

PEMBUATAN LARUTAN STANDAR DAN PEREAKSI PEMISAH KIT RIA T₃

Darlina

ABSTRAK

PEMBUATAN LARUTAN STANDAR DAN PEREAKSI PEMISAH UNTUK KIT RIA T₃.

Telah dilakukan pembuatan dan penentuan kualitas serum bebas T₃, larutan standar, dan pereaksi pemisah untuk kit RIA T₃. Serum bebas T₃ yang digunakan sebagai larutan standar 0 dibuat dengan mengadsorpsi T₃ pada "Charcoal" yang dicampurkan pada serum manusia. Serum bebas T₃ yang diperoleh ternyata memberikan nilai persen ikatan (% B) = 53,9 % yang lebih tinggi dibandingkan dengan standar 0 kit komersial %B = 40,67%. Hal ini menunjukkan bahwa serum bebas T₃ yang diperoleh cukup baik. Larutan standar T₃ yang dibuat cukup baik dilihat dari hasil kalibrasi dengan larutan standar sekunder. Dilakukan pula pembuatan 3 macam pereaksi pemisah yaitu; Antibodi kedua yang dimurnikan dengan amonium sulfat yang diimmobilisasi pada partikel magnetik (Hungaria); antibodi kedua "Fitzgerald" yang diimmobilisasi pada partikel magnetik (Hungaria); dan antibodi kedua "Fitzgerald" yang diimmobilisasi pada partikel magnetik "Fitzgerald". Dari perbandingan parameter kontrol dua macam antibodi kedua yang diimmobilisasi pada partikel magnetik (Hungaria) menunjukkan kedua antibodi mempunyai kualitas yang sama. Pada perbandingan parameter kontrol partikel magnetik Hungaria dan magnetik Fitzgerald, diperoleh nilai persen Bo (34,6 %) dan NSB (3,2 %) untuk partikel magnetik Hungary yang lebih rendah dari % Bo (52 %) dan NSB (5,5%) partikel magnetik Fitzgerald tetapi nilai Bo/NSB (11) dan slopenya (1,3) lebih tinggi dibandingkan nilai Bo/NSB (9,5) dan slope (0,9) partikel magnetik Fitzgerald. Jumlah partikel yang dibutuhkan pertabung untuk partikel magnetik Fitzgerald cukup banyak (80 µg), sedangkan untuk partikel magnetik Hungaria hanya 16 µg. Kedua partikel mempunyai kelebihan dan kekurangan, tetapi partikel magnetik Hungaria lebih baik sebagai pendukung padat untuk pereaksi pemisah. Dari hasil studi banding, diperoleh bahwa kit RIA T₃ dengan larutan pemisah Ab.kedua-Magnetik Hungaria mempunyai korelasi yang baik (99,1 %) dengan kit RIA T₃ komersial DPC.

ABSTRACT

PREPARATION OF STANDARD SOLUTION AND SEPARATING REAGENT FOR T₃ RIA KIT.

Preparation of T₃-free serum, standard solution and separating reagent have been carried out and tested. T₃-free serum which was used as a solvent of T₃ standards was prepared by addition of charcoal into human serum to adsorb the T₃ hormon. Comparison of the T₃-free serum with the standard 0 of a commercial RIA kit showed that the binding (%B) of the prepared T₃-free serum was (53.9 %) higher than the commercial kit (40.67 %), indicated that the prepared T₃-free serum was excellent.

The T₃ standard solutions prepared with the T₃-free serum were calibrated against secondary standard solutions showed a reasonably good correlation, as there was no significant difference observed against expected value. Assay performance of three different separating reagents, i.e : (NH₄)SO₄-purified second antibodies immobilized onto Hungary magnetic particles , impurified Fitzgerald second antibodies immobilized onto Hungary magnetic particles, and impurified Fitzgerald second antibodies immobilized onto Fitzgerald magnetic particles, were compared. Comparison of control parameters of the purified and impurified second antibodies immobilized onto Hungary magnetic particles showed that both antibodies have similar quality. Hungary magnetic particles gave lower %B/T and %NSB (34.6%) and (3.2%) than Fitzgerald magnetic particles (52%) and (5.5%) however higher Bo/NSB and slope (9.5 and 0.9) were observed for Hungary magnetic particles as compared to Fitzgerald's (11 and 1.3). For a sufficient separation, the required amount of Hungary magnetic particles per assay tube was much lower (16 µg) than of Fitzgerald magnetic particles (80 µg). Therefore, it is considered that the Hungary magnetic particles was a better solid phase separating reagent. Assay comparison between the prepared T₃ RIA reagent and a commercial (DPC) T₃ RIA kit showed a very well correlation (99.1 %).

PENDAHULUAN

Dalam usaha produksi kit RIA secara lokal, dalam penelitian ini dicoba untuk membuat pelarut, larutan standar, dan pereaksi pemisah untuk T₃.

Pelarut merupakan matriks yang digunakan untuk melarutkan analit, yang umumnya harus sesuai dengan matriks sampel. Oleh karena sampel yang diperiksa dengan teknik RIA berupa serum manusia, maka pelarut harus semirip mungkin dengan serum manusia. Serum manusia merupakan matriks yang paling cocok digunakan sebagai pelarut, namun serum yang digunakan sebagai pelarut harus bebas dari analit yang akan diuji. Untuk kit RIA T₃, serum harus dimurnikan terhadap T₃. Cara yang paling umum digunakan adalah adsorpsi dengan serbuk karbon (charcoal).

Larutan standar primer merupakan larutan standar yang dibuat dari zat standar dengan kemurnian sangat tinggi yang umumnya dipasok oleh NIST, NIBCS yang dipakai untuk kalibrasi larutan standar yang dibuat. Larutan standar sekunder merupakan larutan yang konsentrasinya ditentukan dengan metode analitik yang dapat dipercaya. Pada umumnya larutan standar kit RIA komersil bisa berfungsi sebagai larutan standar sekunder, dan bisa digunakan untuk kalibrasi bila larutan standar primer tidak tersedia.

Pada teknik RIA, setelah kesetimbangan reaksi dicapai perlu dilakukan tahap pemisahan dimana ligan yang terikat dan yang bebas harus dipisahkan. Sistem pemisahan yang ideal adalah yang cepat dan sempurna, sederhana, reproduibel, dan ekonomis. Ada dua sistem pemisahan pada teknik RIA yaitu pereaksi pemisah fasa cair dan pereaksi pemisah fasa padat. Dalam perkembangannya, pereaksi pemisah fasa padat lebih disukai karena pengerjaannya sederhana, cepat, dan reproduibel.

Pada teknik fasa padat, antibodi diikatkan pada suatu pendukung padat seperti tabung reaksi (*coated tube*), "macrobead", atau butiran halus (*microbeads*) baik secara absorpsi maupun ikatan kovalen. Teknik antibodi fasa padat yang menggunakan butiran halus sebagai pendukung memberikan efisiensi pemisahan lebih tinggi daripada "macrobead" maupun *coated tube* karena mempunyai permukaan yang luas. Kini telah dikembangkan teknik antibodi fasa padat magnetik, dimana antibodi diikatkan diimobilisasi secara kimia pada butiran halus yang bersifat magnetik. Untuk pengendapannya hanya diperlukan plat magnet kecil yang harganya murah.

Pada penelitian ini digunakan antibodi kedua (anti-RGG) yang diimobilisasikan pada partikel magnetik. Penggunaan antibodi kedua mempunyai kelebihan dibandingkan antibodi pertama, karena dapat digunakan dalam jumlah banyak.

TATA KERJA DAN PERCOBAAN

Bahan dan Peralatan

Serum manusia yang dipakai dalam percobaan diperoleh dari PMI. Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan serum bebas hormon antara lain *Glass wool* buatan E. Merck, *glass fiber* buatan E. Merck, *celite* buatan E. Merck, dan *Charcoal* buatan E. Merck. Untuk pembuatan larutan standar dipakai T_3 buatan Sigma. Antibodi kedua yang digunakan diperoleh dari PPR-BATAN dan antibodi kedua produk Fitzgerald. Sebagai pendukung padat digunakan partikel magnetik buatan Fitzgerald dan partikel magnetite dari Hungaria. Untuk kalibrasi larutan standar digunakan kit RIA T_3 buatan DPC dan untuk pembandingan digunakan kit RIA T_3 buatan ICN. Bahan-bahan kimia yang lain adalah produk E. Merck dengan tingkat kemurnian p.a..

Sebagai alat pencacah digunakan alat pencacah gamma type G-20 buatan mini assay, digunakan plat magnet (*magnetic separator*) buatan Amersham digunakan sebagai alat pemisah. Alat pemutar (*rotator*) yang digunakan dalam imobilisasi buatan NETRIA, alat sentrifuga yang dilengkapi pendingin (*IEC-Centra*), alat pengocok (*vortex*), komputer personal, dan perangkat lunak dari Amersham.

Penyiapan Standar T₃

Penyiapan kolom.

Glass wool dimasukkan ke dalam kolom yang berupa suntikan plastik 30 mL kemudian di atasnya ditaruh saringan *fiber glass*. Sebanyak 1 gram celite dilarutkan dalam 5 mL air destilasi kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Celite sebanyak 1 gram dicampur dengan 4 gram charcoal kemudian dilarutkan dalam 12 mL air destilasi. Campuran tersebut dimasukan ke dalam kolom, lalu dimasukkan ke dalam saringan *fiber glass*.

Pembuatan serum bebas hormon

Sebanyak 9 mL serum dimasukan ke dalam kolom, kemudian eluatnya ditampung. Kualitas serum bebas hormon diperiksa dan dibandingkan dengan standar nol DPC.

Pembuatan larutan standar

Pembuatan larutan stok

Sebanyak 17,13 mg T₃ (dalam bentuk asam) buatan sigma dilarutkan dalam 50 mL etanol/N_aOH (3:1) (larutan stok A dengan konsentrasi 34,26 mg/100 mL). Sebanyak 5 mL larutan stok A dilarutkan dengan etanol/N_aOH (3:1) hingga 50 mL (larutan stok B dengan konsentrasi 3,426 mg/100 mL). Sebanyak 0.1 mL larutan stok B dilarutkan dengan larutan dapar fosfat BSA 0,05 M pH 7,4 hingga 100 mL.

Larutan standar T₃

Larutan standar T₃ dibuat dengan melarutkan larutan stok C di dalam serum bebas hormon hingga didapat konsentrasi standar yang diinginkan dengan perbandingan seperti Tabel I di bawah ini

Larutan T ₃ (mL)	Serum bebas hormon (mL)	Konsentrasi standar (ng/dL)
0.5 mL larutan stok C	1,64 mL	800 ng/dL
1 mL standar 800 ng/dL	1 mL	400 ng/dL
1 mL standar 400 ng/dL	1 mL	200 ng/dL
1 mL standar 200 ng/dL	1 mL	100 ng/dL
1 mL standar 100 ng/dL	1 mL	50 ng/dL
0.5 mL standar 50 ng/dL	0,5 mL	25 ng/dL

Larutan standar 800, 400, dan 200 ng/dL dikalibrasi lebih dahulu dengan kit RIA T₃ DPC, sebelum membuat larutan standar 100, 50, dan 25 ng/dL.

Pembuatan Larutan Pemisah

Pemurnian antibodi kedua dengan (NH₄)₂SO₄

Serum antibodi kedua sebanyak 1 mL diencerkan dengan NaCl 0,9% hingga 2,33 mL. Perlahan-lahan ditambahkan 0,9 gr (NH₄)₂SO₄ dibantu dengan pengocokan. Campuran dikocok selama 60 menit pada temperatur kamar. Untuk pengendapan campuran disentrifuga selama 30 menit pada 2000 rpm. Endapan yang mengandung IgG murni kemudian dilarutkan dalam bufer fosfat pH 7,4 selama 24 jam.

Imobilisasi antibodi kedua pada partikel magnetite (Fe₃O₄) dari Hungaria.

Pada satu seri tabung reaksi yang berisi 100 µL partikel magnetik, masing-masing ditambahkan antibodi yang telah dimurnikan yang jumlahnya divariasi dari 5 µL sampai 50 µL, diputar 1 jam pada temperatur 4°C. Kemudian 5 mg EDAC ditambahkan untuk setiap 1 mg antibodi, diputar semalam pada temperatur 4°C. Partikel diendapkan dan dicuci dengan 200 µL dapar fosfat salin (0,01 M KH₂PO₄, 0,15 M NaCl, pH = 7,2) sebanyak 5 kali. Partikel magnetik dalam dapar fosfat salin kemudian diinkubasi semalam pada temperatur 4°C. Dilakukan pula imobilisasi antibodi Fitzgerald pada magnetik Hungaria dengan prosedur yang sama.

Imobilisasi antibodi kedua pada partikel magnetik dari Fitzgerald

Sebanyak 5 mL partikel magnetik (250 mg) diencerkan dengan larutan *coupling buffer* yang telah tersedia hingga 25 mL, kemudian dikocok lalu diendapkan. Langkah ini diulang hingga 3 kali. Endapan disuspensikan dengan 20 mL glutaraldehid 5% dan diputar selama 3 jam pada temperatur kamar. Partikel diendapkan dan disuspensikan dengan 20 mL *coupling buffer* kemudian dikocok lalu diendapkan. Langkah ini diulang sebanyak 4 kali. Larutan protein dibuat dengan melarutkan antibodi kedua dengan berat bervariasi dalam 5 mL *coupling buffer*. Larutan *pre-coupling* dibuat dengan melarutkan 25 µL larutan protein dalam 0,5 mL *coupling buffer*. Larutan protein yang tersisa ditambahkan ke dalam suspensi partikel magnetik, lalu diputar semalam pada temperatur kamar. Partikel diendapkan, konsentrasi supernatannya (larutan *post-coupling*) diperiksa dan dibandingkan dengan konsentrasi larutan *pre-coupling* untuk menentukan efisiensi imobilisasi. Endapan disuspensikan dalam 25 mL larutan *glycine quenching*, dikocok dan diputar selama 30 menit dalam temperatur kamar. Partikel kemudian diendapkan dan dicuci dengan dapar pencuci sebanyak 3 kali, dan disuspensikan dalam 6 mL dapar fosfat BSA.

Pengujian hasil imobilisasi

Suspensi magnetite dan suspensi magnetik Fitzgerald yang telah terimobilisasi dengan antibodi kedua, diambil sebanyak 5, 10, 25, dan 50 µL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi plastik. Masing-masing ditambahkan 1 mL $^{125}\text{I-T}_3$, 100 µL anti-T₃ inkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Untuk tabung NSB anti-T₃ diganti dengan dapar fosfat 0,05 M pH 7,4 yang mengandung BSA 5%. Kemudian partikel magnetik diendapkan, endapannya dicacah setelah supernatannya dibuang. Untuk suspensi partikel magnetik Fitzgerald perlu dilakukan pencucian 2 kali sebelum dicacah. Persen ikatan dihitung dengan membagi cacahan bersih endapan dengan cacahan total. Kondisi optimum yang diperoleh dari hasil pengujian ini digunakan untuk melakukan imobilisasi antibodi kedua dalam jumlah banyak.

Optimasi penggunaan pereaksi pemisah antibodi kedua fasa padat magnetik dalam assay RIA T₃

Untuk optimasi penggunaan pereaksi pemisah magnetik, jumlah antibodi yang digunakan divariasi dari 5 μL sampai 50 μL . Protokol pengujian sama dengan protokol assay pada pengujian imobilisasi.

Perbandingan mutu hasil imobilisasi antibodi kedua pada partikel magnetite (Hungaria) dan partikel magnetik Fitzgerald

Perbandingan dua partikel magnetik yang diimobilisasi dengan antibodi kedua Fitzgerald serta perbandingan antara hasil imobilisasi dua macam antibodi pada partikel magnetik Hungaria dengan menentukan parameter kontrol kualitas, dilakukan dengan melakukan pengujian (assay) dengan protokol seperti pada Tabel 2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serum bebas hormon yang dibuat memberikan persen ikatan (53,9 %) yang lebih tinggi dibandingkan standar 0 kit RIA DPC (40,67 %). Hal ini menunjukkan *free serum* yang diperoleh lebih murni dari standar 0 kit DPC karena T₃ bertanda yang terikat dengan antibodi lebih banyak. Serum bebas hormon yang diperoleh dipakai untuk membuat larutan standar. Pembuatan larutan standar yang dilakukan cukup baik karena hasil kalibrasi larutan standar yang dibuat dengan larutan standar sekunder (larutan standar kit komersil) menunjukkan konsentrasi standar yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan perkiraan (lihat Tabel 2).

Untuk pembuatan larutan pemisah dilakukan imobilisasi dua macam antibodi kedua pada partikel magnetik Hungaria dan imobilisasi satu macam antibodi kedua pada partikel magnetik Fitzgerald. Untuk mendapatkan kapasitas ikatan yang optimal dari hasil imobilisasi antibodi pada partikel magnetik dilakukan optimasi. Optimasi hasil imobilisasi antibodi pada partikel magnetite (Tabel 4) menunjukkan 25 μL partikel magnetite yang diimobilisasi (250 μL Ab/50 mg magnetite) memberikan hasil yang optimum dimana nilai ikatan tidak spesifiknya (NSB) cukup kecil (3.5%) dan ikatan maksimumnya cukup baik (52 %). Jumlah antibodi di atas itu (50 μL) tidak memberikan peningkatan % B/T.

Optimasi hasil imobilisasi antibodi pada partikel magnetik Fitzgerald memberikan hasil yang optimum pada 10 μ L partikel magnetik yang diimobilisasi (100 μ L antibodi/250 mg magnetik) dimana NSBnya cukup kecil (4 %) dan ikatan maksimumnya diatas 50 % (52,6 %). Pada volume partikel 25 μ L, ikatan maksimum yang diperoleh lebih tinggi (70,5 %) tetapi persen NSB nya cukup tinggi diatas batas yang diperbolehkan. Kondisi ini kurang baik karena akan menghasilkan assay yang tidak akurat.

Pada Tabel 4 terlihat bahwa persen ikatan (% Bo) pada partikel magnetik Fitzgerald lebih tinggi dari pada partikel magnetik Hungaria tetapi perbandingan % Bo dengan NSB sedikit lebih kecil dibandingkan partikel magnetik Hungaria. Kemiringan kurva (slope) kedua partikel magnetik tidak jauh berbeda. Dari kurva standar pada Gambar 1 terlihat ada perbedaan kecondongan kurva pada konsentrasi rendah sampai sedang pada kurva partikel magnetik Fitzgerald dimana pada konsentrasi rendah lebih landai tetapi sedikit lebih curam pada konsentrasi sedang. Pada konsentrasi tinggi kecuraman kedua kurva standar tidak jauh berbeda, tetapi secara keseluruhan kedua macam partikel magnetik cukup sebanding. Perbandingan antara dua macam antibodi kedua yang diimobilisasi pada partikel magnetik Hungaria seperti yang terlihat pada Tabel 4 menunjukkan kedua antibodi tidak memberikan perbedaan yang nyata.

Pada perbandingan parameter karakteristik kedua partikel magnetik, terlihat kedua partikel magnetik cukup sebanding, tetapi partikel magnetite dari Hungaria mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan partikel dari Fitzgerald yaitu, prosedur imobilisasi antibodi pada partikel magnetite Hungaria lebih sederhana, partikel magnetite lebih halus butirannya sehingga tidak mudah mengendap selama assay, jumlah partikel magnetik pertabung yang dibutuhkan untuk assay lebih sedikit yaitu 16 μ g sedang partikel magnetik Fitzgerald 80 μ g, partikel magnetite lebih lama tersuspensi pada saat pengujian (assay) dibandingkan dengan partikel magnetik Fitzgerald karena partikelnya lebih ringan dan jumlahnya lebih sedikit. Prosedur assay pada partikel magnetite Hungaria tidak membutuhkan langkah pencucian untuk menurunkan nilai NSB, dan nilai NSB pada partikel magnetik Hungaria lebih rendah dibandingkan magnetik Fitzgerald.

Tabel 5 menunjukkan perbedaan parameter kontrol kit RIA T₃ ICN dengan kit RIA T₃ yang dibuat. Walaupun ada perbedaan parameter kontrol, tetapi dari kurva regresi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 terlihat kit RIA T₃ yang dibuat mempunyai korelasi yang cukup baik dengan kit RIA T₃ ICN.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian pembuatan larutan standar dan larutan pemisah dapat disimpulkan;

1. Serum bebas hormon yang dibuat cukup baik untuk digunakan sebagai pembuatan larutan standar
2. Larutan standar yang dibuat mempunyai mutu cukup baik.
3. Antibodi kedua yang dimurnikan dengan amonium sulfat jenuh diimobilisasi pada partikel magnetik Hungaria mempunyai kualitas yang sama dengan antibodi kedua buatan Fitzgerald yang diimobilisasi pada partikel magnetik Hungaria.
4. Partikel magnetik Hungaria lebih baik dari pada partikel magnetik Fitzgerald sebagai fasa padat pada larutan pemisah
5. Kit Ria T₃ dengan larutan pemisah antibodi kedua Fitzgerald-Magnetik Hungaria mempunyai korelasi yang baik dengan kit RIA T₃ DPC .

DAFTAR PUSTAKA

1. CATT, K.J., NIALL, H.D., and TREGGARS, G.W., *Biochem J.*, **100**, 316, (1966).
2. CHARD, T., "An Introduction to RIA and Related Techniques, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology", Elsevier Biomedical, New York, 1982.
3. SKELLEY, S.D., "Basic Principles of Radioimmunoassay", Nuclear Medicine Invitro, J.B. Lippincot Company, Philadelphia, 2nded.
4. WIDE, L., "Solid Phase Radioimmunoassay", IAEA-SM-20/220.

Tabel 1. Protokol pembuatan larutan standar

Larutan T ₃ (mL)	Serum bebas (mL)	Konsentrasi standar (ng/dL)
0,5 mL larutan stok C	1,64 mL	800 ng/dL
1 mL larutan standar 800 ng/dL	1 mL	400 ng/dL
1 mL larutan standar 400 ng/dL	1 mL	200 ng/dL
1 mL larutan standar 200 ng/dL	1 mL	100 ng/dL
1 mL larutan standar 100 ng/dL	1 mL	50 ng/dL
0,5 mL larutan standar 50 ng/dL	0,5 mL	25 ng/dL

Tabel 2. Perbandingan konsentrasi larutan standar hasil kalibrasi dengan hasil perhitungan estimasi

Konsentrasi perkiraan (estimasi)	Konsentrasi hasil kalibrasi
800 ng/dL	730 ng/dL
400 ng/dL	350 ng/dL
200 ng/dL	200 ng/dL
100 ng/dL	107 ng/dL
50 ng/dL	55 ng/dL
25 ng/dL	30 ng/dL

Tabel 3. Protokol pengujian (*assay*)

Reagen Tabung	Larutan standar (μL)	Larutan perunut (μL)	Larutan antibodi pertama (μL)	Larutan antibodi kedua (μL)
TRA	-	500	50	-
MB	-	500	50	25
NSB	100 std 0	500	-	25
Standar 0	100	500	50	25
Standar 30	100	500	50	25
Standar 55	100	500	50	25
Standar 107	100	500	50	25
Standar 200	100	500	50	25
Standar 350	100	500	50	25
Standar 730	100	500	50	25

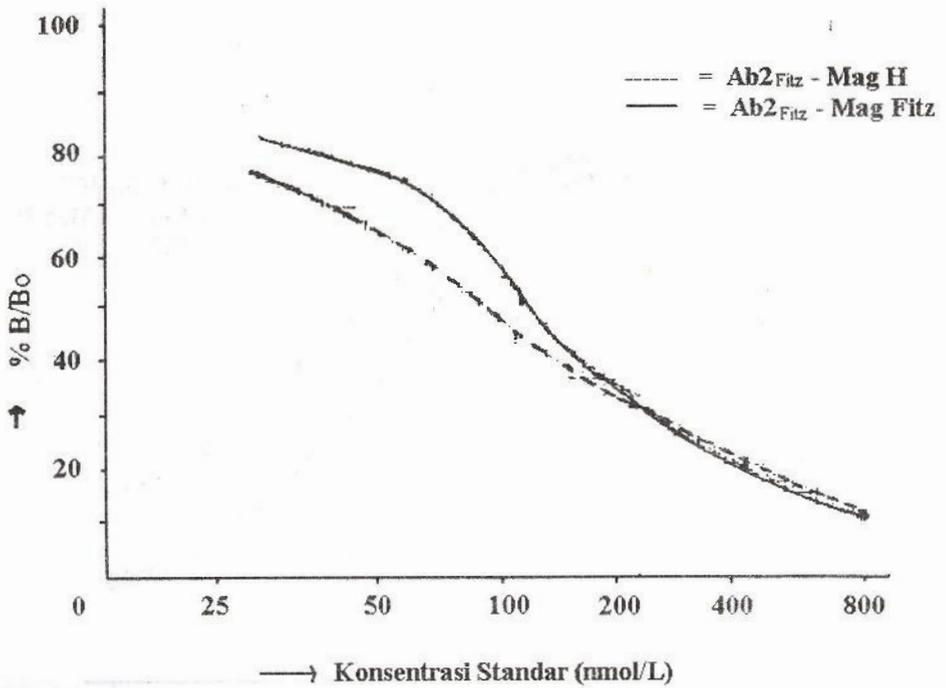
In k u b a s i selama 2 jam pada temperatur kamar diendapkan, buang supernatannya untuk partikel magnetik Fitzgerald diperlukan pencucian dengan 1 mL dapar pencuci

Tabel 4. Perbandingan parameter kontrol dari tiga jenis larutan pemisah

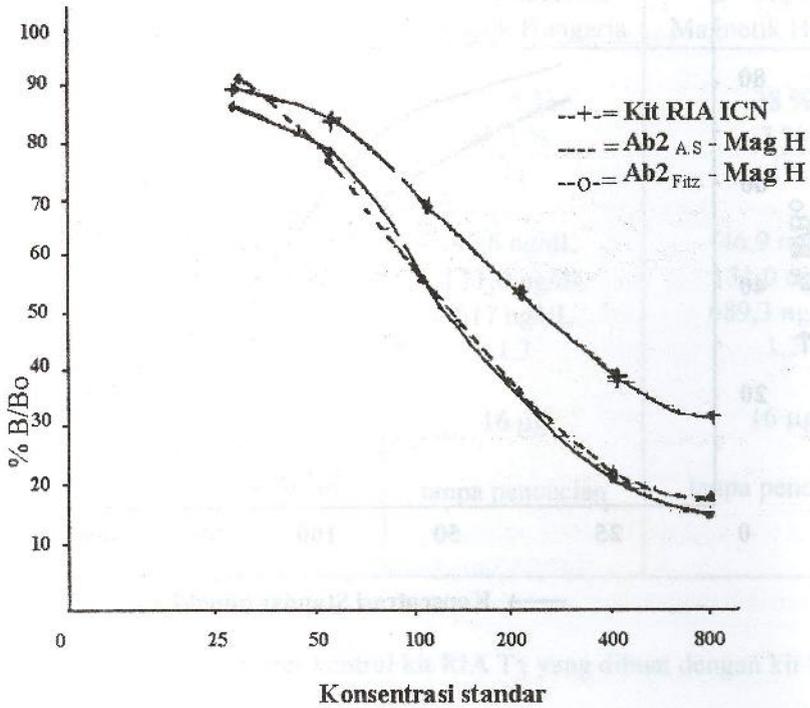
Parameter	2 nd Ab Fitzgerald-Magnetik Fitzgerald	2 nd Ab Fitzgerald-Magnetik Hungaria	2 nd Ab A.S-Magnetik Hungaria
% Bo	52 %	34,6 %	38 %
% NSB	5,5 %	3.2 %	3 %
% Bo/NSB	9,5	11	19
ED 80	20,1 ng/dL	46,6 ng/dL	46,9 ng/dL
ED 50	91,2 ng/dL	131.0 ng/dL	131,0 ng/dL
ED 20	670 ng/dL	617 ng/dL	689,3 ng /dL
Slope	0,9	1,3	1,2
Partikel magnetik pertabung	80 µg	16 µg	16 µg
Langkah pencucian	1 kali pencucian	tanpa pencucian	tanpa pencucian

Tabel 5. Perbandingan parameter kontrol kit RIA T₃ yang dibuat dengan kit RIA T₃ ICN

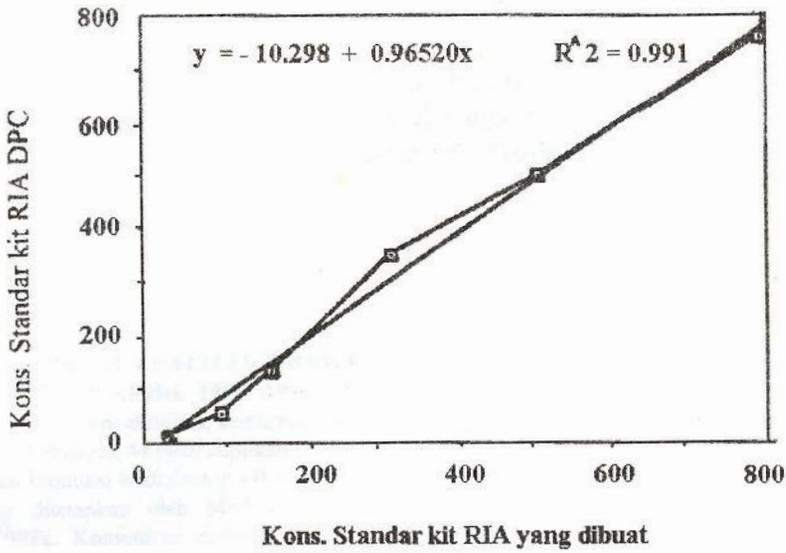
Parameter	kit RIA T ₃ ICN	kit RIA T ₃ yang dibuat
% Bo	54,8 %	48 %
% NSB	2 %	3 %
Bo/NSB	27,4	16
ED80	65,2 ng/dL	46,1 ng/dL
ED50	265 ng/dL	149,5 ng/dL
ED20	709,8 ng/dL	613 ng/dL
Slope	0,9	1,3



Gambar 1. Perbandingan kurva standar antara kit RIA dengan pereaksi pemisah Ab₂Fitz-Mag H dan kit RIA dengan pereaksi pemisah Ab_{Fitz}-Mag Fitz



Gambar 2. Kurva standar dari kit RIA ICN, kit RIA dengan pereaksi pemisah Ab₂ A.S-Mag H dan pereaksi pemisah Ab₂Fitz-Mag H



Gambar 3. Korelasi antara kit RIA T₃ DPC dan kit RIA T₃ yang dibuat