

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

NAMA PRAKTIKAN : Ade Putra Fratama Sinaga

KELOMPOK : 7

HARI/TGL. PRAKTIKUM : Kamis, 9 Januari 2014

I. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Mahasiswa mampu memahami prinsip kerja teknik ELISA.
2. Mahasiswa mampu menjelaskan jenis-jenis metode pemeriksaan teknik ELISA.
3. Mahasiswa mampu dapat 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 μL plasma + 190 μL Calibrator Diluent RD5-26 (1x) (didapatkan pengenceran 200x)
 Diambil kembali 10 μL plasma yang telah diencerkan 200x + 190 μL 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 :

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 kita dapat membuat 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 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 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 :

Dari grafik tersebut diatas dapat kita perhatikan konsentrasi MBL sampel plasma yang paling tinggi adalah praktikan Amirul, sedangkan konsentrasi MBL sampel plasma yang terendah

adalah praktikan Adit. Dari grafik di atas dapat kita perhatikan bahwa hasil pemeriksaan kuantitatif MBL sampel plasma praktikan Amirul sangat stabil dibandingkan dengan praktikan yang 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 (singkatan [bahasa Inggris](#): *Enzyme-linked immunosorbent assay*) atau 'penetapan kadar imunosorben taut-enzim' merupakan uji [serologis](#) yang umum digunakan di berbagai laboratorium [imunologi](#). Uji ini memiliki beberapakeunggulan seperti teknik pengerjaan yang relatif sederhana, ekonomis, dan memiliki sensitivitas yang cukup tinggi. ELISA diperkenalkan pada tahun 1971 oleh Peter Perlmann dan Eva Engvall untuk menganalisis adanya interaksi [antigen](#) dengan [antibodi](#) di dalam suatu sampel dengan menggunakan [enzim](#) sebagai pelapor (reporter label) (Lequin, 2005).

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. Terdapat perbedaan kadar MBL plasma pada tiap-tiap orang
3. Pada pengukuran nilai serial standar nilai $R_2 < 1$, yang berarti kurang akurat. Hal ini disebabkan karena adanya kesalahan pada saat melakukan doubling dilution larutan standar di antaranya volume pemipetan yang kurang tepat, pencampuran larutan yang kurang homogen, adanya kontaminasi dari tips, dan lain sebagainya.
4. Standar deviasi memiliki rentang yang besar karena ketidaksamaan jumlah sampel pada masing-masing sumur.

IV. SARAN

1. Pada praktikum selanjutnya setiap praktikan hendaknya melakukan proses sendiri-sendiri
2. Sebelum praktikum dimulai sarana praktikum perlu dipersiapkan terlebih dahulu