

INFORMASI PENDUKUNG

Sintesis Antigen AFB1-BSA dan Konjugasi Antibodi Anti AFB1-BSA dengan Nanopartikel Emas sebagai Pereaksi Imunostrip

Ita Krissanti^{1,2*}, Agustin Indrawati³, Romsyah Maryam⁴

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung

²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung

³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

⁴Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor

† Electronic Supplementary Information (ESI) available.

See DOI: <http://dx.doi.org/10.29244/avl.4.4.77-78>

S1. Sintesis antigen dilakukan dengan merubah AFB1 menjadi AFB1-carboxymethyl oxime (CMO) untuk kemudian dikonjugasikan dengan BSA (Liu *et al.* 2013)

Uji TLC dilakukan untuk mendeteksi AFB1-CMO yang terbentuk dengan menotolkan AFB1-CMO dan AFB1 sebanyak 20 µl pada bagian bawah pelat *silica gel* 60 F254 dengan jarak 1,5 cm. Setelah kedua bahan tersebut mengering, pelat dimasukkan ke dalam gelas TLC yang berisi kloroform dan metanol (9:1) dan 1,5% asam asetat glasial. Setelah pelat diangkat dan dikeringkan, hasil kromatografi kemudian diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 365 nm dan Rf AFB1 serta AFB1-CMO dihitung.

Bercak AFB1-CMO pada pelat dikerok, dilarutkan dalam kloroform, kemudian disentrifus selama 5 menit, dan diambil supernatannya untuk dikeringkan dengan aliran gas nitrogen. Selanjutnya AFB1-CMO yang telah kering ditimbang sebanyak 0,5 mg dan dilarutkan dalam 0,13 ml N,N-dimetillformamida (DMF). N,N-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sebanyak 1 mg dalam 0,01 ml DMF dan N-hydroxysuccinimide (NHS) sebanyak 0.8 mg dalam 0,01 ml DMF dimasukkan ke dalam campuran, diaduk dengan pengaduk magnet dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Sebanyak 75 µl campuran ditambahkan 1,5 mg BSA dalam 1 ml NaHCO₃ sedikit demi sedikit sambil diaduk. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam lalu didialisis selama 3 hari dalam PBS 0,01 M pH 7,4 dengan dua kali penggantian PBS. Setelah didialisis, antigen AFB1-BSA dianalisis menggunakan SDS PAGE berdasarkan Laemmli (1970). Jumlah pita protein dan berat molekul AFB1-BSA dihitung dengan membandingkan terhadap penanda yang digunakan.

S2. Produksi dan purifikasi antibodi anti AFB1 yang telah diproduksi dan dipurifikasi di Laboratorium Toksikologi BBLitvet dikonjugasi dengan nanopartikel emas sesuai metode Liu *et al.* (2013)

Antibodi anti AFB1-BSA sebanyak 8,1 ml (2mg/ml) dikonjugasikan dengan 6 ml nanopartikel emas pada pH 8,5. Selanjutnya BSA 10% sebanyak 720 µl di tambahkan ke dalam campuran lalu dikocok perlahan selama 1 jam. Campuran kemudian disentrifus selama 45 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Pelat diambil dan ditambahkan dengan 600 µl larutan bufer borat pH 7,2 yang berisi 1% BSA, 1% sukrosa dan 0,05% sodium azida. Konjugat antibodi anti AFB1-BSA dengan nanopartikel emas yang telah terbentuk akan tampak berwarna merah keunguan. Lalu sebanyak 600 µL konjugat diaplikasikan pada membran *fiber glass* ukuran 30×0,5 cm², dikeringkan dan dipotong menjadi 0,5×0,5 cm². Reagen antigen AFB1-BSA diaplikasikan pada membran nitroselulosa di daerah uji (T). Kemudian IgG *anti rabbit* diaplikasikan di daerah kontrol (C) pada membran nitroselulosa yang sama.