

LAPORAN PRAKTIKUM

ELISA (*Enzyme Linked Immune-sorbent Assay*)

NAMA PRAKTIKAN : - DEBBY MIRANI LUBIS

- NITA ANDRIANI LUBIS

TANGGAL PRAKTIKUM: Kamis, 9 Januari 2014, pukul 09.00-17.00 WIB

I. TUJUAN PRAKTIKUM:

1. Memahami prinsip kerja teknik elisa
2. Mampu melakukan metode pemeriksaan kuantitatif plasma darah dengan teknik Elisa
3. Mampu melakukan pemeriksaan kuantitatif mannan-binding lectin terhadap plasma darah dengan teknik Elisa
4. Mampu membuat grafik dari pengenceran standar dan memperoleh rumus persamaan perhitungan konsentrasi sampel dengan regresi linier
5. Mampu membuat grafik rata-rata konsentrasi MBL plasma masing-masing praktikan

II. PENDAHULUAN

Uji kekebalan enzimatis, seringkali disebut enzyme-linked immune-sorbent assay atau ELISA. Didasarkan pada Ikatan spesifik antara Antigen-antibody. Ada teknik Kualitatif berdasarkan bahwa tiap antibodi berikatan pada antigen yang spesifik. Ada pula teknik kuantitatif berdasarkan jumlah ikatan antigen-antibodi yang ditentukan dengan nilai absorbansi. Teknik ini menggabungkan spesifitas antibody dengan kepekaan uji enzimatis dengan spektrofotometer biasa atau antigen dilekatkan pada enzyme yang mudah ditera. ELISA relatif murah dan lebih aman dibanding RIA (radio Immuno Assay) yang menggunakan bahan radiokatif dan dapat dikerjakan di laboratorium kecil tanpa alat pemecah radioaktif gamma.

Antibodi pada ELISA disekresi oleh sel plasma (sel B), biasanya digunakan monoklonal antibodi karena lebih spesifik untuk epitop tertentu daripada policlonal antibodi dan dapat dibeli terpisah atau dalam paket ELISA Kit. Biasanya diproduksi dengan cara induksi respon imun humoral pada hewan coba (rat, mouse) dengan cara injeksi antigen berulang, dilakukan ekstraksi sel dan purifikasi antibodi. Dapat juga di ekstraksi dari manusia yang telah di imunisasi dengan antigen tertentu.

Ada beberapa tipe ELISA, yaitu :

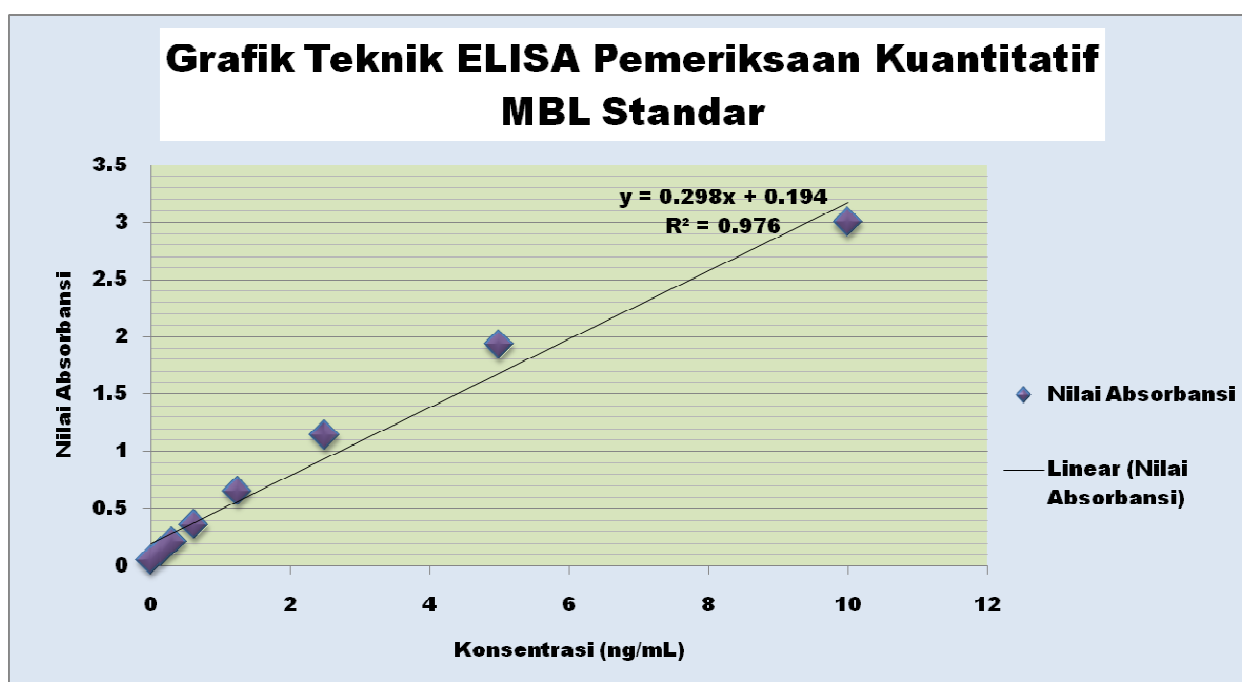
- Direct ELISA, biasanya digunakan dengan kompetisi dan Inhibisi ELISA. Digunakan untuk deteksi antigen.
- Indirect ELISA, antigen terikat pada plate. Digunakan untuk deteksi antibody.
- Sandwich ELISA, antibodi terikat pada Plate. Digunakan untuk deteksi antigen.
- Capture ELISA, antihuman antibodi terikat pada Plate. Digunakan untuk deteksi antibody.

III. HASIL

Tabel 1. Perbandingan Konsentrasi yang dihitung dengan yang didapat dari nilai absorbansi

Tabel	Konsentrasi yang dihitung (ng/ml)	Konsentrasi yang didapat (ng/ml)	Absorbansi
1	10	10	3
2	5	5	1,93
3	2,5	2,5	1,14
4	1,25	1,25	0,651
5	0,625	0,675	0,358
6	0,3125	0,3375	0,212
7	0,15625	0,16875	0,128
8	0	0	0

Grafik 1. Pemeriksaan kuantitatif MBL standar dengan persamaan regresi linier



Tabel 2: Nilai absorbansi dan konsentrasi MBL sampel

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi MBL sampel plasma (pengenceran 400x) (ng/ml)	Konsentrasi MBL sampel (ng/ml)
Amirul 1	2,164	6,63	2651,01
Amirul 2	2,130	6,51	2605,37
Amirul 3	2,138	6,54	2616,11
Amirul 4	2,228	6,84	2736,91
Barlian 1	0,447	0,87	346,31
Barlian 2	0,658	1,57	629,53

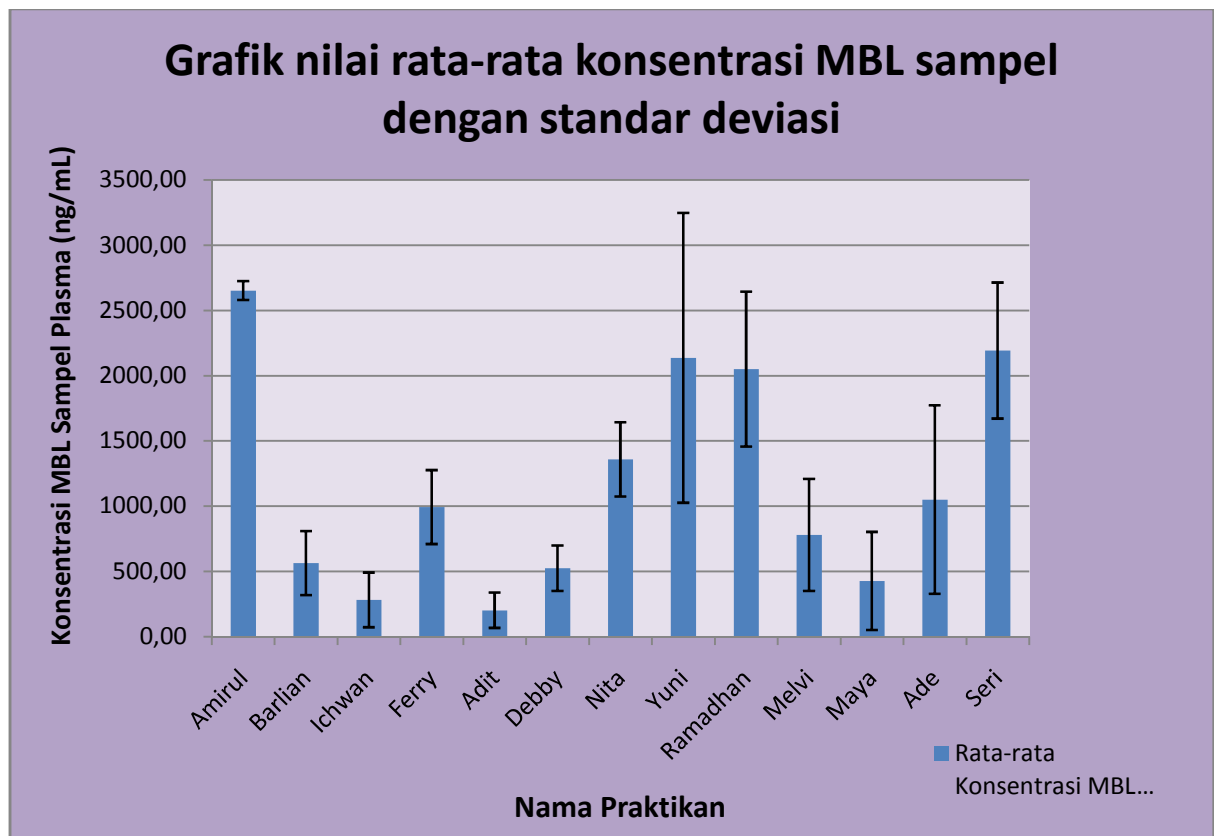
Barlian 3	0,672	1,62	648,32
Barlian 4	0,659	1,58	630,87
Ichwan 1	0,454	0,89	355,70
Ichwan 2	0,439	0,84	335,57
Ichwan 3	0,441	0,85	338,26
Ichwan 4	0,268	0,27	106,04
Ichwan 5	0,373	0,62	246,98
Ichwan 6	0,398	0,70	280,54
Ichwan 7	0,413	0,75	300,67
Ichwan 8	0,402	0,71	285,91
Ferry 1	1,035	2,84	1135,57
Ferry 2	0,976	2,64	1056,38
Ferry 3	1,043	2,87	1146,31
Ferry 4	0,661	1,58	633,56
Adit 1	0,397	0,70	279,19
Adit 2	0,402	0,71	285,91
Adit 3	0,310	0,41	162,42
Adit 4	0,249	0,20	80,54
Debby 1	0,642	1,52	608,05
Debby 2	0,643	1,52	609,40
Debby 3	0,624	1,46	583,89
Debby 4	0,411	0,74	297,99
Nita 1	1,288	3,69	1475,17
Nita 2	1,297	3,72	1487,25
Nita 3	1,294	3,71	1483,22
Nita 4	0,923	2,46	985,23
Yuni 1	2,157	6,60	2641,61
Yuni 2	2,130	6,51	2605,37
Yuni 3	2,137	6,54	2614,77
Yuni 4	0,698	1,71	683,22
Ramadhan 1	1,345	3,88	1551,68
Ramadhan 2	1,863	5,62	2246,98
Ramadhan 3	1,906	5,76	2304,70
Ramadhan 4	1,750	5,24	2095,30
Melvi 1	0,884	2,33	932,89
Melvi 2	0,894	2,37	946,31
Melvi 3	0,945	2,54	1014,77
Melvi 4	0,355	0,56	222,82
Maya 1	0,278	0,30	119,46
Maya 2	0,647	1,54	614,77
Maya 3	0,586	1,33	532,89
Maya 4	0,518	1,10	441,61
Ade 1	1,137	3,18	1272,48
Ade 2	1,319	3,79	1516,78
Ade 3	1,137	3,18	1272,48
Ade 4	0,294	0,35	140,94
Seri 1	1,614	4,78	1912,75
Seri 2	1,997	6,07	2426,85

Seri 3	2,077	6,34	2534,23
Seri 4	1,602	4,74	1896,64

Tabel 3. Nilai Rata-rata konsentrasi MBL sampel dengan standar deviasi

Sampel	Rata-rata Konsentrasi MBL sampel (ng/ml)	Standar deviasi
Amirul	2652,35	72,87
Barlian	563,76	244,72
Ichwan	281,21	209,75
Ferry	992,95	283,15
Adit	202,01	135,10
Debby	524,83	174,44
Nita	1357,72	284,62
Yuni	2136,24	1110,08
Ramadhan	2049,66	593,71
Melvi	779,19	429,45
Maya	427,18	375,64
Ade	1050,67	722,88
Seri	2192,62	521,33

Grafik 2. Nilai Rata-rata konsentrasi MBL sampel dengan standar deviasi



IV. PEMBAHASAN

Dari tabel 1 dapat dilihat ada perbedaan konsentrasi antara yang dihitung dengan rumus pengenceran dengan yang didapat dari pembacaan absorbansi dari spektrofotometer. Berdasarkan tabel tersebut dibuat grafik dimana sumbu x adalah konsentrasi (ng/ml) dan y adalah nilai absorbansi (grafik 1).

Dari grafik 1 dapat diketahui persamaan regresi linier dari standar yaitu $y=0,298x+0,189$. Persamaan tersebut akan digunakan untuk menghitung konsentrasi MBL plasma dari masing-masing praktikan (sampel) dengan pengenceran yang telah dilakukan sebelumnya (400x).

Tabel 2 menunjukkan nilai absorbansi dan konsentrasi (dengan pengenceran 400x) dari masing-masing sampel plasma praktikan yang didapat dari spektrofotometer. Dari nilai tersebut dapat dihitung konsentrasi sampel yaitu nilai konsentrasi pengenceran dikali dengan 400. Dari tabel 2 dapat dilihat nilai absorbansi yang tertinggi adalah praktikan Amirul (2,228) dan yang terendah adalah Adit (0,249).

Tabel 3 dan grafik 2 menunjukkan nilai rata-rata konsentrasi MBL plasma dari masing-masing praktikan dengan standar deviasinya. Nilai Standar deviasi yang paling rendah adalah pada praktikan Amirul (72,87) dan yang tertinggi adalah praktikan Yuni (1110,08). Nilai standar deviasi terendah menunjukkan praktikan tersebut melakukan preparasi sampel yang lebih baik dibandingkan dengan praktikan yang lain.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

- prinsip kerja pemeriksaan ELISA pada praktikum ini adalah reaksi antigen-antibodi dengan teknik kuantitatif berdasarkan jumlah ikatan antigen-antibodi yang spesifik yang ditentukan dengan nilai absorbansi dari spektrofotometer
- Dari grafik MBL standar diperoleh persamaan regresi linier $y=0.298x+0,189$ dengan $R^2=0,976$.
- Nilai absorbansi tertinggi adalah 2,228 (praktikan Amirul) dan nilai absorbansi terendah adalah 0,249 (praktikan Adit). Nilai ini menunjukkan bahwa antibodi pada praktikan tersebut banyak mengikat antigen.
- Preparasi sampel yang terbaik adalah praktikan Amirul dengan nilai standar deviasi paling rendah (72,87)

2. Saran

- Pemeriksaan dengan metode ELISA memerlukan ketelitian yang tinggi terutama dalam hal pengenceran standar (proses pemipetan) karena apabila ada kesalahan pada konsentrasi standar akan berdampak pada perhitungan konsentrasi sampel selanjutnya