

## PRODUKSI KIT IMMUNORADIOMETRICASSAY (IRMA) CA-125 UNTUK DETEKSI DINI KANKER OVARIUM

Puji Widayati, Agus Ariyanto dan Wening Lestari  
Pusat Radioisotop Radiofarmaka (PRR)-BATAN  
Gedung 11, Kawasan PUSPITEK Serpong, Tangerang, 15314

### ABSTRAK

**PRODUKSI KIT IMMUNORADIOMETRICASSAY (IRMA) CA-125 UNTUK DETEKSI DINI KANKER OVARIUM.** Kanker ovarium merupakan kanker terbanyak sesudah kanker leher rahim, namun tingkat kematiannya lebih besar dari pada kanker leher rahim. Penderita yang datang ke dokter (75%) pada umumnya telah mengidap kanker pada stadium lanjut (III-IV) sehingga pasien tidak dapat lagi tertolong. Kanker akan lebih mudah disembuhkan bila diketahui pada tahap awal pertumbuhan (terdeteksi dini). Carbohydrate Antigen-125 (CA-125) adalah glikoprotein antigenik yang dilepaskan ke darah penderita kanker ovarium, dengan kadar sangat rendah pada awalnya dan meningkat sesuai dengan keganasan kanker, sehingga deteksi kanker ovarium dapat dilakukan dengan mengukur kadar rendah senyawa CA-125 di dalam darah. Metode yang sesuai adalah immunoradiometricassay (IRMA). Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR) telah mengembangkan metode ini sejak 2003, diawali dengan pembuatan komponen kit IRMA CA-125, meliputi perunut CA-125 bertanda  $^{125}\text{I}$ , larutan standar CA-125, dan tabung bersalut antibodi monoklonal (coated tube), kemudian optimasi assay kit IRMA CA-125 yang menghasilkan nilai B/T = 19,05% dan NSB = 0,53%, dengan daerah kerja 0-200 mIU/mL. Selanjutnya validasi metode menggunakan sampel kadar tinggi (QC<sub>H</sub>) dan kadar rendah (QC<sub>L</sub>), menunjukkan nilai %CV intra assay (n=15) sebesar 9.9% (QC<sub>L</sub>) dan 2.97% (QC<sub>H</sub>) serta %CV inter assay (n=7) berturut-turut 13.1% (QC<sub>L</sub>) dan 4.9% (QC<sub>H</sub>), yang memenuhi syarat, memenuhi syarat Protocol IAEA

**Kata kunci:** Kanker ovarium, Immunoradiometricassay (IRMA), CA-125, optimasi, validasi

### ABSTRACT

**PRODUCTION OF IMMUNORADIOMETRICASSAY (IRMA) CA-125 FOR EARLY DETECTION OF OVARIAN CANCER.** Ovarian cancer is the second highest incidence after cervix cancer, but has higher fatality level than cervix cancer. Generally, patient is known suffering ovarian cancer in very late stadium, III or IV, which almost incurable. Cancer would be easier cured if detected early. Carbohydrate Antigen-125 (CA-125) is an antigenic glycoprotein presence in blood of ovarian cancer patient, in a very low concentration initially and will increase proportionally with the level of malignancy, therefore, early detection of ovarian cancer can be carried out by measurement of low level CA-125 in the blood. The most suitable method is immunoradiometricassay (IRMA). Our laboratory has developed CA-125 IRMA kit since 2003, started from preparation of CA-125 IRMA kit components, consists of  $^{125}\text{I}$ -CA-125 tracer, CA-125 standard, and monoclonal antibody-coated tubes, followed by assay optimization of IRMA CA-125 kit, which produced B/T value of 19,05%, NSB value of 0,53% and working area of 0 to 200 mIU/mL. Furthermore, method validation of IRMA CA-125 kit using high and low concentration quality control (QC<sub>H</sub> and QC<sub>L</sub>), showed an intra assay (n=15) CV value of 9.9% for QC<sub>L</sub> and 2.97% for QC<sub>H</sub>, while inter assay (n=7) CV value of 13.1% and 4.9% for QC<sub>L</sub> and QC<sub>H</sub> respectively. The results comply with the IAEA protocol requirement.

**Keywords:** ovarian cancer, immunoradiometricassay (IRMA), CA-125, optimization, validation

## PENDAHULUAN

Kanker ovarium merupakan kanker kandungan terbanyak sesudah kanker leher rahim, namun mempunyai tingkat kematian yang lebih besar daripada kanker leher rahim. Angka kematian 5 tahun tergantung dari luasnya penyakit (stadium). Menurut FIGO (Federasi Obstetri dan Ginekologi Sedunia) angka kematian mencapai 11,1%, 25,1%, 58,5% dan 82,1% masing-masing untuk stadium I, II, III dan IV [1]. Kanker ovarium meningkat dengan tajam pada umur 45-54 tahun dan terus meningkat sepanjang sisa umurnya, paralel dengan kadar hormon gonadotropin [2].

Di dunia jumlah penderita kanker ovarium tertinggi terdapat di Norwegia (15,3 per 100.000), terendah di Jepang (3,2 per 100.000), selisih 5 kali lipat. Jumlah penderita pada orang kulit putih di Amerika Serikat adalah 12,9 per 100.000, lebih tinggi dari etnis Tionghoa yang bermukim di Los Angeles 8,5 per 100.000, lebih tinggi dari China daratan 5,0 per 100.000 dan penduduk Hongkong (5,8/100.000) [4].

Berdasarkan data dari Yayasan Kanker Indonesia (YKI) kanker ovarium menduduki peringkat ke enam terbanyak dari jenis kanker *gynecology* [1]. Penyebab kanker ovarium hingga kini belum jelas, tetapi faktor lingkungan dan hormonal berperan penting dalam patogenesisnya. Faktor genetik juga berpengaruh, sebagian orang secara genetik mempunyai kecenderungan lebih besar untuk menderita kanker, sebagian lain secara genetik lebih kecil kemungkinannya.

Lebih dari 75% wanita yang datang memeriksakan diri ke dokter sudah menderita kanker pada stadium lanjut (meluas), dan sekitar

15% di antaranya tidak menunjukkan gejala apa-apa [3,4,5]. Sebagian besar wanita dengan kanker ovarium tidak menunjukkan gejala dalam waktu yang lama.

Pernah dilaporkan bahwa tingginya angka kematian akibat kanker terutama disebabkan karena adanya kanker pada pasien, baru terdeteksi pada stadium lanjut (70-80%) [6], sehingga upaya penyembuhan sukar dilakukan. Oleh karena itu diperlukan suatu cara deteksi dini kanker agar kemungkinan penyembuhan bagi pasien menjadi lebih besar. Selain dari pada itu, dalam upaya penyembuhan, pemantauan perkembangan kanker pada pasien yang sedang menjalani terapi juga sangat penting untuk mengetahui keefektifan suatu tindakan terapi atau kesempurnaan suatu operasi [7].

Teknik pemeriksaan kanker leher rahim, kanker *corpus*, kanker serviks dan *endometriosis* secara langsung dilakukan dengan ultrasonografi, namun metode ini sulit diterapkan secara massal karena biayanya cukup mahal. Teknik lain yang banyak dilakukan adalah dengan *in-vitro assay*, yaitu teknik *immunoradiometric assay* (IRMA) [8] dengan menentukan kadar antigen CA-125 dalam serum darah seseorang yang diduga mengidap kanker ovarium.

Di dalam serum darah manusia yang normal ditemukan kadar CA-125 tidak lebih dari 35 U/ml [9]. Teknik *IRMA* merupakan salah satu teknik *immunoassay* yang menggunakan radionuklida sebagai perunut agar dalam jumlah kecil masih mudah dideteksi. Teknik ini sangat cocok digunakan dalam penentuan *tumor marker* dalam serum yang mempunyai matriks yang kompleks dan kadarnya yang sangat bervariasi pada orang normal dan pasien

kanker. Teknik *assay* ini didasarkan pada reaksi antara antigen (Ag) yang terdapat pada cuplikan / standar dengan antibodi yang bertanda radioaktif (Ab\*) dalam jumlah berlebih membentuk kompleks antigen-antibodi (Ag-Ab\*). Dengan demikian semakin tinggi kadar antigen (Ag), maka kompleks antigen-antibodi yang terbentuk juga semakin tinggi sehingga akan memberikan cacahan radioaktivitas yang semakin tinggi.

Dewasa ini telah beredar secara komersial pereaksi atau kit IRMA CA-125 yang harganya cukup mahal. Oleh karena itu Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR)-BATAN berupaya memproduksi kit IRMA CA-125 ini secara lokal.

Rangkaian produksi kit IRMA CA-125 harus melewati beberapa tahap pengujian meliputi: optimasi pembuatan masing-masing komponen kit, optimasi rancangan *assay*, validasi metode dan uji klinis secara in-vitro.

Dari penelitian sebelumnya telah berhasil dilakukan tahap awal yaitu optimasi pembuatan komponen kit IRMA CA-125 yang meliputi: pembuatan perunut, pembuatan standar dan pembuatan *coated tube* [10] dan selanjutnya optimasi rancangan *assay* kit IRMA CA-125 tersebut, yang meliputi: penetapan jumlah cacahan radioaktivitas perunut, volume perunut, volume standar, waktu inkubasi dan suhu inkubasi yang terbaik sehingga diperoleh nilai ikatan maksimum (%B/T) dan nilai ikatan tidak spesifik (%NSB) yang optimum sehingga dapat digunakan sebagai acuan setiap kali *assay* [11]. Tahap berikutnya adalah validasi kit IRMA CA-125 produksi PRR yang meliputi: penentuan kepekaan (*sensitivitas*), ketelitian (*presisi*), akurasi, parameter *assay* (*Non*

*Specific Binding*, %NSB dan ikatan maksimum spesifik (*Maximum Binding*, %B/T) serta kestabilan kit IRMA CA-125 [12].

Rangkaian lengkap produksi sampai dengan validasi metode disampaikan dan dibahas dalam makalah ini.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah monoklonal anti CA-125 (Biodesign International USA), CA-125 antigen *calibrator grade* (Biodesign International USA), Na<sup>125</sup>I dari PT Batan Teknologi atau Nordion Canada, tabung star (NUNC Swedia), *Bovine Serum Albumin (BSA)* Sigma, kit IRMA CA-125 komersial dari China (CIAE), bahan kimia lainnya.

Alat yang digunakan adalah pencacah *gamma* (*model 600 Gammatec II The Nucleus*), dan *model Mini Assay tipe G 20*, *Gamma Management System* (GMS).

### Pembuatan perunut monoklonal anti CA-125 bertanda <sup>125</sup>I

Sejumlah larutan monoklonal anti CA-125 jenis M37203M di dalam tabung reaksi, yang berisi dapar fosfat salin (BPS) pH 7,4 ditambah larutan Na<sup>125</sup>I dan kloramin-T dalam BPS pH 7,4 kemudian dikocok menggunakan alat vortex. Selanjutnya di tambah Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> dalam BPS pH 7,4 dan larutan KI serta diinkubasi pada suhu 25<sup>0</sup>C.

Hasil penandaan dimurnikan menggunakan kolom PD-10 yang telah dikondisikan dengan larutan BPS pH 7,4 jenuh dengan larutan BSA. Produk monoklonal anti CA-125 bertanda <sup>125</sup>I (selanjutnya disebut perunut) dielusi dari kolom PD-

10 dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 dan fraksi eluat ditampung dalam tabung reaksi 500  $\mu$ L per fraksi. Tiap fraksi eluat diukur radioaktivitasnya dengan alat pencacah gamma selama 1 menit.

Monoklonal anti CA-125 yang tidak bertanda maupun produk bertanda  $^{125}$ I berada dalam fraksi ke 6-8, sedangkan Na $^{125}$ I sisa berada dalam fraksi beberapa menit setelah itu. Kemudian rendemen penandaan dapat dihitung.

### Uji imunologi

Nilai aktivitas imunologi untuk larutan standar 0 dinyatakan sebagai nilai %NSB, sedangkan nilai aktivitas imunologi untuk larutan standar 500 mIU/mL merupakan ikatan maksimum, %B/T pada sistem *assay*.

Non Specific Binding (%NSB) < 2 % dan aktivitas imunologi (%B/T) > 10 % (Protokol IAEA).

### Pembuatan larutan standar CA- 125

CA-125 antigen calibrator grade (56 KIU/mL) dilarutkan dengan larutan BSA 5 % dalam dapar BPS pH 7,4. Antigen CA-125 diencerkan sehingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi CA-125 masing-masing 25, 50, 100, 200 dan 500 mIU/mL. Larutan standar ini digunakan untuk membuat kurva kalibrasi menggunakan prosedur *assay* yang sama dengan Protokol Pengujian kit IRMA CA-125 di bawah.

### Pembuatan tabung bersalut monoklonal anti CA-125

Sejumlah larutan monoklonal anti CA-125 M86294M dimasukkan ke dalam tabung (NUNC) dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu 4°C.

Tabung kemudian dibilas dengan air demin dan didekantasi untuk membuang monoklonal anti CA-125 yang tidak terikat pada tabung. Sejumlah larutan pelapis ditambahkan, kemudian diinkubasi selama 16 jam pada suhu 4°C, untuk melindungi lapisan antibodi yang telah terimmobilisasi pada permukaan tabung. Tabung dicuci dengan sejumlah larutan dapar BPS pH 7,4. Selanjutnya tabung tersalut monoklonal anti CA-125 ini disebut tabung *coated tube*(CT) dan digunakan untuk *assay* sebagaimana tersebut di bawah..

### Protokol Pengujian kit IRMA CA-125 (*assay*)

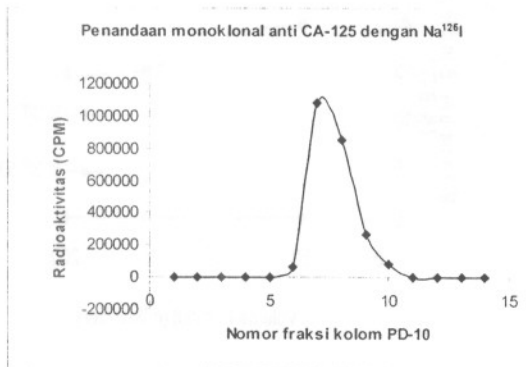
Tabung *coated tube* (CT) diberi nomor, dan larutan standar CA-125 0, 25, 50, 100, 200 dan 500 mIU/mL ditambahkan ke masing-masing tabung CT. Sejumlah  $\pm 100000$  cacahan per menit (CPM) larutan perunut ditambahkan ke masing-masing tabung CT dikocok dengan vortek hingga homogen dan diinkubasi. Masing-masing didekantasi, dibilas dengan dapar pencuci dan didekantasi kemudian masing-masing tabung CT diukur radioaktivitasnya dengan alat pencacah Gamma selama 1 menit. Selanjutnya dihitung % B/T dan %NSB.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembuatan perunut monoklonal anti CA-125 bertanda $^{125}$ I

Penandaan monoklonal anti CA-125 jenis M37203M dengan radioisotop  $^{125}$ I menghasilkan rendemen penandaan sebesar 96,5% yaitu perbandingan radioaktivitas fraksi kromatografi nomor 5, 6, 7, 8, 9, 10 dan 11 (gambar 1) terhadap

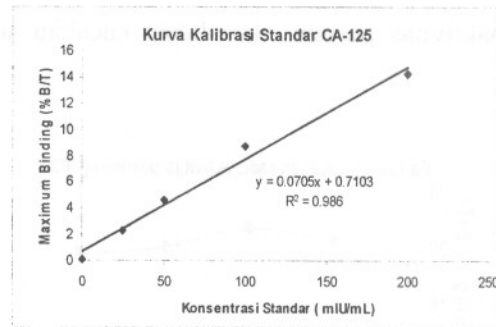
total cacahan seluruh fraksi (nomor 1 s/d 15). Uji imunologi dengan metode IRMA pada fraksi ke 7 hasil penandaan menunjukkan aktivitas imunologi sebesar 21,39% (%B/T) untuk standar 500 mIU/mL. Fraksi nomor 7 selanjutnya digunakan untuk assay.



**Gambar 1.** Kromatogram fraksi hasil penandaan monoklonal anti CA-125 dengan <sup>125</sup>I (volume fraksi 500µL)

#### Kurva kalibrasi larutan standar CA-125

Larutan standar CA-125 menghasilkan kurva hubungan antara konsentrasi standar CA-125 (mIU/mL) dengan %B/T sebagaimana terlihat pada Gambar 3. yang menunjukkan perubahan konsentrasi standar CA-125 memberikan perubahan %B/T yang linier. Hasil ini menunjukkan bahwa sensitivitas larutan standar yang digunakan adalah baik dengan daerah kerja assay yang luas yaitu dari 0 mIU/mL sampai dengan 200 mIU/mL dengan persamaan garis regresi  $Y=0,0705X+0,7103$  dan koefisien korelasi  $R=0,9930$ .



**Gambar 2.** Kurva hubungan antara konsentrasi standar CA-125 (mIU/mL) dengan %B/T

#### Pengujian tabung Coated Tube(CT)

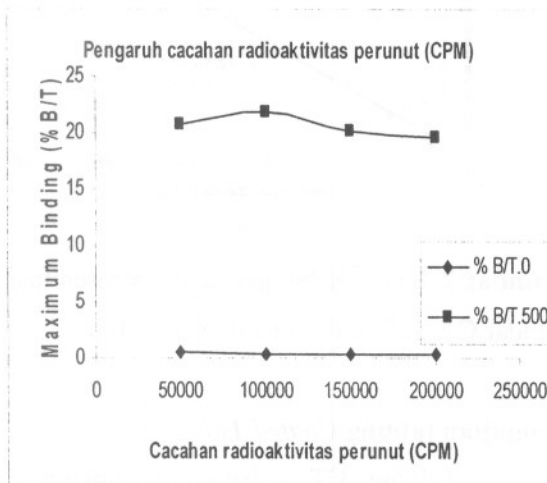
Tabung CT dengan monoklonal jenis M86924M sebagai penyalut menunjukkan aktivitas imunologi untuk standar 0 mIU/mL sebesar 0,1% dan untuk larutan standar 500 mIU/mL sebesar 21,39%.

#### Optimasi Rancangan Assay Kit IRMA CA-125

Assay dengan menggunakan variasi jumlah radioaktivitas perunut. Pada Gambar. 3 menunjukkan adanya pengaruh radioaktivitas perunut (cpm) terhadap aktivitas imunologi (%B/T). Pada radioaktivitas perunut  $\pm 100000$  cpm didapatkan aktivitas imunologi (%B/T) sebesar 21,90% bila digunakan standar 500 mIU/mL dan merupakan hasil aktivitas imunologi tertinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan radioaktivitas  $\pm 100000$  cpm diperoleh pengikatan antigen-antibodi (Ab-Ag-Ab\*) yang paling tinggi. Sedangkan aktivitas imunologi assay dengan standar 0 mIU/mL, atau nilai %NSB diperoleh 0,44%.

Assay menggunakan radioaktivitas perunut yang lain  $\pm 50000$  cpm,  $\pm 150000$  cpm dan  $\pm 200000$  cpm, tidak memberikan hasil aktivitas imunologi yang lebih tinggi, walaupun makin besar cacahan

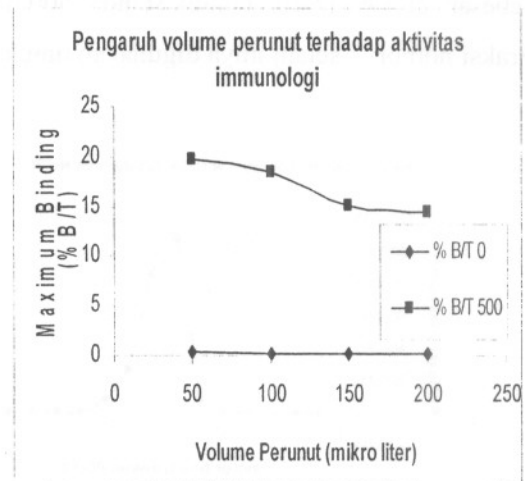
radioaktivitas perunut, kesalahan cacahan semakin kecil.



**Gambar 3.** Pengaruh cacahan radioaktivitas perunut terhadap aktivitas imunologi (%B/T).

Hasil pada percobaan variasi volume perunut menggunakan cacahan radioaktivitas perunut  $\pm 100000$  cpm dapat dilihat pada Gambar 4. yang menunjukkan bahwa volume perunut mempengaruhi aktivitas imunologi yang dihasilkan. Semakin kecil volume perunut maka aktivitas imunologi yang didapat semakin besar. Hal ini disebabkan oleh aktivitas perunut yang semakin pekat sehingga probabilitas ikatan antibodi bertanda ( $Ab^*$ ) terhadap antigen ( $Ag$ ) semakin besar. Volume perunut yang optimum adalah  $50 \mu L$ , ditunjukkan oleh aktivitas imunologi (%B/T) paling tinggi yaitu 19,75% untuk standar 500 mIU/mL dan %NSB yaitu 0,34% untuk standar 0 mIU/mL. Volume perunut yang lain ( $100 \mu L$ ,  $150 \mu L$  dan  $200 \mu L$ ) tidak menghasilkan aktivitas imunologi yang lebih tinggi. Semakin besar volume perunut, menyebabkan pengenceran semakin tinggi sehingga  $Ab^*$  yang terikat  $Ag$  semakin kecil,

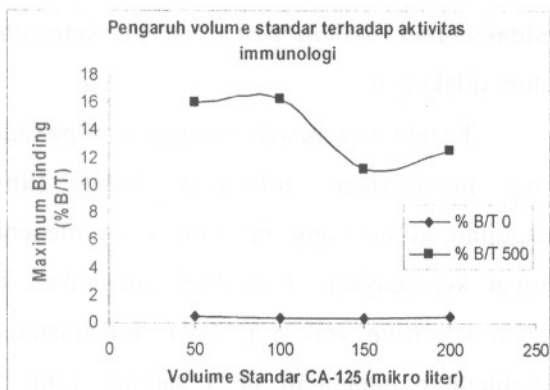
dan menyebabkan %B/T yang dihasilkan semakin kecil pula.



**Gambar 4.** Pengaruh volume perunut terhadap aktivitas imunologi (%B/T) yang dihasilkan

Hasil *assay* pada percobaan variasi volume standar CA-125 menggunakan cacahan radioaktivitas perunut optimum  $\pm 100000$  cpm dan volume perunut optimum= $50 \mu L$  di dapatkan hasil aktivitas imunologi seperti Gambar 5. yang menunjukkan bahwa pemakaian volume  $100 \mu L$  larutan standar 500 mIU/mL didapatkan %B/T yang tertinggi yaitu 16,24% dan %NSB yaitu 0,42% untuk standar 0 mIU/mL. Penggunaan volume standar  $50 \mu L$  menghasilkan aktivitas imunologi (%B/T) sebesar 15,98 % untuk standar 500 mIU/mL dan %NSB sebesar 0,45% untuk standar 0 mIU/mL. Menunjuk bahwa perbedaan hasil % B/T yang tidak begitu nyata, maka selanjutnya digunakan volume standar  $50 \mu L$ , untuk menghemat penggunaan larutan standar. Penggunaan volume standar yang lain ( $150 \mu L$  dan  $200 \mu L$ ) menghasilkan aktivitas

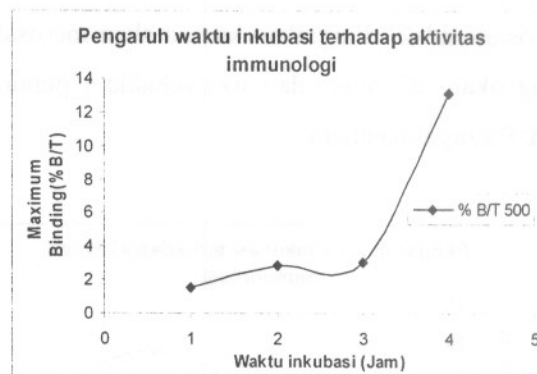
immunologi yang lebih kecil. Volume standar akan mempengaruhi kecepatan reaksi, semakin besar volume standar yang digunakan maka semakin lama tercapai kesetimbangan.



**Gambar 5.** Pengaruh volume standar terhadap aktivitas immunologi yang dihasilkan

Hasil *assay* pada percobaan variasi waktu inkubasi menggunakan jumlah cacahan perunut  $\pm 100000$  cpm, volume perunut 50  $\mu\text{L}$  dan volume standar CA-125 50  $\mu\text{L}$  dapat dilihat Gambar 6 yang menunjukkan bahwa aktivitas immunologi tertinggi dihasilkan dengan waktu inkubasi semalam, yaitu aktivitas immunologi (% B/T) sebesar 13,15% untuk standar 500 mIU/mL dan %NSB sebesar 0,53% untuk standar 0 mIU/mL, sedangkan waktu inkubasi yang lain (2 jam, 4 jam dan 2 step) tidak memberikan hasil aktivitas immunologi yang lebih tinggi. Waktu yang diperlukan untuk kesempurnaan suatu reaksi antigen-antibodi dipengaruhi oleh aviditas Ab, kadar antigen dan besarnya molekul antigen yang ditentukan. Semakin tinggi aviditas Ab maka semakin pendek waktu inkubasi yang diperlukan, dan semakin tinggi kadar antigen yang ditentukan (standar/ sampel) maka semakin pendek waktu inkubasi yang dibutuhkan [11]. Urutan

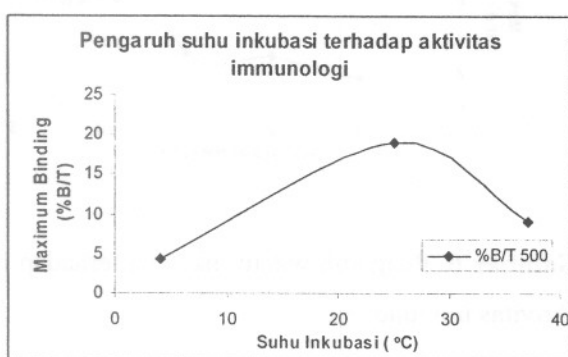
penambahan pereaksi *assay* ternyata tidak berpengaruh pada hasil aktivitas immunologi sebagaimana ditunjukkan pada sistem inkubasi 2 step memberikan %B/T yang rendah yaitu 3,07% dan %NSB sebesar 0,13%.



**Gambar 6.** Pengaruh waktu inkubasi terhadap hasil aktivitas immunologi

Hasil *assay* pada percobaan variasi suhu inkubasi menggunakan jumlah cacahan perunut  $\pm 100000$  cpm, volume perunut 50  $\mu\text{L}$ , volume standar CA-125 50  $\mu\text{L}$  dan waktu inkubasi semalam dapat dilihat pada Gambar 7 menunjukkan bahwa suhu inkubasi yang optimum adalah 25  $^{\circ}\text{C}$  yang menghasilkan aktivitas immunologi (%B/T) tertinggi yaitu 19,0 % untuk larutan standar 500 mIU/mL, sedangkan %NSB larutan standar 0 mIU/mL memberikan aktivitas immunologi 0,53%. Inkubasi pada suhu 4  $^{\circ}\text{C}$  ternyata menghasilkan %B/T untuk larutan standar 500 mIU/mL terlalu rendah yaitu 4,28% dan %NSB untuk larutan standar 0 mIU/mL adalah 0,13%. Hasil ini diduga karena suhu inkubasi yang terlalu rendah. Inkubasi pada suhu 37  $^{\circ}\text{C}$  untuk larutan standar 500 mIU/mL menghasilkan %B/T 9,10% dan %NSB untuk

larutan standar 0 mIU/mL adalah 0,26%. Hasil ini mungkin disebabkan oleh suhu inkubasi yang terlalu tinggi bagi antigen. Peningkatan suhu inkubasi sebenarnya diharapkan mempercepat kesetimbangan reaksi, namun jika suhu terlalu tinggi akan lebih dominan terjadinya disosiasi dibandingkan asosiasi. Disosiasi tidak diinginkan karena akan merusak zat yang akan dianalisis dan menyebabkan penurunan %B/T yang dihasilkan.



**Gambar 7.** Pengaruh suhu terhadap aktivitas imunologi yang dihasilkan.

#### Validasi kit

Kehandalan suatu kit dapat dijamin dengan melakukan evaluasi akhir yang meliputi penentuan kepekaan, ketelitian dan parameter *assay*.

Kepekaan merupakan batas deteksi suatu kit yang menunjukkan konsentrasi minimum antigen yang tidak bertanda yang dapat dibedakan dari sampel yang tidak mengandung antigen. Perbedaan ini berdasarkan limit deteksi (*Confidence Limit*) sama dengan  $\pm 2SD$  dari nilai rata-rata standar 0 dengan 10 kali pengulangan. Pada penelitian ini diperoleh batas deteksi alat 2 mIU/mL dengan

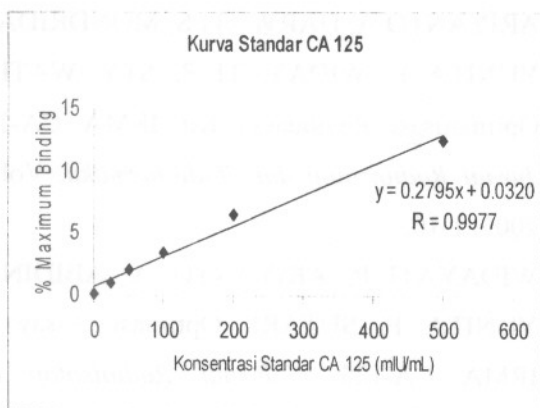
tingkat kepercayaan  $\bar{x} \pm 2SD$  adalah  $0,60 \pm 0,34$

Suatu pengujian bertujuan untuk mendapatkan nilai konsentrasi yang sebenarnya, tetapi dalam kenyataan nilai yang didapat dari hasil pengujian akan menyimpang dari nilai yang sebenarnya disebabkan ketidaktepatan dan ketidaktelitian. Dalam penelitian ini ketepatan kit belum dilakukan.

Ketelitian (presisi) merupakan aspek metode yang memberikan informasi batas (limitasi) pengujian klinis yang relevan, yang menentukan derajat kepercayaan. Ketelitian dinyatakan dalam persen koefisien variasi (%CV) pengamatan pada pengulangan pengujian pada sampel yang sama, umumnya digunakan pengulangan pengukuran kelompok serum kontrol (QC).

Pada penelitian ini pengujian ketelitian kit IRMA CA-125 *intra assay* dilakukan dengan 15 kali pengulangan. Nilai % CV hasil pengujian ini berturut-turut adalah 9,9 dan 2,9 % untuk serum control QC<sub>L</sub> dan QC<sub>H</sub>. Sedangkan untuk pengujian ketelitian *inter assay* dilakukan dengan 7 kali pengulangan. Nilai %CV hasil pengujian ini berturut-turut adalah 13,1 dan 4,9 % untuk QC<sub>L</sub> dan QC<sub>H</sub>. Pengujian parameter *assay* meliputi nilai blanko, nilai ikatan maksimum (*Maximum Binding, MB*), daerah kerja dan nilai serum kontrol. Nilai blanko dikenal dengan istilah persen ikatan tidak spesifik (%NSB) dan nilai ikatan maksimum (%B/T) akan menentukan kurva standar yang didapat. Dari hasil pengujian parameter *assay* berturut-turut didapatkan 0,1 % nilai blanko dan 12,6 % nilai ikatan maksimum.

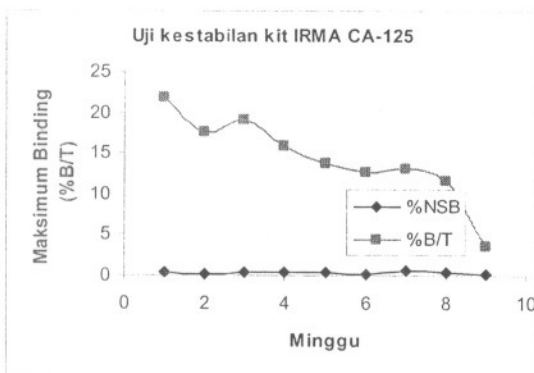




Gambar 9. Kurva standar CA-125.

Pada Gambar 9 ditunjukkan bahwa perubahan konsentrasi standar CA-125 memberikan perubahan % MB yang baik. Hasil ini menunjukkan bahwa larutan standar yang digunakan memberikan linieritas yang baik dengan daerah kerja yang luas yaitu 0 mIU/mL sampai dengan 200 mIU/mL dengan persamaan garis regresi  $Y = 0,2795X + 0,0320$  dan koefisien korelasi  $R = 0,9977$ .

Hasil pengujian kestabilan menunjukkan bahwa kit stabil sampai 8 minggu dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil uji kestabilan kit IRMA CA-125

## KESIMPULAN

Pembuatan komponen kit IRMA CA-125 menghasilkan rendemen penandaan monoklonal anti CA-125 jenis M37203M sebesar 96,5%. Monoklonal antibodi jenis M86924M sebagai penyalut (*coated tube*) dapat memberikan %NSB sebesar 0,21% dan nilai %B/T sebesar 26,11%.

Optimasi rancangan *assay* kit IRMA CA-125 telah dapat dilakukan menggunakan jumlah cacahan perunut terbaik  $\pm 100000$  cpm, volume perunut terbaik adalah 50  $\mu$ L, volume standar CA-125 terbaik adalah 50  $\mu$ L, waktu inkubasi terbaik adalah 16 jam dan suhu inkubasi terbaik adalah 25  $^{\circ}$ C. Komposisi dan kondisi ini menghasilkan aktivitas imunologi sebesar 19,05% (%B/T) dan %NSB sebesar 0,53%.

Validasi kit IRMA CA-125 yang diproduksi secara lokal ini dapat memenuhi persyaratan kit yang baik, sehingga kit ini dapat digunakan lebih lanjut untuk uji klinis di rumah sakit. Kit IRMA CA-125 yang dihasilkan mempunyai batas deteksi 2 mIU/mL, ketelitian yang baik yaitu koefisien variasi (%CV) intra assay untuk QC<sub>L</sub> 9,9% dan QC<sub>H</sub> 2,9% sedangkan %C/V inter assay < 15% untuk QC<sub>L</sub> 13,1% dan QC<sub>H</sub> 4,9%. Kit IRMA CA 125 ini juga menunjukkan karakter yang baik yaitu dengan nilai %NSB dan nilai %B/T adalah 0,1% dan 12,6%, daerah kerja kit yang luas yaitu 0 mIU/mL sampai dengan 200 mIU/mL) serta kestabilan kit 8 (delapan) minggu.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof Swasono R Tamat

dan karyawan dan karyawan bidang Radiofarmaka, serta seluruh pihak yang membantu penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. FIGO, Annual report on the Result of Treatment I Gynecological, *J Epid Biostat*, 1998
2. CREMER DW, Epidemiologi and biosttistic, In: Berek JS, Hacker NF, Pratical Gynecologic Oncologi, 3rd edit, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, pp 263-03.
3. AZIZ, M.F. Pencegahan dan Deteksi Dini Kanker Ovarium. Simposium Pencegahan dan Deteksi Dini Kanker. Hotel Acacia, Jakarta, 2004
4. <http://www.sinarharapan.co.id/ipitek/kesehatan/2003/0606/kes1.html>, 5 Mei 2008
5. [http://www.KonsultasiKesehatan.epajak.org/tumor/Kista Ovarium, Ganaskah?](http://www.KonsultasiKesehatan.epajak.org/tumor/KistaOvarium,Ganaskah?), 5 Mei 2008
6. [http://www.solusisehat.net/berita.php?id=482/Waspadai gangguan siklus haid](http://www.solusisehat.net/berita.php?id=482/Waspadai_gangguan_siklus_haid), 5 Mei 2008
7. DWIPOYONO, B., Aktifitas Caspase 3 sebagai indikator Apoptosis pada sel Kanker Ovarium, *Indonesia Journal of Cancer*, Vol. 1, No. 2, 2007, hal 63-72
8. MIRALLES C, OREA M, ESPANA P., Cancer Antigen 125 Associated With Multiple Benign and Malignant Pathologies, *Annal of Surgical Oncology* 10(2), 2003, 150-154,
9. REDIATNING W, Sukiyati Dj, *Immunoradiometricassay (IRMA) Dalam Deteksi dan Pemantauan Kanker*, *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka* Vol. 3, No. 1, 2000, 55-70
10. ARIYANTO A, DARWATI S, MONDRIDA G, YUNITA F, WIDAYATI P, STYOWATI S, Optimalisasi Pembuatan Kit IRMA CA-125, *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka*, Vol. 6, 2003, 1-10,
11. WIDAYATI P, ARIYANTO A, ABIDIN Z, YUNITA F, SUTARI, Optimasi Assay Kit IRMA CA-125, *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka*, Vol. 9, 2006.
12. WIDAYATI P, ARIYANTO A, SUTARI, MONDIDA G, YUNITA F, DARWATI S Validasi Kit IRMA CA-125, Proseding Seminar Nasional XV Kimia Dalam Industri dan Lingkungan, Jaringan Kerja Sama Kimia Indonesia, Yogyakarta, 2006, hal 185-188
13. IAEA- TECDOC-1001 page 1-95