

UJI KIT RADIOIMMUNOASSAY (RIA) DENGAN MENGGUNAKAN PERANGKAT RIA MEDIA SAMPEL MANUAL

Riswal Nafi Siregar

Pusat Rekayasa Perangkat Nuklir, BATAN

ABSTRAK

Telah dilakukan pengujian Kit RIA dengan menggunakan perangkat RIA media sampel manual. Pada uji kit ini assay yang digunakan untuk menentukan kadar T4 (thyroxine) dalam suatu sampel berupa plasma darah seorang pasien Untuk mendapatkan hasil yang cepat dan tepat, penanganan dan pengolahan hasil pendeteksian ini digunakan perangkat RIA media manual dengan antarmuka devasys USB yang telah menerima data digital paralel. Data ini telah dikonversi oleh modul elektronik perangkat RIA dari bentuk sinyal keluaran dari hasil reaksi menjadi berupa sederetan pulsa serial. Kit RIA ini baik dan stabil karena telah memenuhi syarat maksimum binding (%BIT) dan non spesifik binding (% NSB)

Kata Kunci: kit RIA, perangkat RIA

ABSTRACT

It Has been tested a RIA Kit by using RIA peripheral from manual sample media. The test of this RIA kit uses assay to determine the rate of T4 (thyroxine) in a sample in the form of blood plasma of a patient. To get very quickly result and precisely, the handling and processing of this detection usus RIA result, peripheral of manual media with interface of devasys USB which accepts paralel digital data. This data have been converted by electronic module of RIA peripheral from its output signal shape which is the result of a reaction into sequence of serial format. It has been concluded that This RIA kit is stable and good because it has achieved the standard maximum binding (% BIt) and non specific binding (% NSB).

Keyword: RIA kit, RIA of peripheral

I. PENDAHULUAN

A. Kit RIA

Prosedur Radio-immunoassay merupakan pengembangan dari penyelidikan yang dilakukan oleh Baron dan Yallow [2] mengenai penentuan konsentrasi rendah dari hormon antigen berdasarkan kemampuannya membentuk ikatan dengan antibodi tertentu. Kompetisi antara molekul hormon tak bertanda dengan molekul bertanda (bersifat radioaktif) dalam memperebutkan tempat kedudukan ikatan pada antibodi menyebabkan pengurangan sejumlah ikatan material bertanda pada larutan akhir. Dengan mempelajari hasil perhitungan sejumlah standar dari hormon tak bertanda, konsentrasi sesuatu zat (seperti insulin dan plasma darah pasien) dapat ditentukan. Hal ini disebabkan karena

zat tersebut melakukan kompetisi yang mirip dengan, molekul hormon bertanda pada antibodi. Penambahan sejumlah antigen tak bertanda mengakibatkan tempat ikatan pada antibodi menjadi jenuh. Hal ini dapat menyebabkan berkurangnya jumlah antigen tak bertanda yang membentuk ikatan. Antigen tak bertanda antigen bertanda dan antibodi tersebut merupakan komponen sistem radio-immu noassay.

Inkubasi komponen tersebut menyebabkan terjadinya keseimbangan reaksi. Kemudian dilakukan pemisahan antara antigen yang terikat dengan antigen yang bebas. Setelah itu dilakukan pencacahan terhadap kedua campuran sehingga terjadi kuantisasi dalam reaksi akhir. Dengan demikian prosedur assay dilakukan dengan cara [1]:

- a. penetapan assay yang telah mapan (standar)

- b. pengukuran sampel yang dicari.

Sedangkan assay secara sederhana ditentukan oleh [1] :

- a. pembentuk assay
- b. interaksi antara komponen dalam kondisi dan lingkungan yang sesuai
- c. pemisahan komponen tertentu
- d. pengukuran/pencacahan komponen-komponen dengan menggunakan teknik pengukuran jejak radioaktif
- e. pencacahan sejumlah zat yang telah diketahui jumlahnya dalam larutan.

Zat-zat ini digunakan sebagai standar dalam perbandingan akhir dengan jumlah zat yang dicari dalam suatu sampel

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam optimasi assay, yaitu [3] :

- a. Limit deteksi harus sesuai dengan konsentrasi yang diukur sehingga mampu menganalisis sampel pada batas konsentrasi yang dikehendaki dengan ketelitian tinggi
- b. Persentase maksimum binding (% B/T) diatas 30 %
- c. Non Spesific Binding (% NSB) diusahakan sekecil mungkin atau pada larutan konsentrasi nol
- d. Ketelitian sampel terletak sebanding dengan daerah kurva standar

Dengan demikian kit RIA terdiri dari [1]:

- Tracer (antigen bertanda radio isotop ; senyawa analit yang akan ditentukan)
- Antibodi (antisera) ; merupakan senyawa protein yang dapat berkaitan dengan suatu antigen tertentu
- Standar (kalibrator)
- Larutan kontrol

B. Perangkat RIA Media Sampel Manual

Perangkat RIA media sample manual adalah perangkat RIA yang ada di PRPN dengan tipe IP2 [5]. Perangkat radioimmunoassay (RIA) ini diseder-

hanakan dan disesuaikan dengan keperluan aplikasi klinis. Rancangan perangkat Radio-immunoassay (RIA) ini menggunakan media sampel tabung reaksi yang dimasukkan kedalam detektor, sehingga pencacahan dilakukan secara manual. Pembuatan perangkat ini mengacu pada perangkat RIA yang sudah ada dengan melakukan beberapa modifikasi sesuai dengan keperluan.

Perangkat ini terdiri dari modul elektronik dan modul Mekanik. Modul Elektronik terdiri dari :

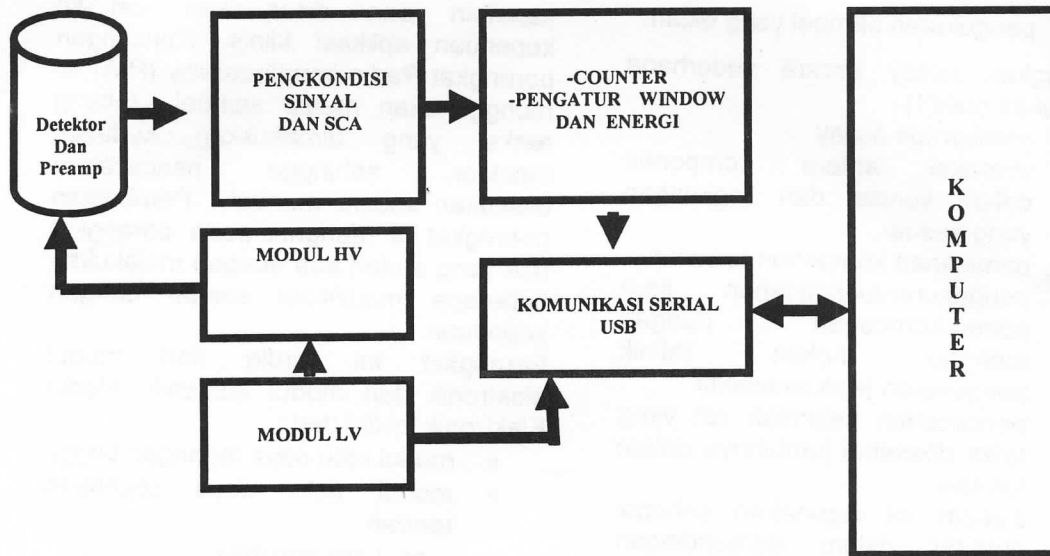
- modul catu daya tegangan tinggi
- modul catu daya tegangan rendah
- modul pre-amplifier
- modul penguat amplifier
- modul pengolah sinyal
- modul pencacah
- modul converter analog digital
- modul interfacing Devasys USB

- modul pencacah
- modul converter analog digital
- modul interfacing Devasys USB

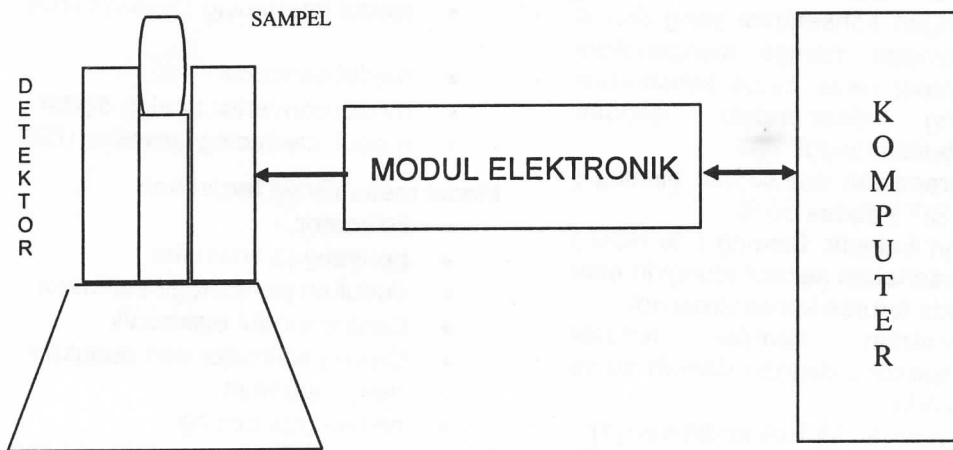
Modul mekaniknya terdiri dari:

- kolimator
- penyangga kolimator
- dudukan penyangga kolimator
- Casing modul elektronik
- Casing kolimator dan dudukan penyangganya
- penyangga casing

Diagram blok sistem perangkat IP2 dan diagram pencacahannya dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2 di bawah ini :



Gambar 1. Blok Modul Pencacah RIA Media Manual



Gambar 2. Sistem Pencacah RIA Media Sampel Manual

II. PENGUJIAN

A Tujuan

Menetapkan rancangan assay kit RIA yang optimum dan menguji kestabilan kit tersebut.

B. Alat dan Bahan Yang Digunakan

Dalam pengujian ini alat/bahan yang digunakan :

a. Perangkat RIA media sample manual tipe IP2 buatan Pusat Rekaayasa Perangkat Nuklir BATAN tahun 2005.

b. Osiloskop analog, 100MHz, elektronik

c. Satu set kit RIA buatan pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR) BATAN yang terdiri dari tracer, Standard dan sampel

d. Detektor NaI(Tl) 2MW2, ukuran nya 0,66"x1,55" dan ukuran PMT 2 "[4]

C. Langkah Pengukuran

1. Siapkan osiloskop analog 100 MHz
2. Set amplifier SCA sampai dengan window yang diinginkan dengan program SCA PRPN BATAN
3. Set tegangan HV dengan menggunakan osiloskop
4. Hubungkan rangkaian seperti pada Gambar 1 di atas beserta osiloskop
5. Siapkan bahan kit RIA dan susun dari Standar hingga sampel yang dicacah seperti Tabel 1
6. Hidupkan saklar catu daya pada modul elektronik untuk mengaktifkan rangkaian dengan kondisi siap dijalankan
7. Masukkan sampel standar ke media sampel manual untuk dilakukan proses pencacahan
8. Nyalakan komputer dan set program RIA versi window XP USB
9. Lalu pengujian siap untuk memberikan pulsa pada detektor sehingga berlangsungnya proses pencacahan

10. Hasil pencacahan dicatat

11. Lakukan perulangan prosedur pencacahan dari nomor 7 untuk sample berikutnya

Tabel 1. Susunan Tabung Assay RIA

TRA	TRA	NSB	NSB
STD1	STD1	STD2	STD2
STD3	STD3	STD4	STD4
STD5	STD5	SMPL1	SMPL1
SMPL2	SMPL2	SMPL3	SMPL3
SMPL4	SMPL4	SMPL5	SMPL5

D. Hasil Pengujian

Hasil Pengujian dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini :

III. ANALISA DAN PEMBAHASAN

Setelah diperoleh data cacahan, maka untuk mendapatkan nilai kadar zat yang ingin ditentukan serta untuk mengetahui keandalan hasil, maka data harus diolah sehingga didapatkan kurva standard. Dari kurva standard maka didapat konsentrasi senyawa/cuplikan yang ingin diketahui.

Pengolahan data diatas digunakan untuk menghitung % NSB dan % B/T. Dari setiap seri variasi komposisi dan kondisi dipilih % B/T tertinggi dan % NSB terendah yang selanjutnya digunakan dalam seri variasi komposisi untuk kondisi berikutnya.

Penentuan Non Specific Binding (% NSB) dan Maximum Binding (% B/T) dilakukan dengan rumus sebagai berikut [2] :

$$\%B/T = \frac{\text{Cacahan Fasa Terikat} - \text{BG}}{\text{Cacahan Total} - \text{BG}} \times 100 \%$$

$$\%NSB = \frac{\text{Cacahan NSB} - \text{BG}}{\text{Cacahan Total} - \text{BG}} \times 100 \%$$

BG = cacah latar belakang

Dari data hasil pengujian, %NSB tidak perlu dicari lagi, karena nilai aktivitas imunologi untuk larutan standar nol adalah nilai NSB. Sedangkan untuk maksimum binding masing-masing dapat dihitung dengan rumus di atas, yaitu

$$BG = 15 + 14/2 = 14,5 \approx 14$$

Untuk cacahan 1 = 355

cacahan 2 = 354

maka :

$$\text{Crata-rata} = 354,5 \approx 354$$

Sedang dari keseluruhan cacahan didapatkan :

$$\text{Ctot} = 942,17 \approx 942$$

Sehingga

$$\%B/T = \frac{344 - 14}{942 - 14} \times 100\%$$

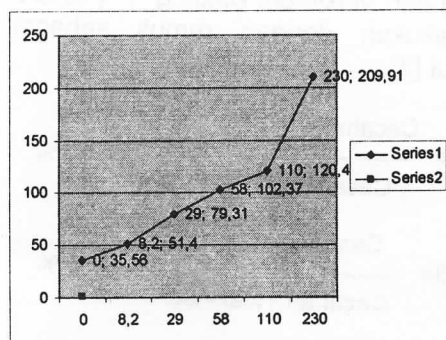
$$= 35,56\%$$

Untuk pencacahan berikutnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 3. Hasil pengolahan data untuk standar

Crata-rata	%B/T	Konsentrasi
354	35,56	0
491	51,4	8,2
750	79,31	29
964	102,37	58
1132	120,47	110
1962	209,91	230

Kurva kalibrasi standar seperti pada Gambar 3. di bawah ini :



Gambar 3. Kurva standar

Dari kurva kalibrasi standar di atas hubungan konsentrasi standar (mIU/mL) dengan % B/T, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi standar semakin tinggi pula % B/T. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kurva maka kalibrasi standar yang didapat adalah baik. Setelah kurva standar didapatkan, selanjutnya diolah masing-masing data sampel untuk maksimum binding (% B/T). Dari hasil olahan data sampel dan kurvanya, maka dilakukan perbandingan terhadap standar untuk mengetahui kit assay yang digunakan hasil cacahan cukup baik.

Adapun maksimum binding (% B/T) masing-masing sampel, yaitu :

$$BG = 15 + 14/2 = 14,5 \approx 14$$

Untuk cacahan 1 = 317

cacahan 2 = 316

maka :

$$\text{Crata-rata} = 316,5 \approx 316$$

Sedang dari keseluruhan cacahan didapatkan :

$$\text{Ctot} = 738$$

Sehingga

$$\%B/T = \frac{316 - 14}{738 - 14} \times 100\%$$

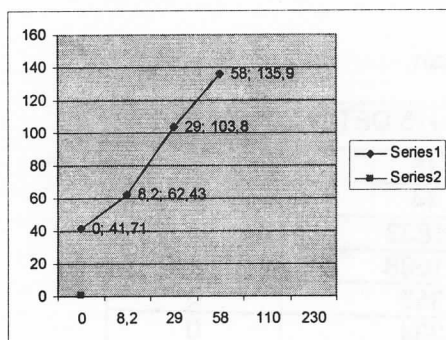
$$= 41,72\%$$

Dan untuk pencacahan berikutnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 4. Hasil pengolahan data untuk sampel

Crata-rata	%B/T	Konsentrasi
316,5	41,72	0
466	62,38	8,2
766,5	103,896	29
998,5	135,95	58
1144	156,05	110

Sehingga didapatkan kurva sampelnya seperti Gambar 4. di bawah ini :



Gambar 4. Kurva sampel

Dari kurva standard dan sample dapat diketahui bahwa nilai aktivitas immunologi (%B/T) > 10%, sehingga sample memenuhi syarat untuk digunakan. Adapun standar deviasi dari rata-rata cuplikan, yaitu :

$$SD = \sqrt{V \text{ cacahan}} \\ = 27,2$$

sedang

$$\Delta \text{ cacahan} = 317 - 316 = 1$$

Maka

$$\Delta \text{ cacahan} < 4SD$$

Sehingga kit assay layak untuk digunakan.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil grafik, maka assay yang dibuat di pusat radioisotope dan radiofarmaka dapat diterima, karena perbedaan cacahannya lebih kecil dari empat kali hasil selisih deviasi akar rata-rata cacahannya. Kemudian sample yang dicuplik dapat diterima oleh standar dengan membandingkan kedua grafik

V. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dra. Wahyuni ZI. MT dan Bapak Joko Sumanto, ST atas bantuannya dalam menguji kit RIA ini dengan menggunakan Perangkat RIA media sampel manual.

VI. DAFTAR PUSTAKA

- [1]. WAYAN R.1991, "Teknologi Produksi KIT RIA", Diklat Produksi Radio Isotop, PPR-BATAN,
- [2]. B.R. BAIRI, BALVINDER SINGH, N.C. RATHOD, P.V.NARURKAR. 1994."Handbook of Nuclear Medical Instrument", Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi.
- [3]. W. REDIATNING.2004. " Prinsip Dasar Radioimmunoassay ", Diklat Pelatihan Radio Farmasi untuk Staf Pengajar Farmasi Perguruan Tinggi Indonesia, P2RR - BATAN, Serpong,
- [4]. SAINT-GOBAN, "Scintillation Products ", Bicron.
- [5]. SIREGAR, RISWAL HANAFI.2006. "Rakayasa Perangkat RIA dengan Media Manual", Prosiding Pertemuan Ilmiah Rekayasa Perangkat Nuklir, PRPN, BATAN, Serpong, 112.

Tabel 2. Data hasil pengujian

NO TABUNG	TABUNG	CACAH /15 DETIK	Konsentrasi
1	BACKGROUND	15	-
2	BACKGROUND	14	-
3	TRA	31832	-
4	TRA	31568	-
5	NSB	355	0
6	NSB	334	0
7	STD1	493	8.2
8	STD1	489	8.2
9	STD2	755	29
10	STD2	745	29
11	STD3	970	58
12	STD3	958	58
13	STD4	1135	110
14	STD4	1130	110
15	STD5	1972	230
16	STD5	1953	230
17	SAMPEL1	317	-
18	SAMPEL1	316	-
19	SAMPEL2	468	-
20	SAMPEL2	464	-
21	SAMPEL3	768	-
22	SAMPEL3	765	-
23	SAMPEL4	1004	-
24	SAMPEL4	993	-
25	SAMPEL5	1148	-
26	SAMPEL5	1140	-