

UJI BANDING KIT RIA T₃ PRODUK PRR-BATAN SISTEM "COATED TUBE" DENGAN PRODUK IZOTOP-HUNGARIA

Triningsih, Puji Widayati, Sutari, Sri Setiyowati

Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka
Kawasan Puspiptek, Gd. 11, Serpong, Tangerang 15310.
Email: triningsih0366@yahoo.com.

ABSTRAK

UJI BANDING KIT RIA T₃ PRODUK PRR-BATAN SISTEM "COATED TUBE" DENGAN PRODUK IZOTOP-HUNGARIA. Radioimmunoassay (RIA) merupakan teknik analisis yang didasarkan pada prinsip imunologi dan menggunakan perunut radioaktif sehingga cuplikan dalam jumlah kecil mudah dideteksi serta spesifik karena didasarkan pada reaksi imunologi yaitu ketika terjadi ikatan antigen antibodi yang spesifik hanya untuk antigen tertentu saja. Teknik ini dapat digunakan untuk penentuan kadar T₃ dalam serum yang mempunyai matriks yang kompleks dan kadar yang sangat bervariasi. Triiodotironin (T₃) adalah salah satu hormon yang diekskresikan oleh kelenjar tiroid. Telah dilakukan penelitian tentang uji banding Kit RIA T₃ produk PRR-BATAN sistem "coated tube" dengan produk Izotop-Hungaria sebagai *Gold standard*, tujuannya untuk melihat kesesuaian pengukuran kadar T₃ dengan cara membandingkan hasil analisis menggunakan kit RIA T₃ produk PRR-BATAN sistem "coated tube" dengan produk Izotop Hungaria terhadap 273 sampel yang berasal dari poliklinik PTKMR-BATAN Pasar Jum'at. Hasil uji *assay* dari kedua kit tersebut diperoleh 185 sampel negatif hipotiroid (*true negative*), 30 sampel positif hipotiroid (*true positive*), 17 sampel *false* positif hipotiroid dan 41 sampel *false* negatif hipotiroid. Sedang untuk sampel hipertiroid diperoleh hasil 207 sampel negatif hipertiroid (*true negative*), 41 sampel positif hipertiroid (*true positive*), 20 sampel *false* positif hipertiroid, dan 5 sampel *false* negatif hipertiroid. Hasil uji banding kit RIA T₃ didapatkan nilai *diagnostic sensitivity* sebesar 42,25% dan *diagnostic specificity* sebesar 91,58 % untuk pengukuran sampel hipotiroid, didapatkan *diagnostic sensitivity* sebesar 89,13% dan *diagnostic specificity* sebesar 91,18 % untuk pengukuran sampel hipertiroid sehingga kualitas Kit RIA T₃ produk PRR-BATAN sistem "coated tube" belum sama dengan produk dari Izotop Hungaria.

Kata Kunci: Kit, T₃, RIA, uji banding

ABSTRACT

COMPARATION STUDY PERFORMANCE OF THE T₃-RIA KIT PRODUCT BY PRR-BATAN COATED TUBE METHOD AND PRODUCT BY IZOTOP HUNGARY. Radioimmunoassay (RIA) is an analytical technique based on the principles of immunology reaction and the use of a radioactive tracer that specimen in a small number of easily detected and it is based on specific immunological reaction which occurs antigen binding antibody specific to a particular antigen. This technique can be used for determination of T₃ serum levels of in the matrix has a very complex and varied levels. Triiodothyronine (T₃) is one of the hormones excreted by the thyroid gland. A study concerning the comparative performed of the T₃-RIA Kit product by PRR-BATAN coated tube method and product by Izotop-Hungary as the Gold standard had been carried out. The objective is to know the conformance of the T₃ levels measurements by comparing the results of the assay using T₃-RIA kit product by PRR-BATAN and product by Izotop Hungary in which performed to 273 samples from PTKMR BATAN Pasar Jumat. The results of these samples assay was obtained that 185 samples are found as a negative hypothyroid (*true negative*), 30 samples as a positive hypothyroidism (*true positive*), 17 as a (*false*) positive samples and 41 samples as a (*false*) negative hypothyroid. In while of the other samples assay was obtained that 207 samples are found as a *true negative* hyperthyroid, 41 samples as a *true positive* hyperthyroidism, 20 samples as a *false positive* hyperthyroidism, and 5 samples as a *false negative* hyperthyroidism. Results of the comparative conformance tests T₃-RIA kit PRR-BATAN coated tube method obtained that value of the *diagnostic sensitivity* was found 42.25% and the *diagnostic specificity* was found 91.58% for the hypothyroid samples measurement and the

other obtained that the diagnostic sensitivity was found 89.13% and the diagnostic specificity was found 91.18% for the hyperthyroidism samples measurement so concluded that the T_3 -RIA kit product by PRR-BATAN has not been equal quality to the T_3 -RIA kit product by Izotop Hungary.

Keywords: Kit, T_3 , RIA, comparison study

PENDAHULUAN

Triiodotironin (T_3) adalah salah satu hormon yang diekskresi oleh kelenjar tiroid. T_3 dianggap sebagai molekul biologis yang paling aktif yang diproduksi hingga sekitar 80% melalui deiodinasi tetraiodotironin (T_4) di dalam jaringan perifer^[1]. Tiroid adalah salah satu kelenjar endokrin dengan berat kurang lebih 2-3 gram pada anak dan 18-20 gram pada orang dewasa. Kelenjar ini ditemukan pada leher berbentuk seperti kupu-kupu. Hormon T_3 dalam serum normal berkisar antara 1,4 - 3,3 nmol/L untuk wanita dan 1,0 - 2,5 nmol/L untuk pria. Jika fungsi kelenjar tiroid terganggu maka sirkulasi hormon tiroid (T_3 dan T_4) dalam darah akan tidak normal, sehingga akan menyebabkan beberapa penyakit akibat gangguan tiroid seperti: gangguan pada wanita, abortus cacat bawaan, retardasi mental, tuli, kelumpuhan dan kerdil. Rendeknormalan tersebut pada anak-sekolah dapat ditunjukkan dengan prestasi dan IQ anak yang kurang, sedangkan pada orang dewasa dapat menyebabkan gangguan pada gondok dan segala jenis komplikasinya bahkan sampai menjadi kanker kelenjar tiroid^[1,2].

Keberadaan T_3 secara signifikan diketahui pada daerah *euthyroid*, dan total kadar T_3 dapat digunakan untuk skrining terhadap gangguan tiroid setelah dilakukan dengan beberapa pengujian. Untuk menentukan kadar hormon T_3 pada kelenjar tiroid diperlukan suatu metode yang dapat mengukur jumlah hormon dalam konsentrasi yang sangat kecil, salah satunya adalah dengan menggunakan teknik *radioimmunoassay* (RIA).^[1]

Radioimmunoassay (RIA) adalah teknik analisis atau pengukuran yang didasarkan pada reaksi imunologi yaitu reaksi antigen dan antibodi dengan menggunakan radioisotop sebagai perunut, sehingga mudah dideteksi. Teknik RIA dikembangkan oleh Yalow & Berson didasarkan pada reaksi kompetisi antara antigen bertanda radioaktif (Ag^*) dan antigen tak bertanda (Ag) yang terdapat dalam cuplikan/standar terhadap antibodi yang

jumlahnya terbatas. Dalam analisis kuantitatif jumlah antigen bertanda dan antibodi adalah tetap, maka jumlah antigen tak bertanda yang ada dalam standar bervariasi. Makin banyak antigen tak bertanda (Ag) yang ada dalam cuplikan/standar, makin sedikit kompleks Ag^* - Ag yang terbentuk. Banyaknya Ag^* - Ab yang terbentuk diukur dengan pencacah gamma.^[3]

Pada teknik RIA, setelah kesetimbangan reaksi dicapai, maka perlu dilakukan tahap pemisahan ketika ligan yang terikat dan yang bebas harus dipisahkan. Ada dua sistem pemisahan pada teknik RIA yaitu pereaksi pemisah fasa cair dan pereaksi pemisah fasa padat. Pereaksi pemisah fasa cair misalnya larutan polietilen glikol (PEG) sebagai pengendap namun cara ini sudah ditinggalkan karena pengerjaannya kurang efisien. Sedangkan pereaksi pemisah fasa padat dilakukan dengan mengimobilisasi antibodi ke fasa padat, misalnya magnetik, polistiren *bead* (*coated bead*) atau tabung polistiren (*coated tube*).

Teknik RIA sangat tepat digunakan untuk mendeteksi adanya hormon T_3 pada kelenjar tiroid dalam tubuh pasien secara *invitro* dengan mudah, sederhana, sensitif dan mempunyai ketelitian tinggi serta spesifik karena menggunakan antigen yang ditandai dengan radioaktif. Pada teknik ini menggunakan sistem pemisah fasa padat yaitu dengan menempelkan antibodi ke dalam tabung reaksi polistiren berdasar bintang (*coated tube*), karena dengan metode ini pengerjaan mudah, cepat, sederhana dan efisien. Konsentrasi T_3 yang terdapat dalam sampel dapat dihitung dengan rumus di bawah ini:^[4]

$$\% (B/T) = \frac{\text{Cacahan fase terikat} - BG}{\text{Cacahan total} - BG} \times 100\% \quad (1)$$

$$\% (NSB) = \frac{\text{Cacahan fase terikat} - BG}{\text{Cacahan total} \%} \times 100\% \quad (2)$$

Kespesifikan adalah suatu ukuran yang menunjukkan seberapa tinggi nilai kemungkinan terjadinya positif semu (*false positif*) dan negatif semu (*false negatif*) dari suatu metode *assay* menggunakan reaksi tertentu. Kespesifikan dan kesensitivitasan dari

suatu produk Kit RIA dapat ditentukan dengan menggunakan rumus yang diambil dari Tabel 1 di bawah ini yakni Tabel 2x2 (*two time two table*) dengan menganggap suatu pereaksi yang dianggap handal, dalam hal ini Kit RIA T₃ produk Izotop Hungaria dianggap sebagai *gold standard* [5,6].

Tabel 1. Tabel 2 x 2 (two time two tabel) penentuan spesifitas dan sensitivitas pereaksi

Kit RIA T ₃ PRR		Kit RIA T ₃ Izotop		Jumlah
		P	N	
P	TP	FP	SpO	
N	FN	TN	Sn	
Jumlah	Sd	Sr	Su	

Catatan :

- P = Positif
- N = Negatif
- TP = Positif nyata (*true positives*)
- FP = Positif semu (*false positives*)
- TN = Negatif nyata (*true negatives*)
- FN = Negatif semu (*false negatives*)
- Sd = TP + FN
- Sr = FP + TN
- SpO = TP + FP
- Sn = FN + TN
- Su = Jumlah total

Untuk menilai kinerja dari suatu produk Kit RIA maka digunakan parameter *Diagnostic Sensitivity* dan *Diagnostic Specivicity* yang dapat dihitung menggunakan rumus seperti di bawah ini.

$$\text{Diagnostic Sensitivity} = \frac{TP}{TP + FN} \times 100\%$$

$$\text{Diagnostic Specivicity} = \frac{TN}{TN - FP} \times 100\%$$

Sesuai dengan tugas pokok PRR-BATAN yaitu melaksanakan pendayagunaan dan pengembangan teknologi produksi radioisotop dan radiofarmaka termasuk di dalamnya adalah pengembangan Kit RIA dan salah satunya adalah adalah kit T₃. Tujuan dari penelitian ini adalah melihat kinerja kit T₃ produk PRR-BATAN sistem "*coated tube*" dengan cara membandingkan hasil pengujian

dari laborototium PTKMR BATAN Pasar Jum'at yang menggunakan kit T₃ komersial produk dari Izotop Hungaria sebagai *gold standard* terhadap sampel yang sama.

Dalam makalah ini akan dilaporkan rentang hasil-hasil yang telah diperoleh dalam penelitian uji banding kit RIA T₃ sistem "*coated tube*" produk PRR-BATAN dengan kit T₃ produksi Izotop Hungaria.

METODE

Bahan yang digunakan: kit RIA T₃ produksi PRR-BATAN sistem "*coated tube*", kit RIA T₃ impor dari Hungaria (Izotop), sampel serum. Alat yang digunakan adalah pencacah *gamma* (*Gamma Management System, GMS*), pipet *ependorf*, alat pengaduk (*multimix* dan *vortex*), *shaker*.

Uji Banding Kit RIA T₃ sistem "*coated tube*"

1. Pengumpulan sampel serum darah pasien terdiri dari pasien normal, Hipotiroid dan Hipertiroid dari poliklinik PPTA-BATAN Pasar Jum'at.
2. Uji banding kit RIA T₃ produksi PRR-BATAN dengan kit RIA T₃ Izotop dilaksanakan di Laboratorium Radioassay Radiofarmaka PRR-BATAN dan laboratorium TNK PTKMR BATAN-PASAR JUM'AT pada sampel yang sama dengan menggunakan kedua protokol *assay* di bawah ini :

Protokol Pengujian kit RIA T₃ PRR-BATAN sistem "*coated tube*"

Tabung *coated tube* (CT) tandai dengan pemberian nomor secara berurut. Sejumlah 50 µL larutan standar T₃ dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 5 dan 10 nmol/L ditambahkan ke masing-masing tabung CT yang telah diberi nomor urut dari S1 s/d S6. Kemudian sejumlah 50 µL larutan sampel ditambahkan ke masing-masing tabung CT mulai dari urutan S7, S8, dan seterusnya. Sejumlah 50 µL larutan perunut dengan aktivitas ± 30.000 cpm ditambahkan ke semua tabung CT dan tabung untuk perunut total (TRA). Sejumlah 250 µL buffer tris HCl 0,15 M, pH 8,25 ditambahkan ke masing-masing tabung CT. Campuran diaduk dengan alat *vortex* hingga homogen dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruangan sekitar 25 °C sambil dikocok dengan *shaker* dengan kecepatan 200

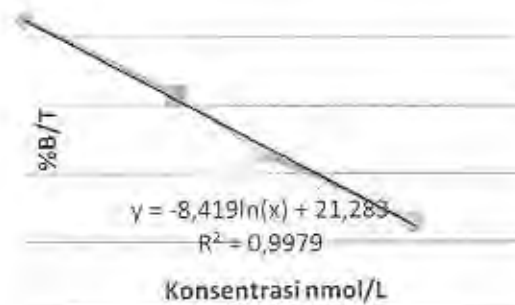
GPM. kemudian tabung CT didekantasi dan diukur dengan alat pencacah Gamma selama 1 menit. Hasil pengamatan dari tabung no. 1 s/d 6 dan seterusnya kemudian dihitung nilai % B/T menggunakan program RIA/IRMA yang sudah terdapat di dalam alat pencacah GMS. Hasil perhitungan untuk tabung no. 1 s/d 6 digunakan untuk kurva standar % B/T Vs. konsentrasi seperti terlihat pada Gambar 1 pada bab hasil dan pembahasan.

Protokol Pengujian kit RIA T₃ Izotop

Tabung *coated tube* (CT) tandai dengan pemberian nomor secara berurut. Sejumlah 100 µL larutan standar dengan konsentrasi 0, 0,5, 1, 3, 6 dan 12 nmol/L ditambahkan ke masing-masing tabung CT yang telah diberi nomor dari S1 s/d S6. Sejumlah 100 µL larutan sampel ke ditambahkan ke masing-masing tabung dari S7, S8 dan seterusnya. Sejumlah 100 µL larutan perunut dengan aktivitas ± 100000 cpm ditambahkan ke semua tabung CT dan tabung untuk perunut total (TRA). Sejumlah 1000 µL larutan anti serum dimasukkan ke dalam semua tabung kecuali tabung TRA, campuran diaduk dengan alat vortex hingga homogen dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruangan (25 °C) serta diaduk menggunakan alat *shaker* pada kecepatan 400 rpm. Tabung CT didekantasi kemudian diukur dengan alat pencacah Gamma (GMS) selama 1 menit. Hasil pengamatan dari tabung no. 1 s/d 6 dan seterusnya kemudian dihitung nilai % B/T menggunakan program RIA/IRMA yang sudah terdapat di dalam alat pencacah GMS. Hasil perhitungan untuk tabung no. 1 s/d 6 digunakan untuk kurva standar % B/T Vs. konsentrasi seperti terlihat pada Gambar 2 pada bab hasil dan pembahasan.

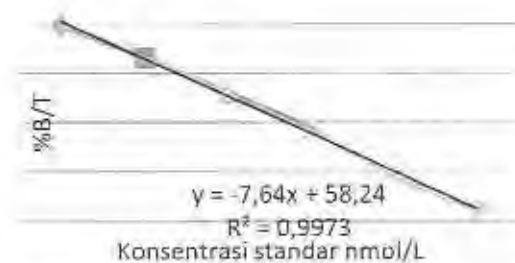
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kurva standar kit RIA T₃ sistem *coated tube* PRR dan kit RIA T₃ Izotop yang didapatkan masing-masing seperti terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 1. Kurva standar kit RIA T₃ PRR

Tingkat kepercayaan kurva standar kit RIA T₃ produk PRR dan produk Izotop dapat dikatakan sama, hal ini dilihat dari nilai regresi *linear* (R: 0,997).



Gambar 2. Kurva standar kit RIA T₃ Izotop

Dengan menggunakan Kurva standar masing-masing (Gambar 1 dan Gambar 2) di atas konsentrasi dari sampel dapat diukur dan diketahui nilainya.

Sampel tersedia dalam bentuk serum darah sebanyak 273 sampel yang berasal dari poliklinik PTKMR-BATAN Pasar Jum'at. Sejumlah 273 sampel tersebut telah dilakukan pengujian dengan menggunakan kit RIA T₃ produk PRR-BATAN (lokal) dan kit Izotop (komersial, impor) dengan hasil 185 sampel negatif (*true negative*), 30 sampel positif hipotiroid (*true positive*), 41 sampel *false negative* hipotiroid dan 17 sampel *false positive* hipotiroid, sedangkan untuk sampel hipertiroid diperoleh 207 sampel negatif (*true negative*), 41 sampel positif hipertiroid (*true positive*), 5 sampel *false negative* hipertiroid dan 20 sampel *false positive* hipertiroid.

Dari data-data di atas kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan nilai *diagnostic sensitivity* dan *diagnostic specificity* dan hasilnya menunjukkan bahwa untuk *assay* sampel hipotiroid kit RIA T₃ produk PRR-

BATAN mempunyai *diagnostic sensitivity* 42,25% dan *diagnostic specificity* 91,58 % sedangkan untuk *assay* sampel hipertiroid diperoleh nilai *diagnostic sensitivity* 89,13% dan *diagnostic specificity* 91,18 %. Dari hasil nilai *diagnostic specificity* menunjukkan bahwa kualitasnya masih rendah karena kinerja suatu Kit RIA dikatakan baik kualitasnya apabila nilai *diagnostic sensitivity* dan *diagnostic specificity* dapat dicapai lebih dari 90 %.

Dari data hasil perhitungan di atas menunjukkan bahwa kualitas kit RIA T₃ produk PRR-BATAN belum sama dengan kit produk komersial Izotop-Hungaria karena masih tampak adanya *false negative* dan *false positive*. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian lanjutan sehingga *false negative* dan *false positive* yang ada bisa diadakan sehingga kualitas Kit T₃ produk PRR-BATAN mempunyai kualitas yang sejajar dengan Kit produk komersial dari negara lain.

Hasil *assay* dari sampel yang sama dengan menggunakan kit T₃ produk PRR-BATAN dan Kit T₃ produk Izotop Hungaria dapat disajikan seperti pada Tabel 2 dan Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 2. Perbandingan hasil pengukuran T₃ untuk sampel hipotiroid menggunakan kit RIA T₃ produk PRR dengan kit RIA T₃ produk Izotop sebagai *Gold standard*.

Kit RIA T ₃ Izotop	Hipoti roid	Hipoti roid	Jumlah
	+	-	
Kit RIA T ₃ PRR			
Hipotiroid d +	30	17	47
Hipotiroid d -	41	185	226
Jumlah	71	202	273

Tabel 3. Perbandingan pengukuran T₃ untuk sampel hipertiroid dengan kit RIA T₃ produk PRR dengan kit RIA T₃ produk Izotop sebagai *Gold standard*.

Kit RIA T ₃ Izotop	Hiper tiroid	Hiper tiroid	Jumlah
	+	-	
Kit RIA T ₃ PRR			
Hipertiroid +	41	20	61
Hipertiroid -	5	207	212
Jumlah	46	227	273

Dari Tabel 2 di atas diperoleh hasil untuk hipotiroid 30 sampel *true positif*, 185 sampel *true negatif*, 17 sampel *false positif* dan 41 sampel *false negatif* dengan *diagnostic sensitivity* rendah yaitu 42,25% dan *diagnostic specificity* sebesar 91,58 % hal ini disebabkan karena konsentrasi dari sampel hipotiroid sangat rendah yaitu ≤ 1 nmol/mL sehingga kit RIA produksi PRR masih kurang sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi rendah

Dari Tabel 3 di atas diperoleh hasil untuk hipertiroid 41 sampel *true positif*, 207 sampel *true negatif*, 20 sampel *false positif* dan 5 sampel *false negatif* sehingga didapatkan *diagnostic sensitivity* sebesar 89,13% dan *diagnostic specificity* sebesar 91,18 % kit RIA T₃ sensitif untuk konsentrasi sampel yang tinggi seperti hipertiroid.

Namun apabila dilihat dari protokol pengukuran T₃ dengan kit RIA T₃ produk PRR maka dalam *assay* nya hanya memerlukan volume sampel dan perunut yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan kit RIA T₃ Izotop, demikian halnya pada tahap pencucian sehingga pada *assay* T₃ menggunakan protokol kit RIA T₃ akan dihasilkan limbah radioaktif yang lebih sedikit.

Dari hasil kegiatan penelitian uji banding di atas tampak bahwa kualitas kit RIA T₃ produk PRR-BATAN sistem "*coated tube*" masih perlu ditingkatkan kualitasnya dengan mempelajari faktor-faktor yang dapat mempengaruhi terhadap hasil *assay* sehingga diharapkan kinerja untuk *assay* dari Kit RIA produk PRR-BATAN dapat sejajar dan bersaing dengan produk komersial dari negara lain.

KESIMPULAN

Telah dikembangkan kit RIA T₃ dengan sistem "coated tube" di PRR-BATAN, yaitu antibodi diimmobilisasikan ke sistem pendukung padat. Dari hasil penelitian uji banding Kit RIA T₃ dapat disimpulkan bahwa Kit RIA T₃ produk PRR-BATAN sistem "coated tube" kualitasnya belum sama dengan kit RIA T₃ produk Izotop Hungaria yang ditunjukkan oleh nilai *diagnostic sensitivity* sebesar 42,25% (masih rendah, kurang dari 90%) dan *diagnostic spesivicity* sebesar 91,58% untuk sampel hipotiroid, sedangkan untuk sampel hipertiroid nilai *diagnostic sensitivity* sebesar 89,13% dan *diagnostic spesivicity* sebesar 91,18%

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada seluruh staf bidang TNK PTKMR BATAN PASAR JUM'AT atas kerjasamanya dalam penyediaan sampel sehingga penelitian uji banding Kit RIA T₃ dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gina M., S. Darwati, Agus A., Sutari, Puji W., V. dan Yulianti S. W. L., Pembuatan komponen kit RIA T₃ untuk deteksi hormon tiroid dengan metode *coated tube* : Prosiding Seminar Nasional, Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir Buku II, 20-25, (2010).
2. Sutari, V., Yulianti S., Gina M., Triningsih, Agus A., dan Puji W., Optimasi rancangan assay kit Triiodothyronine (T₃) metode *coated tube* : Prosiding Seminar Nasional, Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir, 230-236, (2011).
3. Wayan R., "Prinsip Dasar Radioimmunoassay. Pelatihan Radiofarmasi untuk Staf Pengajar Perguruan Tinggi Indonesia." Pusat Pengembangan Radiolozotop dan Radiofarmaka Batan 27 September s/d 1 Oktober 1991.
4. Sutari, V., Yulianti S., Gina M., Triningsih, Agus A., dan Puji W., Optimasi rancangan assay kit Triiodothyronine (T₃) metode *coated tube* : Prosiding Seminar Nasional, Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir, 230-236, (2011).
5. Puji W., Sri H., dan Agus A., Uji banding kit Immunoradio-metricassay (IRMA) carbohidrate antigen 125 (CA-125) lokal (Pusat Radiolozotop dan Radiofarmaka) dengan kit IRMA CA-125 impor (Izotops), Prosiding Seminar SDM Teknologi Nuklir, 641-648. (2010).
6. Sukiyati Dj., Gina M., Fitri Y., Agus A., Darwati S., dan Rediatning W, Pembuatan dan uji mutu kit RIA/IRMA HBsAg dan Anti-HBs untuk diagnosis hepatitis B.