

PENGUNAAN TRANSFORMASI LOGIT-LOG
DALAM PENGOLAHAN DATA RADIOIMMUNOASSAY

Wignu Susetyo

pusat Penelitian Bahan Murni dan Instrumentasi - BATAN

I N T I S A R I

Untuk mengatasi kesulitan-kesulitan yang ditimbulkan dalam pengolahan data radioimmunoassay (RIA) secara klasik menggunakan liku % bound vs konsentrasi, telah diuji transformasi logit-log yang menghasilkan liku baku linier sehingga membantu automatisasi pengolahan data dan menaikkan ketelitian uji kadar. Pengujian dilakukan untuk berbagai kit RIA seperti Follicle Stimulating Hormone (FSH), T_4 , Prolaktin dan sebagainya. Dilakukan perbandingan hasil uji kadar menggunakan liku % bound vs konsentrasi dan transformasi logit-log. Ditemukan bahwa cara logit-log memberikan hasil yang lebih tepat dan cepat.

A B S T R A C T

In order to overcome the difficulties rise in classical radioimmunoassay (RIA) data processing using % bound vs concentration curve, logit-log transformation has been tested and the result is linear standard curve which help the data processing automatisisation and improve the accuracy of the assay. The tests have been made for several RIA kits as Follicle Stimulating Hormone (FSH), T_4 , Prolactin etc. Results of the assay using % bound vs concentration curve were compared to those from logit-log transformation. It was found that the logit-log method give more precise and quicker results.

I. PENDAHULUAN

A. Prinsip pengolahan data RIA

Dalam proses uji-kadar (assay) menggunakan cara radioimmunoassay (RIA), antigen radioaktif dan antigen cuplikan (atau standard) dicampur dengan antibodinya. Setelah suatu masa inkubasi yang cukup, dilakukan pemisahan antara antigen bebas dan antigen yang terikat dalam kompleks antigen-antibodi. Kemudian dilakukan pencacahan radioaktivitas dari salah satu fraksi tersebut.

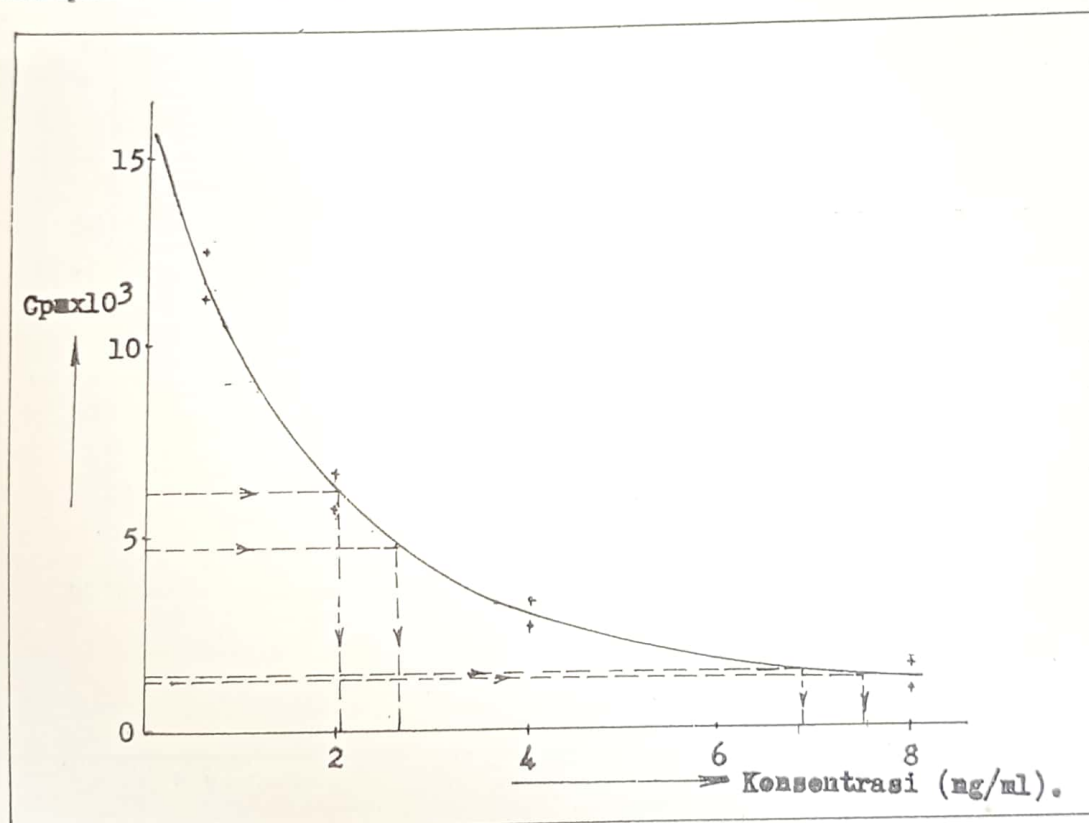
Data yang dihasilkan harus diolah sedemikian hingga didapatkan informasi mengenai konsentrasi hormon yang diinginkan. Pertama-tama tiap data cuplikan atau standard harus dikurangi dengan harga NSB (non specific binding activity), yaitu radioaktivitas yang ikut terendapkan walaupun tidak ada penambahan antibodi (primer). Radioaktivitas NSB tersebut disebabkan oleh beberapa faktor antara lain : penyerapan radioaktivitas oleh dinding tabung reaksi, kopresipitasi oleh antibodi sekunder, cacah latar dan lain-lain.

Setelah itu diusahakan pembuatan liku baku (standard curve) yang menghubungkan cacah standard dengan harga konsentrasinya masing-masing. Kemudian liku baku tersebut dapat dipakai untuk menentukan kadar hormon dalam cuplikan.

B. Pembuatan liku baku cara "klasik"

Cara yang paling sederhana dalam membuat liku baku RIA adalah membuat plot cacah (misalnya cacah fraksi antigen yang terikat) vs konsentrasi pada kertas milimeter biasa. Untuk kebanyakan uji kadar secara RIA, plot tersebut akan berupa liku hiperbola⁽¹⁾ (lihat Gambar 1) dan ternyata mempunyai kelemahan-kelemahan sebagai berikut :

1. Kepekaan liku baku bervariasi dari ujung satu ke ujung yang lain. Dengan kata lain, jumlah cacah yang dibutuhkan untuk memberikan sejumlah perubahan konsentrasi tertentu akan sangat berbeda antara daerah ujung kiri liku baku dan ujung sebelah kanan. Di daerah ujung kiri, beda cacah yang relatif sedikit sudah mampu menunjukkan adanya beda konsentrasi yang berarti, sedang di ujung kanan, beda konsentrasi yang relatif besar tidak ditunjukkan oleh beda cacah yang berarti (lihat Gambar 1).
2. Oleh karena bentuk liku yang tidak linier, dibutuhkan ketrampilan khusus dan pengalaman untuk menarik garis yang paling tepat dengan menggunakan titik-titik data kalibrasi. Selisih antara ordinat Y yang sebenarnya dengan ordinat Y liku baku untuk suatu harga X tertentu adalah merupakan ukuran ketelitian uji kadar.

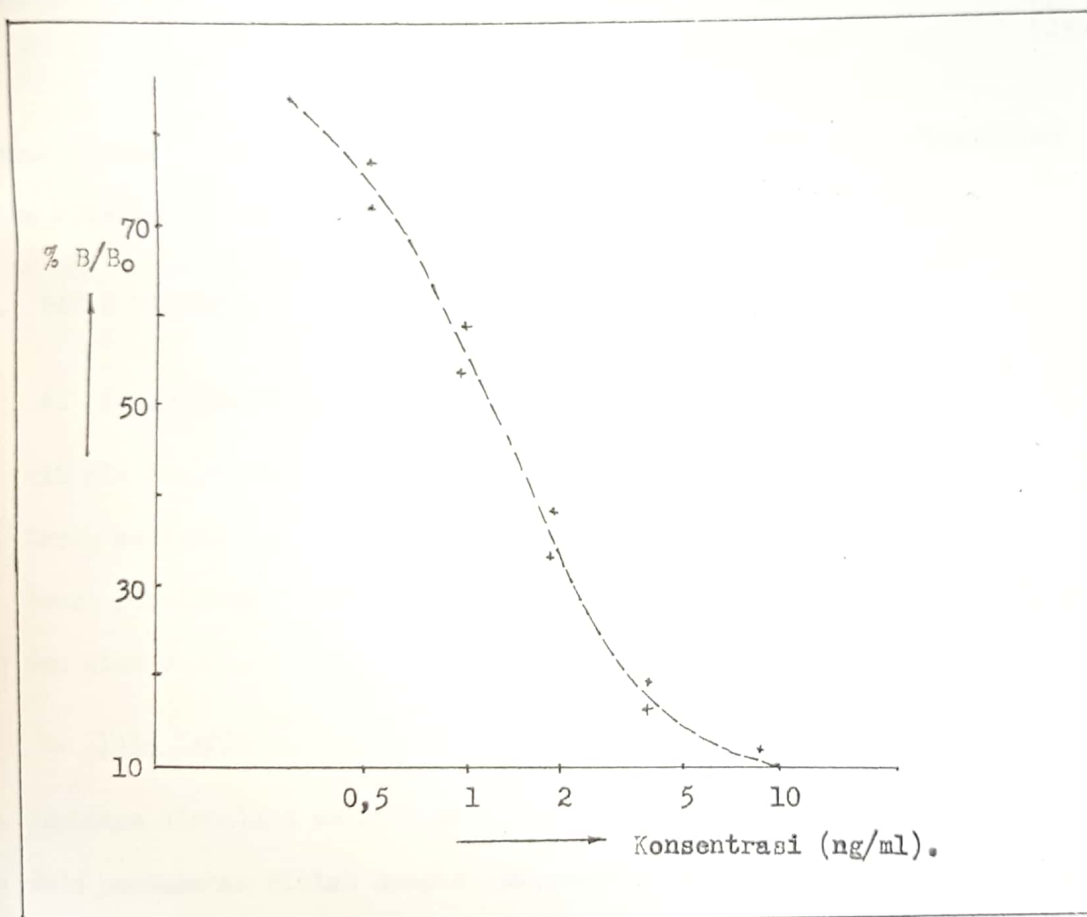


Gambar 1.

Cara lain untuk membuat liku baku klasik yang lebih baik adalah dengan jalan membuat plot % bound vs konsentrasi, dimana :

$$\% \text{ bound} = \% \frac{B}{B_0} = \frac{\text{Cacah cuplikan (atau standard)} - \text{NSB}}{\text{Cacah zero calibrator} - \text{NSB}} \times 100\% \quad (1).$$

Plot tersebut digambar pada kertas semi-log dan akan menghasilkan suatu liku baku berbentuk sigmoid yang bagian tengahnya mendekati garis lurus (Gambar 2). Cara ini, sekali lagi, memerlukan "naluri" subyektif untuk menggambar ujung-ujung liku baku, sehingga memberi sumbangan pada kesalahan pengukuran uji kadar.



Gambar 2.

C. Transformasi logit-log

Untuk mengatasi kesulitan-kesulitan yang ditimbulkan dalam pengolahan data RIA secara klasik tersebut, Redbard dkk.⁽²⁾ telah memberikan suatu penyelesaian empiris yang disebut transformasi logit-log.

Logit suatu besaran Y didefinisikan sebagai :

$$\text{logit } Y = \ln \left(\frac{Y}{1 - Y} \right) \quad (2).$$

Apabila besaran Y tersebut adalah fraksi antigen yang terikat ($=B/B_0$),

maka :

$$\text{logit } B/B_0 = \ln \left(\frac{B/B_0}{1 - B/B_0} \right) \quad (3).$$

Dengan membuat plot antara logit B/B_0 vs log konsentrasi akan dihasilkan suatu liku baku yang berbentuk garis lurus (linier).

II. BAHAN DAN TATA KERJA

A. Bahan dan Alat

1. kit RIA Prolaktin, FSH dan T_4 .
2. Serum pasien.
3. Semua peralatan standard RIA seperti : vials, centrifuge, pompa isap dan alat cacah.

B. Tata Kerja

1. Cuplikan dianalisa menurut prosedur RIA yang telah umum dipakai⁽³⁾.
2. Data pencacahan diolah dengan menggunakan cara klasik dan juga dengan transformasi logit-log.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Perbandingan hasil uji kadar

Pada Tabel 1 dan Gambar 3, dapat diikuti mekanisme perhitungan dan pembuatan liku baku secara klasik untuk prolaktin (DPC). Oleh karena terbatasnya skala kertas semi-log yang tersedia maka terpaksa standard S-1 (5 ng/ml) tak dapat dimasukkan dalam liku baku sehingga semua perhitungan uji kadar di bawah harga standard S-2 terpaksa hanya bisa ditulis < 10 ng/ml (Tabel 3, kolom "klasik").

Data yang sama diolah dengan menggunakan cara transformasi logit-log dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 4. Terlihat bahwa liku baku yang dihasilkan merupakan garis lurus dan melalui perhitungan regresi linier sederhana dapat ditunjukkan harga residual variance (r) dari persamaan garis yang didapatkan. Ternyata harga r tersebut sangat mendekati harga ideal -1, yaitu $r = -0,999$. Sebagaimana diketahui, makin dekat harga r dengan harga -1, maka itu berarti, titik-titik standard dalam liku baku makin mendekati arah satu garis lurus (tidak berserakan kemana-mana).

Dalam Tabel 3 ditunjukkan perbandingan hasil uji kadar prolaktin melalui kedua cara tersebut di atas. Ternyata didapatkan harga kadar prolaktin yang berdekatan. Hanya saja ada beberapa hal yang bisa dicatat :

1. Hasil dari transformasi logit-log bisa dinyatakan dengan lebih pasti. Misalnya, untuk cuplikan nomor 1 metoda klasik hanya dapat menunjuk harga < 10 sedangkan transformasi logit-log menghasilkan harga 8,73.
2. Pada daerah kadar prolaktin rendah dan tinggi ditunjukkan adanya selisih hasil yang cukup berarti antara kedua metoda (Misalnya cuplikan nomor 9 dan nomor 12).

B. Keuntungan dan kerugian transformasi logit-log

Perhitungan hasil uji kadar secara transformasi logit-log tidak usah dilakukan melalui bantuan liku baku, melainkan dapat dilaksanakan langsung dengan kalkulator-saku sepenuhnya (liku baku pada Gambar 4, somata-mata disajikan untuk menunjukkan kelinierannya). Dengan demikian hasil perhitungan uji kadar menggunakan transformasi logit-log tidak lagi tergantung pada naluri dan ketrampilan si pembuat liku baku ataupun pada runcing tumpulnya pensil yang dipakai, seperti pada penggunaan cara. Selain itu pekerjaan juga dapat dilakukan dengan lebih cepat karena hasil perhitungan dapat langsung dicatat dari layar kalkulator. Dalam metoda klasik, pembacaan berulang-ulang pada liku baku dengan skala yang kecil-kecil sungguh melelahkan dan dapat merupakan sumber ketidaktepatan hasil.

Cara transformasi logit-log juga memudahkan pembuatan program dan menghemat memori komputer apabila diperlukan otomatisasi pengolahan data. Di Pusat Penelitian Bahan Murni dan Instrumentasi, digunakan programmable calculator HP-9825 A untuk otomatisasi pengolahan data RIA.

Plot logit B/B_0 vs log konsentrasi hanya menghasilkan garis lurus apabila sistem uji kadar dibiarkan sampai mencapai kesetimbangan. Untuk analisis non-equilibrium atau "sequential saturation analysis" tidak akan didapatkan garis lurus. Tetapi menurut Rodbard, 90 % dari semua sistem RIA yang pernah diperiksa sampai tahun 1973, dapat dikerjakan dengan sangat memuaskan oleh transformasi logit-log⁽⁴⁾.

Kelemahan lain dari cara logit-log adalah bahwa pada plot logit tidak ada titik nol harga konsentrasi ($\ln C$ untuk $C \rightarrow 0$ akan mendekati harga $-\infty$). Dengan demikian hubungan antara standard nol ($S=0$) dengan standard yang mempunyai konsentrasi terendah ($S=1$), menjadi tak terdefinisikan.

Akibatnya, tidak dibenarkan untuk menyajikan hasil uji kadar di bawah harga standard terendah tersebut. Dalam contoh prolaktin (DPC) misalnya hanya boleh dituliskan harga < 5 ng/ml dan bukan 1,21 ng/ml.

C. Stabilitas kelinieran plot logit

Untuk menguji stabilitas kelinieran plot logit, sederetan standard (prolaktin) yang sama dianalisa berulang-ulang dan setiap kali dicatat harga slope, intersep dan residual variance liku baku yang dihasilkan (Tabel 4). Ternyata didapatkan kestabilan yang cukup baik. Hal ini ditunjukkan oleh harga CV (koefisien variasi) dari 13 pengukuran tidak lebih dari 6,4 %. Dengan demikian cara transformasi logit-log memudahkan pemantauan statistik uji kadar RIA.

D. Pengujian untuk hormon lain

Dengan cara yang sama, dilakukan pengujian transformasi logit-log pada uji kadar hormon-hormon lain seperti T_4 dan FSH. Ternyata didapatkan hasil yang tidak berbeda dengan pengujian prolaktin (Tabel 5-7 dan Gambar 5-8).

IV. KESIMPULAN

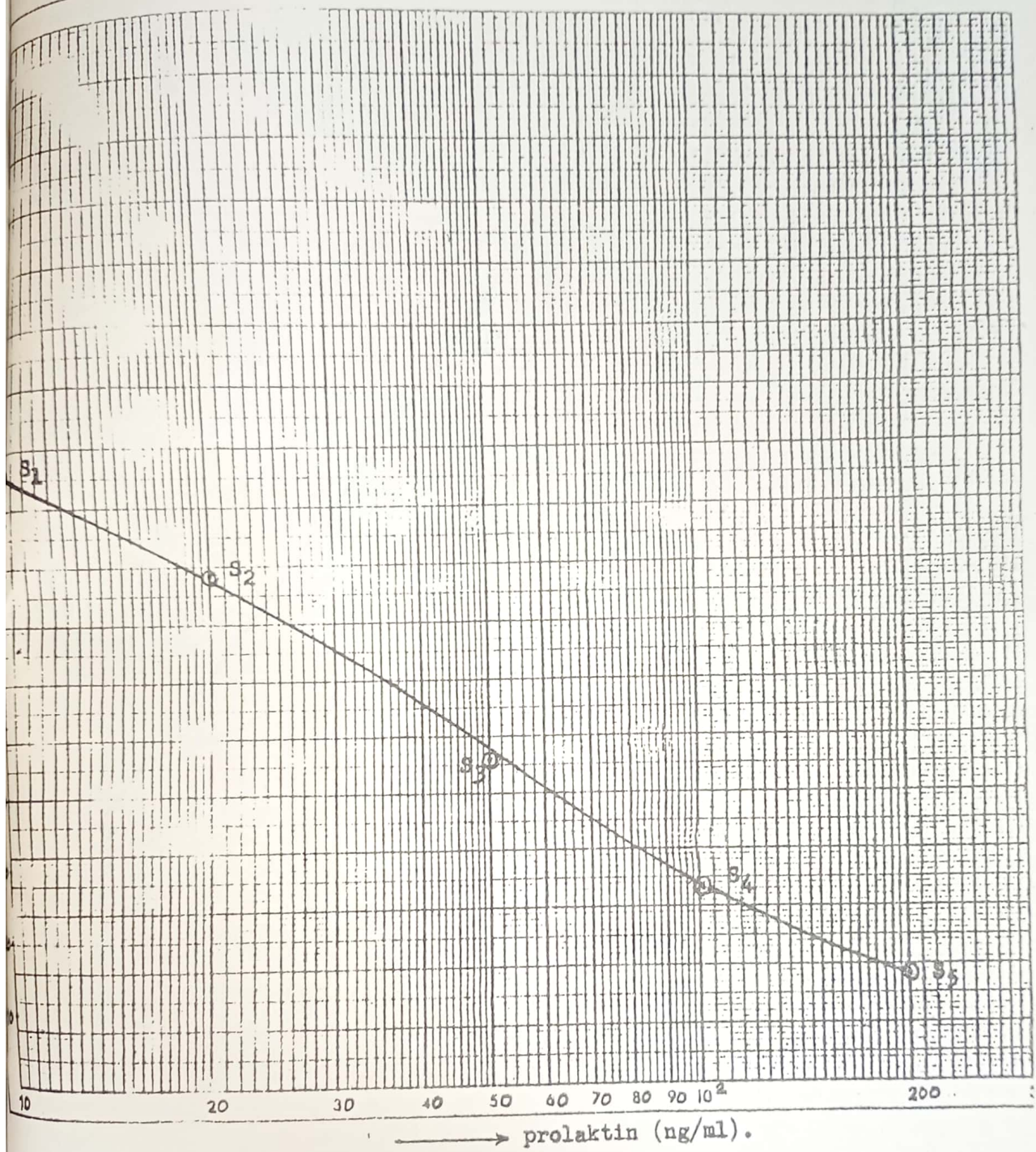
Berdasarkan hasil-hasil dan pembahasan tersebut dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

- A. Transformasi logit-log dapat dipakai untuk mengolah data RIA dengan baik. Hasil yang didapatkan dengan cara klasik sangat berdekatan dengan yang didapatkan dari transformasi logit-log.
- B. Pada daerah ujung-ujung liku baku didapatkan selisih harga kadar yang cukup berarti antara yang didapatkan dengan cara klasik dan cara transformasi logit-log.

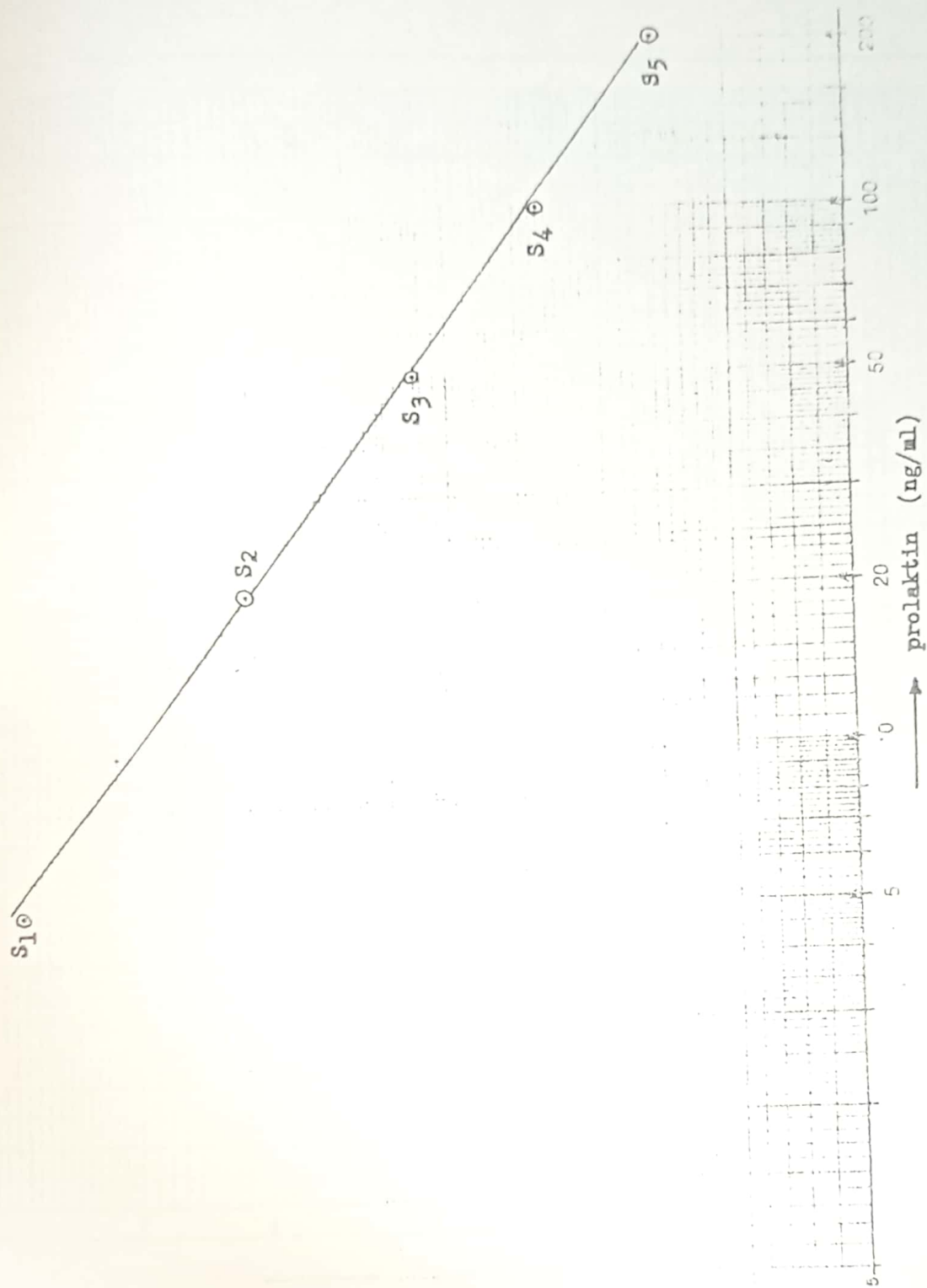
- C. Transformasi logit-log hanya akan menghasilkan garis lurus apabila sistem uji kadar mencapai kesetimbangan. Ternyata hal ini dipenuhi dalam uji kadar prolaktin (DPC), FSH (DPC) dan T₄ (Abott).
- D. Transformasi logit-log menghasilkan hasil yang lebih tepat/pasti dari pada cara klasik karena perhitungan kadar tidak tergantung pada liku baku dan dengan demikian tidak tergantung pada ketrampilan subyektif si pembuat liku baku.
- E. Transformasi logit-log dapat dipakai untuk mengolah data RIA dengan lebih cepat dari pada cara klasik karena hanya diperlukan kalkulator tangan saja.
- F. Transformasi logit-log sangat menguntungkan untuk dipakai dalam program otomatisasi pengolahan data RIA menggunakan mini Computer atau programmable calculator.
- G. Transformasi logit-log memudahkan pemantauan statistik "assay performance" karena dapat dilakukan pemantauan parameter-parameter slope, intersep dan residual variance (yang tidak ada dalam cara klasik).

A C U A N

1. T.J. Persoon, "Radioimmunoassay", Nuclear Medicine Technology and Techniques, The C.V. Mosby Company, 1981.
2. R.P. Ekins, "Automation of Radioimmunoassay and Other Saturation Assay Procedures", Proceeding of IAEA Symposium Radioimmunoassay and Related Procedures in Medicine, Vol 1, 1973.
3. A. Seidner, "Radioimmunoassay", American Society for Medical Technology, 1973.

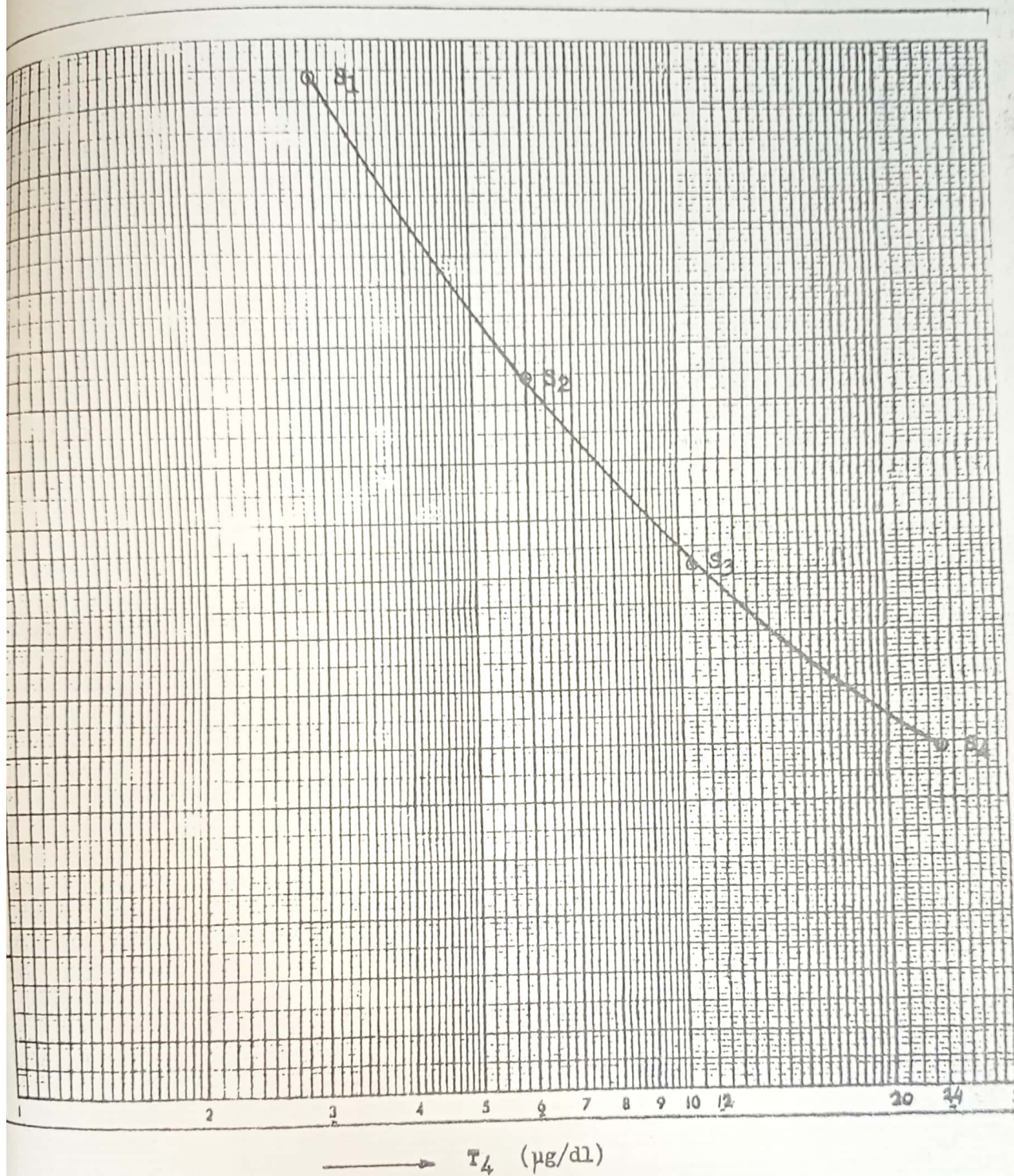


Gambar 3.

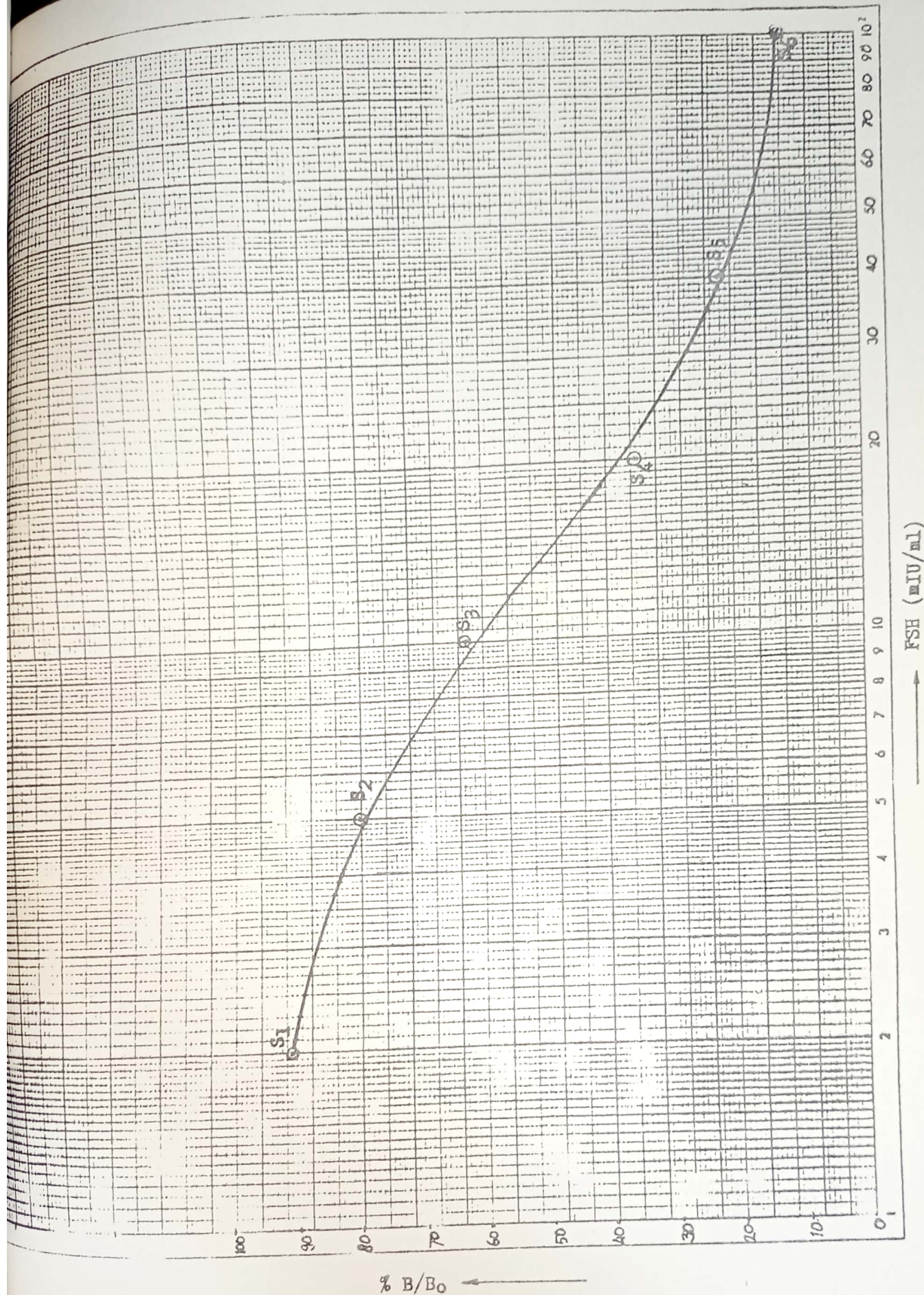


Gambar 4.

DL4-11

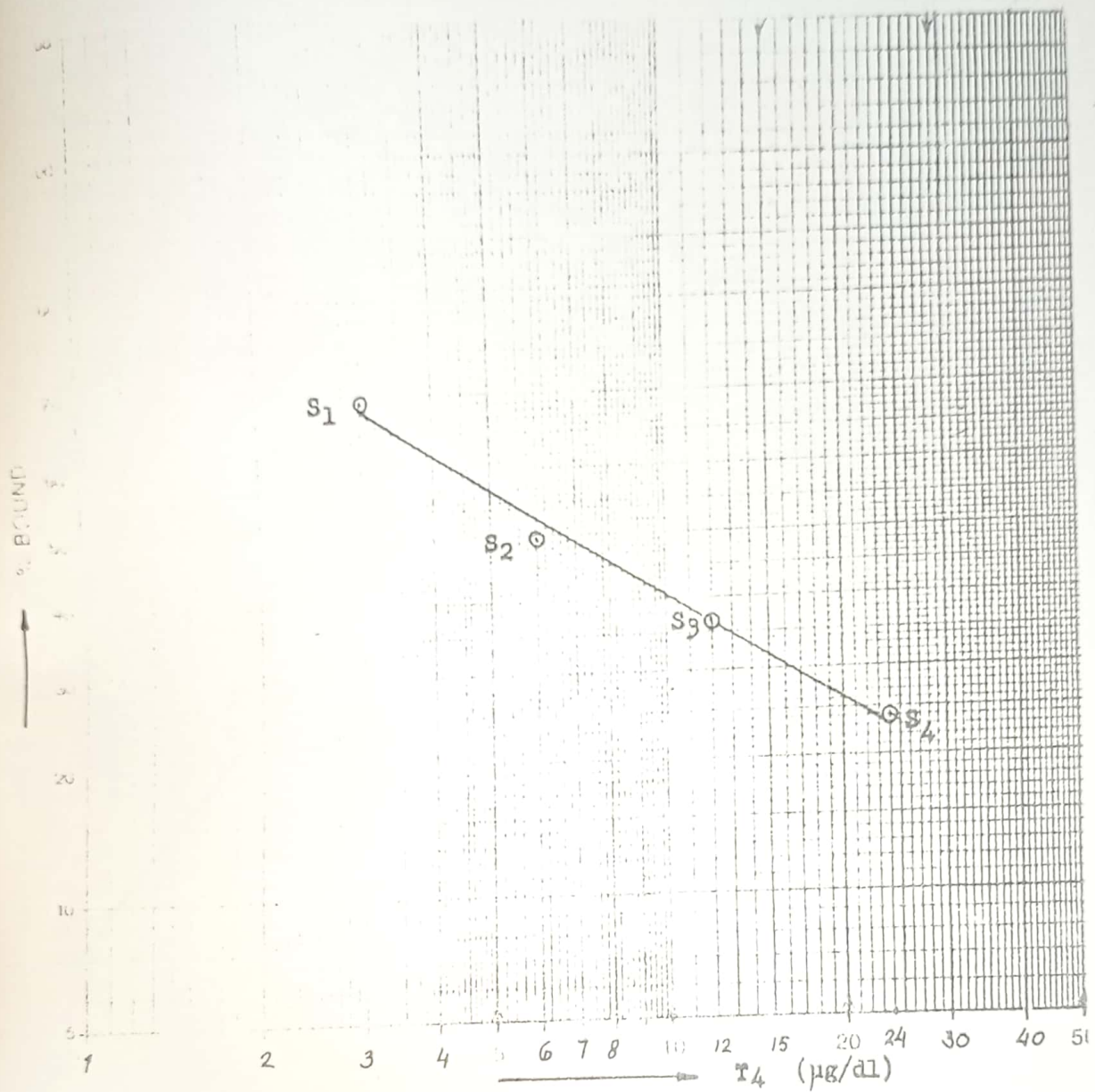


Gambar 5.

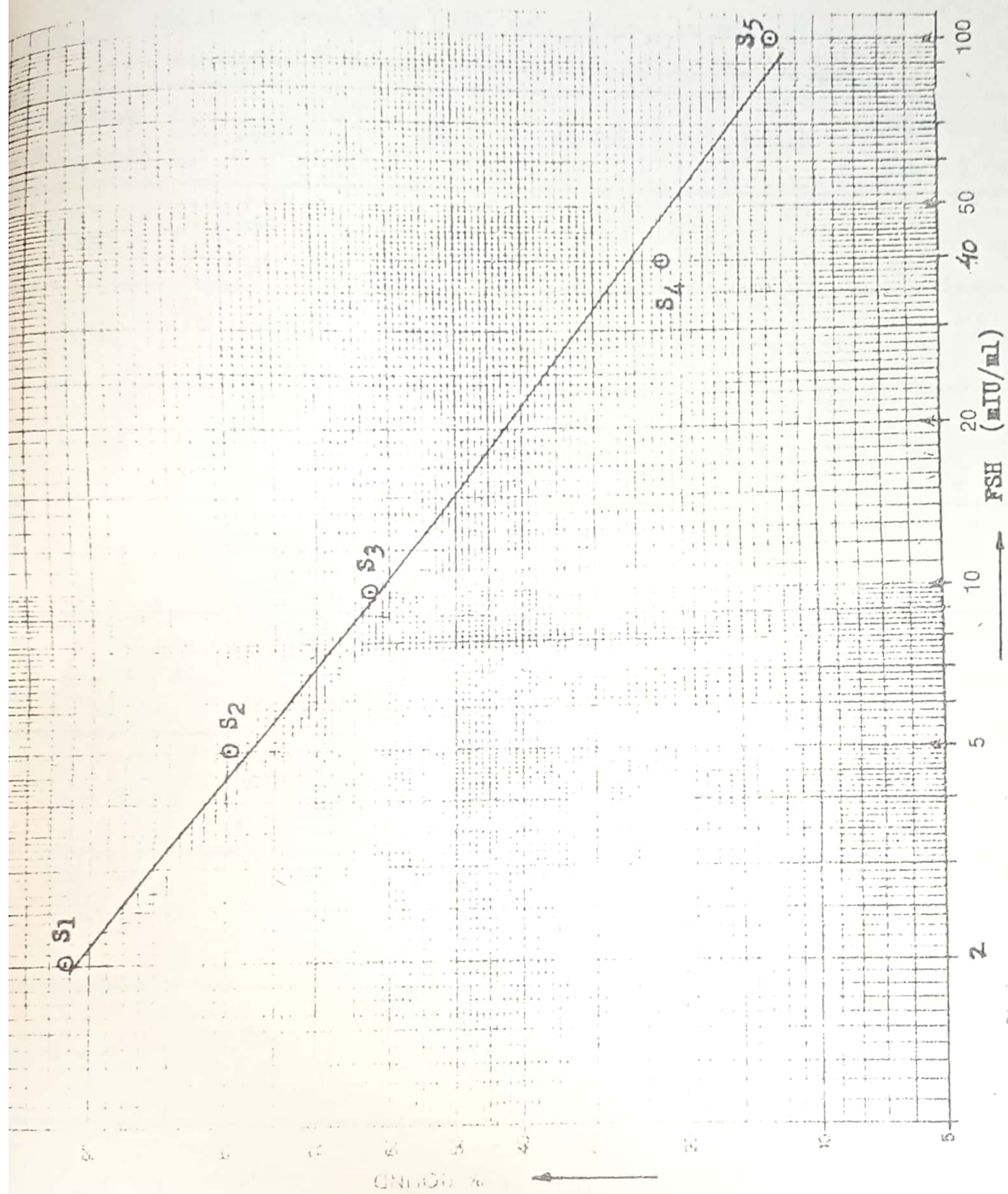


Gambar 6.

D14-13



Gambar 7.



Gambar 06.

Tabel 1. Kalibrasi prolaktin (DPC) menggunakan metoda "klasik"

Cuplikan (standard)	Cpm	$\bar{Cpm}$	Cpm-NSB	% bound	(prolaktin) (ng/ml) ^{a)}
NSB	233 188	210,5	-	-	-
TOTAL	7605 7594	7599,5	-	-	-
S - 0	2695 2695	2695	2484,5	100,0	0
S - 1	2743 2210	2476,5	2266	91,2	5
S - 2	2425 2228	2326,5	2116	85,2	10
S - 3	2042 1923	1982,5	1772	71,3	20
S - 4	1360 1291	1325,5	1115	44,9	50
S - 5	894 847	870,5	660	26,5	100
S - 6	568 596	582	371,5	14,9	200

^{a)} Data konsentrasi standard prolaktin diambil dari lembar petunjuk yang tersedia dalam kit RIA.

Catatan : Tanda panah menunjukkan arah proses perhitungan pengolahan data.

Tabel 2. Kalibrasi Prolaktin (DPC) menggunakan transformasi logit-log.

duplikan (standard)	Cpm	Cpm	Cpm-NSB (=B)	B/B ₀	1-B/B ₀	ln B/B ₀ 1-B/B ₀	ln C	C [*] ng/ml
NSB	233 188	210,5	-	-	-	-	-	-
TOTAL	7605 7594	7599,5	-	-	-	-	-	-
S - 0	2695 2695	2695	2484,5 (=B ₀)	-	-	-	-	-
S - 1	2743 2210	2476,5	2266	0,91	0,09	2,31	1,61	5
S - 2	2425 2222	2323,5	2116	0,85	0,15	1,73	2,30	10
S - 3	2042 1923	1982,5	1772	0,71	0,29	0,89	3,00	20
S - 4	1360 1291	1325,5	1115	0,45	0,55	-0,20	3,91	50
S - 5	894 847	870,5	660	0,27	0,73	-0,99	4,60	100
S - 6	568 596	582	371,5	0,15	0,85	-1,73	5,30	200

Hasil perhitungan regresi : $Y = -1,12 X + 4,21$

$r = -0,999$

dimana, $Y : \text{logit } B/B_0 = \ln (B/B_0)/(1-B/B_0)$.

$X : \ln C$

$r : \text{residual variance}$

*) Data konsentrasi diambil dari petunjuk kit RIA.

Catatan : arah panah menunjukkan arah proses perhitungan.

Tabel 3. Perbandingan hasil uji kadar Prolaktin (DPC) dengan cara klasik dan transformasi logit-log.

Nomor Cuplikan	(Prolaktin) ng/ml		Selisih ^{*)} (ng/ml)
	" klasik "	logit-log	
1	< 10	8,73	-
2	30	29,30	-
3	28	28,02	- 0,02
4	33	32,32	0,68
5	32,5	30,63	1,87
6	< 10	7,17	-
7	< 10	8,20	-
8	10,1	9,54	0,56
9	12	17,95	- 5,95
10	42	41,10	0,90
11	28	27,04	0,96
12	73	83,07	- 10,07
13	18	14,24	3,76
14	27,5	26,10	1,4
15	52,5	55,15	- 2,65
16	22,5	22,83	- 0,33
17	29	29,04	- 0,04
18	36	34,70	1,3
19	14	13,87	0,13
20	22	21,45	0,55
21	13	12,80	0,20
*) klasik - (logit-log).			

Tabel 4. Parameter hasil perhitungan regresi linier (dari transformasi logit-log).

$$Y = A + B X$$

$$Y = \text{logit } B/B_0; \quad X = \ln C \text{ (Prolaktin)}.$$

Tanggal Pengukuran	Slope (B)	Intersep (A)	Residual variance (r)
22 - 4	- 1,12	7,49	- 0,999
23 - 4	- 1,23	8,13	- 0,999
27 - 4	- 1,16	7,97	- 0,998
28 - 4	- 1,08	7,26	- 0,996
29 - 4	- 1,01	7,25	- 0,997
30 - 4	- 1,16	7,75	- 0,999
3 - 5	- 1,08	7,07	- 0,991
4 - 5	- 1,04	6,92	- 0,999
5 - 5	- 1,00	6,68	- 0,994
6 - 5	- 1,08	7,22	- 0,999
7 - 5	- 1,15	7,77	- 0,996
10 - 5	- 1,07	7,16	- 0,999
11 - 5	- 0,98	6,51	- 0,994
rata-rata :	- 1,09	7,32	- 0,997
% CV :	6,4 %	6,4 %	0,25 %

Tabel 5. Perbandingan hasil uji kadar T_4 (Abott) dengan cara klasik dan transformasi logit-log.

Nomor Cuplikan	T_4 (ug/dl)		Selisih (ug/dl)
	" klasik "	logit-log	
1	3	3 (=1,64)	-
2	5,4	5,97	- 0,57
3	8,6	9,77	- 1,17
4	3,5	3,39	0,11
5	3,6	3,57	0,03
6	4,5	4,91	- 0,41
7	4,4	4,75	- 0,35
8	3,8	3,90	- 0,1

9	!	3,4	!	3,24	!	0,16	!
10	!	3	!	3 (=2,60)	!	-	!
11	!	4,9	!	5,37	!	- 0,47	!
12	!	8,0	!	9,03	!	- 1,03	!
13	!	3,6	!	3,58	!	0,02	!
14	!	7,8	!	8,87	!	- 1,07	!
15	!	5,4	!	6,03	!	- 0,63	!

Tabel 6. Perbandingan hasil uji kadar FSH (DPC) dengan cara klasik dan transformasi logit-log.

!	Nomor Cuplikan	FSH (mIU/ml)		!	Selisih (mIU/ml)	!
		" klasik "	logit-log			
!	1	> 100	>100 (=115,40)!	!	-	!
!	2	18,0	21,01	!	- 3,01	!
!	3	12,7	13,41	!	- 0,71	!
!	4	2,4	2,33	!	0,07	!
!	5	> 100	85,39	!	-	!
!	6	9,4	9,52	!	- 0,12	!
!	7	13,5	14,89	!	- 1,39	!
!	8	9,8	9,86	!	- 0,06	!
!	9	6,7	6,47	!	0,23	!
!	10	3,7	3,40	!	0,30	!
!	11	14,5	15,83	!	- 1,33	!
!	12	9,8	10,01	!	- 0,21	!
!	13	7,6	7,56	!	0,04	!
!	14	8,6	8,05	!	0,55	!
!	15	8,6	8,51	!	0,09	!

KETERANGAN GAMBAR

- Gambar 1. (halaman 3) : Plot cacah (bound) vs konsentrasi pada kertas linier.
- Gambar 2. (halaman 4) : Data yang sama dari Gambar 1, di plot dalam % B/B₀ vs konsentrasi pada kertas semi-log.
- Gambar 3. (halaman 10) : Liku baku "klasik" : % B/B₀ vs konsentrasi prolaktin (DPC).
- Gambar 4. (halaman 11) : Liku baku logit-log : % B/B₀ vs konsentrasi prolaktin (DPC).
- Gambar 5. (halaman 12) : Liku baku "klasik" : % B/B₀ vs konsentrasi T₄ (Abbott).
- Gambar 6. (halaman 13) : Liku baku "klasik" : % B/B₀ vs konsentrasi FSH (DPC).
- Gambar 7. (halaman 14) : Liku baku logit-log : % B/B₀ vs konsentrasi T₄ (Abbott).
- Gambar 8. (halaman 15) : Liku baku logit-log : % B/B₀ vs konsentrasi FSH (DPC).

TANYA JAWAB, SARAN dan RALAT

Wisnu Arya Wardhana :

1. Berapa % perbedaan harga yang diperkenankan dalam pencacahan 1 cuplikan ?
2. Apakah harga statistik pencacahan perlu diterapkan di sini ?
3. Bagaimana hasil logit-log bila dibandingkan dengan cara liku baku klasik ?

Wisnu Susetyo :

1. Tiap cuplikan diuji kadarnya secara duplo. Biasanya perbedaan harga cacah antara keduanya tidak diperiksa sepasang demi sepasang melainkan secara keseluruhan. Besaran yang menyatakan harga cacah antara pasangan duplo tersebut dinamakan kesaksamaan "dalam pengujian" atau "within assay", yaitu :

$$S_w = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}}$$

dimana S_w = kesaksamaan dalam pengujian

d = selisih cacah antara pasangan duplo

n = banyaknya cuplikan yang diperiksa dalam pengujian yang bersangkutan.

Setiap kali dilakukan pengujian, harga S_w dihitung dan dimasukkan dalam liku profil kesaksamaan. Dalam profil kesaksamaan. Dalam profil kesaksamaan tersebut ditetapkan suatu harga batas yang tidak boleh dilampaui. Setiap pengujian yang mempunyai harga S_w melampaui harga batas yang ditetapkan dianggap tidak baik dan perlu diulangi lagi.

2. Pada umumnya suatu lab RIA yang sudah mapan setiap hari harus menganalisa banyak cuplikan dan melaporkan hasilnya dalam waktu sesingkat mungkin. Oleh sebab itu tidak ada waktu untuk melakukan pengukuran statistik pencacahan bagi tiap individu cuplikan. Meskipun demikian, ada cuplikan-cuplikan khusus yang dipakai untuk memonitor statistik pencacahan antar pengujian yang satu dengan yang lain. Cuplikan semacam itu biasanya merupakan serum standar yang sudah diketahui kadar zat

yang akan ditentukan di dalamnya. Besaran yang dipakai untuk memonitor statistik pencacahan tersebut adalah kesaksamaan "antar pengujian" atau "between assay", yang dinyatakan sebagai berikut :

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum (c_i - \bar{c})^2}{m - 1}}$$

di mana S_b = kesaksamaan antar pengujian

c_i = cacah ke- i suatu cuplikan

$\bar{c}$ = cacah rerata cuplikan tersebut

m = banyaknya pengukuran yang telah dilakukan untuk cuplikan tersebut

Sama seperti pada pemantauan kesaksamaan dalam pengujian di sini dibuat juga liku profil kesaksamaan antar pengujian dan ditentukan juga harga batas atasnya. Dengan cara memonitor harga S_b ini maka kualitas pengujian dapat dimonitor dengan lebih baik.

3. Pada umumnya hasil uji kadar yang didapatkan dengan menggunakan cara transformasi logit-log sangat mirip dengan hasil uji kadar yang menggunakan liku baku klasik. Perbedaan yang agak berarti dapat terjadi di daerah ujung kiri dan kanan liku baku. Untuk lebih jelasnya silahkan melihat contoh-contoh yang saya sajikan dalam Tabel 3, 5 dan 6.

Kunto Wiharto :

1. Teknik transformasi logit-log dalam pengolahan data RIA sangat populer karena mempunyai keuntungan-keuntungan tertentu; apakah ada teknik manipulasi matematik lain yang lebih unggul?

Wisnu Susetyo :

1. Sepanjang pengetahuan pembicara, belum ada metode pengolahan data RIA yang lebih praktis atau lebih baik dari cara transformasi logit-log. Marschner dan kawan-kawan dari Universitas Munchen, Jerman Barat mengusulkan pengolahan data RIA dengan menggunakan "spline function" yang dapat mengubah liku baku klasik yang berbentuk "sigmoid" ke dalam suatu persamaan

matematik. Akan tetapi cara ini memerlukan komputer dengan kapasitas memori yang relatif besar dibandingkan dengan cara transformasi logit-log yang hanya memerlukan kalkulator saku biasa. Memang dalam cara logit-log masih ada segi kelemahan yaitu adanya sedikit ketidaklinearan di ujung-ujung liku baku. Hal ini dapat disempurnakan dengan memasukkan faktor bobot ("weighted factor") dalam perhitungan transformasi logit log sebagai berikut :

a. Dihitung harga varian titik baku :

$$\text{Var } B/Bo = \frac{\sum (B/Bo)^2}{n - 1} = \frac{(\sum B/Bo)^2}{n (n - 1)}$$

n = jumlah percobaan

b. Dihitung varian logit (B/Bo) titik baku :

$$\text{Var logit } B/Bo = \frac{\text{Var } B/Bo}{\left(\frac{B}{Bo}\right)^2 (1 - \frac{B}{Bo})^2}$$

c. Dihitung faktor bobot W tiap titik baku :

$$W = \frac{1}{\text{Var logit } B/Bo}$$

d. Faktor bobot tiap titik baku ini dimasukkan dalam persamaan regresi linier (lihat tabel 4 dalam makalah)

Machfudz :

1. Apakah pada reaksi antigen antibodi masih diperlukan biokatalisator ? Kalau ya, apakah biokatalisator untuk reaksi antigen biasa antibodi sama dengan antigen bertanda antibodi. Kalau tidak mengapa dapat terjadi demikian ?

Wisnu Susetyo :

1. Sepanjang pengetahuan pembicara, tidak diperlukan biokatalisator untuk mempercepat reaksi antigen-antibodi, asal diberi waktu inkubasi yang cukup, reaksi tersebut akan terjadi dengan sendirinya sampai keadaan setimbang tercapai. RIA didasarkan pada asumsi bahwa antigen biasa dan antigen bertanda tidak berbeda secara biokimiawi. Perbedaan antara antigen bertanda

dan yang biasa sebenarnya hanya terletak pada isotop yang terikat. Biasanya isotop yang dipakai untuk menandai antigen RIA adalah ^{125}I , sedangkan dalam antigen biasa yang terikat adalah iodin alam, yaitu ^{127}I . Perbedaan nomor massa sebesar 2 satuan massa atom tidak akan memberi efek isotop yang berarti.

Muryono :

1. Apakah ikatan antara antigen dan antibodi yang bertanda sama kuatnya dengan ikatan antara antigen biasa dengan antibodi mengingat bahwa : antigen bertanda memancarkan sinar gamma yang bisa merusak dinding tempat sambungan. Antibodi atau enzim pada umumnya terdiri dari DNA dan RNA di mana dalam sambungan molekul satu dan lainnya terdapat rantai H yang mudah patah karena sinar gamma dan rantai H tersebut diperlukan untuk duplikasi protein (enzim).

kompleks bertanda



kompleks tak bertanda



Wisnu Susetyo :

1. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, perlu ditegaskan sekali lagi bahwa RIA didasarkan atas asumsi yang mengatakan bahwa sifat-sifat biokimiawi antigen bertanda dan antigen biasa (serta hubungannya dengan antibodi) adalah sama. Isotop ^{125}I yang dipakai untuk menandai antigen adalah pemancar sinar gamma dengan tenaga yang sangat lemah, yaitu $\pm 35 \text{ KeV}$. Jika terjadi hal-hal yang saudara tanyakan maka hal itupun rupanya dapat diabaikan mengingat uji kadar dengan RIA mempunyai ketepatan yang tinggi.

Suwardi :

1. Apakah penelitian ini ditekankan pada pengujian metoda ataukah sistem peralatan yang dimiliki ?
2. Apakah pengujian ini merupakan yang pertama kali ? Kalau merupakan uji ulang, bagaimana perbandingannya dan apa perbedaannya ?