

Sintesis dan karakterisasi konjugat oksitetrasiklin untuk produksi antibodi sebagai pereaksi deteksi residu oksitetrasiklin secara Imunokimia

Dwika Riandari, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20236768&lokasi=lokal>

Abstrak

Metode imunokimia telah lama dikenal sebagai metode analisis yang cepat, sensitif, spesifik serta ekonomis untuk deteksi residu obat pada produk peternakan. Metode ini menggunakan antibodi poliklonal atau monoklonal. Dua tahap penting harus dilakukan untuk pengembangan metode enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) untuk analisis residu oksitetrasiklin pada produk pangan asal hewan; yaitu sintesis hapten OTC untuk dikonjugasikan pada protein dan produksi antibodi. Hapten OTC-tolidin dan OTC-ABA telah disintesis dan dipergunakan sebagai imunogen setelah dikonjugasikan pada BSA. Konjugat OTC-tolidin-BSA yang dihasilkan berwarna merah-ungu dan memiliki dua serapan pada λ_{max} ; 277 nm dan 488 nm, sedangkan konjugat OTC-ABA-BSA berwarna coklat kekuningan memiliki dua serapan pada λ_{max} ; 280 nm dan 437 nm.

Hasil analisis KLT dan KCKT menunjukkan bahwa kedua konjugat sudah cukup murni karena tidak mengandung pereaksi yang dipergunakan. Dari hasil analisis elektroforesis gel (SDS-PAGE) dapat diperkirakan BM dari konjugat OTC-tolidin- BSA 69.791 dan OTC-ABA-BSA(71.219 Da) lebih besar dari BM BSA, hal ini menunjukkan sudah terjadi konjugasi antara BSA dan hapten OTC. Untuk produksi antibodi, kelinci diimunisasi dengan konjugat OTC- tolidin-BSA (1:75) dan OTC-ABA-BSA (1:30). Konsentrasi antibodi yang dihasilkan setelah dimurnikan dengan kolom HiTrap Protein A yang spesifik mengikat IgG, masingmasing 17,79 mg/ml dan 12.08 mg/ml.

Immunoassay has long been known as a rapid, sensitive, spesific and cost effective analytical methods for drug residues detection in food animal products. This method based on polyclonal and monoclonal antibodies. There are two important phases to be done to develop the method of enzyme?linked immunosorbent assay (ELISA) , in order to analyze the oxytetracycline (OTC) residue on food animal products. They are the OTC hapten synthesis which is conjugated on protein, and the antibodies production. These OTC-tolidin and OTC-ABA haptens have been synthesized and used as immunogens after being conjugated to BSA. The OTC-tolidin-BSA conjugate produces purplish-red color and has absorbance of λ_{max} ; 277 nm and 488 nm, while the OTC-ABA-BSA conjugate produces yellowish-brown color and has absorbance of λ_{max} ; 280 nm and 437 nm.

The analysis result on TLC and HPLC shows that both conjugates have sufficcient purity since it does not contain any reagents. From the result of SDS PAGE analysis, it can be considered that the MW from OTC-tolidin-BSA (69.791 Da) and OTC-ABA-BSA (71.219 Da) conjugate is higher than MW BSA. This fact shows that the conjugation has successfully occurred. To produce the antibody, the rabbit is being immunized by the OTC-tolidin-BSA (1:75) and OTC-ABA-BSA conjugate (1:30). The antibody concentration after being purified by the HiTrap Protein A colom, which specifically binds the IgG, are 17,79 mg/ml and 12.08 mg/ml.