma Ca 15.3. *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir* 2011.
6. Puji Widayati, dkk., Produksi Kit Immunoradiometricassay (Irma) Ca-125 Untuk Deteksi Dini Kanker Ovarium, *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka* 2011: XIV(I); 33-42.

7. Ariyanto A, dkk., Optimasi Pemisahan Fase Cair Pada Kit *Radioimmunoassay* Aflatoksin B, Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir PTNBR – BATAN Bandung 2009.
8. Yayan T, Evaluasi Kendali Kualitas Iodium-125 di PPR-Batan, Prosiding Seminar Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir, PTAPB-Batan 2008.
9. Darwati S, Pembuatan Kit Ria <sup>125</sup>I- Progesteron untuk Penentuan Progesteron dalam Susu Sapi, Kolokium PRR-Batan 2009.
10. Rosalyn S. Yalow. Radioimmunoassay Methodology: Application to Problems of Heterogeneity of Peptide Hormones, Annual Meeting of Aspet and The chinese Pharmacological and society, San San Diego, 2014.
11. Pujianto A. Penggunaan Natrium Sulfit (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) untuk Meningkatkan Kemurnian Radiokimia <sup>125</sup>I. Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Fungsional Pengembangan Teknologi Nuklir Yogyakarta 2008.
12. Clyde Frank, Analytical Chemistry, <https://books.google.co.id/> diakses 22/10/2015.
13. Danja BA., Modified Jones Reductor for R, eduction of Eu<sup>3+</sup> TO Eu<sup>2+</sup> in Solution, Archives of Applied Science Research 2012 : IV(6); 2435-2440.
14. BAZHKO O., Application Of Redox Titration Techniques For Analysis Of Hydrometallurgical Solutions . Hydrometallurgy Conference 2009, The Southern African Institute of Mining and Metallurgy 2009.
15. Teguh H. Ambar W., Misyetti . Estimasi Ketidakpastian Pengukuran Kemurnian Radiokimia Pada Radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-MDP <http://seminar.kimiawan.org/> diakses 13/9/2013.