

Penggunaan protein ikat tiamin kacang hijau (PITKH) pada pengukuran kadar tiamin serum dengan teknik enzyme-labeled protein ligand assay (ELPLA) = Application of mung bean thiamine binding protein for determination of serum thiamine level by enzyme-labeled protein ligand assay (ELPLA)

Megawati Kartika, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20514800&lokasi=lokal>

Abstrak

Tiamin (Vitamin B1) adalah vitamin B yang pertama kali diidentifikasi. Tiamin berperan sebagai koenzim untuk beberapa enzim yang terlibat dalam metabolisme energi. Uji laboratorium terhadap kekurangan tiamin dapat dilakukan dengan mengukur kadar tiamin dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar tiamin serum pada alkoholic dan penderita DM dengan teknik ELISA, HPLC, dan menggunakan protein ikat tiamin kacang hijau (PITKH) dengan teknik enzyme-labeled protein ligand assay (ELPLA). Untuk melihat faktor-faktor yang mempengaruhi ikatan antara PITKH dengan tiamin digunakan teknik dialisis kesetimbangan. Validitas teknik ELPLSBA dilakukan dengan uji presisi dan akurasi. Teknik ELISA dan HPLC digunakan sebagai pembanding pada pengukuran tiamin serum. Konsentrasi PITKH pasca kromatografi afinitas hasil pengenceran lyofilisat stabil selama 30 hari pada suhu -20°C dan 3 hari pada suhu 4°C. Aktifitas pengikatan PITKH dengan tiamin optimum pada pH 7,5. Aktifitas pengikatan ini juga dipengaruhi oleh senyawa alkilasi, oksidator, dan reduktor, tetapi kurang dipengaruhi oleh ion kalsium dan logam-logam berat. Kemampuan PITKH dalam mengukur kadar tiamin serum dengan teknik ELPLA memiliki presisi dengan CV 4,1% dan akurasi dengan nilai R 96-98%. Pengukuran dengan ELISA memberikan hasil yang lebih rendah dari teknik ELPLA, sedangkan uji banding dengan HPLC diperoleh $p = 0,102$ ($p > 0,05$) ; artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara metode ELPLA dan HPLC. Pengukuran tiamin serum dengan teknik ELISA, HPLC dan ELPLA pada alkoholic dan penderita DM, lebih rendah dari serum normal.

.....Thiamine (vitamin B1) was the first B vitamin to have been identified. It serves as a coenzyme for several enzymes involved in energy metabolism. The laboratory test against thiamine deficiency can be done by measuring thiamine levels in the blood. The aim of this study was to determine the serum thiamine levels in alcoholics and DM by ELISA, HPLC, and using mung bean thiamine binding protein (MBTBP) with the development of enzyme-labeled protein ligand assay (ELPLA) method. The equilibrium dialysis technique was used to see the factors affecting the bond between TBP and thiamine. The ELPLA method validity was performed with precision and accuracy tests. ELISA and HPLC methods were used as comparators for measurements of serum thiamine. The MBTBP concentration of post-chromatographic affinity resulted from dilution of lyophilisate was stable for 30 days at -20°C and 3 days at 4°C. The optimal pH for binding MBTBP to thiamine was 7,5. This binding activity was also affected by alkylation, oxidizing, and reducing agents, but it was less affected by calcium ions and heavy metals. MBTBP ability to measure serum thiamine levels with the ELPLA technique has precision with CV 4,2% and accuracy with R 96-98%. Measurements by ELISA has lower result than ELPLA. The comparison test with HPLC method obtained $p = 0,102$ ($p > 0,05$); meaning no significant difference between ELPSLBA and HPLC methods. Serum thiamine level by ELISA, HPLC and ELPLSBA techniques in alcoholic and DM patients were lower than

normal serum.