

Produksi Kit *Immunoradiometricassay* (IRMA) CA-125 untuk Deteksi Dini Kanker Ovarium

PUJI WIDAYATI*, AGUS ARIYANTO, WENING LESTARI

Pusat Radioisotop Radiofarmaka (PRR)-BATAN
Gedung 11, Kawasan PUSPITEK Serpong, Tangerang, 15314

Diterima 2 Desember 2008, Disetujui 12 Agustus 2009

Abstract: 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 is almost incurable. Cancer would be easier to cure if detected early. In blood of ovarian cancer patient, Carbohydrate Antigen-125 (CA-125), an antigenic glycoprotein, is presence 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 for the measurement is immunoradiometricassay (IRMA). Our laboratory has developed CA-125 IRMA kit since 2003, at first in form of CA-125 IRMA kit components that consisted of ^{125}I -CA-125 tracer, CA-125 standard, and monoclonal antibody-coated tubes. We then made assay optimization of the IRMA CA-125 kit which gave B/T value of 19.05%, NSB value of 0.53% and working area of 0 to 200 mIU/mL. Our further works on validation of IRMA CA-125 kit using high and low concentration quality control (QC_H and QC_L) showed an intra assay ($n=15$) CV value of 9.9% for QC_L and 2.97% for QC_H , while inter assay ($n=7$) CV value of 13.1% and 4.9% for QC_L and QC_H respectively. The results comply with the IAEA protocol requirement.

Key words: ovarian cancer, immunoradiometricassay (IRMA), CA-125, optimization, validation.

PENDAHULUAN

Kanker ovarium merupakan kanker kandungan dengan penderita terbanyak setelah kanker leher rahim, namun memiliki 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⁽²⁾. Probabilitas terjadinya kanker ovarium meningkat dengan tajam pada umur 45–54 tahun dan terus meningkat sepanjang sisa usia, paralel dengan kadar hormon gonadotropin⁽³⁾.

Di dunia, jumlah penderita kanker ovarium tertinggi terdapat di Norwegia (15,3 per 100.000), terendah di Jepang (3,2 per 100.000) — sebuah perbedaan yang mencapai 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), di Cina Daratan (5,0 per 100.000) maupun di Hong Kong (5,8 per 100.000)⁽⁴⁾.

Berdasarkan data dari Yayasan Kanker Indonesia (YKI), jumlah kanker ovarium menduduki peringkat ke-6 dari jenis kanker ginekologi⁽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 memiliki 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 pun^(1,4,5). Sebagian besar wanita dengan kanker ovarium tidak menunjukkan gejala dalam waktu yang lama.

Gejala umum penderita kanker ovarium sangat bervariasi dan tidak spesifik: pada stadium awal dapat berupa gangguan haid dan, jika tumor sudah menekan rektum atau kandung kemih, mungkin terjadi konstipasi atau sering berkemih atau mungkin pula terjadi peregangan atau penekanan daerah

* Penulis korespondensi, Hp. 081318716129
e-mail: pujiw@batan.go.id

pinggul yang menyebabkan nyeri spontan atau nyeri saat bersenggama.

Menurut penuturan DR. H. Imam Rasjidi, ginekolog dari RSCM, 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. Sebab itu, diperlukan suatu cara deteksi dini kanker agar kemungkinan penyembuhan bagi pasien menjadi lebih besar. Selain 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 korpus, 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 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 untuk penentuan *tumor marker* yang kadarnya sangat bervariasi pada orang normal dan pasien kanker, dalam serum yang memiliki matriks yang kompleks. Teknik *assay* ini didasarkan pada reaksi antara antigen (Ag) yang terdapat pada cuplikan/standard dan antibodi yang bertanda radioaktif (Ab*) dalam jumlah berlebih membentuk kompleks antigen-antibodi (Ag-Ab*). Dengan demikian, semakin tinggi kadar antigen (Ag), makin tinggi pula kompleks antigen-antibodi yang terbentuk sehingga akan memberikan cacahan radioaktivitas yang kian tinggi.

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

Rangkaian produksi kit IRMA CA-125 harus melewati beberapa tahap pengujian yang 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 standard, dan pembuatan *coated tube*⁽¹⁰⁾. Selanjutnya telah dilakukan pula optimasi rancangan *assay kit* IRMA CA-125 tersebut, yang meliputi penetapan jumlah cacahan radioaktivitas perunut, volume perunut, volume standard, 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⁾.

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⁾. Dalam makalah ini dibahas rangkaian lengkap produksi sampai dengan validasi metode.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan adalah monoklonal anti-CA-125 (Biodesign International, USA), CA-125 *antigen calibrator grade* (Biodesign International, USA), Na¹²⁵I (PT Batan Teknologi atau Nordion Canada), tabung Star (NUNC Swedia), *Bovine Serum Albumin* (Sigma), kit IRMA CA-125 komersial (CIAE, China), 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).

METODE. Pembuatan perunut monoklonal anti-CA-125 bertanda ¹²⁵I. Ke dalam sejumlah larutan monoklonal anti-CA-125 jenis M37203M di dalam tabung reaksi yang berisi dapar fosfat salin (BPS) pH 7,4 ditambahkan larutan Na¹²⁵I dan kloramin-T dalam BPS pH 7,4, kemudian dikocok menggunakan alat *vortex*. Selanjutnya ditambahkan Na₂S₂O₄ dalam BPS pH 7,4 dan larutan KI, diinkubasi pada suhu 25°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 ¹²⁵I (selanjutnya disebut perunut) dielusi dari kolom PD-10 dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 dan fraksi eluat ditampung dalam tabung reaksi 500 µl per fraksi. Tiap fraksi eluat diukur radioaktivitasnya dengan alat pencacah gamma selama 1 menit. Monoklonal anti CA-125 yang tidak bertanda maupun produk bertanda ¹²⁵I berada dalam fraksi ke 6-8, sementara Na¹²⁵I sisa berada dalam fraksi beberapa menit setelah itu. Dari perolehan

ini, rendemen penandaan dapat dihitung.

Uji imunologi. Nilai aktivitas imunologi untuk larutan standard 0 dinyatakan sebagai nilai %NSB, sementara nilai aktivitas imunologi untuk larutan standard 500 mIU/ml merupakan ikatan maksimum, %B/T pada sistem *assay*. *Non-Specific Binding* (%NSB) < 2% dan aktivitas immunologi (%B/T) > 10%⁽¹³⁾.

Pembuatan larutan standard 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 standard dengan konsentrasi CA-125 masing-masing 25, 50, 100, 200, dan 500 mIU/ml. Larutan standard ini digunakan untuk membuat kurva kalibrasi menggunakan prosedur *assay* yang sama dengan protokol pengujian kit IRMA CA-125 di bawah.

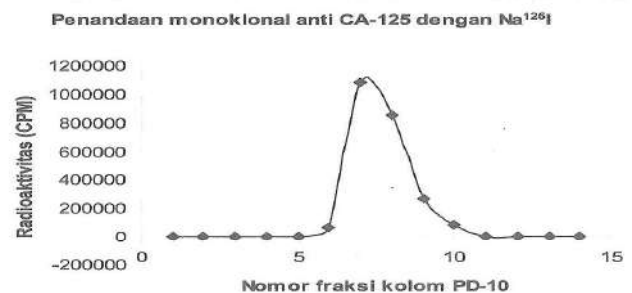
Pembuatan tabung bersalut monoklonal anti-CA-125. Sejumlah larutan monoklonal anti-CA-125 M86294M dimasukkan ke dalam tabung (NUNC) dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu 4°C. Tabung kemudian dibilas dengan air demineralisasi dan didekantasi untuk membuang monoklonal anti-CA-125 yang tidak terikat pada tabung. Sejumlah larutan pelapis ditambahkan, kemudian diinkubasi selama 16 jam pada suhu 4°C, untuk melindungi lapisan antibodi yang telah ter-immobilisasi 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 standard CA-125 0, 25, 50, 100, 200 dan 500 mIU/ml ditambahkan ke dalam masing-masing tabung CT. Sejumlah ±100000 cacahan per menit (CPM) larutan perunut ditambahkan ke dalam masing-masing tabung CT, dikocok dengan *vortex* hingga homogen dan diinkubasi. Masing-masing tabung CT didekantasi, dibilas dengan dapar pencuci dan didekantasi lagi, kemudian masing-masing tabung CT tersebut diukur radioaktivitasnya dengan alat pencacah gamma selama 1 menit. Selanjutnya dihitung %B/T dan %NSB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

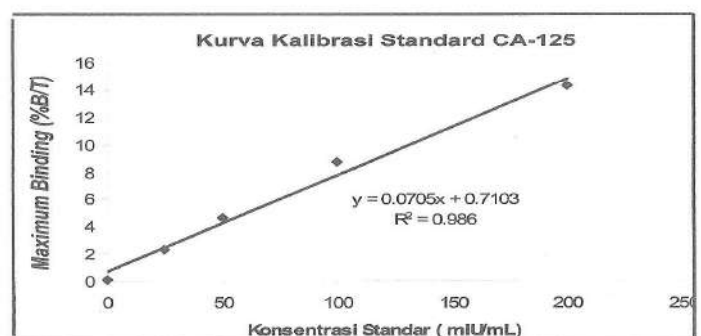
Pembuatan perunut monoklonal anti CA-125 bertanda ¹²⁵I. Penandaan monoklonal anti-CA-125 jenis M37203M dengan radioisotop ¹²⁵I menghasilkan rendemen penandaan sebesar 96,5%, yaitu perbandingan radioaktivitas fraksi kromatografi

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 standard 500 mIU/ml. Fraksi nomor 7 selanjutnya digunakan untuk *assay*.



Gambar 1. Kromatogram fraksi hasil penandaan monoklonal anti-CA-125 dengan ¹²⁵I (volume fraksi 500 µl).

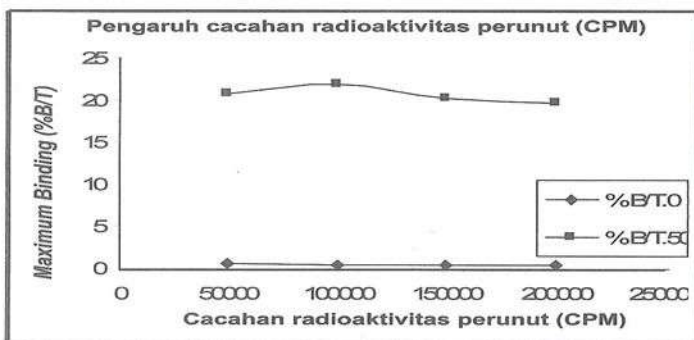
Kurva kalibrasi larutan standard CA-125. Larutan standard CA-125 menghasilkan kurva hubungan antara konsentrasi standard CA-125 (mIU/mL) dan %B/T (disajikan pada Gambar 3) yang menunjukkan perubahan konsentrasi standard CA-125 memberikan perubahan %B/T yang linier. Hasil ini menunjukkan bahwa sensitivitas larutan standard 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 standard CA-125 (mIU/mL) dan %B/T.

Pengujian tabung coated tube (CT). Tabung CT dengan monoklonal jenis M86924M sebagai penyalut menunjukkan aktivitas immunologi untuk standard 0 mIU/ml sebesar 0,1% dan untuk larutan standard 500 mIU/ml sebesar 21,39%.

Optimasi rancangan assay kit IRMA CA-125. Assay dengan menggunakan variasi jumlah radioaktivitas perunut. Pada Gambar 3 ditunjukkan adanya pengaruh radioaktivitas perunut (cpm) terhadap aktivitas immunologi (%B/T). Pada radioaktivitas perunut ± 100.000 cpm didapatkan aktivitas immunologi (%B/T) sebesar 21,90% bila digunakan standard 500 mIU/ml dan merupakan hasil aktivitas immunologi tertinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan radioaktivitas ± 100.000 cpm diperoleh pengikatan antigen-antibodi (Ab-Ag-Ab*) yang paling tinggi. Sementara itu, aktivitas immunologi assay dengan standard 0 mIU/ml, atau nilai %NSB, adalah 0,44%.

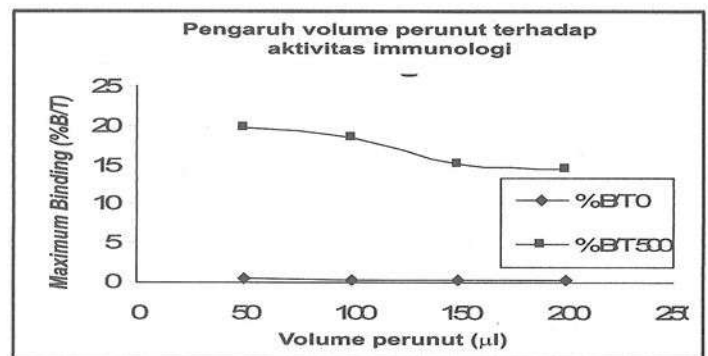


Gambar 3. Pengaruh cacahan radioaktivitas perunut terhadap aktivitas immunologi (%B/T).

Assay menggunakan radioaktivitas perunut yang lain ± 50.000 cpm, ± 150.000 cpm, dan ± 200.000 cpm, tidak memberikan hasil aktivitas immunologi yang lebih tinggi, walaupun makin besar cacahan radioaktivitas perunut, kesalahan cacahan semakin kecil.

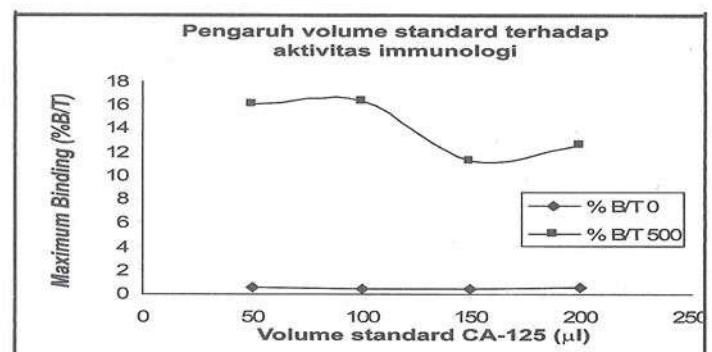
Hasil pada percobaan variasi volume perunut menggunakan cacahan radioaktivitas perunut ± 100.000 cpm disajikan pada Gambar 4 yang menunjukkan bahwa volume perunut mempengaruhi aktivitas immunologi yang dihasilkan. Semakin kecil volume perunut, makin besar aktivitas immunologi yang didapat. Hal ini disebabkan oleh aktivitas perunut yang makin pekat sehingga probabilitas ikatan antibodi bertanda (Ab*) terhadap antigen (Ag) kian besar. Volume perunut yang optimum adalah 50 μ l, ditunjukkan oleh aktivitas immunologi (%B/T)

paling tinggi (yaitu 19,75% untuk standard 500 mIU/ml) dan %NSB (yaitu 0,34% untuk standard 0 mIU/ml). Volume perunut yang lain (100, 150, dan 200 μ l) tidak menghasilkan aktivitas immunologi yang lebih tinggi. Semakin besar volume perunut, menyebabkan pengenceran yang semakin tinggi sehingga Ab* yang terikat Ag makin kecil, dan menyebabkan %B/T yang dihasilkan makin kecil pula.



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

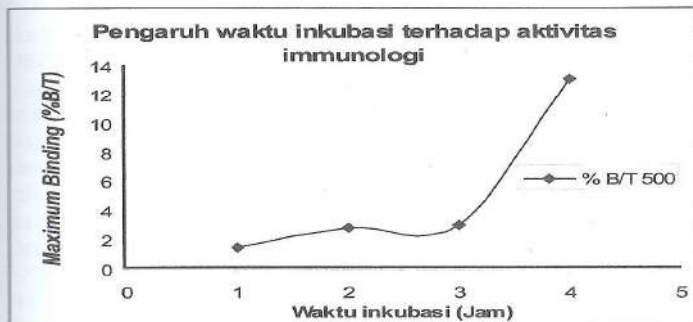
Dari assay pada percobaan variasi volume standard CA-125 menggunakan cacahan radioaktivitas perunut optimum ± 100.000 cpm dan volume perunut optimum = 50 μ l didapatkan hasil aktivitas immunologi seperti disajikan pada Gambar 5 yang menunjukkan bahwa pemakaian volume 100 μ l larutan standard 500 mIU/ml memberikan %B/T yang tertinggi (16,24%) dan %NSB 0,42% untuk standard 0 mIU/ml. Penggunaan volume standard 50 μ l menghasilkan aktivitas immunologi (%B/T) 15,98% untuk standard 500 mIU/ml dan %NSB sebesar



Gambar 5. Pengaruh volume standard terhadap aktivitas immunologi yang dihasilkan.

0,45% untuk standard 0 mIU/ml. Karena perbedaan hasil %B/T yang tidak begitu nyata, pada percobaan selanjutnya digunakan volume standard 50 μ l untuk menghemat penggunaan larutan standard. Penggunaan volume standard yang lain (150 μ l dan 200 μ l) menghasilkan aktivitas immunologi yang lebih kecil. Volume standard mempengaruhi kecepatan reaksi, semakin besar volume standard yang digunakan maka semakin lama tercapai kesetimbangan.

Hasil *assay* pada percobaan variasi waktu inkubasi menggunakan jumlah cacahan perunut \pm 100.000 cpm, volume perunut 50 μ l dan volume standard CA-125 50 μ l disajikan pada Gambar 6 yang menunjukkan bahwa aktivitas immunologi tertinggi dihasilkan melalui waktu inkubasi semalam, yaitu aktivitas immunologi (%B/T) sebesar 13,15% untuk standard 500 mIU/ml dan %NSB sebesar 0,53% untuk standard 0 mIU/ml. Waktu inkubasi yang lain (2 jam, 4 jam, dan 2 *step*) tidak memberikan hasil aktivitas immunologi yang lebih tinggi.

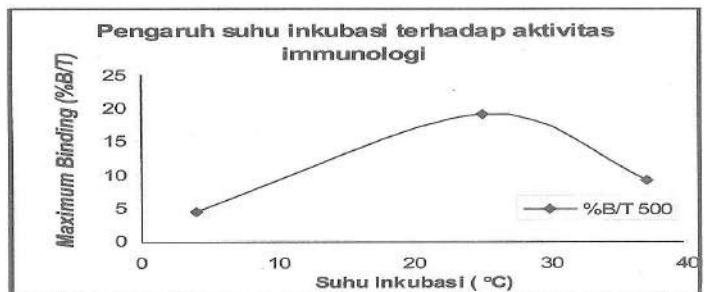


Gambar 6. Pengaruh waktu inkubasi terhadap hasil aktivitas immunologi.

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, makin pendek waktu inkubasi yang diperlukan; dan makin tinggi kadar antigen yang ditentukan (standard/sampel), kian 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%.

Hasil *assay* pada percobaan variasi suhu inkubasi menggunakan jumlah cacahan perunut \pm 100.000 cpm, volume perunut 50 μ l, volume standard CA-125 50 μ l dan waktu inkubasi semalam

disajikan pada Gambar 7 yang menunjukkan bahwa suhu inkubasi yang optimum adalah 25°C yang menghasilkan aktivitas immunologi (%B/T) tertinggi (19,0%) untuk larutan standard 500 mIU/ml, sementara %NSB larutan standard 0 mIU/ml memberikan aktivitas immunologi 0,53%. Inkubasi pada suhu 4°C ternyata menghasilkan %B/T untuk larutan standard 500 mIU/ml terlalu rendah, yaitu 4,28%, dan %NSB untuk larutan standard 0 mIU/ml adalah 0,13%. Hasil yang rendah ini diduga karena suhu inkubasi yang terlalu rendah.



Gambar 7. Pengaruh suhu terhadap aktivitas immunologi yang dihasilkan.

Inkubasi pada 37°C untuk larutan standard 500 mIU/ml menghasilkan %B/T 9,10% dan %NSB untuk larutan standard 0 mIU/ml sebesar 0,26%. Hasil ini mungkin disebabkan oleh suhu inkubasi yang terlalu tinggi bagi antigen. Peningkatan suhu inkubasi sebenarnya dapat mempercepat kesetimbangan reaksi, namun jika suhu terlalu tinggi akan lebih dominan terjadinya disosiasi dibandingkan asosiasi. Disosiasi tidak diinginkan karena akan merusak zat yang dianalisis dan menyebabkan penurunan %B/T yang dihasilkan.

Validasi kit. Keandalan 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 2 SD dari nilai rata-rata standard 0 dengan 10 kali pengulangan. Pada penelitian ini diperoleh batas deteksi alat 2 mIU/mL dengan tingkat kepercayaan \pm 2 SD adalah 0,60 \pm 0,34.

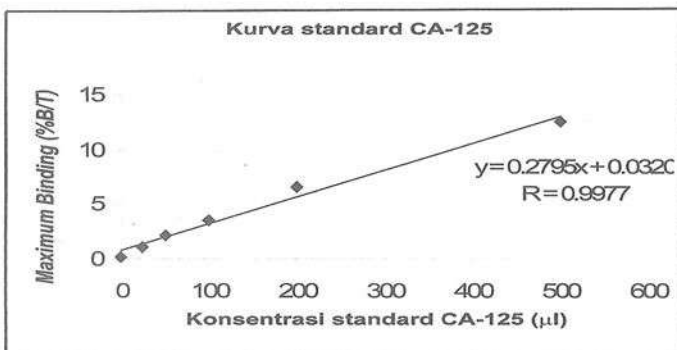
Suatu pengujian bertujuan untuk mendapatkan nilai konsentrasi yang sebenarnya. Tetapi, dalam kenyataan, nilai hasil pengujian biasanya menyimpang dari nilai yang sebenarnya karena

ketidaktepatan dan ketidaktelitian. Dalam penelitian ini uji ketepatan kit belum dilakukan.

Faktor validasi lainnya, 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 kontrol QC_L dan QC_H. Sementara itu, 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_L dan QC_H.

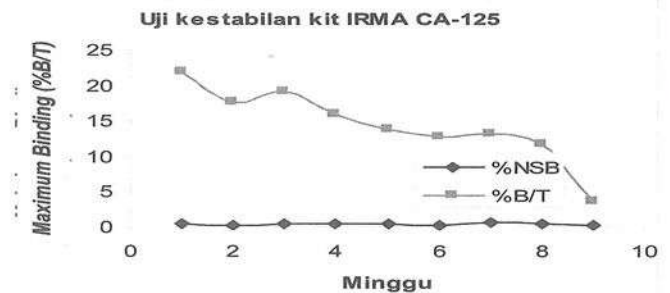
Pengujian parameter *assay* meliputi nilai blanko, nilai ikatan maksimum (*Maximum Binding/MB*), daerah kerja dan nilai serum kontrol. Nilai blanko dikenal dengan istilah persen ikatan tidak spesifik (%NSB) dan nilai ikatan maksimum (%B/T) akan menentukan kurva standard yang didapat. Dari hasil pengujian parameter *assay* berturut-turut didapatkan 0,1% nilai blanko dan 12,6 % nilai ikatan maksimum.



Gambar 8. Kurva standard CA-125.

Pada Gambar 9 terlihat bahwa perubahan konsentrasi standard CA-125 memberikan perubahan %MB yang baik. Hasil ini menunjukkan bahwa larutan standard yang digunakan memberikan linearitas 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 disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil uji kestabilan kit IRMA CA-125.

SIMPULAN

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 ± 100.000 cpm, volume perunut terbaik 50 µl, volume standard CA-125 terbaik 50 µl, waktu inkubasi terbaik 16 jam dan suhu inkubasi terbaik 25°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_L 9,9% dan QC_H 2,9% dengan %C/V *inter-assay* < 15% untuk QC_L 13,1% dan QC_H 4,9%). Kit IRMA CA 125 ini juga menunjukkan karakter yang baik, dengan nilai %NSB dan nilai %B/T masing-masing 0,1% dan 12,6%, daerah kerja kit yang luas (0 mIU/ml sampai dengan 200 mIU/ml), dan kestabilan kit yang mencapai 8 minggu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala Pusat Radioisotop Radiofarmaka (PRR-BATAN), Prof. Swasono R. Tamat, karyawan dan karyawan bidang

Radiofarmaka, serta seluruh pihak yang membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aziz MF. Pencegahan dan deteksi dini kanker ovarium. Simposium Pencegahan dan Deteksi Dini Kanker, Jakarta, 2004.
2. FIGO Annual report on the Result of Treatment I Gynecological. J Epid Biostat. 1998.
3. Cremer DW. Epidemiologi and biostttistic, In: Berek JS, Hacker NF, Pratical Gynecologic Oncologi. 3rded. Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 263-303.
4. <http://www.sinarharapan.co.id/iptek/kesehatan/2003/0606/kes1.html>. Diakses tanggal 5 Mei 2008.
5. [http://www.KonsultasiKesehatan.epajak.org/tumor/Kista Ovarium, Ganaskah?](http://www.KonsultasiKesehatan.epajak.org/tumor/KistaOvarium,Ganaskah?) Diakses tanggal 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). Diakses tanggal 5 Mei 2008.
7. Dwipoyono B. Aktifitas caspase 3 sebagai indikator apoptosis pada sel kanker ovarium. Indonesia Journal of Cancer. 2007.1(2):63-72.
8. Miralles C, Orea M, Espana P. Cancer antigen 125 associated with multiple benign and malignant pathologies. Annal of Surgical Oncology. 2003.10(2):150-4.
9. Rediatning W, Sukiyati Dj. Immunoradiometricassay (IRMA) dalam deteksi dan pemantauan kanker. Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka. 2000.3(1):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. 2003.6:1-10.
11. Widayati P, Ariyanto A, Abidin Z, Yunita F, Sutari. Optimasi assay kit IRMA CA-125. Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka, PRR-BATAN Serpong. 2006.9.
12. Widayati P, Ariyanto A, Sutari, Mondida G, Yunita F, Darwati S. Validasi kit IRMA CA-125. Prosiding Seminar Nasional XV Kimia Dalam Industri dan Lingkungan, Jaringan Kerja Sama Kimia Indonesia, Yogyakarta, 2006, hal. 185-8.
13. IAEA- TECDOC-1001 page 1-95.