

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Gel Agarosa 1%

0,5 gr serbuk Agarosa dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml. Ditambahkan 50 ml *Buffer* TAE 1X ke dalam erlenmeyer, dan dihomogenkan dengan cara menggoyangkan erlenmeyer. Erlenmeyer dimasukkan ke dalam *microwave oven* \pm 2 menit hingga larutan homogen. Selanjutnya erlenmeyer didiamkan di suhu ruang hingga hangat kuku.

Ditambahkan 3,5 μ L *Red Safe DNA Gel Stain* ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan dengan cara menggoyangkan erlenmeyer. Larutan agarosa dituang ke cetakan gel yang sudah dipasang sisiran untuk membuat sumur gel. Jika ada gelembung udara yang terbentuk pada larutan agarosa di cetakan gel maka dihilangkan dan diamkan selama 25 menit hingga gel terbentuk.

Lampiran 2. Perhitungan Pengenceran Larutan *Buffer* TAE 1X dari Larutan Stok TAE 50X

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 50 = 500 \text{ ml} \cdot 1$$

$$V1 \cdot 50 = 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{500}{50}$$

$$V1 = 10 \text{ ml}$$

Maka, diambil 10 ml larutan stok TAE 1x dan dilarutkan ke dalam Aqua destilata sebanyak 490 ml.

Lampiran 3. Pembuatan Larutan *Buffer* TAE 1x dari Larutan Stok TAE 50x

10 ml Stok *Buffer* TAE 50x dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml. Kemudian ditambahkan 490 ml Aqua destilata ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan.

Lampiran 4. Perhitungan Pengenceran Primer 10 μ M dari Larutan Stok 100 μ M

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 = 100 \text{ uL} \cdot 10$$

$$V1 \cdot 100 = 1000 \text{ uL}$$

$$V1 = \frac{1000}{100}$$

$$V1 = 10 \text{ uL}$$

Maka, diambil 10 uL larutan stok primer 100 μ M dan dilarutkan ke dalam *Buffer* TE sebanyak 90 uL.

Lampiran 5. Pengenceran Primer 10 μM dari Stok Primer 100 μM

Proses pengenceran primer dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Alat yang akan dipakai disterilkan di dalam LAF selama 15 menit. Stok primer Sapi, Babi, dan 18S rRNA dengan konsentrasi 100 μM , diambil sebanyak 10 μL dan dimasukkan ke dalam mikrosentrifus *tube* 1,5 ml. Kemudian ditambahkan 90 μL *Buffer* TE. Dihomogenkan dengan vortex pada kecepatan 1800 rpm selama 5 detik dan dispin dengan *spin down* mini sentrifus.

Lampiran 6. Komponen Reagen PCR untuk Optimasi Suhu Annealing Primer

Tabel 1. Komponen Reagen PCR untuk Optimasi Suhu Annealing Primer

Reagen	Uji Spesifisitas Primer 18S rRNA	Uji Spesifisitas Primer Sapi	Uji Spesifisitas Primer Babi
2x GoTaq Green Master Mix	5 μL	5 μL	5 μL
10 mM Primer 18S rRNA Reverse	0,1 μL	-	-
10 mM Primer 18S rRNA Forward	0,1 μL	-	-
10 mM Primer Sapi Reverse	-	0,1 μL	-
10 mM Primer Sapi Forward	-	0,1 μL	-
10 mM Primer Babi Reverse	-	-	0,1 μL
10 mM Primer Babi Forward	-	-	0,1 μL
TE / MQ	3,8 μL	3,8 μL	3,8 μL
DNA <i>template</i> sapi dan babi	1 μL	1 μL	1 μL
Total	10 μL	10 μL	10 μL

Lampiran 7. Pengaturan Suhu Dan Waktu Amplifikasi PCR untuk Uji Spesifisitas Primer

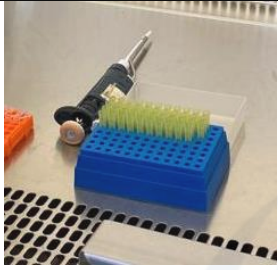


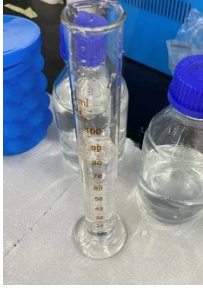




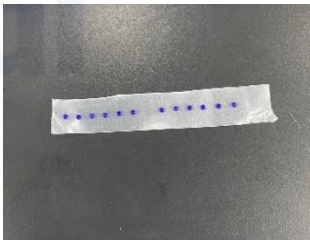



Tabel 2. Pengaturan Suhu Dan Waktu Amplifikasi PCR untuk Uji Spesifisitas Primer


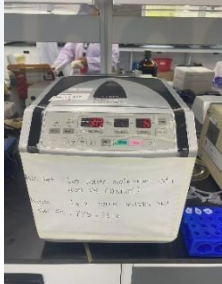



Proses	Suhu	Waktu
--------	------	-------

Pre denaturasi	95°C	5 menit
Denaturasi	95°C	30 detik
Annealing	55°C	30 detik
Elongasi	72°C	1 menit
Final elongasi	72°C	5 menit






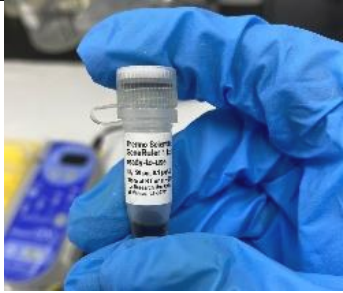
Lampiran 8. Alat dan Bahan dalam Penelitian

Tabel 3. Alat-alat dalam penelitian

 <p>Mikrotip dan mikropipet</p>	 <p>PCR tube</p>	 <p>Mikrosentrifus tube</p>
 <p>Gelas ukur</p>	 <p>Erlenmeyer</p>	 <p>Mortir dan alu</p>
 <p>Cetakan gel dan sisiran elektroforesis</p>	 <p>Tangki elektroforesis</p>	 <p>Kertas Parafilm</p>
		

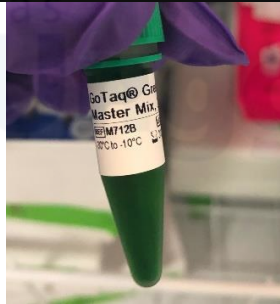
<i>Spindown centrifuge</i>	Timbangan analitik	<i>Thermocycler</i>
 <i>Tissue lyser</i>	 Mikrosentrifus	 Inkubator
 Spektrofotometer nanodrop	 <i>Dry Oven</i>	

Tabel 3. Bahan-bahan dalam penelitian

 Daging segar	 Sampel pangan fungsional	 DNeasy Mericon Food Kit (Qiagen)
 Purelink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen)	 Marker 1kb Plus DNA Ladder (Thermo Scientific)	 DNA Gel Loading Dye (Invitrogen)



Red Safe DNA Gel Stain
(Invitrogen)



GoTaq Green Mater Mix
(Invitrogen)



Buffer TAE