

**LAPORAN PRAKTIKUM**  
**TEKNIK ELISA**  
**PEMERIKSAAN KUANTITATIF MANNAN BINDING LECTIN**  
**PADA PLASMA DARAH**

**NAMA PRAKTIKAN** : Ramadhan Bestari  
Yuni Rahmayanti  
**KELOMPOK** : 5

**HARI/TGL. PRAKTIKUM** : Kamis, 9 Januari 2014

**I. TUJUAN PRAKTIKUM**

1. Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip kerja teknik ELISA.
2. Mahasiswa mampu menjelaskan jenis-jenis metode pemeriksaan teknik ELISA.
3. Mahasiswa mampu melakukan langkah-langkah kerja dalam melakukan teknik ELISA metode pemeriksaan kuantitatif.
4. Mahasiswa mampu melakukan metode pemeriksaan kuantitatif Mannan Binding Lectin (MBL) dari plasma darah menggunakan teknik ELISA.

**II. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**1. Preparasi sampel**

Diambil 10  $\mu\text{L}$  plasma + 190  $\mu\text{L}$  Calibrator Diluent RD5-26 (1x) (didapatkan pengenceran 200x)

Diambil kembali 10  $\mu\text{L}$  plasma yang telah diencerkan 200x + 190  $\mu\text{L}$  Calibrator Diluent RD5-26 (1x) (didapatkan pengenceran 400x)

Sampel plasma yang telah diencerkan 400x ini yang nantinya akan dihitung konsentrasi Mannan Binding Lectin-nya menggunakan teknik ELISA.

**2. Preparasi MBL Standar**

Pada tabung (1) diisi dengan 900  $\mu\text{L}$  Calibrator Diluent RD5-26 (1x) dan 100  $\mu\text{L}$  larutan MBL standar (konsentrasi 100 ng/mL) sehingga didapatkan konsentrasi pada tabung (1) sebesar 10 ng/mL.

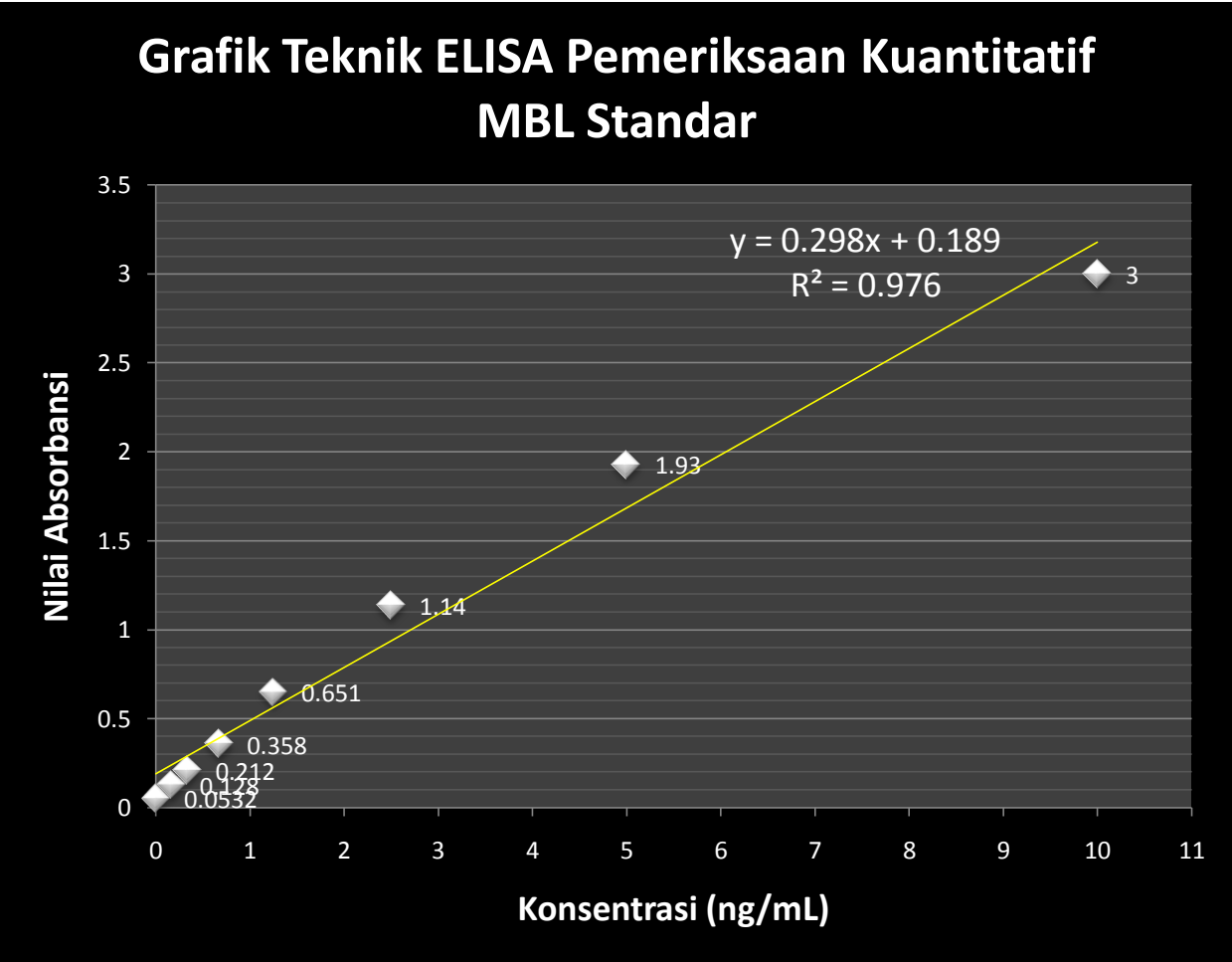
Pada tabung (2) sampai (7) dilakukan doubling dilution berturut-turut mulai dari tabung (1) dengan pelarut menggunakan 500  $\mu\text{L}$  Calibrator Diluent RD5-26 (1x) sehingga didapatkan konsentrasi pada tabung (2) sampai (7) seperti di bawah ini :

Tabel (1)

| Tabung | Konsentrasi Yang Dihitung (ng/mL) | Konsentrasi Yang Didapat (ng/mL) | Nilai 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                |

Dari tabel (1) di atas dapat dibuat grafik regresi liniernya seperti di bawah ini :

Grafik (1)



Dari grafik di atas didapatkan persamaan regresi liniernya yaitu  $y=0.298x+0.189$  di mana  $y$  adalah nilai absorbansi sedangkan  $x$  adalah nilai konsentrasi. Persamaan regresi linier yang didapat ini akan digunakan untuk menghitung konsentrasi MBL pada tiap-tiap sampel plasma darah (pengenceran 400x) yang telah dipersiapkan sebelumnya.

Tabel (2)

| Sampel Plasma | Nilai Absorbansi Sampel Plasma | Konsentrasi MBL Sampel Plasma (Pengenceran 400x) (ng/mL) | Konsentrasi MBL Sampel Plasma (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 |

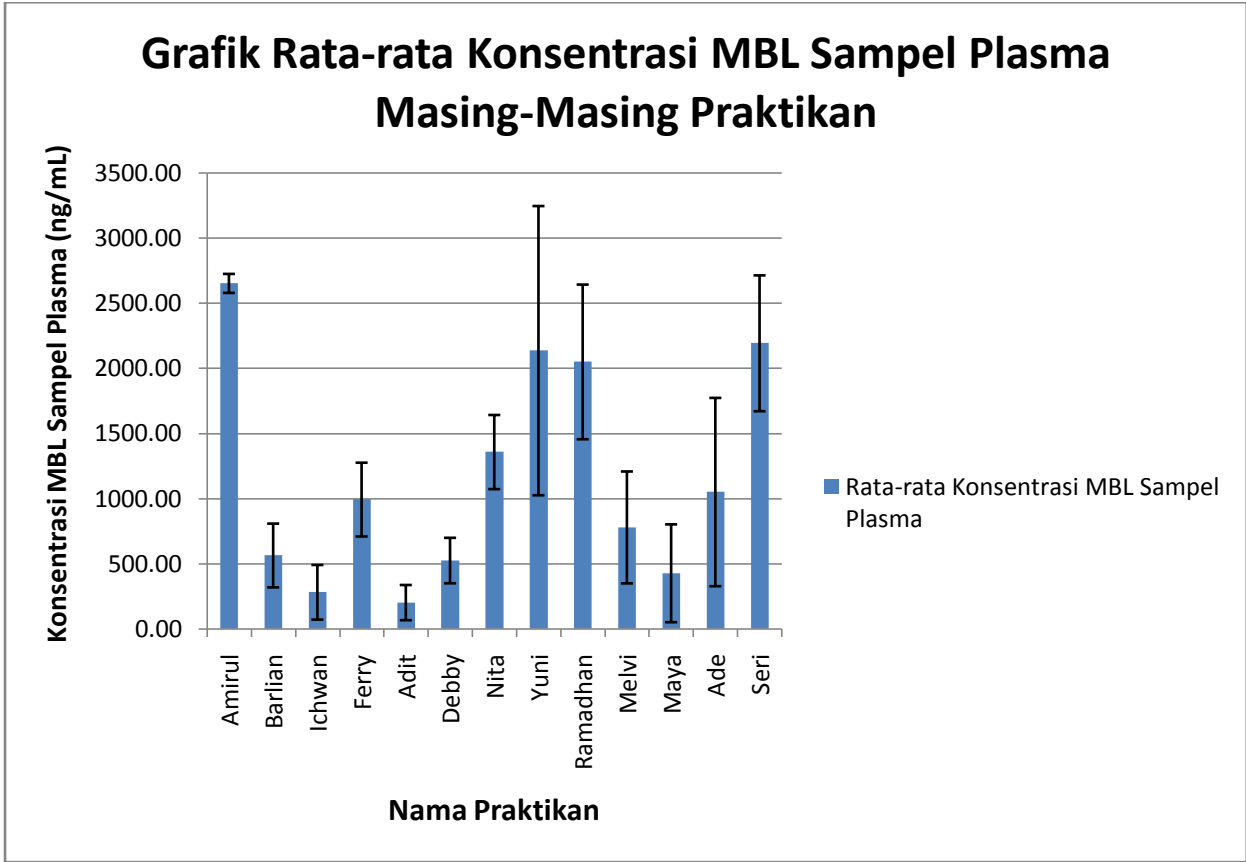
Dari tabel di atas dapat kita cari rata-rata konsentrasi MBL sampel plasma masing-masing praktikan dan standar deviasinya seperti tabel di bawah ini :

Tabel (3)

| Sampel Plasma | Rata-rata Konsentrasi MBL Sampel Plasma (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          |

Dari tabel di atas dapat dibuat grafiknya seperti di bawah ini :

Grafik (2)



Dari grafik di atas terlihat bahwa konsentrasi MBL sampel plasma yang paling tinggi adalah praktikan Amirul, sedangkan konsentrasi MBL sampel plasma yang terendah adalah praktikan Adit. Dari grafik di atas juga dapat dilihat bahwa hasil pemeriksaan kuantitatif MBL sampel plasma praktikan Amirul paling stabil dibandingkan dengan praktikan lainnya di mana nilai standar deviasinya paling kecil dibandingkan praktikan yang lain, sedangkan hasil pemeriksaan kuantitatif MBL sampel plasma praktikan Yuni paling tidak stabil dibandingkan dengan praktikan lainnya di mana nilai standar deviasinya paling besar dibandingkan praktikan yang lain.

III. KESIMPULAN

1. ELISA (Enzym –Linked Immunosorbent Assay) merupakan suatu metode pengujian serologi yang melekatkan kompleks ikatan antara antibodi dengan antigen di dalam sumuran plate ELISA yang terbuat dari bahan plastik.
2. Dari grafik MBL Standar (Grafik (1)) didapatkan persamaan regresi linier  $y=0.298x+0.189$  dengan  $R^2=0.976$ . Hasil ini masih cukup jauh dari persamaan regresi linier yang diharapkan yaitu dengan nilai  $R^2=1$  dikarenakan akan menyebabkan hasil pengukuran MBL sampel plasma menggunakan teknik ELISA menjadi kurang akurat. Nilai  $R^2$  pada grafik di atas hanya mencapai 0.976 disebabkan karena adanya kesalahan pada saat melakukan doubling dillution larutan standar di antaranya volume pemipetan yang kurang tepat, pencampuran larutan yang kurang homogen, adanya kontaminasi dari tips, dan lain sebagainya.
3. Lintasan MBL (Mannan Binding Lectin) adalah lintasan pada sistem komplemen yang menggunakan protein serupa dengan C1q seperti pada lintasan komplemen klasik, yang mengikat senyawa mannos yang nampak pada karbohidrat pada permukaan bakteri maupun virus. Ikatan yang terjadi adalah ikatan antara lektin, protein dari golongan kolektin yang diproduksi oleh hati, dengan mannos merupakan kompleks protein, yang kemudian akan mengaktifasi sistem komplemen. Kadar MBL plasma pada tiap-tiap orang dapat berbeda, hal ini dapat terlihat pada tabel (3) di mana terdapat variasi pengukuran rata-rata MBL plasma masing-masing praktikan.
4. Adanya variasi pengukuran MBL plasma yang memiliki rentang cukup jauh pada hampir sebagian besar praktikan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, yang tersering adalah volume sampel plasma yang telah diencerkan kurang dari 200  $\mu$ L sehingga saat dilakukan pemipetan untuk well yang keempat,

volumenya kurang dari yang seharusnya (tidak sampai 50  $\mu\text{L}$ ), maupun faktor-faktor lain seperti kurang homogennya pencampuran larutan yang akan digunakan, maupun kontaminasi dari tips.

#### **IV. SARAN**

1. Untuk praktikum teknik ELISA di tahun berikutnya sebaiknya setiap praktikan tidak dibagi ke dalam grup-grup yang berbeda agar masing-masing praktikan dapat lebih bertanggungjawab terhadap hasil pekerjaannya.
2. Pada saat kegiatan praktikum akan dimulai, sebaiknya semua sarana dan prasarana yang akan menunjang kegiatan praktikum agar dipersiapkan dengan baik agar tidak mengganggu kelancaran kegiatan praktikum nantinya.