

Sintesis dan karakterisasi imunogen tetrasiklin serta produksi antibodi anti tetrasiklin sebagai reagen untuk deteksi residu tetrasiklin dengan metode elisa

Rusman, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20236758&lokasi=lokal>

Abstrak

ELISA merupakan metode alternatif untuk mendeteksi residu tetrasiklin pada produk hewan. Sintesis imunogen tetrasiklin dan produksi antibodi anti tetrasiklin merupakan dua tahapan penting yang harus dilakukan jika ingin melakukan analisis residu tetrasiklin dengan metode ELISA. Metode toolidin dan metode NCS dapat digunakan untuk mensintesis imunogen tetrasiklin. Imunogen TC-Tolidin-BSA berwarna ungu dan menyerap pada dua maksimum; maks yaitu 277 nm dan 491 nm, sedangkan imunogen TC-NCS-BSA berwarna kuning kecoklatan dan menyerap pada dua maksimum; maks yaitu 278 nm dan 322 nm. Hasil KLT dan HPLC menunjukkan bahwa kedua imunogen yang dihasilkan cukup murni. Dari hasil SDS-PAGE dapat diperkirakan BM dari TC-Tolidin-BSA adalah sebesar 71.219 Da sedangkan BM TC-NCS-BSA sebesar 70.501 Da. Nilai BM dari kedua imunogen tetrasiklin lebih besar dibandingkan BM dari BSA (berbanding terbalik dengan Rf), hal ini menunjukkan bahwa imunogen sudah terbentuk. Produksi antibodi anti tetrasiklin dilakukan dengan cara imunisasi imunogen TC-Tolidin-BSA dan TC-NCS-BSA pada perbandingan 1:75 terhadap kelinci white New Zealand berkelamin jantan. Purifikasi antibodi dilakukan dengan protein A sepharose yang spesifik mengikat IgG. Konsentrasi IgG tertinggi dari kedua imunogen terdapat pada fraksi 1, yaitu sebesar 10.93 mg/mL untuk imunogen TC-Tolidin-BSA dan 10.61 mg/mL untuk TC-NCS-BSA. Hasil SDS-PAGE terhadap antibodi menunjukkan bahwa IgG terurai menjadi 2 pita (rantai ringan dan rantai berat).

ELISA is an alternative method for detecting tetracycline residues in animal products. This method has been known as rapid, sensitive, specific, and cost-effective analysis. Synthesis of tetracycline immunogen and production of anti-tetracycline antibody are two important steps which must be done if we like to analysis of tetracycline residues with ELISA. Tolidine and NCS methods applicable to synthesis of tetracycline immunogens. Tolidine method produce a purple immunogen (TC-Tolidine-BSA) and absorb at two maximum wavelength (277 nm and 491 nm), while NCS method produce a yellowish-brown immunogen (TC-NCS-BSA) and absorb at two maximum wavelength (278 nm and 322 nm). TLC and HPLC result show that both of immunogens have good purity because have not contain free tetracycline and residue of reagent. From result of SDS-PAGE can be estimated molecular weight (MW) of TC-TOLIDINBSA equal to 71.219 Da while MW of TC-NCS-BSA equal to 70.501 Da. The value of MW from both of immunogens is higher than BSA (smaller Rf), this fact indicate that immunogen have been formed. Anti-tetracycline antibody produced by immunizing of immunogens at comparison of the same concentration BSA and Tetrasiklin (1:75) to male white New Zealand rabbit. The antibody purified by protein A sepharose that specific coating IgG. The highest concentration of IgG from both immunogen list on fraction 1 (10.93 mg/mL for TC-Tolidin-BSA dan 10.61 mg/ mL for TC-NCS-BSA). SDS-PAGE result show that IgG has been divided into two band (heavy chains and light chains).