

LAPORAN PRAKTIKUM
TEKNIK ELISA
PEMERIKSAAN KUANTITATIF MANNAN BINDING LECTIN (MBL)
PADA PLASMA DARAH

NAMA PRAKTIKAN : Ichwan Alamsyah Lubis
KELOMPOK : 2
GROUP : Pagi (08.00 – 15.00 Wib)

HARI/TGL. PRAKTIKUM : Kamis, 9 Januari 2014

I. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Praktikan mampu mengetahui teori serta kegunaan dari teknik ELISA.
2. Praktikan mampu mengetahui jenis-jenis metode pemeriksaan teknik ELISA.
3. Praktikan mampu mengetahui cara kerja dan mengaplikasikannya dengan teknik ELISA pemeriksaan kuantitatif.
4. Praktikan mampu melakukan metode pemeriksaan kuantitatif Mannan Binding Lectin (MBL) dari plasma darah dengan menggunakan teknik ELISA.
5. Praktikan mampu mengukur kadar substrat pada masing-masing sampel dengan menggunakan teknik ELISA, memakai ELISA reader (Spektrofotometri).
6. Praktikan mampu membuat dan menginterpretasi grafik hasil pemeriksaan sample dari metode ELISA.

II. LANDASAN TEORI :

ELISA adalah suatu singkatan bahasa Inggris yang disebut dengan : (Enzyme-linked immunosorbent assay) atau penetapan kadar immunosorben taut-enzim yang merupakan suatu uji serologis. Teknik ELISA pertama kali diperkenalkan pada tahun 1971 oleh Peter Perlmann dan Eva Engvall. Menggunakan teknik ELISA dalam bidang imunologi untuk menganalisis interaksi antara antigen dan antibodi di dalam suatu sampel, dimana interaksi tersebut ditandai dengan menggunakan suatu enzim yang berfungsi sebagai pelapor/signal.

Selanjutnya digunakan sebagai uji kualitatif untuk mengetahui keberadaan suatu antibodi/ antigen dengan menggunakan antibodi/antigen spesifik. Teknik ELISA juga dapat diaplikasikan dalam uji kuantitatif untuk mengukur kadar antibodi/antigen yang diuji dengan menggunakan alat bantu berupa spektrofotometer dan dengan cara menentukan jumlah penambahan kadar antibodi/antigen, sehingga dapat dibuat suatu kurva standard antara kadar antibodi atau antigen yang dapat dihitung berdasarkan absorbansinya.

III. HASIL DAN GRAFIK PEMBAHASAN

1. Preparasi sampel :

Sample yang digunakan adalah plasma darah. Dengan cara diambil 10 μ L plasma + 190 μ L Calibrator Diluent RD5-26 (1x) (didapatkan pengenceran 200x)

Diambil kembali 10 μ L plasma yang telah diencerkan 200x + 190 μ 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 µL Calibrator Diluent RD5-26 (1x) dan 100 µL larutan MBL standar (konsentrasi 100 ng/mL) sehingga didapatkan konsentrasi pada tabung (1) sebesar 10 ng/mL.

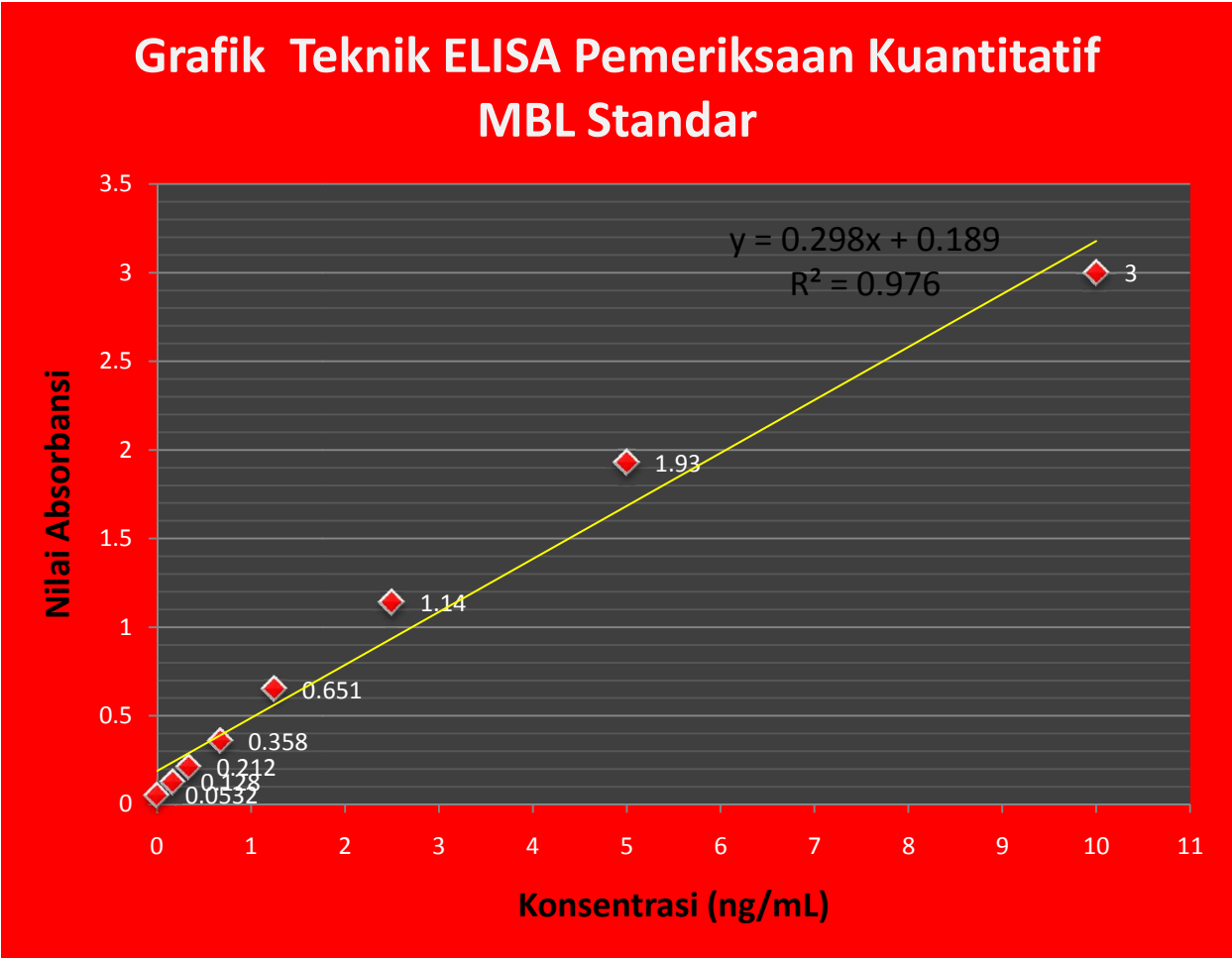
Pada tabung (2) sampai (7) dilakukan doubling dilution berturut-turut mulai dari tabung (1) dengan pelarut menggunakan 500 µL Calibrator Diluent RD5-26 (1x) sehingga didapatkan konsentrasi pada tabung (2) sampai (7) seperti di bawah ini :

Hasil Pada masing – masing tabung :

Tabel I.Hasil Teknik ELISA pemeriksaan Kuantitatif MBL standar

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

Grafik I (Grafik Regresi Linier).Hasil Teknik ELISA pemeriksaan kuantitatif MBL standar.



Dari grafik di atas didapatkan :

- Persamaan regresi liniernya yaitu $y = 0.298x + 0.189$
- X = Nilai Konsentrasi (ng / mL)
- Y = Nilai Absorbansi

- Persamaan regresi linier yang didapatdigunakan untuk menghitung konsentrasi MBL pada Tiap-tiap sampel plasma darah (pengenceran 400x) yang telah dipersiapkan sebelumnya.

Tabel II.Hasil Konsentrasi MBL pada tiap-tiap sampel plasma darah (Pengenceran 400x).

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

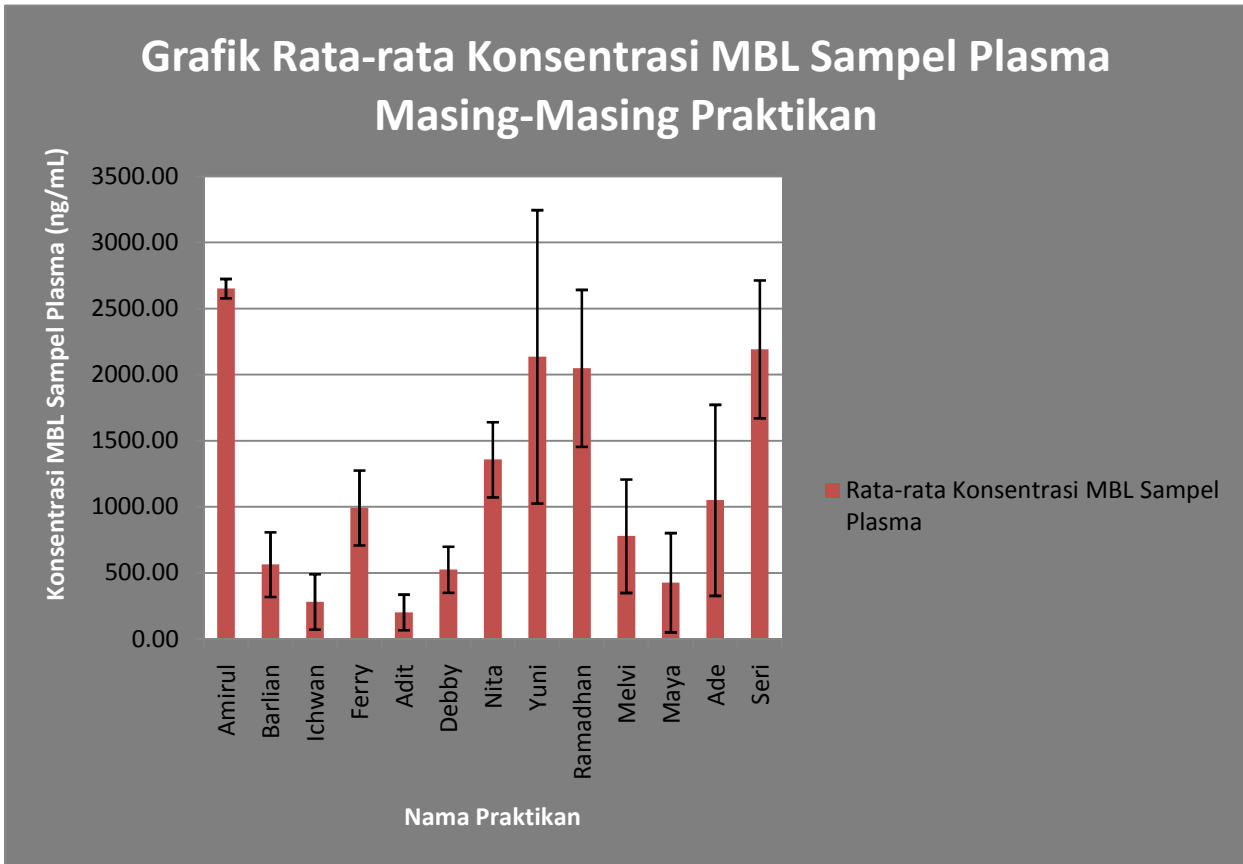
Dari tabel di atas dapat dicari rata-rata konsentrasi MBL sampel plasma pada masing-masing praktikan dan standar deviasinya seperti tabel di bawah ini :

Tabel III. Rata-rata Konsentrasi MBL Sampel Plasma (ng/mL).

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 III. Hasil Rata-rata konsentrasi MBL sampel plasma pada masing-masing praktikan.



Hasil Dari Grafik Diatas :

- Konsentrasi MBL sampel plasma yang paling tinggi adalah praktikan Amirul dan pemeriksaan kuantitatif MBL sampel plasma praktikan Amirul paling stabil dibandingkan dengan praktikan lainnya dengan standar deviasi yang paling sedikit dibandingkan Praktikan lain.
- Konsentrasi MBL sampel plasma yang terendah adalah praktikan Adit.
- Kuantitatif MBL sampel plasma praktikan Yuni tidak stabil dibandingkan dengan praktikan lainnya karena didapati nilai standar deviasinya paling besar dibandingkan dengan 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 *well* plate ELISA.
2. Dari grafik MBL Standar Grafik I didapatkan persamaan regresi linier $y = 0.298x + 0.189$ dengan $R^2 = 0.976$. Hasil ini menunjukkan pelaksanaan serial standar kurang akurat dari hasil semestinya dimana $R^2 = 1$. Mungkin dikarenakan terdapat beberapa kelemahan dalam melakukan teknik ELISA yaitu Reaksi antara enzim signal dan substrat berlangsung relatif cepat, sehingga pembacaan harus dilakukan dengan cepat, dan kemungkinan karena adanya kesalahan pada saat melakukan doubling dilution larutan standar di antaranya volume dalam pipet yang kurang akurat, pencampuran larutan yang kurang homogen, adanya kontaminasi dari tips yang kurang bersih.
3. Terdapat variasi pengukuran MBL plasma pada grafik (III) yang memiliki rentang cukup jauh pada hampir sebagian besar praktikan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu volume sampel plasma yang telah diencerkan kurang dari 200 μ L sehingga pada saat pembagian untuk well yang keempat, volumenya kurang tidak sampai 50 μ L, dan faktor-faktor lain yang telah

dijelaskan pada no: 3 seperti kurang homogennya pencampuran larutan yang akan digunakan, maupun kontaminasi dari tips yang tidak bersih.

IV. SARAN

1. Untuk praktikum teknik ELISA di tahun berikutnya sebaiknya setiap praktikan tidak dibagi ke dalam grup-grup melainkan mengerjakan Teknik ELISA dari awal sehingga praktikan lebih mudah mengerti terhadap aplikasi melakukan teknik ELISA.
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.
3. Alat-Alat dan bahan disediakan sesuai jumlah Praktikan yang akan mengaplikasikan teknik ELISA sehingga praktikan dapat mengerjakan teknik tersebut secara mandiri.