

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian deteksi cemaran babi pada sediaan kapsul suplemen kecantikan di Kota Yogyakarta dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang telah dilakukan, diperoleh simpulan bahwa:

1. Sediaan kapsul suplemen kecantikan di Kota Yogyakarta terdeteksi positif tercemar DNA babi sebesar 16.67% dengan primer PPA 8, sedangkan dengan primer *pork* terdeteksi positif tercemar DNA babi sebesar 90%. Sebanyak 4 primer sisanya tidak dapat mendeteksi cemaran DNA babi.
2. Primer *pork* lebih baik dalam mendeteksi cemaran DNA babi pada sediaan kapsul suplemen kecantikan.
3. Hasil sekuensing dengan primer P14 dari sampel yang teramplifikasi dengan panjang 800bp dan 700bp mengidentifikasi DNA domba.

B. Saran

Saran yang diajukan bagi penelitian lanjutan yang terkait dengan penelitian deteksi cemaran babi pada sediaan kapsul suplemen kecantikan di Kota Yogyakarta dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah:

1. Perlu adanya analisis sekuensing sampel positif dari hasil amplifikasi PCR dengan primer PPA 8 dan primer *pork*.
2. Perlu adanya referensi mengenai isolasi DNA untuk sampel gelatin.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, A. R., dan Selviastuti, R. 2014. Serburia Suplemen Tulang Ikan Bandeng dengan Cangkang Kapsul Alginat untuk Mencegah Osteoporosis. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa* 4 (1): 53-57.
- Aini, A. N., Ria, P. S. dan Aminin, A. L. N. 2011. Pemurnian DNA Plamid Puc19 menggunakan Kolom Silika dengan Denaturan Urea. *Jurnal Sains dan Matematika* 19 (2): 47-53.
- Akhmad, A. M. M. S. 2016. Pengembangan Analisis *Listeria monocytogenes* untuk Jajanan Pempek dengan *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Al Araidh, I. A. 2008. Improved DNA Extraction Method for Porcine Contaminants, Detection in Imported Meat to the Saudi Market. *Saudi Journal of Biology Science* 15 (2): 225-229.
- Al-Baghdadi, A. 2002. *Babi Halal, Babi Haram*. Gema Insani Press, Jakarta. Halaman: 50.
- Amersham. 1999. *Protein Electrophoresis: Technical Manual*. Amersham Bioscience Inc, USA. Halaman: 80-82.
- Andriani, D., Wijaya, N., dan Utami, W. 2014. Profil Pereseapan Sediaan Kapsul Racikan di Apotek "X" di Surabaya. *Jurnal Farmasi Komunitas* 1 (2): 41-44.
- Annisa. 2012. Isolasi RNA dan Pengklonaan Gen Tripsin Kation dari Pankreas Sapi ke *Escherichia coli* DH5 α . *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Biologi, Universitas Indonesia, Depok.
- Apriana, H. P. 2012. Analisis Komposisi Asam Amino Gelatin Sapi dan Gelatin Babi Pada *Marshmallow* Menggunakan Teknik Kombinasi HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dan PCA (*Principal Component Analysis*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Progam Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ardhana, P. 2011. Unjuk Kerja Aplikasi Sistem Pendinginan Pada Alat Elektrofosis Termoelektrik. *Skripsi*. Departemen Teknik Mesin Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok. Halaman: 8.
- Bello, N., Francino, O., dan Sanchez, A. 2001. Isolation of Genomic DNA from Feathers. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 13 (2): 162-164.
- Bianchet, F. M. 2008. *Ovis canadensis*. <http://www.iucnredlist.org>. 9 Mei 2017.

- Bio-Rad Laboratories. 2016. *PCR Troubleshooting*. <http://www.bio-rad.com>. 19 Mei 2017.
- Boom, R., Sol, C. J. A., Salimans, M. M. M., Jansen, C. L., Dillen, P. M. E. W., dan Noordaa, J. V. D. 1990. Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids. *Journal of Clinical Microbiology* 28 (3): 495 - 503.
- BPOM. 2010. *Public Warning Obat Tradisional dan Suplemen Makanan 2001-2010*. Direktorat Inspeksi dan Sertifikasi Obat Tradisional, Kosmetik, dan Produk Komplemen Badan Pengawas Makanan RI, Jakarta. Halaman: 2-40.
- Cai, H., Gu, X., Scanlan, M, S., Ramatlapeng, D, H., dan Lively, C, R. 2012. Real-Time PCR Assays for Detection and Quantitation of Porcine And Bovine DNA in Gelatin Mixtures and Gelatin Capsules. *Journal of Food Composition and Analysis* 2154: 1-5.
- Davis, L., Kuehl, M., dan Battey, J. 1994. *Basic Methods: Molecular Biology 2nd ed.* Appleton & Lange, Norwola. Halaman: 200-202.
- Dharma, S. 2008. *Pendekatan, Jenis dan Metode Penelitian Pendidikan*. Direktorat Tenaga Kependidikan, Direktorat Jenderal Peningkatan Mutu Pendidik dan Tenaga Kependidikan, Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta.
- Dirinck, I., Winne, D. Leuven, I. V., dan Dirinck, P. 2009. Mass Spectrofotometry Based Electronic Nose Classification of Commercial Coffee Blends. *Articel Research*. Catholic University College Ghent, Belgium.
- Djarajah, A. S. 1996. *Usaha Ternak Sapi*. Kanisius, Yogyakarta.
- Duckworth, J. W., Steinmetz, R. dan Rattanawat Chaiyarat. 2008. *Naemorhedus griseus*. <http://www.iucnredlist.org>. 8 Mei 2017.
- Erwanto, Y., Abidin, M, A., Muslim, E, Y, P., Sugiyono, dan Rohman, A. 2014. Identification of Pork Contamination in Meatballs of Indonesia Local using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Analysis. *Journal Animal Science* 27 (10): 1487-1492.
- Erwanto, Y., Sugiyono, Rohman, A., Abidin, M, Z., dan Ariyani, D. 2012. Identifikasi Daging Babi menggunakan Metode PCR-RFLP Gen *Cytochrome b* dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin. *Agritech* 32 (4): 370-377.
- Farmawati, D. A., Wirajana, I. N., dan Yowan, S. C. 2015. Perbandingan Kualitas DNA dengan menggunakan Metode Boom Original dan Boom Modifikasi Pada Isolat *Mycobacterium Tuberculosis* 151. *Jurnal Kimia* 9 (1): 41-46.

- Fathiyah. 2015. Analisis Kandungan Gelatin Babi dan Gelatin Sapi Pada Cangkang Kapsul Keras yang Mengandung Vitamin A Menggunakan *Real-Time Polymerase Chain Reaction*. *Skripsi*. Progam Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta. Halaman: 30-48.
- Fatih, M. 2009. Isolasi dan Digesti DNA Kromosom. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* 10(1) : 61-67.
- Fibriana, F., Widiarti, T., Retnoningsih, A., dan Susanti. 2012. Deteksi Daging Babi Pada Produk Bakso di Pusat Kota Salatiga menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction*. *Biosantifika* 4 (2): 106-112.
- Gaffar, S. 2007. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Universitas Padjajaran, Bandung. Halaman: 26-30.
- Gilsenan, P, M., dan Murphy, S, B, R. 2000. Rheological Characterisation of Gelatins from Mammalian and Marine Sources. *Food Hydrocolloids* 14:191.
- Graham, A., dan Newton, C, R. 1997. *PCR (Polymerase Chain Reaction)*. Springer Verlag, New York. Halaman: 1-3.
- Gupta, S. K., Kumar, A., dan Hussain, S. A. 2014. Novel Primers for Sequencing of The Complete Mitochondrial Cytotchrome B Gene of Ungulates using Noninvasive and Degraded Biological Samples. *Conservation Genetic Resource* 6: 499–501.
- Handayani, S. 2012. Deteksi Kuman Difteri dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* 39 (3): 225-257.
- Handoyo, D., dan Rudiretna, A. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas* 9(1): 17-29
- Hidayat, R. 2015. Perbandingan Metode Kit Komersial dan SDS untuk Isolasi DNA Babi dan DNA Sapi Pada Simulasi Cangkang Kapsul Keras untuk Deteksi Kehalalan menggunakan *Real-Time PCR (Polymerase Chain Reaction)*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Progam Studi Farmasi, UIN Jakarta.
- Husniyati, T. 2012. Analisis Variasi Genetik Populasi Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*) Sumber Eksplan untuk Perbanyakan *In Vitro* berdasarkan RAPD. *Skripsi*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam , Institut Pertanian Bogor.
- Insall, D. 2008. *Arabitragus jayakari*. <http://www.iucnredlist.org>. 8 Mei 2017.
- Intron Biotechnology. 2017. *Description of RedSafe Nucleic Acid Staining Solution 1ml*. <http://jhscience.com>. 7 Mei 2017.

- Jakubowska, J., Naciejewska, A., dan Pawlowski, R. 2012. Comparison of Three Methods of DNA Extraction from Human Bones with Different Degrees of Degradation. *International Journal Legal Medicine* 126: 173-178.
- Khan, A. K., Rashid, R., Murtaza, G., dan Zahra, A. 2014. Gold Nanoparticles Synthesis and Application in Drug Delivery. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 13 (7): 1169-1177.
- Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press, Jakarta. Halaman: 382 – 410.
- Khosravinia, H., Murthy, H, N, N., Parasad, D, T., dan Pirany, N. 2007. Optimizing Factors Influencing DNA Extraction from Fresh Whole Avian Blood. *African Journal of Biotechnology* 6 (4): 481-486.
- Klug, W, S., dan Cummings, M, R. 1994. *Concept of Genetics 4th ed*. Merrill Publishing Co. Columbus, Ohio. Halaman: 122-124.
- Lakowicz, J, R. 1983. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, New York. Halaman: 601-604.
- Lidansyah, C. 2015. Analisa Profil Protein Gelatin Babi dan Gelatin Sapi Cangkang Kapsul Lunak menggunakan Metode SDS-Page (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Progam Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Maestrogen. 2010. *Product Info of UltraSlim LED Illuminator*. <http://www.maestrogen.com>. 7 Mei 2017.
- Maftuchah, Winaya, A., dan Zainudin, A. 2014. *Teknik Analisis Biologi Molekuler*. Deepublish, Yogyakarta. Halaman: 15 - 20.
- Marantina, S. S. 2008. Deteksi Fragmen Gen NA Pengkode *Neuraminiadase* Virus Avian Influenza A Subtipe H5N1 dengan Teknik *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Biologi Universitas Indonesia, Depok.
- Margawati, E, T., Ridwan, M., dan Indriawati. 2011. A Sensitive Method for Identification of Porcine Contaminant in Unprocess Food by PCR Amplification Technique. *Biota* 16 (2): 342-347.
- Marlina, Mutalib, S, A., Islami, S, N., Sari, H, K., dan Fitria, A. 2013. Pengembangan Metode PCR dan *Southern Hybridization* untuk Deteksi Gen Babi Pada Cangkang Kapsul. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III 2013*. Universiti Kebangsaan, Malaysia. Halaman: 116-121.

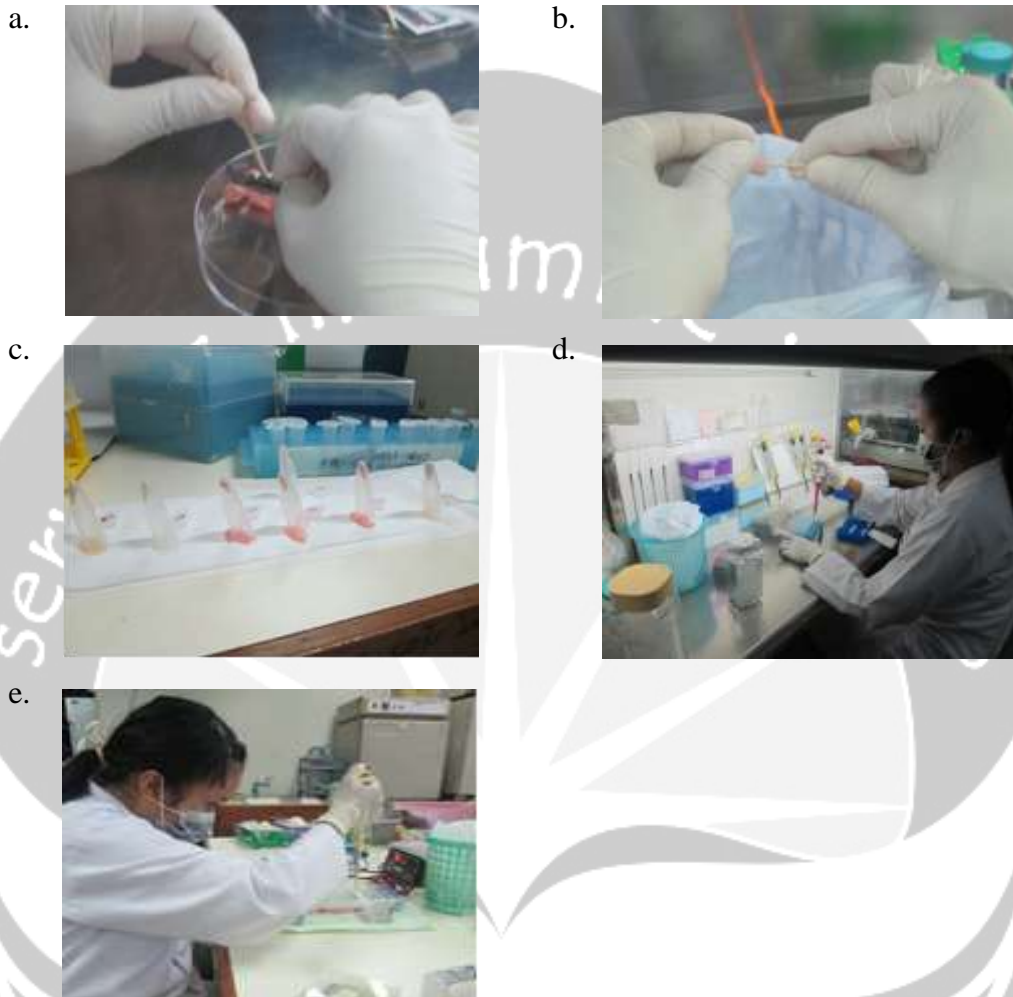
- Medialab. 2017. *PCR (Polymerase Chain Reaction)*. <https://www.labce.com>. 26 Mei 2017.
- Mita, A, R., Triyana, K., Triwahyudi, dan Rohman, A. 2014. Differentiation of Bovine and Porcine Gelatins in Soft Candy Based on Amino Acid Profiles and Chemometrics. *Journal Food Pharmaceutical Science 2* : 1-6.
- Muangkram, Y., Wajjwalku, W., Amano, A., dan Sukmak, M. 2016. *The Novel Primers for Mammal Spesies Identification based Mitochondrial Cytochrome b sequence: Implication for Reserved Wild Animals in Thailand and Endangered Mammal Species in Southeast Asia*. Research Article of Mitochondrial DNA Part A, UK.
- Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika, Edisi Kedua*. IPB Press, Bogor. Halaman: 40-44.
- Mullis, K, B. 1990. The unusual origin of the polmerase chain reaction. *Scientific American* 3:56-65.
- Nugroho, E, D. dan Rahayu, D, A. 2016. *Penuntun Praktikum Bioteknologi*. Deepublish, Yogyakarta. Halaman: 30-57.
- Nuraini, H. 2004. Pengembangan Sekuen *Porcine Repetitive Element-1* (PRE-1) sebagai Penanda Molekuler untuk Mendeteksi Material Babi Pada Produk Daging Olahan. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor. Halaman: 26-28.
- Praira, W. 2008. Identifikasi Gelatin dalam Beberapa Obat Bentuk Sediaan Tablet menggunakan Metode Spektrofotometri. *Skripsi*. Progam Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor.
- Pramudita, L, M., dan Rahim, S, A. 2012. Periklanan Internet Faktor Pendorong yang Merangsang Pembelian Produk Kecantikan. *Jurnal Komunikasi Malaysia* 27 (1): 1-17.
- Puspitaningrum, Y. 2015. Deteksi DNA Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada Simulasi Gummy Vitamin C menggunakan Real-Time PCR untuk Analisis Kehalalan. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kedokteran Progam Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatulla, Jakarta.
- Qiagen. 2008. *Hotstart PCR Handbook*. www.qiagen.com. 29 April 2017.
- Rahma, N, I. 2016. Klasifikasi Pola Rasa Daging Sapi dan Daging Babi Berbasis *Electronic Tongue* dengan 17 Array Sensor menggunakan Metode *Principle Component Analysis* (PCA) dan *Cluster Analysis* (CA). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. Halaman : 1-9.

- Russel, P, J. 1994. *Fundamentals of Genetics*. Harper Collins College Publishers, New York. Halaman: 63.
- Safitri, K, N. dan Wardani, A, A. 2015. Deteksi Cemaran Babi Pada Produk Sosis Sapi di Kota Malang dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (3): 1006-1014.
- Sahilah, A, M., Fadly, M, L., Norrakiah, Aminah, A, S., Aida, A, W., Ma'aruf, W, M, A, G., dan Khan, M, A. 2012. Halal Market Surveillance of Soft and Hard Gel Capsules in Pharmaceutical Products using PCR And Southern-Hybridization on The Biochip Analysis. *International Food Research Journal* 19(1): 371-375.
- Scientific, T. F. 2014. *Product Information Thermo Scientific Phire Animal Tissue Direct PCR Kit*. www.thermoscientific.com/onebio. 29 April 2017.
- Scientific, T. F. 2012. *Thermo Scientific NanoDrop Products: NanoDrop Lite User Guide*. Thermo Fisher Scientific Technical Support, USA.
- Sholihah, S. M. 2014. Hubungan Kekerbatan Beberapa Kultivar Pisang (*Musa* sp.) untuk Sifat Ketahanan terhadap Penyakit Berdasarkan *Resistance Gene Analog* (RGA). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Siregar, H., Ginting, S., dan Limbong, L. N. 2015. Pengaruh Jenis Pelarut dan Suhu Ekstraksi Kaki Ayam Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin yang dihasilkan. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian* 3 (2): 171- 177.
- Sulandri, S., dan Zein, M. S. A. 2009. *Analisis D-loop DNA Mitokondria untuk Memposisikan Ayam Hutan Merah dalam Domestikasi Ayam di Indonesia*. Media Peternakan, Bogor.
- Susilorini, T, E., Sawitri, M, E., dan Muharlieni. 2008. *Budidaya 22 Ternak Potensial*. Swadaya, Depok. Halaman: 54.
- Sutrisno, I. K., Arundina, I., dan Sosiawan, A. 2013. Identifikasi Bite Marks dengan Ekstraksi DNA Metode Chelex. *Dental Jurnal* 46 (2): 107-112.
- Syahputra, A. 2016. Evaluasi Metode Isolasi Asam Nukleat dalam Deteksi PCR untuk Patogen Antraknosa Bulai, Huanglongbing dan Mosaik. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Syamsuni, H. 2005. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Kedokteran EGC, Jakarta. Halaman: 70-72.
- Tanabe, S., Miyauchi, E., Muneshinge, A., Mio, K., Sato, C., dan Sato, M. 2007. PCR Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling

- and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 71 (7): 1663-1667.
- Tenriulo, A., Suryati, P, A., dan Rosmiat. 2001. Ekstraksi DNA Rumput Laut *Kappahytcus alvarezii* dengan menggunakan Metode Fenol Kloroform. *Journal Marina Chimica Acta* 2 (2): 57-62.
- Tharayarah, N. 2013. *Buku Pintar Sains dalam Al-quran*. Zaman, Jakarta. Halaman: 103.
- Tillmar, A. O., Amico, B. D., Welander, J., dan Holmlund, G. 2013. A Universal Method for Species Identification of Mammals Utilizing Next Generation Sequencing for the Analysis of DNA Mixtures. *Plos one journal* 8 (12) : 1-9.
- Traore, H., Armand, V.D., Isdore, C.S., Leen, R., dan Francoise, P. 2006. Direct Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex DNA and Rifampin Resistance In Clinical Specimens From Tuberculosis Patients by Line Probe Assay. *Journal Of Clinical Microbiologi* 2004 : 4384-4388.
- Vivikananda, E. 2014. *Deteksi DNA Babi dan DNA Sapi dengan menggunakan Metode PCR*. Universitas Syarif Hidayatullah, Jakarta. Halaman: 4-5.
- Wang, T. Y., Wang, J. H., dan Dong, W. H. 2011. *A Simplified Universal Genomic DNA Extraction Protocol Suitable for PCR*. *Genetics and Molecular Research* 10 (1): 519 - 525.
- Wardani, A, K., dan Sari, E, P, K. 2015. Deteksi Molekuler Cemaran Daging Babi Pada Bakso Sapi di Pasar Tradisional Kota Malang menggunakan PCR (Polymerase Chain Reaction). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (4): 1294-1301.
- Wardani, D. P., Suharyadi, E., dan Abraha, K. 2012. Kajian Awal Identifikasi Perbedaan Gelatin Sapi dan Gelatin Babi menggunakan Biosensor Berbasis *Surface Plasmon Resonance* (SPR). *Prosiding Pertemuan Ilmiah*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Westermeier, R. 2005. *Electrophoresis in Practice*. Wiley-VCH, Jerman. Halaman: 15-125.
- Widner, P., dan Frick, H. 2007. *Hak Konsumen dan Ekolabel*. Kanisius, Yogyakarta. Halaman: 10.
- Wijaya, Y, P. 2009. *Fakta Ilmiah tentang Keharaman Babi*. ITB, Bandung. Halaman: 27-33.
- Wilson, K., dan John, W. 2010. *Principles and Techniques of Biochemistry and molecular Biology*. Cambridge University Press, New York. Halaman 110-112.

- Winaya, A. 2010. Variasi Genetik dan Hubungan Filogenetik Populasi Sapi Lokal Indonesia Berdasarkan Penciri Molekuler DNA Mikrosatelit Kromosom Y dan Gen Cytochrome B. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Wulansari, W., Yuda, P., dan Zahida, F. 2014. *Uji Efektifitas Gen CHD Sebagai Penanda Molekuler untuk Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung Air*. Artikel Ilmiah Fakultas Teknobiologi UAJY, Yogyakarta.
- Yoshida, T., Nomura, T., Shinoda, N., Kusuma, T., Kadowaki, K., dan Sugiura, K. 2009. Development of PCR Primers for the Detection of Porcine DNA in Feed Using mtATP6 as the Target Sequence. *Journal Food Hyg. Soc. Japan* 50 (2): 89-92.
- Yowani, S. C., dan Wirajana, I. N. 2014. Identifikasi Mutasi Gen rpoB Isolat MDR *Mycobacterium tuberculosis* di Bali dengan Metode Nested PCR. *Jurnal Farmsi Indonesia* 7 (2): 121-127.
- Yuwono, T. 2008. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta. Halaman: 26-76.
- Zulaekah, Z., dan Kusumawati, Y. 2005. Halal dan Haram Makanan dalam Islam. *SUHUF* 28 (1): 25-35.

Lampiran 1. Foto Proses Penelitian



Keterangan:

- a. Pemisahan cangkang kapsul dari isi sediaan kapsul pelangsing
- b. Pemotongan kapsul pelangsing
- c. Proses isolasi DNA kapsul dengan metode Boom yang dimodifikasi
- d. Proses pembuatan master mix dalam metode amplifikasi PCR
- e. Hasil amplifikasi PCR divisualisasi dengan elektroforesa

Lampiran 2. Perhitungan Buffer, Konsentrasi Agar dan Volumer Reaksi Primer

a. Perhitungan TAE 1X

V_1 = Volume stock ; N_1 = Konsentrasi reaksi; V_2 = Volume reaksi;
 N_2 = Konsentrasi stock. Volume aquades yang dibutuhkan untuk pembuatan TAE 1×?

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$1000 \times 1 = V_2 \times 50$$

$$V_2 = 20 \text{ ml TAE } 1\times$$

Maka, aquades yang ditambahkan :

$$V_1 - V_2 = 1000 - 20$$

$$= 980 \text{ ml aquades}$$

b. Perhitungan pembuatan konsentrasi agar 1.5%

Volume TAE 1× = 30 ml; Konsentrasi agarose yang dibutuhkan 1.5%;

Berapa gram serbuk agarose yang dibutuhkan?

$$\text{Serbuk agarose} = \text{Konsentrasi agarose} \times \text{Volume TAE } (1\times)$$

$$= 1.5\% \times 30$$

$$= 0.45 \text{ gram}$$

c. Perhitungan volume reaksi pada primer (10mM)

V_1 = Volume stock ; N_1 = Konsentrasi reaksi; V_2 = Volume reaksi;

N_2 = Konsentrasi stock. Volume *destilated water* yang dibutuhkan untuk pembuatan volume reaksi primer?

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$50 \times 10 = V_2 \times 100$$

$$V_2 = 5 \text{ ml primer (forward + reverse)}$$

Maka, *destilated water* yang ditambahkan :

$$V_1 - V_2 = 50 - 5 = 45 \text{ ml destilated water}$$

Lampiran 3. Perhitungan Berat Band DNA Sampel untuk Volume *Binding Solution*

Rumus Berat DNA Sampel	Sampel (Primer)	Berat DNA Sampel (gram)	Volume <i>binding solution</i> (μl)
Berat DNA sampel = (Berat - 0.95) × 2	A (P195)	$(1.0702 - 0.95) \times 2$ = 0.2404 gram	240 μl
	B (P195)	$(1.1107 - 0.95) \times 2$ = 0.3214 gram	320 μl
	C (P195)	$(1.0638 - 0.95) \times 2$ = 0.2276 gram	230 μl
	D (P195)	$(1.0662 - 0.95) \times 2$ = 0.2324 gram	230 μl
	E (P195)	$(1.0373 - 0.95) \times 2$ = 0.1746 gram	170 μl
	A (CB1 CB2)	$(1.1058 - 0.95) \times 2$ = 0.3116 gram	310 μl
	B (CB1 CB2)	$(1.0513 - 0.95) \times 2$ = 0.2026 gram	200 μl
	C (CB1 CB2)	$(1.1864 - 0.95) \times 2$ = 0.4728 gram	470 μl
	E (CB1 CB2)	$(1.0625 - 0.95) \times 2$ = 0.225 gram	220 μl
	A (P14)	$(1.0591 - 0.95) \times 2$ = 0.2182 gram	220 μl
	B (P14)	$(1.0618 - 0.95) \times 2$ = 0.2236 gram	220 μl

Lampiran 4. Hasil sekuensing Primer P195 dalam Format Fasta

a. Sampel A

```
>2656046_AN_P195_195_Fw sequence exported from 1st_BASE_2656046_AN_P195_195_Fw.ab1
AACCAAAAACCTATAGAGTCTAGCCTAGCCTTCTCTATCCTAATTTT
AGCTCTAATCCCCCTTACCACCCACCATCCAAACAACGAAGCATA
ATATTCCGACCACTCAGCCAATGCCTATTCTGAGTCCTAGTAGCAG
ACCTACTGACACTCACATGAATTGGAGGACAACAA
```

b. Sampel B

```
>2656047_BN_P195_195_Fw sequence exported from 1st_BASE_2656047_
BN_P195_195_Fw.ab1
AAACCAAAAACCTGGAGGAGTACTAGGCTAGCCTTCTCTATCCTAATT
CTAGCTGCTAAGTCACCCCTACTACCCACCTCCAAACAACGAAGC
ATAATATTCCGACCAATCAGCCAATGCCTATTCTGAGCCCTAGTAG
CAGACCTACTGACACTCACATGAATTGGAGGACAACAA
```

c. Sampel C

```
>2656048_CN_P195_195_Fw sequence exported from 1st_BASE_2656048_
CN_P195_195_Fw.ab1
TTTTCAATTCAAGGAGAGTACTAGGCCTAGCCTTCTCTATCCTAA
TTCTAGCTGCTAATCACCCCTACCACACACCTCCAAACAACGAAGC
ATAATATTCCGACCACTCAGCCAATGCCTATTCTGAGCCCTAGTGG
CAGACCTACTGACACTCACATGAATTGGAGGACAACA
```

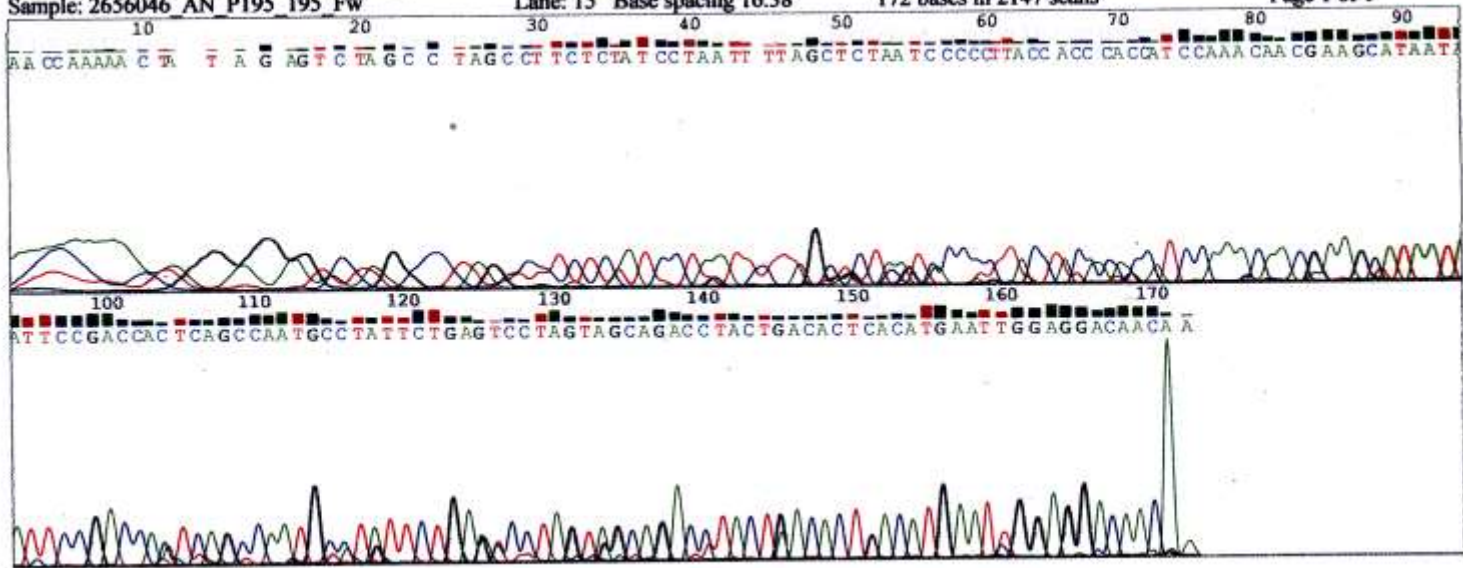
c. Sampel D

```
>2656049_DN_P195_195_Fw sequence exported from 1st_BASE_2656049_
DN_P195_195_Fw.ab1
AATCCATTAAGTACTAGTGGAGTCTGGCCTAGTCCTCTCATGCCTAATC
TTAGCGCTCGTACCCTTCCTCCACACATCCAAACAACGAAGTATAA
TATTCCGACCAATCAGCCAATGTATGTTCTGAATCCTAGTGGCAGA
CTTACTAACACTCACATGAATTGGAGGACAACAA
```

d. Sampel E

```
>2656050_EN_P195_195_Fw sequence exported from 1st_BASE_2656050_
EN_P195_195_Fw.ab1
AATTAATTCTAGGATGGAGTACTAGCCCAAAGCTTTCTCTATCCTA
ATTCTAGCTCTAAGTACCCTTACCACCACACCATCCAAACAACGAA
GCATAATATTCCGACCAATCAGCCAATGCCTATTCTGAATCCTAGT
GGCAGACTTACTAACACTCACATGAATTGGAGGACAACA
```

File: 1st_BASE_2656046_AN_P195_195_Fw.ab1 Run Ended: Mar 23, 2017, 7:32:02 Signal G:1089 A:3835 T:3346 C:4690 Comment:
Sample: 2656046 AN_P195_195_Fw Lane: 15 Base spacing 16.38 172 bases in 2147 scans Page 1 of 1



Lampiran 5. Hasil sekuensing Primer CB1 CB2 dalam Format Fasta

a. Sampel A

```
>2663320_AN2_CB1_CB2_CB1      sequence      exported      from
1st_BASE_2663320_AN2_CB1_CB2_CB1.ab1
ATAGGACACTGGGGACTGCCTATGCTACAATCCTCACAGGCCTATT
CCTAGCCATGCACTACACATCCGACACATCAACAGCATTCTCCTCT
GTCACCCATATCTGCCGAGACGTAAACTACGGCTGAATCATCCGA
TACCTACACGCAAACGGAGCTTCAATGTTCTTCATCTGCTTATATA
TTCACGTAGGACGAGGCCTATATTACGGATCCTACACCTTTCTAGA
AACATGAAACATTGGAGTAATCCTCCTGCTCACAGTAATAGCCAC
AGCATTTATAGGATACGTCCTACCATGAGGACAAATATCATTCTGA
GCATGGTCATAGCTGTTTCCAAA
```

b. Sampel B

```
>2663321_BN2_CB1_CB2_CB1      sequence      exported      from
1st_BASE_2663321_BN2_CB1_CB2_CB1.ab1
GAGGGCCCATCTTGGAGTCTGCCTATGATACAAATCCTCACCGGCC
TATTCCTAGCCATGCACTACACATCCGACACATCAACAGCCTTCTC
CTCTGTAGCCACATTTGCCGAGACGTAAACTACGGCTGAATCATC
CGATATCTACACGCAAACGGAGCCTCAATATTCTTCATCTGCTTAT
TCCTTCACGTAGGACGAGGCCTATACTACGGATCCTACATCTTCCT
AGAAACATGAAACATTGGAGTAATCCTCCTACTCACAGTAATAGC
CACCGCCTTTATAGGGTACGTTCTACCATGAGGACAAATATCATTC
TGAGCATGGTCATAGCTGTTTCCAAA
```

c. Sampel C

```
>2663322_CN2_CB1_CB2_CB1      sequence      exported      from
1st_BASE_2663322_CN2_CB1_CB2_CB1.ab1
GAACGATCTTTTTGGAATCTGCCTCATGCTACAAATCCTCACAGGC
CTATTCCTAGCAATGCACTACACATCCGACACAACAACAGCATTCT
CCTCTGTTACCCATATCTGCCGAAACGTCAACTACGGCTGAATCAT
CCGATACATACACGCAAACGGAGCTTCAATCTTCTTCATCTGCTTA
TATATTCACGTAGGACGAGGCCTATATTACGGATCCTACACCTTC
TAGAAACATGAAACATTGGAGTAATCCTCCTCCTCACAGTAATAG
CCACAGCATTTATAGGATACGTTCTACCATGAGGACAAATATCATT
CTGAGCATGGTCATAGCTGTTTCCA
```

c. Sampel E

```
>2663323_EN2_CB1_CB2_CB1      sequence      exported      from  
1st_BASE_2663323_EN2_CB1_CB2_CB1.ab1  
AAAGGGTCACTTGGCGGTCTGCCTCATGATAACAATCCTCACCGGCC  
TATTCCTAGCCATACTACACATCCGACACATCAACAGCATTCTC  
CTCTGTAACCCATATCTGCCGAGACGTAAACTACGGCTGAATCATC  
CGATACCTACACGCAAACGGAGCTTCAATCTTCTTCATCTGCTTAT  
ACCTTCACGTCGGACGAGGCCTATACTACGGATCCTACCCCTTCTC  
AGAAACCTGAAACATTGGAGTAATCCTCCTCCTCACAGTCATAGC  
CACCGCCTTTATAGGATACGTTCTACCATGAGGACAAATATCATTC  
TGAGCATGGTCATAGCTGTTTCCA
```

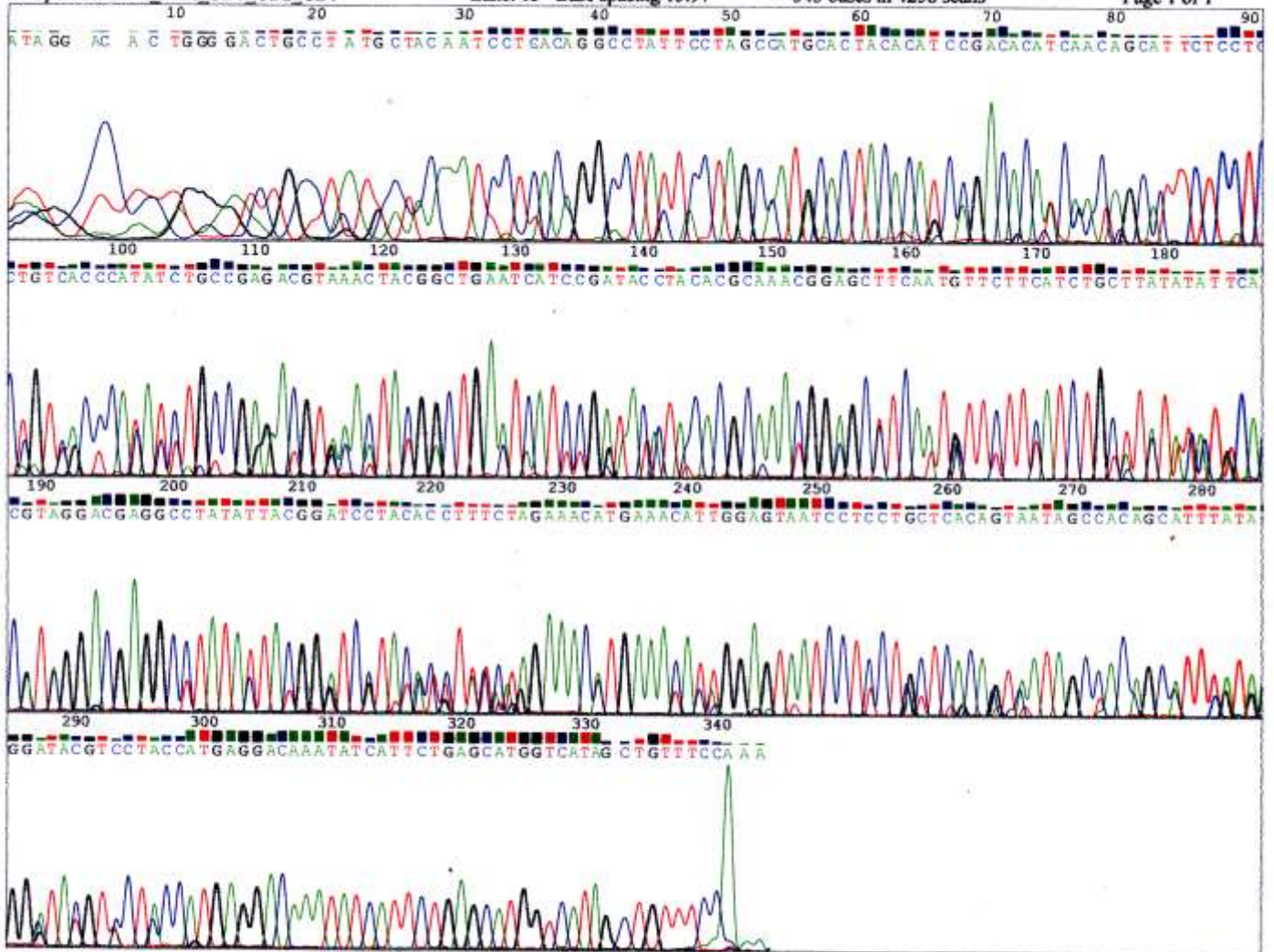


File: 1st_BASE_2663320_AN2_CB1_CB2_CB1.ab1
Sample: 2663320_AN2_CB1_CB2_CB1

Run Ended: Mar 28, 2017, 12:28:31
Lane: 15 Base spacing 15.97

Signal G:944 A:2706 T:2742 C:3715
343 bases in 4258 scans

Comment:
Page 1 of 1



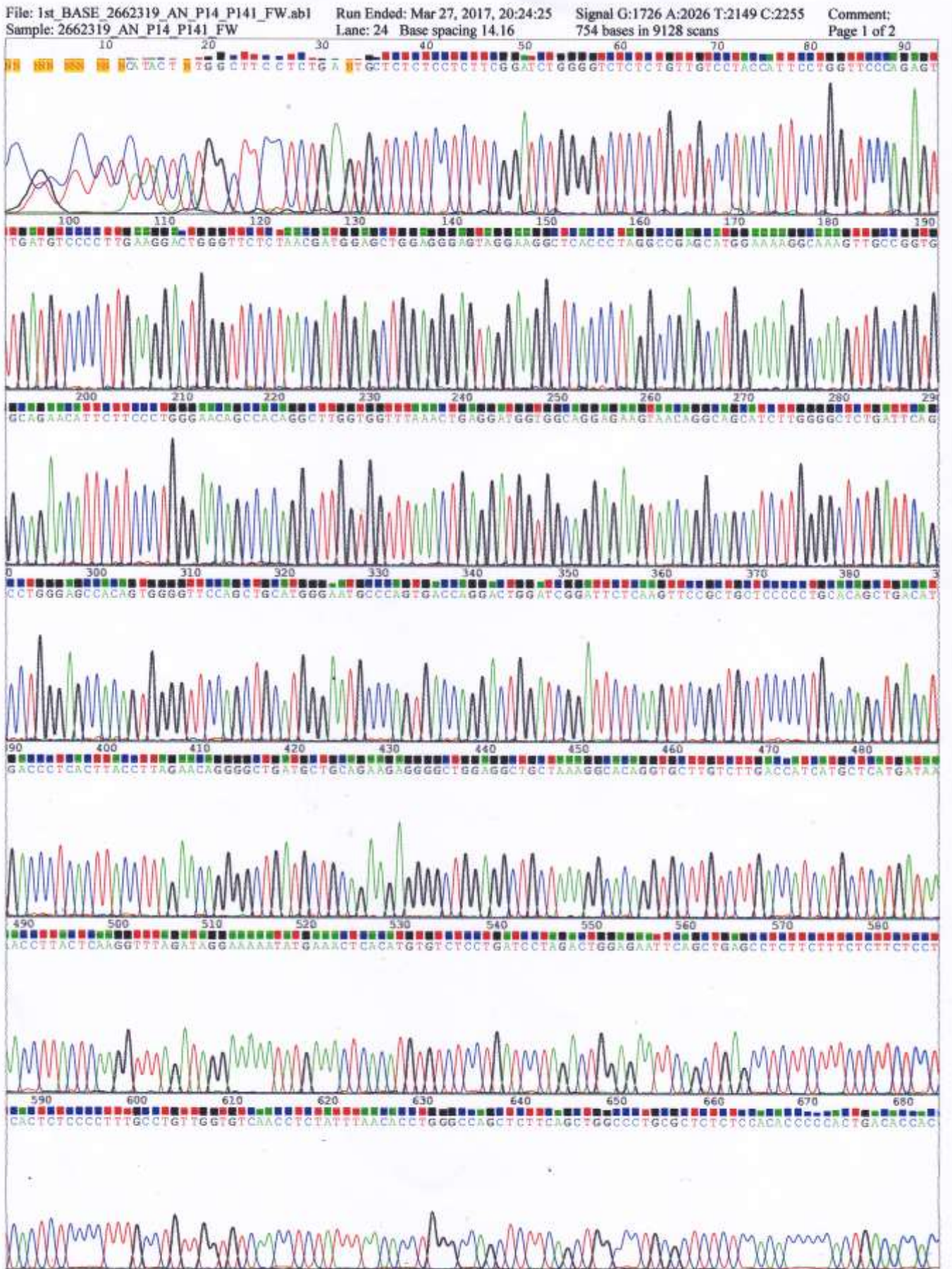
Lampiran 6. Hasil sekuensing Primer P14 dalam Format Fasta

1. Sampel A

```
>2662319_AN_P14_P141_FW      sequence      exported      from
1st_BASE_2662319_AN_P14_P141_FW.ab1
NNNNNNNNNNNCATACTNTGGCTTCCTCTGANTGCTCTCTCCTCTT
CGGATCTGGGGTCTCTCTGTTGTCCTACCATTCCCTGGTTCCCAGAG
TTGATGTCCCCTTGAAGGACTGGGTTCTCTAACGATGGAGCTGGAG
GGAGTAGGAAGGCTCACCTAGGCCGAGCATGGAAAAGGCAAAG
TTGCCGGTGGCAGAACATTCTTCCCTGGGAACAGCCACAGGCTTG
GTGGTTTAAACTGAGGATGGTGGCAGGAGAAGTAACAGGCAGCAT
CTTGGGGCTCTGATTCAGCCTGGGAGCCACAGTGGGGTTCCAGCT
GCATGGGAATGCCCAGTGACCAGGACTGGATCGGATTCTCAAGTT
CCGCTGCTCCCCCTGCACAGCTGACATGACCCTCACTTACCTTAGA
ACAGGGGCTGATGCTGCAGAAGAGGGGCTGGAGGCTGCTAAAGG
CACAGGTGCTTGTCTTGACCATCATGCTCATGATAAACCTTACTCA
AGGTTTAGATAGGAAAAATATGAAACTCACATGTGTCTCCTGATC
CTAGACTGGAGAATTCAGCTGAGCCTCTTCTTTCTCTTCTCCTCACT
CTCCCCTTTGCTGTTGGTGTCAACCTCTATTTAACACCTGGGCCA
GCTCTTCAGCTGGCCCTGCGCTCTCTCCACACCCCCACTGACACCA
CCCCACAGCATCCTGGTCCCATTATCATCTATGTCCTGCTTGTCTG
CTGGGCTGGGACATAAAGGCATCTN
```

B. Sampel B

```
>2662320_BN_P14_P141_FW      sequence      exported      from
1st_BASE_2662320_BN_P14_P141_FW.ab1
GCCGGGGCCTTTCATCTCATGGCTTCCTCTGAGTGCTCTCTCCTCTT
CGGATCTGGGGTCTCTCTGTTGTCCTACCATTCCCTGGTTCCCAGAG
TTGATGTCCCCTTGAAGGACTGGGTTCTCTAACGATGGAGCTGGAG
GGAGTAGGAAGGCTCACCTAGGCCGAGCATGGAAAAGGCAAAG
TTGCCGGTGGCAGAACATTCTTCCCTGGGAACAGCCACAGGCTTG
GTGGTTTAAACTGAGGATGGTGGCAGGAGAAGTAACAGGCAGCAT
CTTGGGGCTCTGATTCAGCCTGGGAGCCACAGTGGGGTTCCAGCT
GCATGGGAATGCCCAGTGACCAGGACTGGATCGGATTCTCAAGTT
CCGCTGCTCCCCCTGCACAGCTGACATGACCCTCACTTACCTTAGA
ACAGGGGCTGATGCTGCAGAAGAGGGGCTGGAGGCTGCTAAAGG
CACAGGTGCTTGTCTTGACCATCATGCTCATGATAAACCTTACTCA
AGGTTTAGATAGGAAAAATATGAAACTCACATGTGTCTCCTGATC
CTAGACTGGAGAATTCAGCTGAGCCTCTTCTTTCTCTTCTCCTCACT
CTCCCCTTTGCTGTTGGTGTCAACCTCTATTTAACACCTGGGCCA
GCTCTTCAGCTGGCCCTGCGCTCTCTCCACACCCCCACTGACACCA
CCCCACAGCATCCTGGTCCCATTATCATCTATGTCCTGCTTGTCTG
CTGGGCTGGGACATAAAGGCATCATGTGTGCGAGATCAGCAGAAC
ATGCGGGACAT
```



File: 1st_BASE_2662319_AN_P14_P141_FW.ab1
Sample: 2662319_AN_P14_P141_FW

Run Ended: Mar 27, 2017, 20:24:25
Lane: 24 Base spacing 14.16

Signal G:1726 A:2026 T:2149 C:2255
754 bases in 9128 scans

Comment:
Page 2 of 2

