

Perakitan KIT Diagnostik Protein Alergen dengan Antibodi IgE Manusia untuk Kontrol Mutu dari Produk Barang Jadi Lateks dalam Negeri

Heru Sundaru, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=76193&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Residu protein pada barang jadi lateks alam (*Hevea brasiliensis*) yang banyak dipergunakan untuk perlengkapan kedokteran dan rumah tangga (sarung tangan, catether, tensimeter, kondom, karet busa dll) dilaporkan dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas tipe I (tipe cepat) yang dapat berakibat fatal bagi pemakainya sehingga dikhawatirkan konsumsi lateks alam di pasaran dunia akan menurun dan beralih menggunakan lateks sintesis yang lebih aman. Untuk memberikan jaminan keamanan produk lateks, Food and Drug Administration (FDA), Amerika Serikat dalam websitenya <http://www.fda.gov/cdrh/manual/glovmanl.pdf> akan menerapkan labeling rendah protein allergen (hypo allergenic protein) dengan persyaratan yang ketat.

Indonesia sebagai market leader lateks alam setelah Thailand perlu mengantisipasi dampak labeling FDA dan reaksi konsumen internasional melalui serangkaian langkah-langkah nyata. Oleh karena kadarnya sangat rendah dan jenis proteinnya khas, maka teknik deteksi protein allergen yang spesifik dan sensitive. Perangkat imunodiagnostik merupakan teknik yang paling sesuai dari segi kepekaan, kespesifikan dan kemudahan penerapannya di lapang untuk deteksi protein allergen. Perangkat deteksi protein allergen yang spesifik, sensitive, mudah dan mudah belum tersedia di pasar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola pengikatan protein allergen lateks dengan IgE individu sensitive dan merakit perangkat diagnostik imunologi menggunakan antibody anti protein allergen yang sesuai.

Penelitian Tahun I mencakup kegiatan penelitian lapang (uji reaksi sensitisasi allergen pada kelompok terpajan dan tidak terpajan secara cross sectional dan uji skin prick test) dan laboratorium meliputi koleksi IgE serum manusia peka, penetapan kadar protein berbagai produk lateks, deteksi protein allergen dengan dot blot menggunakan IgG kelinci antilutoid, deteksi protein allergen dengan IgE manusia peka dengan teknik ELISA dan dot blot, identifikasi protein allergen dengan SDS-PAGE dan Western blotting menggunakan IgE manusia peka dan IgG kelinci antilutoid serta elusi protein allergen dari preparative gel SDS-PAGE dengan elektroeluter untuk sumber antigen terpilih untuk perakitan antibody monoclonal yang akan dilakukan pada Penelitian Tahun II.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji prevalensi sensitisasi lateks telah dilakukan pada karyawan industri lateks PT Mitra Rajawali Banjaran (MRB) dan PT Sugih Instrumendo Abadi (SIA) Padalarang Jawa Barat seperti ditunjukkan pada hasil skin prick test positif pada karyawan PT Mitra Rajawali Banjaran yaitu sebesar 18 % (n = 24) dan PT SIA sebanyak 25 % (n = 200). Skin prick test positif juga dijumpai pada perawat dan peneliti laboratorium. Hasil skin prick test bervariasi antara positif satu (+) hingga positif tiga (+++) dan dijumpai baik pada karyawan yang langsung berhubungan dengan bahan dan produk lateks

maupun yang tidak langsung berhubungan dengan produk (karyawan bagian administrasi, umum, satpam dan pemasaran).

Teknik ELISA sandwich lebih sensitive dibanding ELISA tak-langsung dan ELISA langsung untuk mendeteksi keberadaan protein allergen lateks. Dengan teknik ELISA sandwich dapat diketahui bahwa kandungan protein allergen pada kondom (0,085-0,175 OD ELISA) lebih rendah dibanding tensimeter (OD ELISA 0,088-0,693). Tensimeter yang dibuat dengan teknik iradiasi mengandung protein allergen lebih rendah dibanding tanpa iradiasi baik pada bagian bulb maupun lengan. Kandungan protein allergen bulb dan lengan tensimeter iradiasi yaitu 0,088 dan 0,184 dan pada tensimeter tanpa iradiasi yaitu 0,234-0,693 dan 0,264-0,283 OD ELISA. Protein allergen pada fraksi lutoid dan serum-C dalam lateks dapat dideteksi secara kualitatif dengan uji dot blot baik dengan IgE serum manusia peka dan IgG kelinci antilutoid. Dot blot dengan IgG kelinci antilutoid memberikan sinyal yang lebih kuat dibanding IgE serum manusia peka.

Protein allergen pada lutoid dan serum-C lateks dapat diidentifikasi dengan Western blotting. Protein allergen yang teridentifikasi dalam lutoid yaitu memiliki BM 10, 14,5 21, 23, 32, dan 36 kDa. Protein allergen dalam serum C memiliki BM 17 kDa seta beberapa pita minor pada BM antara 25 kDa - 50 kDa. Sedangkan hasil Western blotting dengan serum IgG kelinci anti lutoid diperoleh protein allergen yang relatif identik dengan serum IgE hanya intensitasnya lebih kuat. Protein allergen yang terdeteksi dengan IgG kelinci anti lutoid yaitu protein dari yang paling dominan yaitu BM 36, 50, 20, 60, 66 dan 16 kDa dari lutoid Berta BM 20 dan 16 kDa dari serum C. Protein dengan BM 21, 23, 32, dan 36 kD dalam lutoid lateks telah diekstraksi dari gel SDS-PAGE preparative dan akan digunakan untuk sumber antigen untuk pembuatan antibody poliklonal dan monoclonal pada Tahun II. Selain pengembangan perangkat deteksi, juga telah dilakukan usaha deproteinasi protein allergen dengan protease basa dari isolat bakteri P6a asal lateks. Protein terlarut pada sarung tangan yang semula kadarnya 1836 μ g dengan penambahan enzim protease kasar 10% yang diaplikasikan bersama surfaktan 1% menurunkan sebesar 73% (500 Rig).

Hasil penelitian yang diperoleh pada Tahun I sangat prospektif dan memiliki peluang keberhasilan yang cukup besar untuk dapat merakit perangkat imunodiagnostik yang bernilai komersial pada akhir Tahun II karena (1) jenis-jenis protein asal lateks yang diduga kuat bersifat allergen telah diisolasi dan dimurnikan dari preparative gel SDS-PAGE, (2) determinasi individu yang positif terhadap allergen lateks, (3) Vasil pendahuluan kemampuan enzim protease yang diproduksi sendiri untuk penurunan kadar protein sarung tangan, (4) optimasi berbagai teknik immunoassay seperti ELISA, Dot blot dan Western blot. Antibodi poliklonal dan monoclonal spesifik terhadap protein allergen dan teknik deteksinya akan didaftarkan untuk paten sederhana.