



## OPTIMASI PEMBUATAN COATED TUBE TIROGLOBULIN UNTUK KIT IRMA TIROGLOBULIN

### *Optimization of Thyroglobulin Coated Tube for Thyroglobulin IRMA Kit*

**Sutari\***, Triningsih, Sri Setiyowati, V.Y. Susilo, Agus Ariyanto,  
Puji Widayati, dan Wening Lestari

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR)-BATAN Serpong  
Gedung 11 Kawasan PUSPIPTEK Serpong

Untuk korespondensi: e-mail: [tarisb@batan.go.id](mailto:tarisb@batan.go.id)

Received: July 27, 2018

Accepted: August 24, 2018

Online Published: August 31, 2018

DOI : 10.20961/jkpk.v3i2.22400

### ABSTRAK

*Immunoradiometric assay (IRMA)* adalah suatu metode analisa yang berdasar reaksi imunologi antigen dengan antibodi. Metode ini sangat spesifik dan peka digunakan untuk diagnosis secara *in vitro* dengan jumlah sangat kecil. Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka BATAN, mengembangkan Kit IRMA Tiroglobulin metode *coated tube* yang dapat menentukan kadar tiroglobulin dalam jumlah mikrogram. *Coated tube* ini dibuat dengan cara mengimobilisasi anti tiroglobulin kedalam dasar tabung polistiren. Pengembangan Kit IRMA tiroglobulin melalui beberapa tahap antara lain: optimasi pembuatan komponen, optimasi dan validasi assay. Pada penelitian ini dilakukan optimasi pembuatan komponen *coated tube* yang meliputi pemilihan pelarut, volume pelarut, penggunaan agent penghalang (*blocking agent*), serta volume blocking. *Coated tube* dibuat dalam jumlah banyak sampai diperoleh parameter-parameter yang optimum kemudian dilakukan kestabilan pada *coated tube*. Hasil optimum yang diperoleh dari penelitian ini adalah pelarut buffer fosfat 0,1M pH 7,4 dengan volume 500  $\mu$ L, diblokir menggunakan 500  $\mu$ L BSA 3% dalam pelarut buffer fosfat 0,1M pH 7,4, dengan ikatan maksimum 60,58% dan ikatan tidak spesifik (NSB) 1,40%. Dengan kondisi tersebut *coated tube* stabil hingga 4 minggu.

**Kata Kunci:** *optimasi, coated tube, Tiroglobulin, IRMA*

### ABSTRACT

Immunoradiometric assay (IRMA) is a method of analysis based on immunological reactions of antigens-antibodies binding. This highly specific and sensitive method was used for *in vitro* diagnosis in small quantity of sample. Center for Radioisotope and Radiopharmaceutical Technology, BATAN has developed Thyroglobulin IRMA Kit using coated tube method that can determine thyroglobulin levels in microgram quantities. Coated tube was made with immobilisation of anti thyroglobulin into polystyrene tube. Development of IRMA kit performed through several steps including: optimization component of kit, optimization assay and kit validation. Optimization of coated tube involved selection and volume of solvent, using blocking and non-blocking agent, and volume of blocking agent. The optimum condition for coated tubes was found to be using 0.1M phosphate buffer pH 7.4 with coating volume of 500  $\mu$ L, 3% BSA in 500  $\mu$ L blocking agent 0.1M phosphate buffer pH 7.4, with maximum binding and non-specific binding (NSB) of 60.58 and 1.40%, respectively. The optimized coated tube was found to be stable up to 4 weeks.

**Keywords:** *immunoradiometric assay, Thyroglobulin, coated tube, optimization*

## PENDAHULUAN

Kanker tiroid merupakan sebuah kondisi di mana sel abnormal tumbuh dan berkembang pada kelenjar tiroid. Jenis kanker ini tidak banyak terjadi dan jika gejala kanker tiroid dapat diketahui lebih awal, termasuk mudah dalam penyembuhannya. Kanker tiroid cenderung dialami oleh orang-orang yang usianya mencapai 35-39 tahun. Kanker tiroid sebagian besar 80-85% berasal dari sel folikuler sebagai kanker tiroid ber-diferensiasi. Epidemiologi kanker tiroid berdasarkan registrasi patologi Indonesia menempati urutan ke sembilan. Pemeriksaan laboratorium yang spesifik untuk diagnosa kanker tiroid umumnya tidak ada, kecuali untuk karsinoma tiroid jenis meduler. Kadar  $T_3, T_4$  dan TSH dalam serum umumnya normal untuk kanker tiroid. Pengukuran kadar tiroglobulin pada serum bermakna pada pemantauan setelah pembedahan total tiroidektomi dari kanker tiroid [1,7].

Tiroglobulin (Tg) adalah protein spesifik yang terdapat pada kelenjar tiroid dengan berat molekul 660 k Dalton, dan merupakan prekursor hormon tiroid. Tiroglobulin sebagai penanda penting kanker tiroid residual atau rekuren [8]. Tiroglobulin merupakan penanda paling sensitif untuk mendeteksi kekambuhan kanker tiroid yang terdiferensiasi. Namun adanya antibodi anti tiroglobulin (TgAb) mengganggu pengukuran Tg [1,3,4,7]. Kadar Tiroglobulin normal dalam serum  $\leq 50$  ug/ml [9].

Teknologi nuklir terbukti dapat mengukur peningkatan kadar tiroglobulin dalam serum menggunakan Kit IRMA (Immunoradiometric Assay) Tiroglobulin metode *coated tube* yang dikembangkan Pusat Teknologi Radioisotop

dan Radiofarmaka (PTRR) BATAN. Kit IRMA Tiroglobulin sangat sensitif karena menggunakan radioaktif sebagai perunut dan kespesifikan yang tinggi karena menggunakan monoklonal antibodi.

Teknik IRMA yang sangat sensitif dan spesifik dapat menentukan kadar tiroglobulin dalam serum dalam jumlah mikrogram karena digunakan antibodi yang berlebih, dengan demikian reaksinya non kompetitif (substitusi). Dalam praktik, setelah proses pemisahan antara fraksi terikat dan fraksi bebasnya, nilai keradioaktifan fraksi terikat dicacah menggunakan pencacah gamma. Makin banyak antigen yang terikat dalam standar/sampel, maka makin tinggi keradioaktifan fraksi terikatnya. Hubungan antara konsentrasi dengan persen keradioaktifan fraksi terikat adalah berbanding lurus. Nilai keradioaktifan yang terikat ditentukan dengan rumus :

Persen ikatan Maksimum,

(*Binding per total = B/T*)

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

Persen Ikatan Tidak Spesifik (*Non Specific Binding*, NSB)

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

Kit RIA/IRMA yang baik menunjukkan kinerja assay dengan nilai (B/T) Persen ikatan Maksimum,  $\geq 30\%$  dimana nilai tersebut tidak boleh turun drastis sampai sebelum waktu kadaluwarsanya, sedangkan nilai NSB (%) adalah serendah mungkin dan tidak boleh lebih dari 5% [2-4].

Kit IRMA tiroglobulin yang dikembangkan PTRR-BATAN sangat cocok untuk penentuan kadar tiroglobulin dalam serum.

Kit ini terdiri atas 3 komponen yaitu antibodi tiroglobulin yang diimobilisasi kedalam dasar tabung polistirena (*coated tube*), antibodi tiroglobulin bertanda  $^{125}\text{I}$  (*tracer*) dan antigen yang terdapat dalam sampel/standar. Metode IRMA merupakan metode pengukuran yang berdasar pada reaksi imunologi (ikatan antigen-antibodi), dimana akan terjadi reaksi antara antigen (Ag) yang terdapat pada sampel/standar dengan antibodi monoklonal bertanda ( $\text{Ab}^*$ ) berlebih [2-5].

Prinsip pengukuran kadar tiroglobulin dengan teknik IRMA tiroglobulin metode *coated tube* : antigen tak bertanda yang ada dalam standar/sampel dan perunut tiroglobulin (antibodi bertanda  $\text{Ab}^*$ ) dalam jumlah berlebih dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diimobilisasi dengan anti tiroglobulin (*coated tube*). Setelah campuran diaduk rata dan diinkubasi pada waktu serta suhu tertentu, maka dilakukan pemisahan antara antibodi ( $\text{Ab}^*$ ) terikat dan antibodi ( $\text{Ab}^*$ ) bebas. Besarnya keradioaktifan  $\text{Ab}^*$  terikat dicacah dengan pencacah gamma. Dalam hal ini semakin tinggi kadar Ag dalam standar/sampel semakin banyak  $\text{Ab}^*$  yang terikat ( $\text{Ag-Ab}^*$ ) yang terbentuk.

Untuk mendapatkan Kit IRMA yang baik perlu dilakukan optimasi pembuatan komponen kit, optimasi assay, validasi dan uji klinis. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan salah satu komponen kit IRMA tiroglobulin yaitu *coated tube* dengan kinerja yang baik dan stabil. Untuk itu dilakukan optimasi pembuatan *coated tube* yang meliputi pemilihan pelarut, volume pelarut, tabung yang dibloking dan tanpa dibloking serta volume bloking.

## METODE PENELITIAN

### 1. Tata Kerja

#### Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah monoklonal anti-tiroglobulin untuk *coated tube* E 01326 M (Biodesign), *Tracer* Tg- $^{125}\text{I}$  buatan PTRR, Standar Tg PTRR, dapar fosfat 0,1 M pH 7,4, dapar karbonat 0,01 M pH 9,6, dapar karbonat bikarbonat 0,05 M pH 8,6, dapar bikarbonat 0,05 M PH 8,6, *Bovin Serum Albumin* (BSA) Sigma, Tween 20 (Merck) Natrium klorida (Merck), Tabung polistiren berdasar bintang (NUNC).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rak tabung, pengaduk vortex VWR, mikropipet beserta tipnya, pengaduk *shaker* Heidolf, pencacah gamma DPC.

### 2. Cara Kerja

#### a. Titer Anti Tiroglobulin

Satu seri larutan anti-tiroglobulin dibuat dalam dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 dengan perbandingan : 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:4000 dan seterusnya, kemudian larutan diaduk rata dan dimasukkan ke dalam tabung polistiren dasar bintang masing-masing 500  $\mu\text{L}$ . Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur kamar. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan 1 kali 1 mL larutan pencuci (dapar fosfat 0,01 M pH 7,4 mengandung 0,05% Tween 20). Setelah agak kering ke dalam tabung dimasukkan 500  $\mu\text{L}$  dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 yang mengandung BSA 3%. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur kamar. Larutan dibuang dan tabung dicuci dengan 1

kali 1 mL larutan pencuci. Tabung dikeringkan dan dilakukan uji imunologi untuk mengetahui titer anti-tiroglobulin.

#### **b. Uji Imunologi *Coated Tube* Tiroglobulin Prosedur Baku.**

*Coated tube* anti-tiroglobulin disiapkan, kemudian 100  $\mu$ L standar tiroglobulin dimasukkan ke dalam tabung *coated tube* tersebut. Sebanyak 200  $\mu$ L *tracer* tiroglobulin dengan cacahan  $\pm$  200000 cpm (cacahan permenit) ditambahkan dan campuran dihomogenkan dengan pengaduk vortek. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam sambil diaduk dengan *shaker* pada kecepatan 400 putaran permenit. Cairan dibuang dan tabung dicuci 1 kali dengan 1 mL larutan pencuci. Tabung dikeringkan kemudian dicacah menggunakan pencacah gamma dan dihitung besar keradioaktifan fraksi terikat.

#### **c. Optimasi Pembuatan *Coated Tube* Variasi Pelarut**

Larutan anti tiroglobulin dibuat 1:4000 (dari hasil titer) dengan variasi jenis larutan dapar. Adapun dapar yang digunakan adalah dapar fosfat 0,1 M pH 7,4, dapar karbonat bikarbonat 0,05 M pH 8,5, dapar bicarbonat 0,05 M pH 8,6, dapar karbonat 0,05 M pH 9,6. Larutan dimasukkan ke dalam tabung polistiren dasar bintang masing-masing sebanyak 500  $\mu$ L. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci yang sesuai dengan pelarut anti tiroglobulin (dapar fosfat 0,01 M pH 7,4, dapar karbonat bikarbonat 0,01 M pH 8,5, dapar bicarbonat 0,01 M pH 8,6, dapar karbonat 0,01 M pH 9,6 masing-masing mengandung 0,5% Tween

20). Setelah agak kering tabung dibloking dengan 500  $\mu$ L larutan bloking sesuai pelarut (dapar fosfat 0,1 M pH 7,4, dapar karbonat bikarbonat 0,05 M pH 8,5, dapar bicarbonat 0,05 M pH 8,6, dapar karbonat 0,05 M pH 9,6, masing-masing mengandung BSA 3%). Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci yang sesuai dengan pelarut (dapar fosfat 0,01 M pH 7,4, dapar karbonat bikarbonat 0,01 M pH 8,5, dapar bicarbonat 0,05 M pH 8,6, dapar karbonat 0,05 M pH 9,6 masing-masing mengandung 0,5% tween 20). Tabung dikeringkan dan dilakukan uji imunologi dengan prosedur imunologi *coated tube*.

#### **d. Optimasi Pembuatan *Coated Tube* Variasi Volume *Coating***

Dibuat larutan anti-tiroglobulin dalam dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 dengan perbandingan 1:4000 (hasil optimasi pemilihan pelarut), setelah homogen larutan dimasukkan ke dalam tabung polistiren dasar bintang dengan variasi volume 250  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, 750  $\mu$ L dan 1000  $\mu$ L. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci (dapar fosfat 0,01 M pH 7,4 mengandung 0,5% Tween 20). Setelah agak kering tabung dibloking dengan 500  $\mu$ L larutan bloking (dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 yang mengandung BSA 3%). Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci (seperti diatas). Tabung dikeringkan dan dilakukan uji

immunologi dengan prosedur immunologi *coated tube*.

#### **e. Optimasi Pembuatan *Coated Tube* (Diblokir dan Tanpa Blokir)**

Anti-tiroglobulin dilarutkan 1:4000 dalam dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 (hasil optimasi pemilihan pelarut), setelah homogen larutan didispensing dalam tabung polistiren dasar bintang masing-masing 500  $\mu\text{L}$  (hasil variasi volume *coating*). Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang kemudian tabung dicuci dengan larutan pencuci sebagian tabung dibiarkan kering dan dilakukan uji immunologi.

Sebagian tabung yang lain setelah agak kering kemudian diblokir dengan 500  $\mu\text{L}$  larutan blokir (dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 mengandung BSA 3%). Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci. Tabung dikeringkan dan dilakukan uji imonologi dengan prosedur immunologi *coated tube*.

#### **f. Optimasi Pembuatan *Coated Tube* (Variasi Volume Blokir)**

Anti-tiroglobulin dilarutkan 1:4000 dalam dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 (hasil optimasi pemilihan pelarut), setelah homogen larutan didispensing dalam tabung polistiren dasar bintang masing-masing 500  $\mu\text{L}$  tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang tabung dicuci dengan larutan pencuci, setelah agak kering tabung diblokir dengan larutan blokir variasi

volume : volume 250  $\mu\text{L}$ , 500  $\mu\text{L}$ , dan 750  $\mu\text{L}$ . Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci. Tabung dikeringkan dan dilakukan uji imonologi dengan prosedur immunologi *coated tube*.

#### **g. Pembuatan *Coated Tube***

Anti-tiroglobulin dilarutkan 1:4000 dalam dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 setelah homogen larutan didispensing dalam tabung polistiren dasar bintang masing-masing 500  $\mu\text{L}$ . Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang dan tabung dicuci dengan larutan pencuci, setelah agak kering tabung diblokir dengan 500  $\mu\text{L}$  (hasil optimasi volume larutan blokir). Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam pada temperatur ruang. Cairan dibuang kemudian tabung dicuci dengan larutan pencuci. Tabung dikeringkan kemudian diuji dengan prosedur immunologi *coated tube*.

#### **h. Uji Kestabilan *Coated Tube***

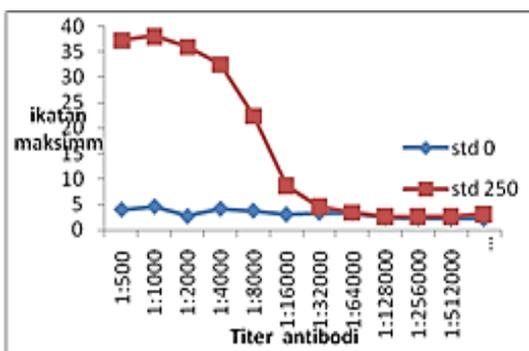
*Coated tube* anti-tiroglobulin disiapkan dengan prosedur yang sudah optimum (dibuat dalam jumlah banyak). Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  standar tiroglobulin dimasukkan ke dalam tabung *coated tube* ditambah 200  $\mu\text{L}$  *tracer* tiroglobulin dengan cacahan  $\pm 200000$  cpm (cacahan permenit) campuran dihomogenkan dengan pengaduk vortek. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam sambil diaduk dengan *shaker* dengan kecepatan 400 putaran permenit. Cairan dibuang tabung dicuci dengan 1 kali 1mL larutan pencuci. Tabung dikeringkan

kemudian dicacah dengan pencacah gamma dan dihitung besarnya keradioaktifan fraksi terikat. Uji imunologi terhadap *coated tube* dilakukan secara berkala setiap dua minggu sekali selama sepuluh minggu.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Titer anti-tiroglobulin perlu dilakukan dalam pembuatan *coated tube* tiroglobulin, sebelum *coated tube* tiroglobulin dibuat dalam jumlah yang banyak. Titer antitiroglobulin dilakukan untuk mengetahui jumlah antibodi yang diperlukan dalam pembuatan *coated tube*.

Hasil titer anti-tiroglobulin dapat dilihat pada gambar 1.

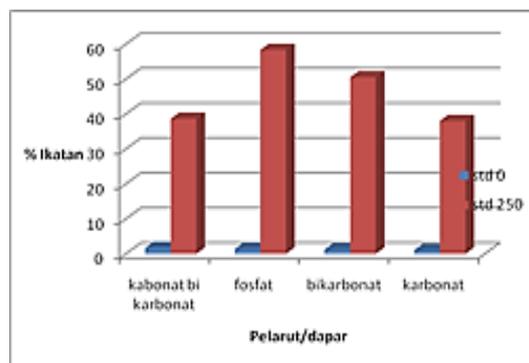


Gambar 1: Kurva Titer Anti-Tiroglobulin

Gambar 1 menunjukkan kurva titer anti-tiroglobulin diperoleh ikatan maksimum 38% dan NSB 3,75%, pada pengenceran 1:1000. Dalam penelitian ini dipilih pengenceran 1:4000 dengan ikatan maksimum 34% dan NSB 2,83% untuk menghemat jumlah monoklonal antibodi yang digunakan.

Optimasi pembuatan *coated tube* dilakukan dengan beberapa parameter meliputi : variasi jenis pelarut, variasi volume *coating*, variasi dengan dan tanpa *blocking* dan variasi volume *blocking* [6].

Optimasi pembuatan *coated tube* tiroglobulin variasi pelarut dilakukan menggunakan dapar: karbonat bikarbonat 0,05 M pH 9,6, fosfat 0,1M pH 7,4, bikarbonat 0,05 M pH 8,6 dan karbonat 0,05 M pH 9,6. Hasil Optimasi dapat dilihat pada gambar 2.

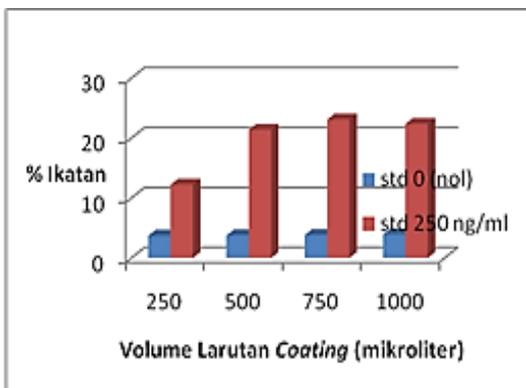


Gambar 2: Grafik Optimasi Pembuatan *Coated tube* variasi Pelarut

Dari gambar 2, paling optimum diperoleh pada ikatan maksimum 58,36% dan NSB 1,40% menggunakan pelarut dapar fosfat 0,1M pH 7,4, kemudian dapar bikarbonat 0,05 M pH 8,6 diperoleh ikatan maksimum 50,53% NSB 1,25%, sedang dapar karbonat bikarbonat 38,66% NSB 1,65% dan dapar karbonat 38,04% NSB 1,06%. Optimasi pembuatan *coated tube* dilanjutkan dengan dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 sebagai pelarut anti-tiroglobulin .

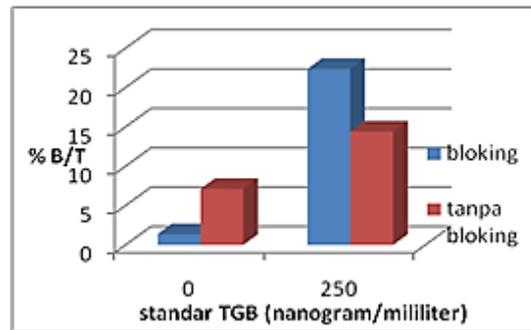
Gambar 3. menunjukkan bahwa optimasi volume *coating* diperoleh hasil optimum pada volume *coating* 750 µL dengan ikatan maksimum 23,08% dan NSB 3,84%, sedang pada volume 500 µL dengan ikatan maksimum 21,45 % NSB 3,76%. Kedua hasil ini tidak menunjukkan perbedaan yang berarti, maka dipilih volume *coating* 500 µL untuk mengurangi penggunaan jumlah antibodi. Volume *coating* 250 µL diperoleh ikatan maksimum 12,85 % dan NSB 3,70%. Hasil ini sangat rendah karena

volume *coating* kurang dari volume assay sehingga mengakibatkan masih ada antigen/standar yang tidak berikatan dengan antibodi. Pada volume *coating* 1000  $\mu\text{L}$  diperoleh ikatan maksimum 22,35% dan NSB 3,94%. Hal ini dimungkinkan karena protein yang terlarut pada volume tersebut sudah jenuh. Hasil optimasi volume *coating* pada optimasi pembuatan *coated tube* tiroglobulin dapat dilihat pada gambar 3.



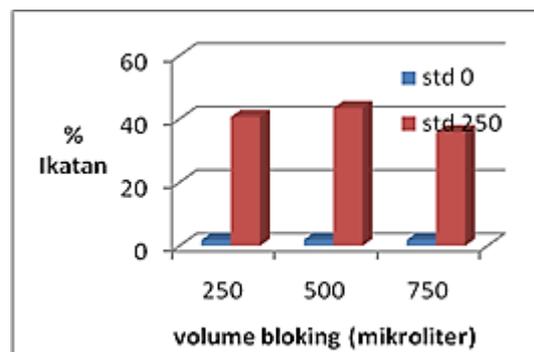
Gambar 3: Grafik Optimasi Volume *Coating*

Setelah diperoleh optimasi pelarut dan volume *coating* dilanjutkan optimasi pembuatan *coated tube* tiroglobulin antara dibloking dan tanpa dibloking. Tujuan bloking adalah untuk menutup pori tabung yang tidak terlapsi antibodi dan untuk melapsi antibodi yang termobilisasi ke dinding tabung agar tidak mudah lepas. Dari percobaan menunjukkan perbedaan yang sangat berarti yaitu *coated tube* dengan bloking diperoleh ikatan maksimum 22,38% dan NSB yang rendah 1,38%, sedang yang tanpa dibloking diperoleh ikatan maksimum 14,43% dan NSB yang tinggi 7,13%. Hal ini dimungkinkan *tracer* tiroglobulin terimobilisasi pada dinding tabung yang tidak tertutup BSA. Data perbedaan *coated tube* tiroglobulin dibloking dan tanpa bloking dapat dilihat pada gambar 4.



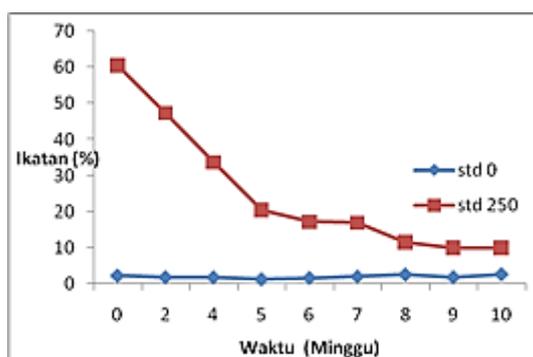
Gambar 4: Grafik optimasi *coated tube* antara dibloking dan tanpa dibloking.

Gambar 5 menunjukkan optimasi pembuatan *coated tube* variasi volume larutan bloking : 250  $\mu\text{L}$ ; 500  $\mu\text{L}$ ; 750  $\mu\text{L}$ , berturut-turut dengan ikatan maksimum 40,67 % NSB 1,89 %, 43,47 % NSB 1,99% dan 35,92% dengan NSB 1,92%. Kondisi optimum diperoleh pada volume bloking 500  $\mu\text{L}$  dengan ikatan maksimum 43,47% dan NSB 1,99%. Hasil ini sama dengan volume larutan *coating*. Hasil optimasi pembuatan *coated tube* variasi jumlah larutan bloking dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5: Grafik optimasi pembuatan *coated tube* tiroglobulin variasi larutan blocking.

Setelah diperoleh hasil yang optimum pada optimasi pembuatan *coated tube*, maka untuk mengetahui kualitas dari *coated tube* dilakukan uji kestabilan *coated tube* selama 10 minggu. Kestabilan *coated tube* tiroglobulin dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6: Grafik Kestabilan *Coated tube* Selama 10 minggu.

Grafik kestabilan *coated tube* tiroglobulin (Gambar 6) terlihat pada awal pembuatan setelah diuji imunologi diperoleh ikatan maksimum 60,58% dan NSB 2,43%. Setelah 4 minggu terlihat penurunan yang sangat berarti dengan ikatan maksimum 33,59%. Hal ini diduga salah satu komponen sudah mulai rusak. Misalnya *tracer* sudah mendekati waktu paruh, namun masih memenuhi syarat Kit IRMA yang baik.

## KESIMPULAN

Dari penelitian optimasi pembuatan *coated tube* Tiroglobulin dapat disimpulkan bahwa telah diperoleh titer monoklonal antibodi 1:4000 dan kondisi optimum menggunakan pelarut dapar fosfat 0,1M pH 7,4 dengan volume *coating* 500  $\mu$ L, diblocking menggunakan 500  $\mu$ L dapar fosfat 0,1M pH 7,4 mengandung 3% BSA dengan ikatan maksimum 60,58% dan NSB 1,40% dan *coated tube* stabil selama 4 minggu.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada ibu Dra. Siti Darwati, M.Sc. selaku Kepala Pusat dan bapak Dr. Rohadi Awaludin selaku Kepala Bidang Teknologi

Radiofarmaka serta seluruh staf dan teknisi kelompok radioassay bidang Teknologi Radiofarmaka PTRR-BATAN atas terselesainya penelitian ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Agus Wibowo dan Muhammad Samsudin "Hubungan kadar tiroglobulin dengan TSH dan fT4 serum pada anak sekolah di tiga kabupaten dengan tingkat endemisitasdefisiensi iodium yang berbeda", *Majalah Penelitian Gizi dan Makanan Balai Litbang GAKI, Badan Litbangkes Kemennkes R.I*, Vol.36, No. 1, pp:12-19, 2013.
- [2] Wayan Rediatning. "Dasar-dasar RIA dan IRMA, diklat Operator Radioimmunoassay (RIA) PRR-Batan Januari 1993".
- [3] Siti Darwati ".Teknik Radioimmunoassay (RIA), Diklat Produksi dan Penggunaan Sediaan Radiofarmasi". Pusat Produksi Radioisotop-Batan, 1994.
- [4] Sutari, dkk., "Optimasi assay Kit RIA Mikroalbumin Urea Metode Coated tube". *Prosiding Seminar Nasional XI, SDM Teknologi Nuklir, Yogyakarta, 2015*.
- [5] Byeong-Cheol Ahn, et.al., "Estimation of True Serum Thyroglobulin Concentration Using Simultaneous Measurement of Serum Antithyroglobulin Antibody". *International Journal of Endocrinology*, Volume 2013 (2013), Article ID 210639, 7 pages.
- [6] Gina Mondrida, dkk., "Optimasi Assay Kit IRMA TSH", *Prosiding Seminar Nasional XI, SDM Teknologi Nuklir Yogyakarta, 2015*.
- [7] R. P. Aprilia dkk., "Spesifitas dan-sensitifitas thyroglobulin dan profil Protein Serum Tikus (*Ratus Norvegitus*), Model Autoimmun Thoriditis", Program Studi Kedokteran Hewan, Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

- [8] F. R. Amsriz & H. Hardijanto, Bagian Ilmu Bedah; Sub Bagian Ilmu Bedah Onkologi. Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada. Hubungan Usia Dengan Kejadian Kanker Tiroid Di Rumah Sakir Dr. Sadjito.
- [9] Prosedur Reyky hTg [<sup>125</sup>I] IRMA KIT