

LAPORAN PRAKTIKUM
TEKNIK ELISA

Nama Praktikan : Yuliandriani W.A (157008004)
Rahmiwita (157008005)
Irma Yanti (157008011)

Hari/ Tanggal Praktikum : Kamis/ 23 Juni 2016

Tujuan Praktikum

Agar mahasiswa/i dapat:

1. Melakukan teknik pemeriksaan elisa dengan benar
2. Memahami prinsip dasar teknik pemeriksaan elisa

Alat dan bahan

Darah	Chamber	Elisa kit
Anti-koagulan	Pipet tetes	Well elisa
Sput	Tabung mikrosentrifus	Alkohol swab
Tourniket	Mikrosentrifus	Vorteks

Cara Kerja

A. Sampel

1. Mengambil darah sebanyak 1,5 cc sebagai sampel dengan menggunakan spuit kemudian ditempatkan pada tabung yang sudah terisi anti-koagulan (EDTA) (2 tabung) dan yang tidak terisi koagulan (tabung)
2. Menggoyangkan tabung yang sudah berisi darah dengan perlahan agar darah dan anti-koaglan (EDTA) bercampur
3. Melakukan pengenceran diluten 5x menjadi 1x dengan cara 2 ml dilution sol ditambah 8 ml H₂O

- Melakukan pengenceran sampel (masing-masing 2 tabung ependorf untuk tiap sampel)

Tabung 1: 5 µl sampel ditambah 495 µl 1x diluten (1/100 dilution)

Tabung 2: 5 µl tabung 1 ditambah 495 µl 1x diluten (1/10000 dilution)

- Melakukan sentrifugasi sampel yang telah dilakukan pengenceran

B. Standart

- Siapkan 8 tabung ependorf;

Standard	ng/ml	Volume added to 1x diluent	Volume of 1x diluent
7	100	8 µl human pre calibrator	677 µl
6	50	300µl standard 7	300 µl
5	25	300µl standard 6	300 µl
4	12,5	300µl standard 5	300 µl
3	6,25	300µl standard 4	300 µl
2	3,125	300µl standard 3	300 µl
1	1,56	300µl standard 2	300 µl
0	0		600 µl

- Lakukan sentrifugasi ke 8 tabung tersebut
- Masukkan 1x dilution
- Masukkan 8 µl calibrator pada standart 7

C. Well elisa (mikro titer plate)

- Pipetkan larutan standart 0-7 (100 µl) ke dalam well kolom 1 (A-H)
- Pipetkan sampel 1-3 ke dalam well kolom 2
- Lakukan inkubasi pada suhu ruangan selama 60 kurang lebih 2 menit (plate ditutup)
- Siapkan wash solution 20x menjadi 1x (5ml wash solution + 95 ml H₂O)
- Setelah diinkubasi dicuci dengan wash solution sebanyak 4x
- Encerkan enzim-antibodi conjugate (20 µl enzim + 1980 µl 1x diluten) di tempat yang gelap
- Tambahkan masing-masing well 100 µl enzim yang telah diencerkan kemudian ditutup dan diamkan selama kurang lebih 2 menit
- Tambahkan stop solution ke masing-masing well yang telah diinkubasi

9. Baca dengan elisa reader



Gambar kalibrasi hasil pre albumin dengan menggunakan elisa reader

Hasil kerja

Parameters

Fit to	prealbumin
Fit type	Four Parameter Logistic
Wavelength	450
Concentration transform	Linear
Measurement transform	Linear
Markers	Mean
Formula	$y = d + (a - d)/(1 + (x / c)^b)$
Parameter a	0.0460
Parameter b	1.3820
Parameter c	17.8380
Parameter d	3.7549
Coefficient of determination	0,6493
R2	(Low R2)

Plate	Well	Sample	Conc.	Original [Abs]	Fitted [Abs]	Residual
		Cal_0001	100	3,44	3,44	-0,002
Plate 1	A01	Cal_0001 1/1	100	3,44	3,44	-0,002
		Cal_0002	50	3,04	3,04	0,009
Plate 1	B01	Cal_0002 1/1	50	3,04	3,04	0,009
		Cal_0003	25	2,31	2,33	-0,014
Plate 1	C01	Cal_0003 1/1	25	2,31	2,33	-0,014
		Cal_0004	12,5	1,47	1,45	0,014
Plate 1	D01	Cal_0004 1/1	12,5	1,47	1,45	0,014
		Cal_0005	6,25	0,744	0,751	-0,007
Plate 1	E01	Cal_0005 1/1	6,25	0,744	0,751	-0,007
		Cal_0006	3,125	0,354	0,352	0,001
Plate 1	F01	Cal_0006 1/1	3,125	0,354	0,352	0,001
		Cal_0007	1,56	0,167	0,17	-0,003
Plate 1	G01	Cal_0007 1/1	1,56	0,167	0,17	-0,003
		Cal_0008	0	0,0486	0,046	0,003
Plate 1	H01	Cal_0008 1/1	0	0,0486	0,046	0,003

Plate	Well	Sample	Original [Abs]	Fitted conc.	Dilution	Result
Plate 1		Sampel_0001	1,85	17,2	1:10000	1,72e+05
Plate 1	A02	Sampel_0001 1/1	1,85	17,2	1:10000	1,72e+05
Plate 1		Sampel_0002	1,91	18	1:10000	1,8e+05
Plate 1	B02	Sampel_0002 1/1	1,91	18	1:10000	1,8e+05
Plate 1		Sampel_0003	1,62	14,3	1:10000	1,43e+05
Plate 1	C02	Sampel_0003 1/1	1,62	14,3	1:10000	1,43e+05

Pre Albumin Biomedik

Report_1 - 23/06/2016 15:51:22+07:00

4 / 4

Plate	Well	Sample	Original [Abs]	Fitted conc.	Dilution	Result
Plate 1		Sampel_0004	1,64	14,6	1:10000	1,46e+05
Plate 1	D02	Sampel_0004 1/1	1,64	14,6	1:10000	1,46e+05
Plate 1		Sampel_0005	1,9	17,8	1:10000	1,78e+05
Plate 1	E02	Sampel_0005 1/1	1,9	17,8	1:10000	1,78e+05
Plate 1		Sampel_0006	1,52	13,2	1:10000	1,32e+05
Plate 1	F02	Sampel_0006 1/1	1,52	13,2	1:10000	1,32e+05
Plate 1		Sampel_0007	1,71	15,4	1:10000	1,54e+05
Plate 1	G02	Sampel_0007 1/1	1,71	15,4	1:10000	1,54e+05
Plate 1		Sampel_0008	2,02	19,6	1:10000	1,96e+05
Plate 1	H02	Sampel_0008 1/1	2,02	19,6	1:10000	1,96e+05

Parameter c

17,8379564600639

Parameter d

3,75487528927292

Coefficient of determination R2

0,6493 (Low R2)

Graph

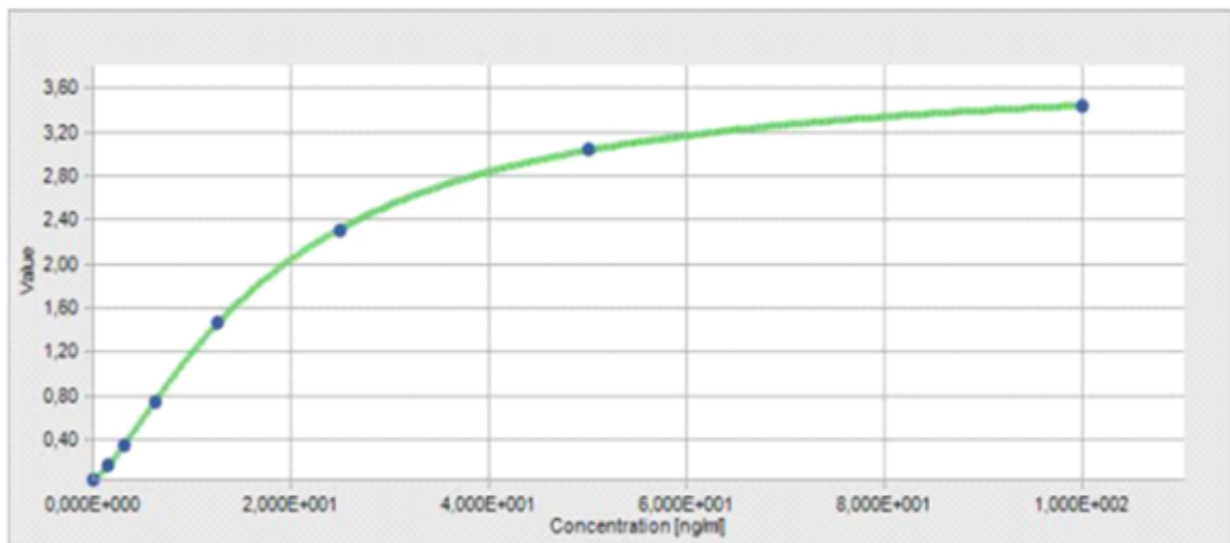


Diagram hasil pre albumin dengan menggunakan *standard curve*

Kesimpulan

- Ketelitian dalam melakukan pembuatan larutan standard sangat mempengaruhi hasil akhir atau hasil koefisien dari determinan R_2 .

- Dalam melakukan pemeriksaan dengan teknik elisa sangat membutuhkan keterampilan dan ketelitian.

Saran

- Ketersediaan sarung tangan di laboratorium pada saat melakukan praktikum sangat diharapkan supaya dapat mencegah kontaminasi pada saat melakukan praktikum
- Fasilitas air sangat krusial bagi laboratorium terutama untuk membersihkan alat-alat pada saat berlangsungnya praktikum maupun setelah melakukan praktikum, karena adanya kontaminasi dapat mempengaruhi hasil
- Fasilitas tempat sampah medis dan non medis di laboratorium sangat dibutuhkan , karena bisa mencegah terjadi penularan penyakit yang tidak diharapkan.