



VALIDASI KIT IRMA TSH UNTUK PENENTUAN KADAR TSH DALAM SERUM DARAH MANUSIA

Validation of the TSH IRMA Kit for Determination of the TSH Levels in Human Blood Serum

Gina Mondrida*, Sutari, Triningsih, Sri Setyowati, V. Yulianti S,
Wening Lestari, Agus Ariyanto, dan Puji Widayati

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR)-BATAN
Jl. Kawasan PUSPIPEK Serpong, Gedung 11, Tangerang Selatan, Banten 15314, Indonesia

Untuk korespondensi: Tel: 085219410875, e-mail: gina-m@batan.go.id

Received: July 26, 2018

Accepted: November 24, 2018

Online Published: December 31, 2018

DOI : 10.20961/jkpk.v3i3.22334

ABSTRAK

Kit IRMA TSH adalah kit yang digunakan untuk penentuan kadar TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*) di dalam serum darah manusia. Hormon tiroid ini merupakan salah satu hormon yang sangat diperlukan tubuh untuk pertumbuhan otak, tulang dan jaringan lain serta mengatur metabolisme di dalam tubuh. Kisaran nilai normal TSH untuk orang dewasa 0,4-4,5 mIU/L, sedangkan untuk bayi 3-18 mIU/L. Apabila tiroid terganggu akan mempengaruhi kualitas tumbuh kembang anak secara optimal. Oleh karena itu perlu dilakukan penetapan kadar TSH di dalam darah guna mengetahui apakah fungsi kelenjar tiroid bekerja secara normal. Penetapan kadar TSH di dalam darah dapat dilakukan dengan metode IRMA (*Immuno radio metric assay*). Metode IRMA merupakan salah satu teknik *immunoassay* yang berdasarkan reaksi imunologi (ikatan antigen-antibodi) dengan menggunakan radionuklida ¹²⁵I sebagai perunut sehingga cuplikan dalam jumlah kecil dapat dideteksi. Selama ini kit IRMA TSH didapat dari impor dengan harga yang cukup mahal. Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka BATAN telah berhasil mengembangkan kit IRMA TSH. Sebelum digunakan dilapangan kit IRMA TSH harus divalidasi meliputi penentuan ketepatan (*accuracy*), kepekaan (*sensitivitas*), ketelitian (*presisi*), dan parameter assay (*Non Specific Binding*, NSB dan *Maximum Binding*, MB) sehingga dapat digunakan untuk penentuan kadar TSH dalam darah. Telah dilakukan validasi kit IRMA TSH yang menghasilkan batas deteksi 0,115 ng/mL dengan ketepatan (*accuracy*) dengan nilai *recovery* sebesar 93,6-108,0 %, ketelitian intra assay diperoleh nilai % CV (QC L) = 1,9848, % CV (QC M) = 3,6360 dan nilai % CV (QC H) = 2,2085 sedangkan ketelitian inter assay diperoleh nilai % CV (QC L) = 11,0055, % CV (QC M) = 5,6768 dan nilai % CV (QC H) = 5,4181. Kit IRMA TSH ini disimpulkan memberikan unjuk kerja yang baik karena menghasilkan % NSB sebesar 0,68 dan % B/T sebesar 34,64.

Kata Kunci: Tiroid, IRMA (*Immunoradiometricassay*), validasi

ABSTRACT

TSH IRMA kit is a kit used for the determination of TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*) levels in human blood serum. Thyroid hormone is a hormone that our bodies need for growth of the brain, bone and other tissues and regulate the metabolism in the body. TSH normal range for adult is in the range of 0.4-4.5 mIU/L, whereas for baby is about 3.0-18.0 mIU/L. Thyroid would affect the quality of optimal growth of children if disturbed. Therefore, TSH assay in the blood needs to be determined to know whether the function of the thyroid gland works normally or not. Detection of TSH in blood can be performed by *Immunoradiometricassay* (IRMA) method. IRMA method is one

of the immunoassay techniques based on immunological reactions (antigen-antibody binding) using radionuclide ^{125}I as a tracer, that sample in small quantity can be detected. IRMA method was developed locally by replacing TSH IRMA kit which is costly since imported from commercial companies. Center for Radioisotope and Radiopharmaceutical Technology (PTRR) BATAN has successfully developed the TSH IRMA kit that can be used to determine the levels of TSH in human blood. TSH IRMA kit must be validated to know the limit of detection, sensitivity, accuracy, precision and the assay parameters, such as Non-Specific Binding (NSB) and Maximum Binding (MB). Validation of TSH IRMA kit had been carried out resulting in the limit of detection of 0.115 ng/mL, accuracy with a recovery of 93.6-108.0 %, intra-assay precision (% CV) QC L = 1.9848, QC M = 3.6360 % and QC H = 2.2085 % while the inter-assay precision (% CV) QC L = 11.0055, QC M = 5.6768 % and QC H = 5.4181 %. It was concluded that this TSH IRMA kit showed good performance based on the % NSB and % B/T of 0.68 and 34.64 %, respectively.

Keywords: Thyroid, IRMA (Immunoradiometric assay), validation

PENDAHULUAN

Validasi adalah suatu tindakan yang membuktikan bahwa suatu proses / metode dapat memberikan hasil yang konsisten dengan spesifikasi yang telah ditetapkan. Validasi metode analisis bertujuan untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan mampu memberikan hasil yang cermat dan handal hingga dapat dipercaya. Validasi biasanya diperuntukkan untuk metode analisis yang baru dibuat dan dikembangkan, sedangkan untuk metode yang memang telah tersedia dan baku tidak perlu dilakukan validasi, hanya verifikasi. Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi suatu kit adalah: ketepatan (*accuracy*), ketelitian (*precision*) dan kepekaan / batas deteksi (*sensitivitas*) [1-4].

Ketepatan (*accuracy*) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Ketepatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kepekaan dapat ditentukan melalui dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*)

atau metode penambahan baku (*standard addition method*) [5].

Ketelitian (*precision*), adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Ketelitian diukur sebagai simpangan baku atau simpangan selektif (koefisien variasi). Ketelitian dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan adalah ketelitian metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi yang sama dan dalam interval waktu yang pendek (*intra assay*). Ketertiruan adalah ketelitian metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda, biasanya dilakukan dalam laboratorium-laboratorium yang berbeda menggunakan peralatan, pereaksi, pelarut dan analisis yang berbeda serta sampel yang dianalisa diduga identik sama dari batch yang sama, tetapi dapat juga dilakukan dalam laboratorium yang sama dengan menggunakan peralatan, pereaksi dan analisis yang berbeda (*inter assay*) [5-6].

Kepekaan /Batas deteksi (*sensitivitas*) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibanding dengan blanko [5].

Hormon tiroid adalah salah satu hormon yang sangat diperlukan tubuh untuk pertumbuhan otak, tulang dan jaringan lain serta mengatur metabolisme di tubuh, hormon tiroid dibutuhkan dalam seluruh tahap kehidupan manusia sejak dalam kandungan, setelah lahir, masa anak-anak, masa remaja sampai usia lanjut. Apabila tiroid terganggu akan mempengaruhi kualitas tumbuh kembang anak secara optimal. Agar kelenjar tiroid melakukan fungsinya, hipotalamus harus melepaskan TRH (*thyrotropin releasing hormon*). TRH kemudian memicu kelenjar pituitari untuk menghasilkan TSH. Kisaran nilai normal TSH untuk orang dewasa 0,4 – 4,5 mIU/L, sedangkan untuk bayi 3 – 18 mIU/L. Kadar TSH yang berada diluar kisaran tersebut diklasifikasikan sebagai hipotiroidisme atau hipertiroidisme. Hipertiroidisme terjadi bila terjadi kelebihan produksi hormone tiroid. Gejala dari kondisi ini diantaranya adalah kelemahan otot, gemetar, kelelahan, denyut jantung cepat, penurunan berat badan, peka terhadap masalah suhu dan masalah penglihatan. Kondisi hipotiroidisme didiagnosa ketika produksi hormon tiroid lebih rendah dari kadar normal. Gejala hipotiroidisme ditandai dengan metabolisme yang melambat, berat badan naik, rambut rontok, intoleransi dingin, nyeri sendi dan otot, kelemahan, kehilangan memori, kulit dan rambut kering, lesu, pucat, penurunan gairah seksual, dan terlalu banyak tidur [7-10].

Penetapan kadar TSH (*Thyroid Stimulating Hormon*) didalam darah dapat dilakukan dengan teknik IRMA (*Immuno-radiometricassay*). Teknik IRMA merupakan salah satu teknik immunoassay yang menggunakan radioisotop sebagai perunut agar mudah dideteksi. Teknik assay ini didasarkan pada reaksi antara antigen (Ag) yang terdapat pada cuplikan atau standar dengan antibodi bertanda (Ab*) yang ditambahkan dalam jumlah berlebih membentuk kompleks antigen-antibodi (Ab-Ag-Ab*). Dengan demikian, semakin tinggi kadar (Ag) yang ada, maka kompleks antigen-antibodi yang terbentuk juga semakin tinggi sehingga akan memberikan cacahan radioaktivitas yang tinggi. Pada IRMA reaksi imunologi yang terjadi non kompetitif karena pereaksi (Ab dan Ab*) yang digunakan selalu dalam keadaan berlebih. Teknik IRMA pada umumnya menggunakan antibodi monoklonal yang jauh lebih spesifik sehingga teknik IRMA mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan teknik RIA [11-14].

Persyaratan Kit IRMA yang baik adalah nilai %CV (*intra assay*) dibawah 10 % dan % CV (*inter assay*) dibawah 15 % dengan nilai ketepatan (*accuracy*) sebesar 90% - 110% serta menunjukkan kinerja *assay* yang baik dengan NSB (*Non Specific Binding*) dibawah 2 % dan ikatan maksimum (%B/T) diatas 10% [14].

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR) BATAN telah berhasil mengembangkan kit IRMA TSH yang dapat digunakan untuk penentuan kadar TSH di dalam serum darah manusia. Adapun tahapan proses pembuatan kit IRMA TSH adalah pembuatan komponen kit, optimasi

assay kit dan validasi kit serta uji banding menggunakan kit komersil. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk menjamin kehandalan kit IRMA TSH yang meliputi penentuan batas deteksi, ketelitian, ketepatan dan parameter assay sehingga kit tersebut dapat digunakan untuk assay *in-vitro* dengan persen ikatan imunologi (*Maximum Binding*, MB) yang tinggi serta ikatan tidak spesifik (*Non Specific Binding*, NSB) yang rendah, dengan demikian kit IRMA TSH dapat digunakan untuk penentuan kadar TSH di dalam serum darah manusia.

METODE PENELITIAN

1. Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah larutan standar TSH (*TSH 98 % pure H6TO4*), Monoklonal antibodi TSH beta *for coated* (E86214M dari Biodesign), Monoklonal antibodi TSH *intact for labelling* (E86712M dari Biodesign), Na¹²⁵I dari PTRR-BATAN, Kolom *PD-10* dari *Pharmacia*, Natriumbisulfid (Na₂S₂O₅) dari Sigma, Kloramin-T, Bovin Serum Albumin, Tricloric Acid, Larutan Dapar Fosfat dari Merck, Tabung star (NUNC, Swedia) dan bahan kimia lainnya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah pencacah gamma (*600 Gammatec II The Nucleus*), *Gamma Management System DPC*, berbagai ukuran pipet mikro beserta tipnya, pH meter merek Fisher Accument model 810, Alat pengaduk (*vortex*) merek VWR, timbangan analitik (*Mettler AE 160*), statif, peralatan gelas, *stop watch* dan rak tabung reaksi.

2. Pembuatan Larutan Perunut TSH^[12]

Ke dalam 3,5 µl (10 µg) larutan Monoklonal antibodi TSH *intact for labelling* (E86712M dari Biodesign) yang ada didalam tabung reaksi ditambahkan 10 µl dapar fosfat 0,5 M pH 7,5 dan sejumlah larutan Na¹²⁵I dengan aktivitas sebesar 0,4 mCi. Setelah itu ditambahkan 10 µl (10 µg) Cloramin-T dalam larutan (0,5M dapar fosfat pH 7,5) sebagai oksidator. Campuran reaksi diaduk dengan menggunakan vortek dan diinkubasi selama 2 menit. Kemudian campuran reaksi tersebut dihentikan dengan penambahan 25 µl (100 µg) larutan Na₂S₂O₅ dalam larutan (0,5 M dapar fosfat pH 7,5) dan 10 µl (10 µg) KI 0,1 %. Hasil penandaan dimurnikan dengan menggunakan kolom *PD-10* (yang sudah dijenuhkan dengan 1 ml BSA 10 %) dengan larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5. Produk monoklonal anti TSH bertanda ¹²⁵I (TSH-¹²⁵I) selanjutnya disebut perunut dielusi dari kolom *PD-10* dengan larutan dapar fosfat 0,05 M pH 7,5 dan fraksi eluat ditampung dalam tabung reaksi 500 ml per fraksi. Tiap fraksi eluat diukur radio-aktivitasnya dengan alat pencacah gamma selama 1 menit.

3. Pembuatan Larutan Standar TSH^[12]

Sebanyak 10 µl Human TSH 98 % pure (H6TO4) dengan konsentrasi (85000 µIU/mL) dilarutkan dengan *horse serum* (yang sudah dilewatkan kedalam kolom *charcoal / celite*) sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 80 µIU/mL (disebut sebagai larutan stok A). Kemudian larutan stok A diencerkan menjadi beberapa konsentrasi standar TSH : 0, 0,5, 2,5, 5, 10, 20 dan 40 µIU/mL dengan menggunakan *horse serum*. Larutan standar ini digunakan untuk membuat

kurva kalibrasi menggunakan prosedur assay (protokol pengujian kit IRMA TSH) sebagaimana tersebut di bawah ini.

4. Pembuatan Coated Tube TSH^[12]

Sebanyak 500 µl larutan monoklonal antibodi TSH beta (E86214M) dengan konsentrasi (3 mg/ml) yang sudah dilarutkan dengan NaHCO₃ 0,05M pH 8,5 (Titer 1:450) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung star NUNC dan diinkubasi selama 22 jam pada suhu kamar. Kemudian tabung dibilas dengan NaHCO₃ 0,05M pH 8,5 yang mengandung 0,1 % BSA (*Bovin Serum Albumin*) dan Tween 0,05 % (*washing solution*). Kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing tabung 1 ml NaHCO₃ 0,05M pH 8,5 mengandung 3 % BSA (*Blocking solution*) dan diinkubasi selama 22 jam pada suhu kamar. Buang cairan, kemudian tabung tersebut dibilas dengan NaHCO₃ 0,05M pH 8,5 + 0,1 % BSA (*Bovin Serum Albumin*) + Tween 0,05 % (*washing solution*). Tabung dikeringkan pada suhu kamar, setelah itu disimpan pada suhu 4°C. Tabung bersalut monoklonal antibodi TSH ini disebut tabung *coated tube* (CT) dan siap digunakan untuk assay.

Setelah diperoleh komponen kit IRMA TSH (perunut, standard dan *coated tube* TSH) yang telah didesain menjadi suatu kit IRMA TSH, maka perlu dilakukan validasi kit tersebut, sebelum kit tersebut digunakan untuk suatu assay.

5. Prosedur Assay kit IRMA TSH^[12]

Ke dalam masing-masing tabung *coated tube* (CT) yang sudah diberi nomor dimasukkan sebanyak 50 µl larutan standar TSH dengan konsentrasi (0, 2,5, 5, 10, 20

dan 40 µIU/mL). Kemudian ditambahkan sebanyak 50 µl larutan perunut TSH dengan aktifitas ± 100.000 cacahan per menit (CPM) dan 300 µl *assay buffer* (PBS 0,05 M pH 7,5 + BSA 0,1 %) kedalam masing-masing tabung. Tabung dikocok hingga homogen dengan menggunakan *vortek* dan diinkubasi semalam pada suhu kamar dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 400 rpm. Supernatan dibuang dengan membalikkan tabung di atas kertas tisu selama 5 menit. Masing-masing tabung diukur dengan alat pencacah gamma selama 1 menit.

6. Penentuan Ketepatan (*Accuracy*)^[14]

Suatu ukuran yang menunjukkan perbedaan antara nilai pengukuran (hasil perhitungan) dengan nilai yang seharusnya. Ketepatan suatu kit ditentukan dari *recovery*. Penentuan *recovery* suatu kit dilakukan dengan cara menambahkan antigen dengan kadar yang sudah diketahui kedalam cuplikan, yang kemudian dianalisis dengan kit yang akan divalidasi. Ketepatan (*accuracy*) suatu kit yang dianggap baik adalah *Recovery* = 90 % – 110 %, dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Recovery = \frac{\text{Kons.diperoleh} - \text{Kons.awal}}{\text{Kons. ditambahkan}} \times 100\% \quad (1)$$

7. Penentuan Ketelitian (*Precision*)^[14]

Kualitas dari suatu kit juga ditentukan dari ketelitian suatu pengukuran (*assay*). Ketelitian 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 sampel TSH yang sudah diketahui konsentrasinya.

Protokol pengujian diatas digunakan untuk menentukan ketelitian dengan menambahkan sampel TSH yang sudah diketahui konsentrasinya (ng/mL) pada tabung CT urutan selanjutnya (15, 16). Pengujian dilakukan minimal 6 kali pengulangan untuk penentuan ketelitian *intra assay* dan *inter assay*. Ketelitian ditentukan oleh persen koefisien variasi (%CV) yang dihasilkan dari analisis, dengan rumus sebagai berikut:

$$\% CV = \frac{SD}{X \text{ rata-rata}} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan. CV = Coeficient Variasi

SD = Standar Deviasi.

8. Penentuan Kepekaan / Batas Deteksi (*Sensitivitas*)^[14]

Batas deteksi suatu kit ditunjukkan oleh konsentrasi minimum antigen yang tidak bertanda yang dapat dibedakan dari sampel yang tidak mengandung antigen. Perbedaan ini berdasarkan batas deteksi ± 2 Standar Deviasi (SD) dari nilai rata-rata standar 0 dengan 10 kali pengulangan. Protokol pengujian diatas digunakan untuk menentukan batas deteksi dengan penambahan larutan standar TSH 0 ng/ mL pada tabung CT nomor urut selanjutnya sebanyak 10 kali (15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24). Kepekaan dihitung berdasarkan nilai ± 2 SD dari rata-rata nilai larutan standar TSH 0 (nol) dalam satuan konsentrasi (ng/mL).

9. Penentuan Parameter Assay^[14]

Parameter assay ditentukan dengan melakukan pengujian sesuai protokol

pengujian meliputi nilai *Non Specific Binding (%NSB)*, *Maximum Binding (%B/T)* dan daerah kerja (rentang kerja). Nilai *Non Specific Binding (%NSB)*, *Maximum Binding (%B/T)*. Penentuan nilai *Non Specific Binding (%NSB)* dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% NSB = \frac{\text{Cacahan NSB - BG}}{\text{Cacahan Total - BG}} \times 100\% \quad (3)$$

Rumus penentuan nilai *Maximum Binding (%B/T)* sebagai berikut :

$$\% B/T = \frac{\text{Cacahan fasa terikat - BG}}{\text{Cacahan Total - BG}} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan. BG = Background

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil validasi kit IRMA TSH diperoleh nilai ketepatan (*accuracy*) dengan *recovery* = 93,6 % - 108 %, sehingga memenuhi persyaratan kit yang baik dengan *recovery* = 90 % - 110 %, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Penentuan ketepatan (*accuracy*)

No. Cuplik-an	kadar awal (uIU/ml)	kadar yang ditambahkan (uIU/ml)	Kadar diperoleh (uIU/ml)	<i>Recovery</i> (%)
1	4,80	2,5	7,46	106,4
2	4,76	2,5	7,48	108,0
3	4,84	2,5	7,44	104,0
4	4,85	2,5	7,47	104,8
5	4,81	2,5	7,46	106,0
6	4,94	2,5	7,36	96,8
7	4,88	2,5	7,26	95,2
8	4,91	2,5	7,25	93,6
9	4,86	2,5	7,20	94,0
10	4,82	2,5	7,19	94,8

Pada pengujian ketelitian kit IRMA TSH *intra assay (Within Assay)* dilakukan dengan 10 kali pengulangan dengan menggunakan standar konsentrasi rendah (QC Low), standar konsentrasi sedang (QC Medium) dan standar dengan konsentrasi tinggi (QC High) yang dilakukan oleh satu orang operator. Dari hasil pengujian *intra assay* diperoleh nilai % CV (QC L) sebesar 1,9848 %, CV (QC M) sebesar 3,6360 % dan nilai % CV (QC H) sebesar 2,2085 % seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. Nilai ini memenuhi persyaratan kit yang baik dengan % CV < 10 % [14].

Tabel 2. Hasil perhitungan konsentrasi TSH untuk *intra assay (Within Assay)*

Pengulangan (n=10)	QC L (ng/mL)	QC M (ng/mL)	QC H (ng/mL)
1	0,50	5,25	10,00
2	0,50	5,74	10,78
3	0,51	5,74	10,27
4	0,51	5,54	10,26
5	0,48	5,36	10,08
6	0,50	5,25	10,00
7	0,51	5,74	10,27
8	0,50	5,36	10,26
9	0,51	5,54	10,08
10	0,49	5,36	10,26
%CV	1,9848	3,6360	2,2085

Pada pengujian *inter assay (Between Assay)* dilakukan dengan 10 kali pengulangan dengan 10 orang operator dengan menggunakan standar konsentrasi rendah (QC Low), standar konsentrasi sedang (QC Medium) dan standar dengan konsentrasi tinggi (QC High). Dari hasil pengujian *inter assay* diperoleh nilai % CV (QC L) sebesar 11,0055 % CV (QC M) sebesar 5,6768 % dan nilai % CV (QC H) sebesar 5,4181 %

seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3. Nilai ini memenuhi persyaratan dengan % CV < 15 % [14].

Tabel 3. Hasil perhitungan konsentrasi TSH untuk *inter assay (Between Assay)*

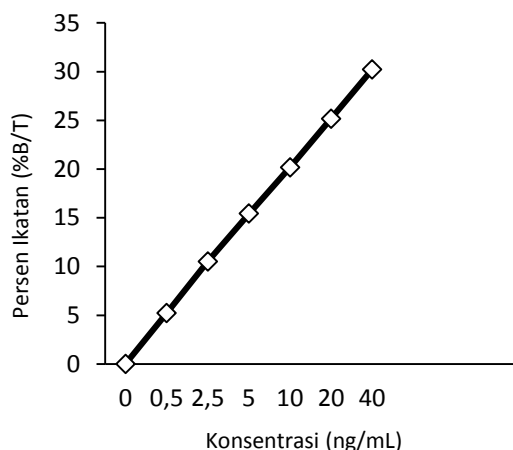
Pengulangan (n=10)	QC L (ng/mL)	QC M (ng/mL)	QC H (ng/mL)
1	0,51	4,80	10,12
2	0,47	5,54	10,80
3	0,55	4,70	9,85
4	0,40	5,20	10,22
5	0,47	5,12	10,65
6	0,55	5,20	9,39
7	0,40	5,41	10,78
8	0,51	4,71	9,25
9	0,52	5,02	10,56
10	0,50	4,90	10,38
%CV	11,005	5,6768	5,4181

Pada penelitian ini diperoleh batas deteksi (sensitivitas): \bar{X} rata-rata \pm 2 SD sebesar $0,115 \pm 0,02$ seperti terlihat pada Tabel 4. Setiap kit RIA / IRMA mempunyai sensitivitas yang berbeda. Sensitivitas kit yang diinginkan tergantung dari pemakaiannya [14].

Tabel 4. Penentuan batas deteksi

Pengulangan (n=10)	Konsentrasi TSH (ng/mL)
1	0,11
2	0,10
3	0,10
4	0,11
5	0,12
6	0,11
7	0,12
8	0,12
9	0,13
10	0,13
Nilai	Xrata-rata \pm 2 SD = $0,115 \pm 0,02$

Dari hasil pengujian parameter assay didapatkan nilai blangko (%NSB) sebesar 0,68 % dan ikatan maksimum (%B/T) sebesar 34,64 %. Nilai ini memenuhi persyaratan kit yang baik dengan nilai NSB < 2 % dan % B/T >10% [6,14] dengan kurva standar yang linear seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva standar kit IRMA TSH.

KESIMPULAN

Dari hasil validasi yang dilakukan diperoleh ketepatan (*accuracy*) dengan nilai *recovery* sebesar 93,6 % – 108,0 %, ketelitian *intra assay* diperoleh nilai % CV (QC L) = 1,9848, % CV (QC M) = 3,6360 dan nilai % CV (QC H) = 2,2085 sedangkan ketelitian *inter assay* diperoleh nilai % CV (QC L) = 11,0055 %, % CV (QC M) = 5,6768 % dan nilai % CV (QC H) = 5,4181 % dengan nilai batas deteksi sebesar 0,115 ng/mL serta nilai blangko (%NSB) = 0,68 % dan ikatan maksimum (%B/T) = 34,64 %. Validasi kit IRMA TSH tersebut menunjukkan kinerja assay yang baik.

Persyaratan Kit IRMA yang baik adalah nilai %CV (*intra assay*) dibawah 10 % dan % CV (*inter assay*) dibawah 15 % dengan nilai ketepatan (*accuracy*) sebesar 90% - 110%

serta menunjukkan kinerja assay yang baik dengan NSB (*Non Specific Binding*) dibawah 2 % dan ikatan maksimum (%B/T) diatas 10%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada staf Bidang Teknologi Radioisotop dalam penyediaan radioisotop Na¹²⁵I sebagai bahan utama pembuatan perunut TSH (TSH-¹²⁵I), staf Bidang Teknologi Radiofarmaka dan Tim KPTF yang memberi masukan untuk penelitian dan penulisan makalah ini.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Hermita, "Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya," *Departemen Farmasi FMIPA–UI, Majalah Ilmu Kefarmasian*, vol. 1, no. 3, pp.117-135, Desember 2004.
- [2] U. Andreasson *et al.*, "A Practical Guide to Immunoassay Method Validation," *Journal Frontiers in Neurology*, vol. 6:179, pp. 1-8, August 2015.
- [3] Riyanto, *Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025*, Ed.1, Cet.1., Yogyakarta: Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi, 2014.
- [4] I. G. Gandjar and A. Rohman, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2010, pp. 379–391.
- [5] W. Riyadi, *Validasi Metode Analisis*, 24 Maret 2009.
- [6] P. Widayati, *et al.*, "Validasi Kit Radioimmunoassay Aflatoksin B1," *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka*, vol. 18, no. 1, pp. 21–28, Oktober 2015.
- [7] A. Purwanti, Samat, and L. Kusnadi., "Perubahan Kadar Hormon Tiroid pada Penderita Sindroma Nefrotik," *Majalah Medis Indonesia, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*, vol. 43, no. 2, 2008.

- [8] G. A. Brent, "Mechanism of Thyroid Hormone Action," *Journal Clin Invest*, vol. 122, no. 9, pp. 3035-3043, September 2012.
- [9] M. P. Hage and S. T. Azar, "The Link between Thyroid Function and Depression," *Journal of Thyroid Research*, vol. 2012, 2012.
- [10] J. Bernal, *Thyroid Hormones in Brain Development and Function*, Madrid : Instituto de Investigaciones Biomedicas, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC) and Universidad Autónoma de Madrid (UAM), and Center for Biomedical Research In Rare Diseases (CIBERER), 2015.
- [11] G. Mondrida *et al.*, "Pembuatan Komponen Kit IRMA TSH Untuk Deteksi Hormon Tiroid," *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir* 2014, ISSN: 0216-3128.
- [12] G. Mondrida *et al.*, "Optimasi Assay Kit IRMA TSH," *Prosiding Seminar Nasional SDM Teknologi Nuklir. STTN-BATAN*, September 2015, ISSN: 1978-0176.
- [13] G. Mondrida *et al.*, "Pembuatan dan Uji Kestabilan Kit IRMA TSH Produk Litbang PTRR 2014," *Prosiding Pertemuan Ilmiah Radioisotop, Radiofarmaka, Siklotron dan Kedokteran Nuklir*, Oktober 2015, ISSN: 2087 – 9652.
- [14] W. Rediatning, *Dasar-Dasar RIA dan IRMA*. Badan Tenaga Atom Nasional, 1993.