

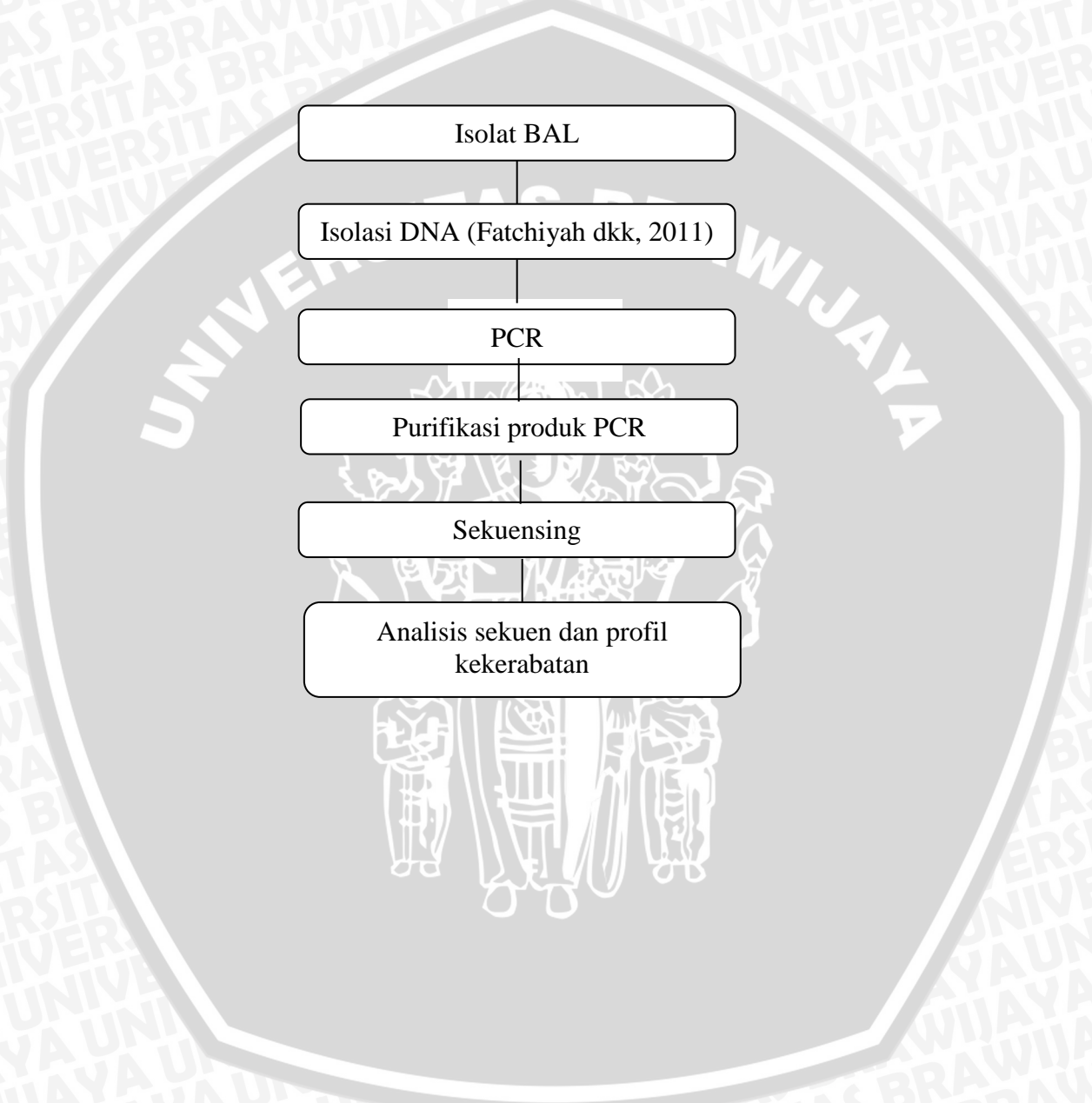
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN



Lampiran 1

SKEMA KERJA PENELITIAN



Lampiran 2

Tabel 5.1 Dugaan Spesies Sampel A, F, M, N, O, dan P (Prasthani, 2012)

Sampel	Dugaan spesies (berdasarkan sifat morfologi, fisiologis, biokimia, dan nilai uji similaritas)
A	<i>Pedococcus sp</i>
F	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
M	<i>Aerococcus sp /Enterococcus sp</i>
N	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
O	<i>Lactobacillus casei /plantarum</i>
P	<i>Lactobacillus casei /plantarum</i>

Lampiran 3

Tabel 5.3 Hasil Sekuensing Sampel A, F, M, N, O, dan P

Sampel	Sekuen (dalam bentuk FASTA)
Sampel A	<p>ACTCTGCGAAGCTATTAGTCAGTAGATTGGGTGATTTGCAA TTTTATCCTCTATTTTTTCTTCTCCCCGACCACTGATTGTTC TAAACCCCTTAAGATGATTAATCTACGACCTCCTACTACGG AACAATTTTTATATCACCTACTTCTACGATTCGTTGTTTTTC TTATTTTAGATGATGGCTCTGCTATTATATTCTGGATGGAC TCACTACGCAATATCTAATTGTGAACGTAACGGCTCACCCCT GGCAATCATGCGTAACTCATCTGAGAGGGTAATCTGCCAA ATTGTGACTGAGACACGACCGGCACTCTTTTGTCTATCCAC TTTATACATATATAAAAACAATGTCTCCTAAAAAGGTGTAC CACCGCCGTTACATTTATATGAGAATTCTATGATCAATGTG CGCTCTAGTCGCGTAAGAATCTTTACCCTCTTTTTGGTT GAATTTTTTCATGTCTCCGAACCTAATCATTCCCTTCAGCCTT ACTAAGAAGACTTTGCGCCAGCACCAACAACAACGTTGGA TCATCAATAATATGACAGCTCCTTGACGACGCCGAACGGT CCAGAAAGCTCTTATCATTCCATCTGTATCTCTACTCTAAC TCCATCCTCTATTCTAATTCAACGTCGTTATCCAATATATTA AGAATCTAGT</p>
Sampel F	<p>CCTTGCTCATGATAAATGATAGTGTATTTTATGATTTTTTTC TTTTAGTTCTTCTGGATTATATCCAAGCGATCTCTTAAACA CTTTTTTTATCTTCGGCTGGCCATTCCCTTAGCGGCGGATG GGTGAGTAACACGTGGGGAACCTGCCCCATAGTCTGGGAT ACCACTTGGAACAGGTGCTAATACCGGATAAGAAAGCAG ATCGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGGCGTAAGCTGTTCG TATGGGATGTCCTCCGCTCTATTGCTTTTCCCTCCCCATCATC CCTGACCTGTTCCAACATGACTACCAACGTCCTCCCTCTT</p>



CTTTTCAGCTAAGAACTCCACTACAACCTTCCCACCTTGC
 CTCCATCCAGATGAATTTCTTATATCCATATTCTTACTCTAT
 GGAACCTCCCTGATATACATCTGACATAACCCTTAACATAG
 ATCAATCACATTCTGCACTCATTTTTTTTCAATCTCTTAAAT
 GACTCTGTATCTCCCATCACATTAGGCATCTACTTCAAATC
 ATGTATCTGTACCGATCCTACTTTGTTTCTAATCTTCCGATC
 TTTTGTTTTCATATGACCTACTTCTATCACATATAACATACC
 TAACTTACTCCTAATCTCTTTTTACTTTTTCCCATCTTATTG
 A

Sampel M

GGAACAATAGCTTCAGGTTAGAGTGCTGCTTACATTTTTAC
 TTTCTTCTCTGTCATCGACTATTCCAGGATTAATCTTTTTTC
 CCCCCTTAGAGGACTCCCCCTCCTAATCCTCAATCCATCA
 ACACCACCCTCATCTCCCTTAGCCGGGACATATTATTAACA
 CAACCAAGGCCGCGATGCATAGCCGACCTGAGAAGGTGAT
 CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGG
 GAAGGCAGCAGTAGGGATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCT
 GACCGAGCAAACGCCGCGTGAGGATCTGTACATCACTTCA
 CATCTGCAATCGTACATCCCGTCCACCGTCCACCGCCAAC
 CACATCATATTTAGTTTCCATATCTCCTTTTTTGCCTCGCCC
 TACCATGTCAAATTACATGCCCCGTAACATAATGTGCCAAT
 ATTCTTCTTACTTATCAGTTCTCCATTTTGTATCCCCCT
 TCAAATGTTTCCACTACATCACCATACGTAATTATCTATTA
 TTACCTACCTCTTCAATATATAATCTCTAATACTCGGATTC
 CTATATATATCTCTTACTCTACTACATTCTGAGTCAGTA
 ATTAACCAACTTTCTTTACGTATAACAACCT

Sampel N

CCTTTACATATACGTTTATGGGTTTCTGAATTTTTTTCTTT
 TACCTCTTCCATCTTCATATTCCTAGCCGCGCAGTTGATAC
 CTCTTAAACCCTAGGCCAGACCCATCTTCTTCTGAGTGCAGA
 AGAGGAGAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTA
 GATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGG
 TCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAA



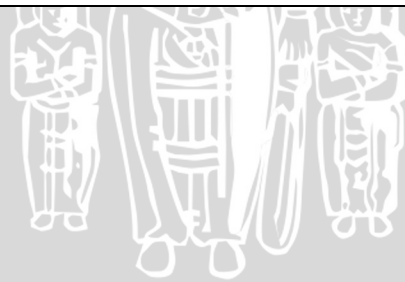
CAGGATTATTGCTCCCCCCTCCAGTTCTTCTCCCCATCAA
 ACCGTCATCCCATAGACATTTAAAAGACACATGATTTTTTC
 ATATTTATAATTACTAATATCAACATCATCTACTCTCTGCC
 TCCCTTTCAGTATTATGTATGGATGATAAATTTTCTCTTCC
 TTCCCTGATCTAGTCTCAGTATCCACTGAAGGACCGCAGAC
 ACAACTAATTCATGTTATGCCACCACTGATAAAATTCTATC
 TATAACTTAACAGACGTTTCGTATCATCACTGACCTGTTCC
 GCATATCAACAAGTTTTTACTTACTATTACTACAATATTCT
 AACCACAAATCTCTACAAATTCCCACCCATAAATAAGAGA
 TAAAGGTAAAACGTATAGAACTCAAATATAACAATTATA
 TTGTAAAGTGTCTT

Sampel O

CCAAACGATCATAGATGAGATTTTAATATTATATTTTTACT
 GCTGCCCTTTTTTATAGAATGATAATTTAATTGACAGTTCT
 TTTTTCTGTGGCCGTAATCCCATTTCGGGCTTTCTGATTGA
 TGAACGTCCAGTTCTCGAACGGATCGTCATGCCTGGCGAC
 GACACCCCTTCTCTTGTGTCAGATAAGAACTTTCACCACATC
 ATTTCCCACCATGCTTACAACATTTGGAAACAGATGCTAAT
 ACCGCATAGATCCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAG
 ATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATT
 AGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGCACC
 ACATTAACATGCTCCAACGTATATGCATTCCACTAACGAAC
 CTCTACGATGATACGTCAAAAATGACAATTCACATTTTTGC
 TTCATTTTCTGCACCATTTATTTTTATTGACTGTCGGTACTC
 TGTCTAACCATGAGAATACGCATCTACCTCCGATAACGG
 ATCAGTCACTGAGCAGTCATGATATCTTGTATTTCGGAGATT
 TAATCCTCACTGGGATTCTAGTTGCCAATATACTAGACAGA
 CTTCAGCCAAACATCTTCTTCCAAACTCCCTCCCTATGATT
 ACAACATACAGTATCAGACGTGATTCTCTCTCAACAAGCA
 TTCAAACCTCTGAACAGAAGCACAGGAAGTGTACGACTAGA
 TGAATTTTATTGCTCTTACCATCACGATTAACCCTCCTA
 CCTTTCGTATCTCGACTCTCATGACATGATTATACACCGGA
 TATCATAAAA

Sampel P

CCCGTACGTA CTGTGAGGTGTTTCTTTATTTTTTTTCTTTTT
CTTCTCCTCTCTTCTTCTCCAAGCACAGTATTTGAACCCTTT
CAGCGTTCGGCAGCCCATCATCTCCCAGCCACTCTCCTGCT
TATCTGCCCACGAAATCTACGCCTGCTTATACTTGATTGCG
AAATAGATCCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATG
GCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGC
TAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTA
GCCGAACTGAGAGGTTGATCGGATACATTTGACTCCTTAAT
ACTTTTAGGTACCTGCATCATCTTCTCTCTAGCTCCTATCTG
TGTAATAAAATGCCTAATATCATACCCCCTCCCTTCCCTG
ACCTTGACTAAAGCTCGCACGGTGGAACCTTTGCTACAACG
CTTCTTAGTATGCCCTACTTATCTCTATTTCTTCTTGATTAT
ACCGTCATTATGTATCTACTACGTCACCTACTGCAGAATAT
CTGACTACTCGAATCTTCATAATACTATCAAACCTGAATTT
TCTTCCTCTCGCATATACTAATGATTAGTCTTAGCTTCCTTT
TTAGATTGATGAGTCTTATTTTTATAAACATCAATATGAC
CG



Lampiran 4. Langkah Kerja Pembuatan Larutan**1. Pembuatan larutan 0,5 M EDTA pH 8 (sebanyak 25 ml)**

EDTA 4,653 gr

- dicampurkan dengan aquabides (ddH₂O) 12,5 ml
- distirer hingga terlarut sempurna
- diadjust pH dengan cara jika pH lebih rendah dari pH yang diinginkan ditambah NaOH, jika pH lebih tinggi dari pH yang diinginkan ditambah HCl
- ditambah ddH₂O hingga volume yang diinginkan
- dikocok pelan

Larutan

2. Pembuatan larutan Tris-HCl pH 7,6 (sebanyak 20 ml)

Tris-HCl 1,211 gr

- dicampurkan dengan aquabides (ddH₂O) 10 ml
- distirer hingga terlarut sempurna
- diadjust pH dengan cara jika pH lebih rendah dari pH yang diinginkan ditambah NaOH, jika pH lebih tinggi dari pH yang diinginkan ditambah HCl
- ditambah ddH₂O hingga volume yang diinginkan
- dikocok pelan

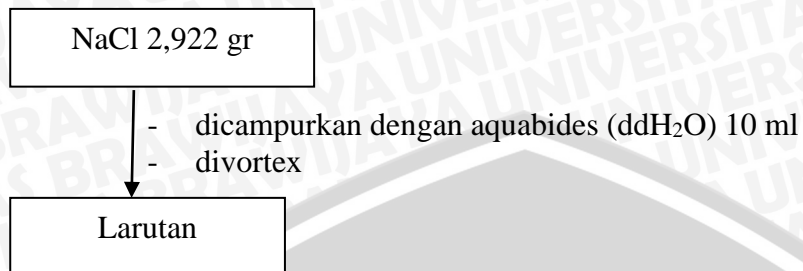
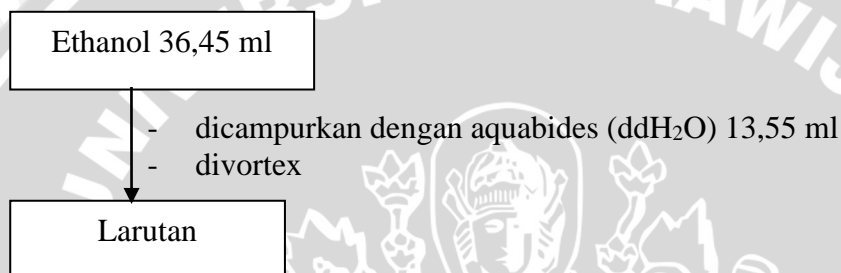
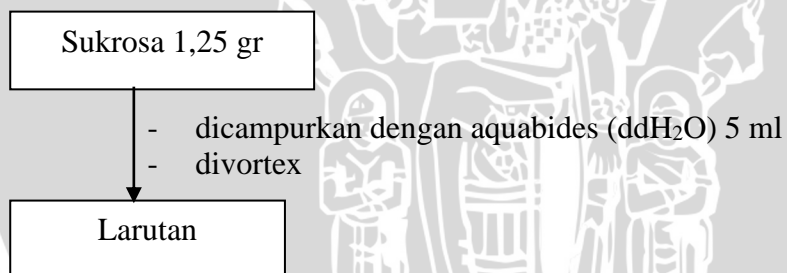
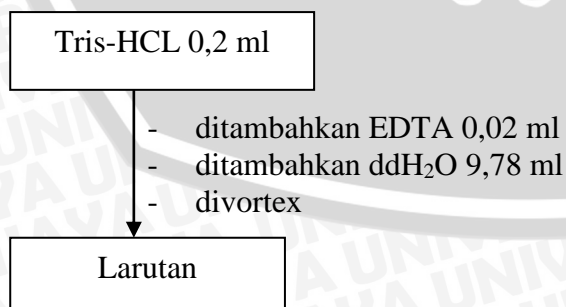
Larutan

3. Pembuatan larutan SDS 20% (sebanyak 10 ml)

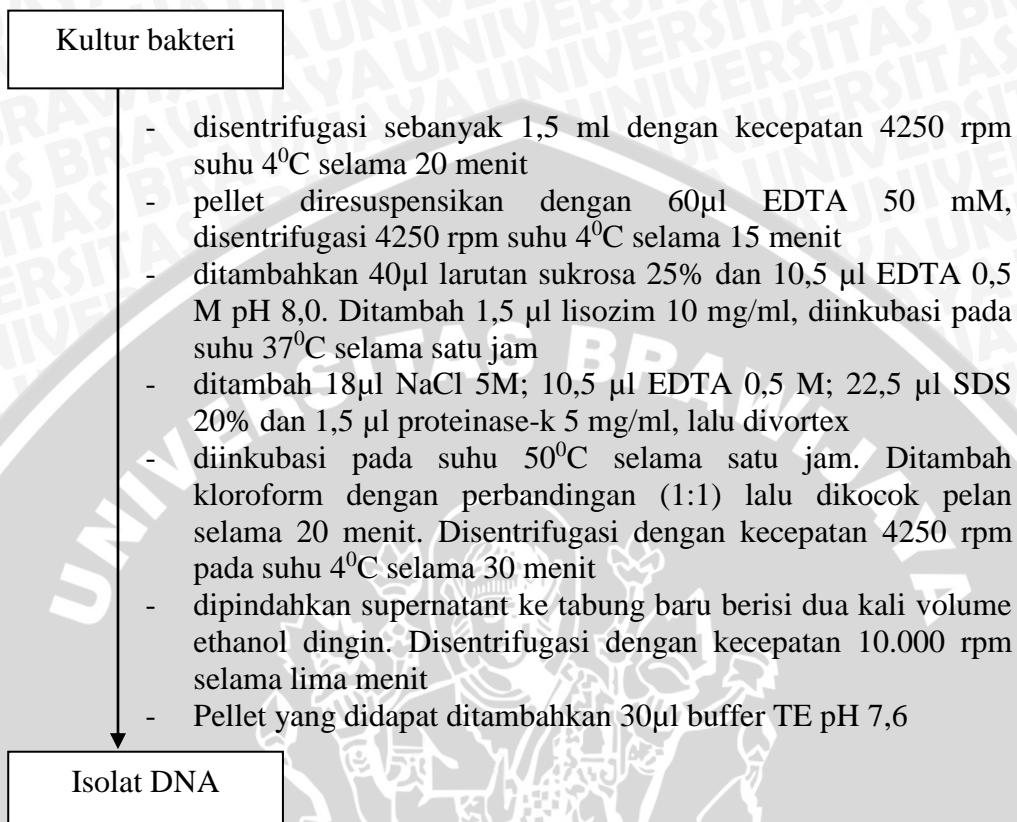
SDS 20% 2 gr

- dicampurkan dengan aquabides (ddH₂O) 10 ml
- divortex

Larutan

4. Pembuatan larutan NaCl 5 M (sebanyak 10 ml)**5. Pembuatan larutan Ethanol 70% (sebanyak 50 ml)****6. Pembuatan larutan sukrosa 25% (sebanyak 5 ml)****7. Pembuatan larutan buffer TE 0,01 M pH 7,6 (sebanyak 10 ml)**

Lampiran 5. Teknik Isolasi DNA



Lampiran 6. Teknik PCR

Isolat DNA

- dibuat PCR mix solution
- proses denaturasi berlangsung selama 30 detik dengan suhu 95°C
- proses annealing berlangsung selama 30 detik dengan suhu 55°C
- Proses extension dengan suhu 72°C

Amplicon



Lampiran 7. Teknik Sekuensing

Amplicon

- disiapkan untai fragmen DNA yang dibagi ke dalam empat bagian, dan setiap bagian diinkubasi dengan semua bahan yang diperlukan untuk sintesis untai komplementer
- dideoksinukleotida diselipkan begitu sering secara acak, sebagai pengganti ekuivalensi normalnya. Dihasilkan serangkaian untaian radioaktif yang mempunyai panjang yang berbeda-beda
- untai DNA baru dalam setiap campuran reaksi dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamida (*polyacrilamide*)
- dibuat autodiograf
- urutan dari untai hasil sintesis baru dapat dibaca langsung dari pita-pita pada autodiografnnya dan urutan untai cetakan aslinya dapat disimpulkan

Sekuen DNA



Lampiran 8. Teknik Analisis Filogenetik

Sekuen DNA

- dibuat matrik yang menetapkan status karakter setiap penanda untuk masing-masing sampel
- dibuat matrik similaritas maupun disimilaritas berdasarkan hasil analisis
- diilustrasikan dalam bentuk pohon filogenetik maupun dendogram

Pohon filogenetik

