

(selama inkubasi vortek sebanyak 2-3 kali) kemudian dipisahkan menggunakan spin down. Selanjutnya ditambahkan 200  $\mu$ L buffer AL dan divortek selama 15 detik dan diinkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit. Selanjutnya di spin down dan tambahkan 200  $\mu$ L ethanol (96-100%) divortek selama 15 detik dan di spin down, pindahkan suspensi ke spin coloum, sentrifuse kecepatan 6000 g atau 8000 rpm selama 1 menit. Ganti *collection tube* dan tambahkan 500  $\mu$ L buffer AW1 sentrifuse kecepatan 6000 g atau 8000 rpm selama 1 menit dan ganti *collection tube* dan tambahkan 500  $\mu$ L buffer AW2 sentrifuse dengan kecepatan 20.000 g atau 14000 rpm selama 3 menit. Pindahkan spin down kedalam *microcentrifuge tube* dan tambahkan + 200  $\mu$ l buffer AE Inkubasi suhu kamar selama 1 menit sentrifuse kecepatan 6000 g atau 8000 rpm selama 1 menit. Hasil ekstraksi DNA bakteri *E. coli* kemudian disimpan di suhu -20°C.

## 2. Amplifikasi

Amplifikasi gen SHV dilakukan sebanyak 25  $\mu$ l yang terdiri dari master mix 12,5  $\mu$ l, primer reverse 1  $\mu$ l, primer forward 1  $\mu$ l, nuclease free water 8,5  $\mu$ l dan DNA bakteri 2  $\mu$ l yang digunakan sebagai template. Bahan dimasukkan dalam microtube 0,2 mL. Proses amplifikasi gen dilakukan dengan PCR pada primer yang spesifik dari SHV dengan kondisi *thermocycling* seperti Tabel 2 berikut.