

Sintesis hapten asam 6-(4,6-Diamino-1,3,5-Triazin-2-Ylamino) Heksanoat dan produksi antibodi untuk deteksi melamin menggunakan metode elisa = Synthesis of hapten 6-(4,6-Diamino-1,3,5-Triazin-2-Ylamino) Hexanoic acid and antibody production for the detection of melamine using elisa

Nurlela, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20365130&lokasi=lokal>

Abstrak

Terdapat banyak metode untuk mendeteksi kontaminasi melamin dalam makanan atau produk pakan termasuk immunoassay. Dalam penelitian ini, hapten melamin disintesis dengan mereaksikan 2-kloro-4,6-diamino-1,3,5-triazina (CAAT) dengan asam 6-aminokaproat. Karakterisasi hapten dengan spektrometer Fourier Transform Infrared (FTIR) menunjukkan absorpsi ikatan N-H dari gugus amina sekunder alifatik pada frekuensi 3350-3310 cm⁻¹ dan vibrasi ulur ikatan C-N pada daerah sidik jari 1250-1020 cm⁻¹. Karakterisasi dengan ¹H-NMR menunjukkan pergeseran kimia pada 4,20 ppm (t, 1H), sedangkan dengan ¹³C-NMR pada pergeseran kimia 139 ppm. Karakterisasi dengan spektrometer massa menunjukkan M⁺. m/z 240,4 untuk hapten (C₉H₁₆N₆O₂). Imunogen disintesis dengan cara menkonjugasikan hapten dengan bovine serum albumin (BSA) dengan menggunakan metode ester aktif. Konjugat hapten-BSA menyerap panjang gelombang maksimum UV pada 224 nm. Data menunjukkan bahwa hapten dan imunogen berhasil disintesis. Hapten-BSA kemudian disuntikkan ke kelinci untuk menghasilkan antibodi poliklonal. Setelah tiga minggu imunisasi, serum menunjukkan adanya antibodi melalui Gel Agarose Precipitation Test (AGPT). Dari hasil optimasi awal indirect ELISA diketahui konsentrasi optimum coating antigen hapten-OVA adalah 1 g/mL dan konjugat HRP-anti rabbit IgG adalah 1:10.000. Dari hasil indirect competitive ELISA diperoleh bahwa pengenceran optimum antibodi yang masih memberikan respon positif berupa absorbansi yang tinggi adalah 1:125 (6 g/mL). Antiserum yang dihasilkan memiliki sensitivitas yang cukup baik terhadap melamin dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,83 ppm dan limit deteksi (IC₁₅) sebesar 0,22 ppm melalui indirect competitive ELISA.

<hr><i>There are many method to detect the melamine contamination in food or feed product including immunoassay. In this study, hapten of melamine was synthesized by reacting 2-chloro-4,6-diamino-1,3,5-triazine (CAAT) and 6-aminocaproic acid. Characterization of hapten with fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) showed secondary N-H stretching vibrational band at 3350-3310 cm⁻¹ and C-N stretching vibrational band at fingerprint region 1250-1020 cm⁻¹. Characterization of hapten with ¹H-NMR showed chemical shift at 4,20 ppm (t, 1H), and 139 ppm by ¹³C-NMR. Hapten also characterized with high-resolution mass spectrometry (HRMS) that showed M⁺. m/z 240,4 for hapten (C₉H₁₆N₆O₂). The Immunogen was prepared by coupling hapten to bovine serum albumin (BSA) using the active ester method. Hapten-BSA conjugate showed the maximum wavelength of UV absorpstion at 224 nm. The data pointed out that hapten and immunogen was successfully synthesized. Hapten-BSA conjugate then injected into rabbit to produce the polyclonal antibodies. After three weeks immunization, serum showed the presence of antibodies through Agar Gel Precipitation Test (AGPT). The initial optimization of indirect ELISA showed that the optimum concentration of coating antigen hapten-OVA was 1 mg/mL and HRP-conjugated anti-rabbit IgG was 1:10,000. The optimum antibody dilution that still gave a positive response was 1:125 (6

mg/mL) through indirect competitive ELISA. Antiserum produced has a good sensitivity to melamine with IC50 2.83 ppm and a detection limit (IC15) 0.22 ppm using indirect competitive ELISA.</i>