

BAB III

TATA KERJA

3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah *dose calibrator* (Biodex), *Automatic Gamma Counter Wizard 2470* dengan detektor NAI(TI) (Perkin Elmer), *TLC Scanner* (Bioscan), *anesthesia chamber* (RWD Life Science), satu set peralatan kromatografi kertas, satu set peralatan bedah, dan *syringe*.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah radioisotop ^{99m}Tc dalam bentuk larutan perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) yang berasal dari generator $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ (Poltechnet), kit kering radiofarmaka MDP (BATAN), kertas Whatman-3MM, NaCl fisiologis (IPHA), aseton (Merck), ketamin (Lucas Djaya), xylazine (Interchemie), dan hewan uji mencit betina dengan berat 20-40 gram.

3.3 Metode

3.3.1 Penyiapan Hewan Model

A. Pengelompokan Hewan Model

Hewan model mencit betina (n=9) jenis BALB/c berumur ± 3 bulan dikembangbiakkan di Laboratorium Hewan PSTNT (Pusat Sains dan Teknologi Nuklir Terapan, BATAN). Penggunaan hewan uji telah mendapatkan persetujuan (*Ethical Approval*) berdasarkan Komisi Etik Penggunaan dan Pemeliharaan Hewan Percobaan (KEPPHP) BATAN. Hewan-hewan itu dipertahankan di bawah suhu terkontrol pada $22 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan siklus gelap atau cahaya 12 jam dengan akses tidak terbatas untuk menyadap air dan makanan. Jumlah hewan uji yang digunakan sebanyak 18 ekor, dibagi ke dalam dua kelompok, diantaranya kelompok normal dan osteoporosis masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor hewan uji.

B. Pembuatan Hewan Ovariektomi

Anestesi dilakukan dengan injeksi ketamine/xylazine (75/10 mg/kg BB) intraperitoneal (IP). Mencit yang dibius dibiarkan tengkurap di atas meja operasi. Area yang menonjol di bagian belakang dicukur secara bilateral. Indung telur ditemukan di kedua sisi perut, sedikit di bawah ginjal, sayatan kulit dilakukan di posisi medial ke bagian paling menggebug dari belakang. Untuk membuat sayatan, ibu jari ditempatkan di daerah proksimal paha paling atas. Bagian medial dari dasar *phalanx* distal adalah situs sayatan. Sayatan kulit 1,5 cm dibuat untuk mengekspos otot perut dorso-lateral seperti otot miring eksternal. Pintu masuk ke rongga peritoneum diperoleh dengan membedah otot yang mengungkapkan jaringan adiposa yang mengelilingi ovarium. Setelah mengidentifikasi tanduk ovarium dan uterus, ligase dilakukan pada tanduk uterus distal untuk menghilangkan jaringan ovarium sepenuhnya dalam satu tindakan. Tanduk itu dikembalikan ke rongga perut dan otot serta kulit dijahit (Park, 2010). Hewan pasca ovariektomi dilakukan adaptasi terlebih dahulu sekitar 14 hari untuk mencapai massa menopause atau keadaan penurunan kadar estrogen dalam tubuh.

3.3.2 Preparasi Radiofarmaka ^{99m}Tc -MDP

Sebanyak 2 mL larutan radioisotop $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ dengan aktivitas ± 500 μCi dimasukkan ke dalam vial kit yang berisi formula radiofarmaka MDP dalam wadah Pb. Campuran MDP dikocok sempurna dan dibiarkan pada temperatur kamar selama 10 menit sehingga dihasilkan produk radiofarmaka ^{99m}Tc -MDP.

3.3.3 Uji Kemurnian Radiofarmaka ^{99m}Tc -MDP

Kemurnian radiofarmaka ^{99m}Tc -MDP ditentukan dengan metode kromatografi. Kertas Whatman-3MM dengan eluen aseton digunakan untuk memisahkan pengotor radiokimia ^{99m}Tc -perteknetat bebas, sedangkan kertas Whatman-3MM dengan eluen NaCl digunakan untuk memisahkan pengotor ^{99m}Tc -tereduksi.

3.3.4 Uji Biodistribusi

Sebanyak 100 μ l ^{99m}Tc -MDP dengan aktivitas $\pm 25\mu\text{Ci}$ disuntikkan melalui vena ekor mencit setelah berat masing-masing hewan uji tersebut diketahui. Pembedahan dilakukan dengan interval waktu 1, 2, dan 3 jam pasca injeksi dengan terlebih dahulu dilakukan *euthanasia* menggunakan *anesthesia chamber* yang dialiri dengan CO_2 . Organ-organ berupa kulit, otot, tulang, darah, usus halus, hati, limpa, ginjal, jantung, paru-paru, lambung, dan kandung kemih diambil. Setiap organ ditimbang kemudian dicacah dengan alat *Automatic Gamma Counter Wizard 2470* dan persentase cacahan pada setiap gram organ dihitung.

Rumus perhitungan penimbunan per gram organ (%ID/g) adalah sebagai berikut:

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

3.3.5 Analisis Data

Representasi data dilakukan dengan penentuan rata-rata \pm standard deviasi. ANOVA satu arah digunakan untuk melakukan analisis statistik. $P > 0,05$ terpilih sebagai tingkat signifikansi. Analisis statistik digunakan melalui perangkat lunak SPSS 24.