

# BIOLOGI MOLEKULER IMMUNOASSAY

**PERTEMUAN 12**

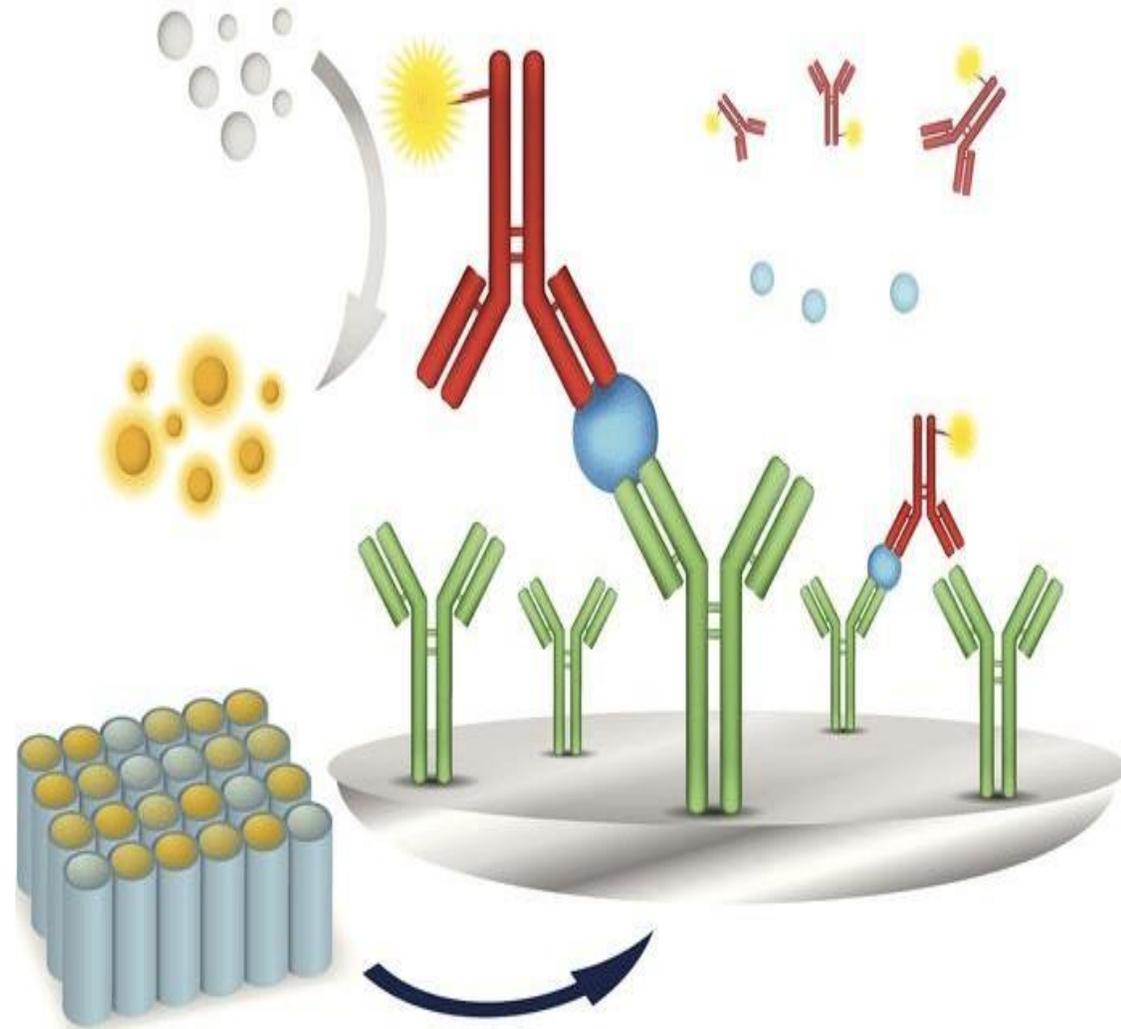
**Desi Novita Revianawati**



**STIKES NOTOKUSUMO  
YOGYAKARTA**

# PENDAHULUAN

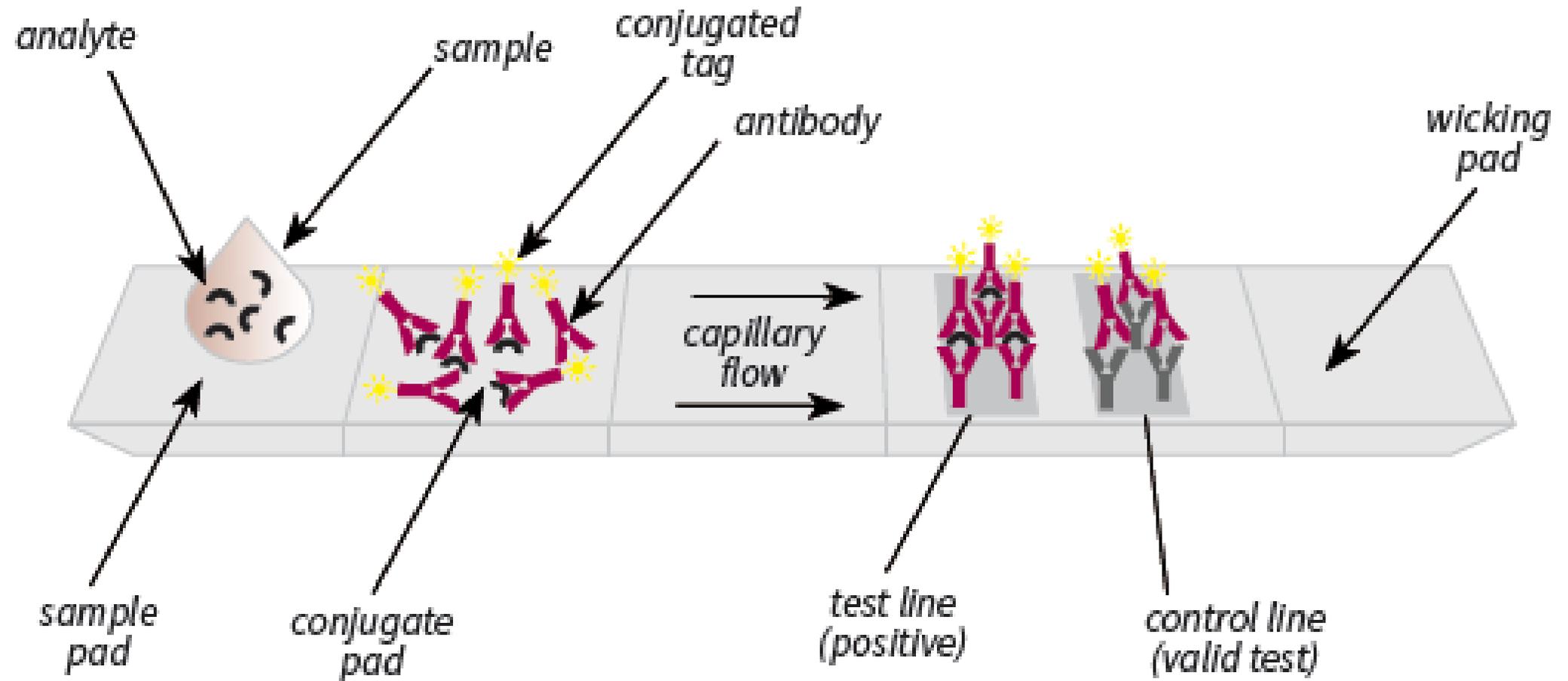
- ***Immunoassays*** adalah metode bioanalitik yang menggunakan kekhususan reaksi antigen-antibodi untuk mendeteksi dan mengukur molekul target dalam sampel biologis.
- Metode ini sering digunakan dalam diagnostik klinis, penemuan obat, pemantauan obat, dan pengujian makanan.



# KIT DIAGNOSTIK

- *Produk life science* yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu penyakit secara cepat dan akurat, sehingga meningkatkan efektivitas terapi.
- Kit Diagnostik digunakan untuk mendeteksi suatu penyakit, baik penyakit infeksi maupun non-infeksi
- Kit Diagnostik dapat berupa *rapid test* (strip, seperti pengecekan kehamilan), maupun yang lebih canggih dengan metode ELISA
- Contoh Kit Diagnostic deteksi dini untuk pasien diabetes militus tipe 1 (DM Tipe 1), DBD, Hepatitis hingga Covid19

## Rapid Immunoassay (Lateral Flow)



# RADIOIMMUNOASSAY (RIA)

- *Radioimmunoassay* pertama kali dikembangkan oleh Rosalyn Yalow dan Solomon A. Berson dari Amerika Serikat, pertama kali mereka bekerja untuk mempelajari tentang hormon khususnya insulin yaitu hormon yang mengatur kadar gula dalam darah
- *Radioimmunoassay* adalah teknik nuklir yang banyak digunakan untuk mengetahui konsentrasi hormon
- Pengujian ini menggunakan antibodi yang spesifik untuk hormon sebagai protein terikat

# RADIOIMMUNOASSAY (RIA)

<p>Keuntungan metode RIA adalah :</p>	<p>Sensitivitas dan presisi yang tinggi Mudah dikerjakan Pekerjaannya lebih cepat dan tidak memerlukan sampel yang besar.</p>
<p>Kerugian metode RIA adalah :</p>	<p>Reagen kurang stabil Memerlukan proteksi terhadap bahan radioaktif (<i>radioactive hazardous</i>)</p>

# PRINSIP RIA

---

Prinsip dasarnya adalah **reaksi antara antigen dan antibodi** di dalam reaksinya adalah sifat kekhususannya

---

Sebuah antigen yang bereaksi dengan antibody yang spesifik untuknya dan tidak mengadakan reaksi silang (*cross reaction*) dengan tipe antigen yang sama.

---

Bahan pereaksi dalam *radioimmunoassay* ialah antigen radioaktif dan antibody spesifik.

# PRINSIP RIA

---

Dasar kerja RIA adalah Untuk mengetahui perbandingan konsentrasi antibody yang terdapat pada bagian dalam tabung dan antigen yang terdapat didalam sampel dengan menggunakan **radio aktif**.

---

Persaingan konsentrasi antigen sampel dapat ditentukan dari reaksi reduksi pengikatan konsentrasi antigen dari antibody yang terdapat pada bagian dalam tabung

---

Radioisotop yang paling umum digunakan untuk RIA adalah isotop yodium yang disebut yodium-125 ( $^{125}\text{I}$ ). Yodium-125 menawarkan beberapa keuntungan, seperti dapat dibuat dengan aktivitas spesifik yang sangat tinggi dan dengan kelimpahan isotop hampir 100%.

# PRINSIP RIA

---

Prinsip RIA sederhana yaitu: isotop di mix dengan antibodi kemudian disisipkan pada sampel darah pasien.

---

Substansi non radioaktif dalam darah akan menggantikan posisi radioaktif pada antibodi yang mengakibatkan radioaktif lepas.

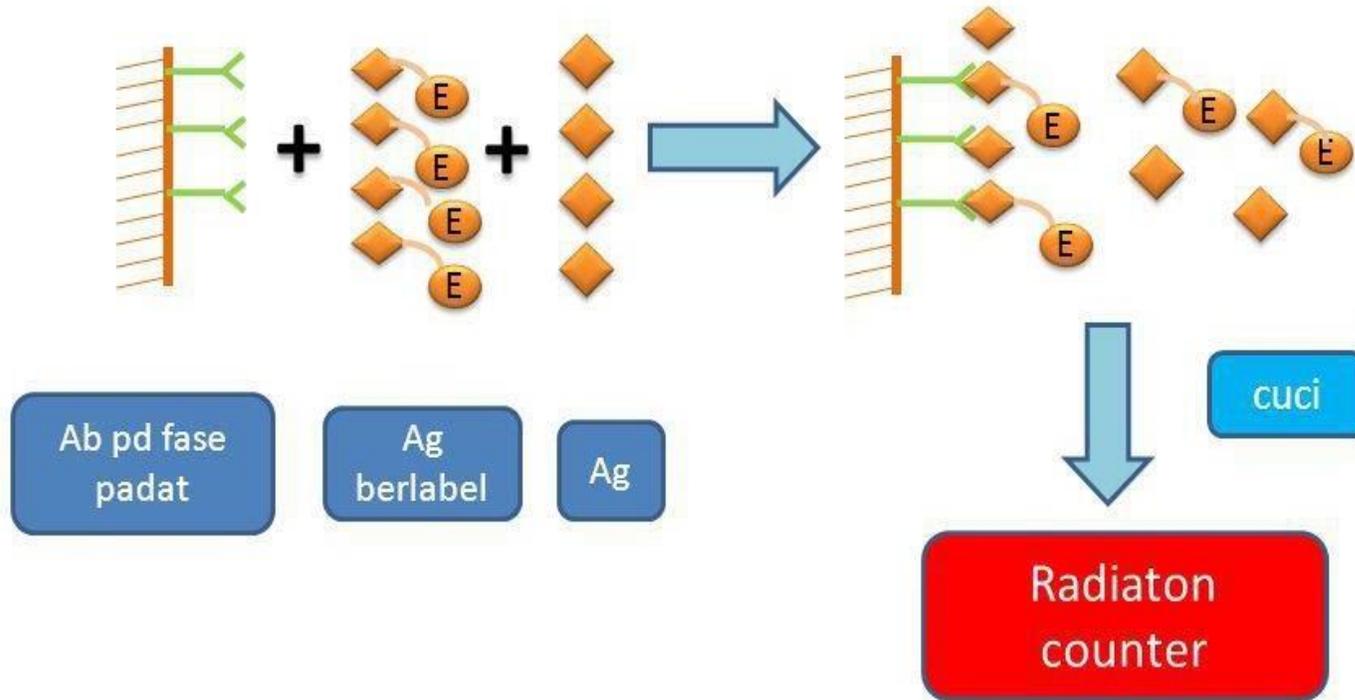
---

Radioaktif yang bebas ini kemudian diukur untuk menentukan berapa banyak substansi dalam darah

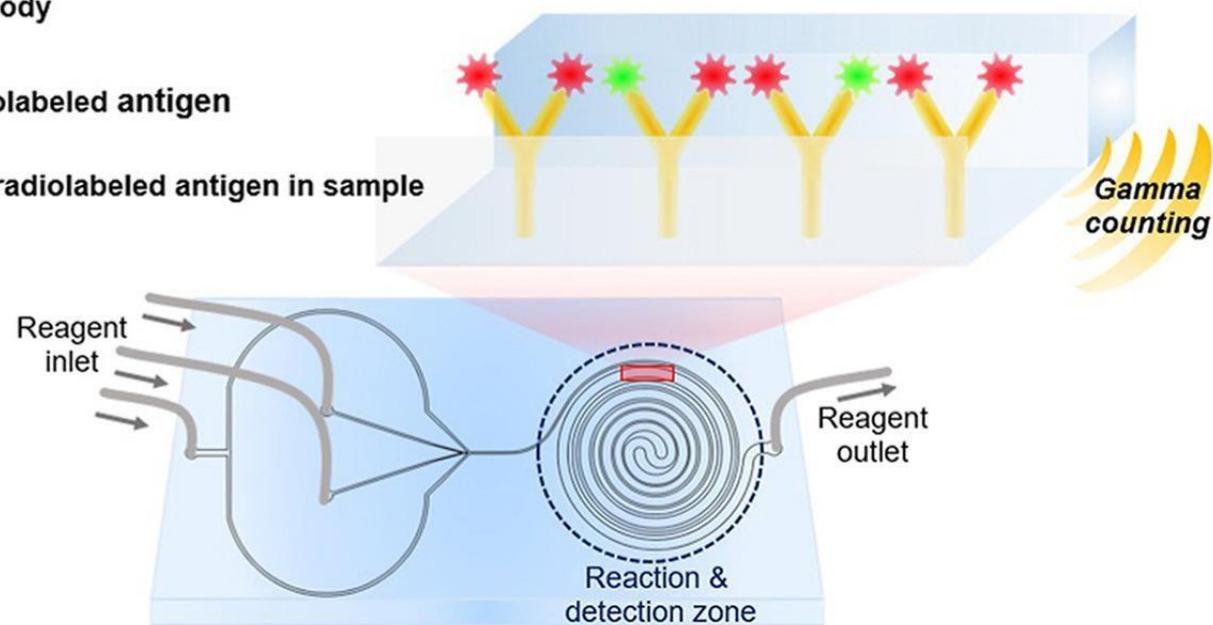
---

Anti serum untuk hormon yang diuji harus memiliki spesifik yang tinggi

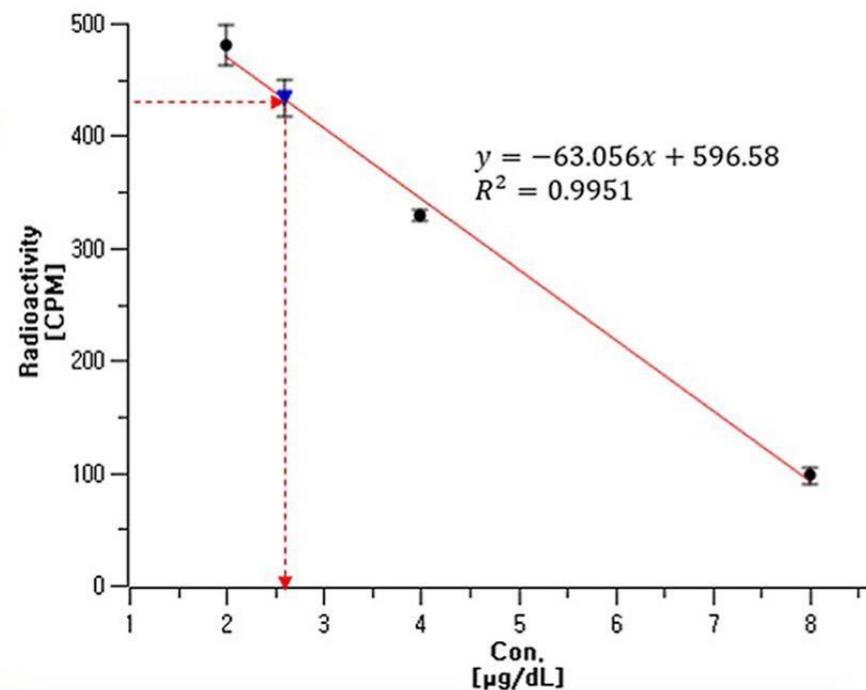
# Prinsip dasar RIA



-  Antibody
-  Radiolabeled antigen
-  Non-radiolabeled antigen in sample



Radioimmunoassay standard curve



### Radioimmunoassay-on-a-Microfluidic Chip ( $\mu$ -RIA)

Reagent Injection

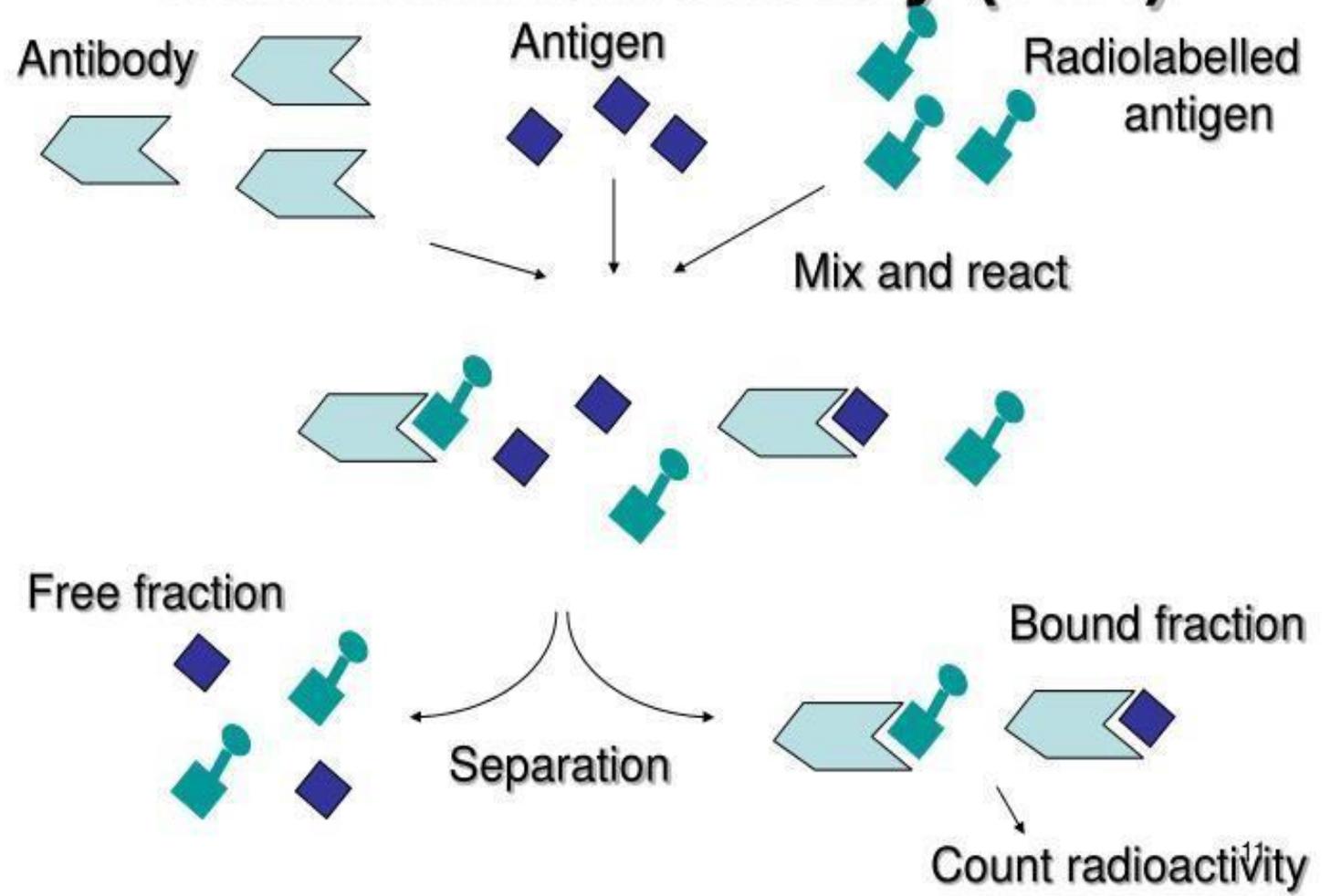
Incubation

Washing

Radioactivity measurement

Quantification

# Radioimmunoassay (RIA)



# M E T O D E R I A

## Prinsip non kompetitif

- Yang paling banyak di gunakan adalah ***sandwich.***
- Prinsip dasar dari sandwich adalah reaksi suatu antibodi dalam konsentrasi yang terbatas dengan berbagai konsentrasi antigen

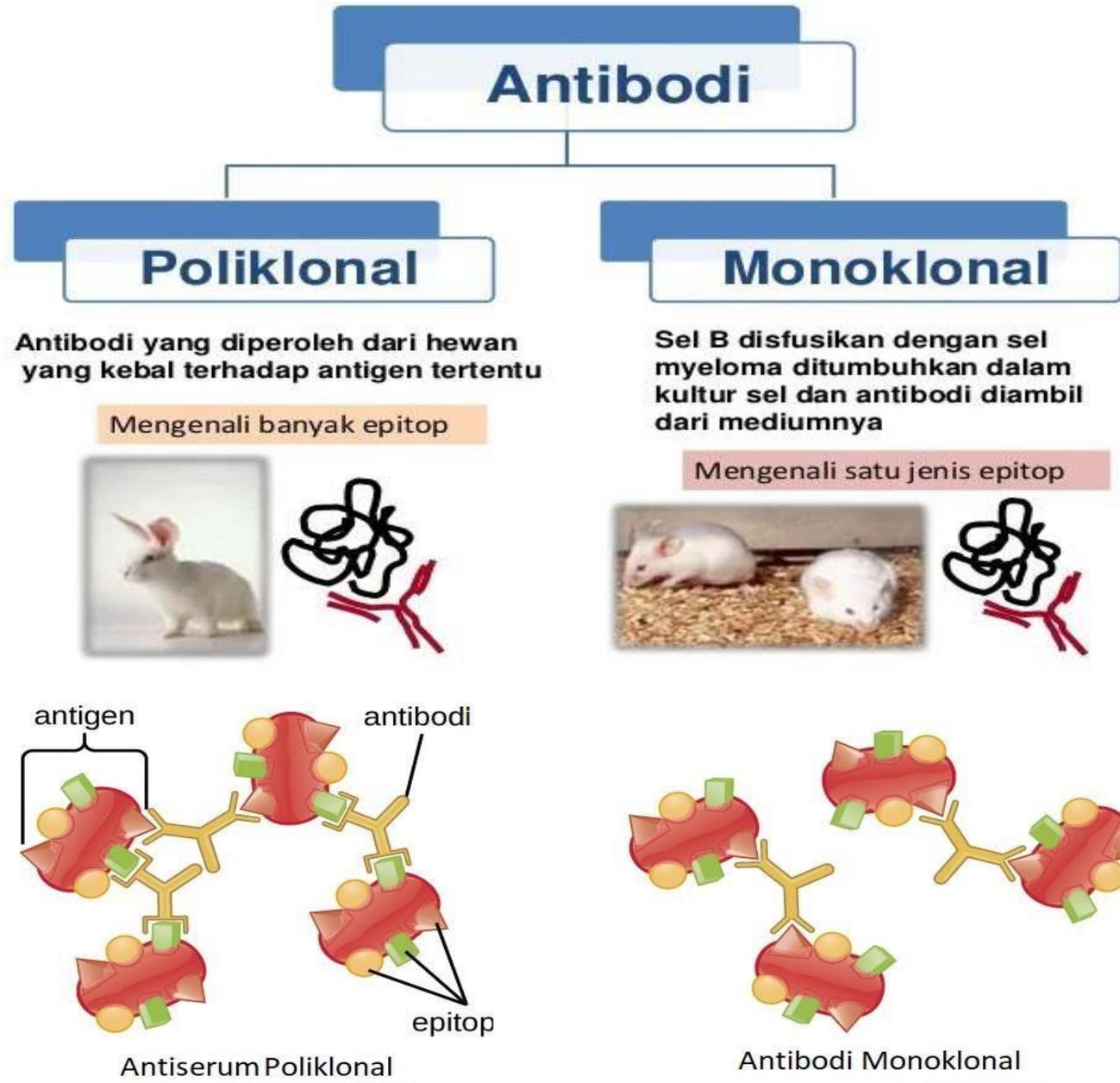
## Prinsip Kompetitif

- Sejumlah tertentu antibodi diimobilisasi (ditempelkan) pada suatu fase padat misalnya dinding tabung plastik.
- Sampel pasien yang mungkin mengandung biomolekul (misalnya patogen) ditambahkan bersama dengan sejumlah tertentu biomolekul berlabel radioaktif yang akan berinteraksi dengan antibodi yang timbul

# RIA vs ELISA

More Information Online [WWW.DIFFERENCEBETWEEN.COM](http://WWW.DIFFERENCEBETWEEN.COM)

	RIA	ELISA
DEFINITION	RIA is the immunoassay technique which detects antigen-antibody complex by using radioisotopes	ELISA is the immunoassay technique which detects antigen-antibody complex by using enzymes
LABELLING ANTIGEN OR ANTIBODY	Antigen is labelled	Antibody is labelled
LABELLING MOLECULE	Radioisotopes	Enzyme
SENSITIVITY	RIA is highly sensitive compared to ELISA	ELISA is less sensitive compared to RIA
SPECIALLY TRAINED PEOPLE AND LABS	Specially trained people and labs to handle radioactive material	Does not need specially trained people and labs
REQUIRES SPECIAL ARRANGEMENTS	Requires special arrangements for the requisition, storage, and disposal of radioactive material	Does not require special arrangements
RADIATION HAZARDS	Radiation hazards are reported	No radiation hazards



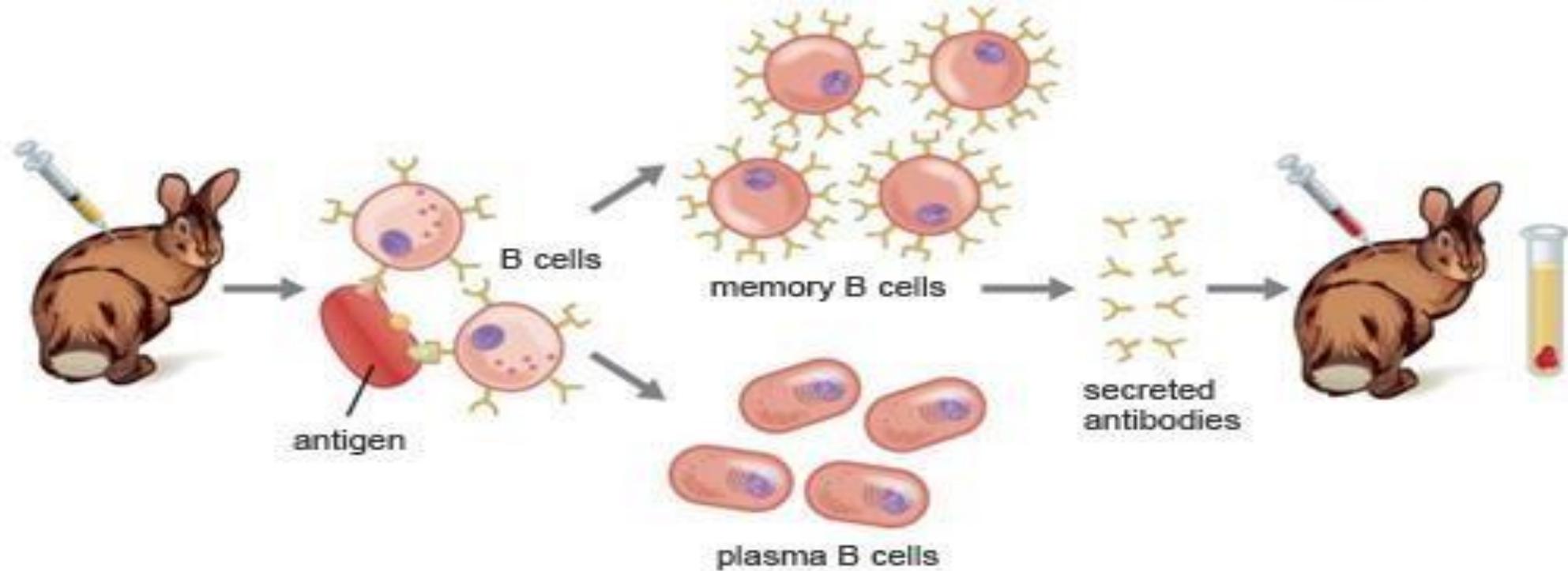
# ANTIBODI POLIKLONAL

1 Inject antigen into rabbit.

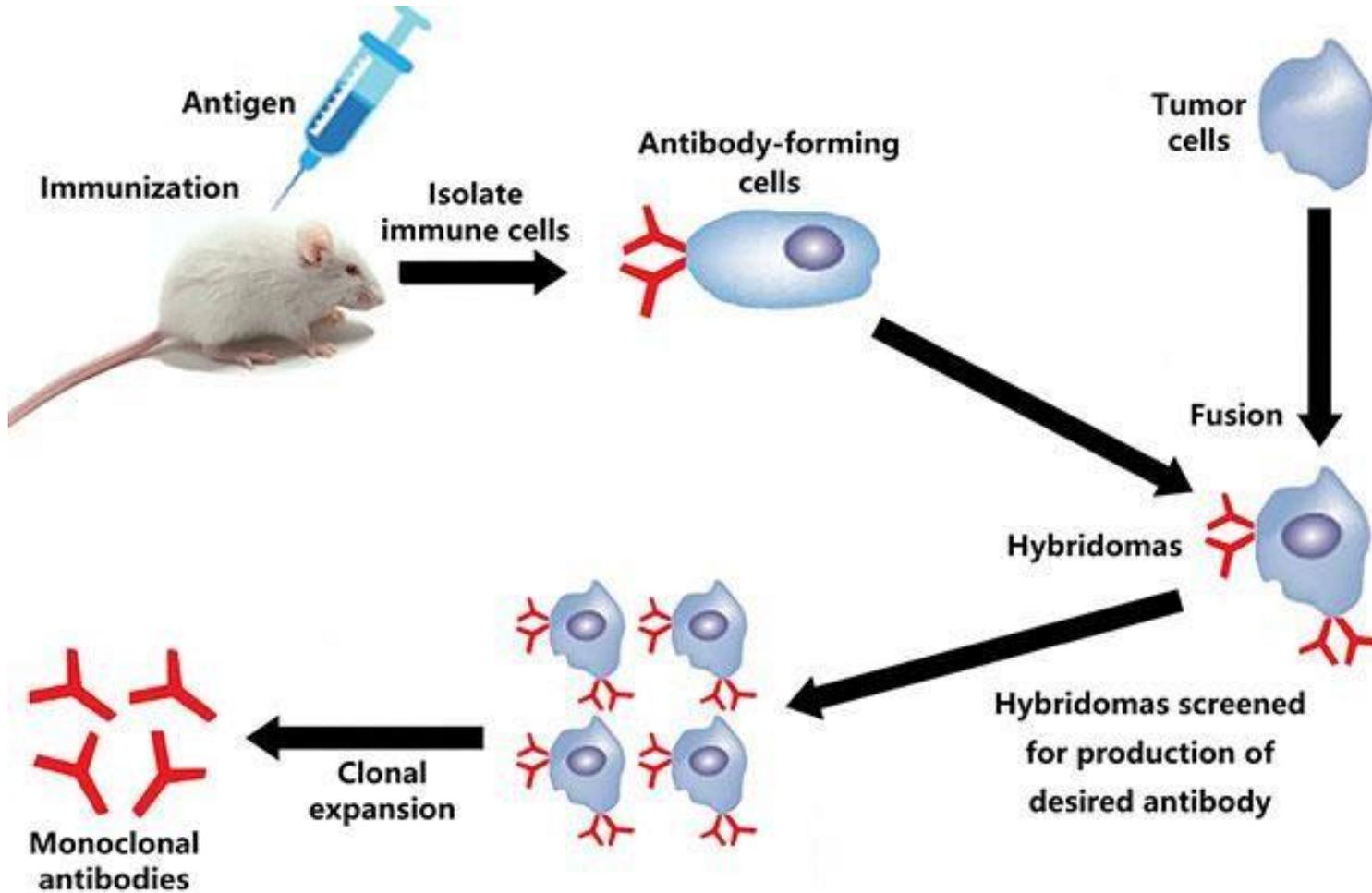
2 Antigen activates B cells.

3 Plasma B cells produce polyclonal antibodies.

4 Obtain antiserum from rabbit containing polyclonal antibodies.



# ANTIBODI MONOKLONAL



- Antibodi monoklonal adalah antibodi monospesifik yang dapat mengikat satu epitop saja.
- Antibodi monoklonal ini dapat dihasilkan dengan teknik **hibridoma**.
- Prinsip dasar dalam teknik **hibridoma adalah** penyatuan (fusi) dua sel yang berasal dari organisme yang sama atau dari organisme yang berbeda

No.	Antibodi monoklonal	Antibodi multiklonal / poliklonal
1.	Mengenali 1 jenis epitop (bagian dari antigen yang dikenali oleh antibodi atau sel T sitotoksik)	Mengenali banyak epitop
2.	Waktu produksi lebih lama	Waktu produksi singkat
3.	Biaya produksi mahal	Biaya produksi murah
4.	Dihasilkan dari 1 sel limfosit tunggal dan bersifat seragam	Dihasilkan dari banyak limfosit, tidak seragam
5.	Diisolasi dari sel limfosit tertentu	Diisolasi dari serum