

Bab VI Hasil dan Pembahasan

VI.1 Desain Dan Evaluasi Primer

Primer yang digunakan pada penelitian ini yaitu primer *forward* : CGTGTCAAGGTTGCCAAGAA dan primer *reverse* : CCTGACCCAACTGCTCATTG yang menghasilkan panjang produk sebesar 175 bp. Primer tersebut didesain sendiri menggunakan software primer3 melalui laman <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/> dengan cara memasukkan urutan FASTA dari bakteri *Propionibacterium acnes* strain PA62 recombinase A (recA) gene. FASTA diperoleh dari GenBank DNA database NCBI (*National Centre For Biotechnology Information*). Tahap selanjutnya dilakukan evaluasi primer, hal ini untuk melihat kualitas primer dengan pengujian bioinformatika menggunakan software BLAST lewat laman <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. BLAST merupakan salah satu fitur dalam NCBI yang berfungsi untuk menganalisis apakah ada kemiripan primer yang kita gunakan dengan gen *Propionibacterium acnes* pada GenBank DNA database dan mengetahui apakah ada sekuen lain yang mirip dengan sekuen primer yang dimiliki karena primer yang digunakan harus spesifik (Colouris *et al*, 2012).

← → ↺ 🏠 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ572678.1?report=fasta>

FASTA ▾

Propionibacterium acnes strain PA62 recombinase A (recA) gene, complete cds

GenBank: KJ572678.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

>KJ572678.1 Propionibacterium acnes strain PA62 recombinase A (recA) gene, complete cds
 TCGCGGCGGTGCCGCGTCAATGGGGCGGGAGACCGCTTCGAGGAAGGAACGACATGGCAGCGACCGC
 TGACCGCGAAAAGGCCCTTGCCACGGCCTTGACAGAGATCGAGAAGCAGCACGGCAAGGCTCTATCATG
 CGCCTTGCGAGCAGGAGACCGTTAAGATCGCGCTATCCACGGCTCGGTGGCCCTCGACGTCGCGT
 TGGGTGTCGAGGCTCCACAGTGCGAGGATCGTGAGATCTATGGTCCGGAATCCTCTGGCAAGACGAC
 GGTGGCTTTGCGACGAATCGCTAATGCCAGGCTGAAGGCGGCATCTGTGCTTTATTGACGCCGAGCAC
 GCTCTCGACCCGGAATACGACGCAAACTCGGGGTGATACAGATTCCCTGCTGGTGAGCAGCGCTGACA
 ATGGTGAGCAGGCTCTCGAGATTGCTGACACCCCTCGTCGGCTCGGGTGCCTTGGAGCTCGTCGTTGTGA
 CTCGGTGGCCGCTCTGACCCGAAGGCTGAGATCGAGGCGAGATGGGTGATTCCTATGTTGGTTTGAG
 GCCCGCTTATGAGCAGGCCCTGCGCAAGATGACCGTGCGTTAAATGCGGCCGATACCCTGCCATCT
 TCATTAATCAGCTGCGCGAGAAGATCGGTGTCATGTTTGGCTCCCGAGACAACGACAGGTGGTCGCGC
 CCTCAAAGTTACTCGTCCGTCGCGCTCGACGTGCGCGTGTGAAACTCTTAAAGACGGATCAGAGATG
 GTCGTAACCCGACTCGTGTCAAGGTTGCAAGAACAAGGTGCGCCACCTTTTAAAGACGGCAGAGTTTG
 ACATCCTCTACGGACAGGGCATTTCTCGCGAGGGAAGCCTCATCGACATGGCGTAGATTGCGGCATCAT
 CACCAAAATCCGGTTCTGGTTTCAGCTACAACAATGAGCAGTTGGTTCAGGGTAAGGAGAAGCTCCGAAAG
 TTCCTCAAAGTAACCGGATGTTGCCAATGAGATTGAGGACAAGATCCTGACTCACCTCGGCTGCGCG
 AAGCCGAGGTCTCGAGGGTGTGATCCCCGAACCTGGCGAGGTGGAATTCTGAGTGCACGCGCAGAT

Gambar VI.1. FASTA bakteri *Propionibacterium acnes* strain PA62 recombinase A (recA) gene
 Sumber : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ572678.1>
 Diakses pada bulan Maret 2019

← → ↺ 🏠 primer3.ut.ee/cgi-bin/primer3/primer3web_results.cgi

Primer3 Output

PRIMER PICKING RESULTS FOR

Template masking not selected
 No mispriming library specified
 Using 1-based sequence positions

OLIGO	start	len	tm	gc%	any_th	3' th	hairpin seg
LEFT PRIMER	786	20	58.98	50.00	0.00	0.00	0.00 CGTGTCAAGGTGCCAAGAA
RIGHT PRIMER	960	20	58.83	55.00	0.00	0.00	0.00 CCTGACCCAATGCTCATTG

SEQUENCE SIZE: 1119
 INCLUDED REGION SIZE: 1119

PRODUCT SIZE: 175, PAIR ANY_TH COMPL: 0.00, PAIR 3'_TH COMPL: 0.00

Gambar VI.2. hasil dari Primer3
 (sumber : <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)
 Diakses pada bulan Maret 2019

A.

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Cultibacterium acnes strain ATCC 6819 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP023078.1
☐	Cultibacterium acnes strain A1-14 chromosome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP013693.1
☐	Cultibacterium acnes strain RA_15_1_R1 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012355.1
☐	Cultibacterium acnes strain RA_12_1_L1 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012354.1
☐	Cultibacterium acnes strain RA_12_1_R1 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012353.1
☐	Cultibacterium acnes strain RA_15_2_L1 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012352.1
☐	Cultibacterium acnes strain RA_21_1_L1 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012351.1
☐	Cultibacterium acnes strain RA_30_2_L1 chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012350.1
☐	Cultibacterium acnes strain KCOM 1861 (=CMC 6594) chromosome, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP012647.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain P1	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006733.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain N66	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006701.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain S13	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006408.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain S0	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006381.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain S5	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006364.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain S4	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006355.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain S1	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006328.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain C1	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC006319.1
☐	Propionibacterium acnes hdn-1, complete genome	40.1	70.4	100%	0.33	100.00%	CP006032.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA90 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572672.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA9105 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572658.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA57 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572656.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA55 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572647.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA69 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572640.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA108 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572632.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA25 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572623.1
☐	Propionibacterium acnes strain PA11 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572619.1

B.

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected 0

Alignments	Download	GenBank	Graphics	Distance tree of results			
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Cubibacterium acnes strain ATCC 3619 chromosome, complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP023678.1
☐	Cubibacterium acnes strain A1-14 chromosome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP013853.1
☐	Cubibacterium acnes strain RA_15.1_R1 chromosome, complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP012365.1
☐	Cubibacterium acnes strain RA_12.1_L1 chromosome, complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP012354.1
☐	Cubibacterium acnes strain RA_12.1_R1 chromosome, complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP012353.1
☐	Cubibacterium acnes strain RA_15.2_L1 chromosome, complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP012362.1
☐	Cubibacterium acnes strain KCM 1951 (= ChDC 0584) chromosome, complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP012647.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain: NS6	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC009270.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain: S13	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC009436.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain: S5	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC009364.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain: S2	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC009337.1
☐	Propionibacterium acnes recA gene for recombinase A, partial cds, strain: S1	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	LC009338.1
☐	Propionibacterium acnes strain P55A recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572647.1
☐	Propionibacterium acnes strain P235 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572623.1
☐	Propionibacterium acnes strain P614 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572632.1
☐	Propionibacterium acnes strain P462 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572688.1
☐	Propionibacterium acnes strain P447 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572585.1
☐	Propionibacterium acnes strain P446 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572591.1
☐	Propionibacterium acnes strain P436 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	KJ572580.1
☐	Propionibacterium acnes C1 complete genome	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	CP003877.1
☐	Propionibacterium acnes strain ATCC 11828 recombinase A (recA) gene, complete cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	JF446972.1
☐	Propionibacterium acnes strain M_3357_19 RecA (recA) gene, partial cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	JN064934.1
☐	Propionibacterium acnes strain M_1925_09 RecA (recA) gene, partial cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	JN064932.1
☐	Propionibacterium acnes strain M_1430_09 RecA (recA) gene, partial cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	JN064928.1
☐	Propionibacterium acnes strain M_1538_19 RecA (recA) gene, partial cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	JN064935.1
☐	Propionibacterium acnes strain M_3115_19 RecA (recA) gene, partial cds	40.1	40.1	100%	0.33	100.00%	JN064902.1

Gambar VI.3. Hasil BLASTING Primer

(A) Primer forward (B)Primer reverse

(Sumber :<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

Diakses pada bulan Maret 2019

Pengujian primer secara bioinformatika dilakukan sebelum melakukan pemesanan primer. Hal ini untuk mengetahui dan memastikan apakah primer yang akan kita gunakan spesifik pada *Propionibacterium acnes* dan memenuhi syarat primer yang baik atau tidak. Hasil analisis Basic Local Alignment Tool (BLAST) (Gambar VI.3) menunjukkan bahwa urutan primer yang digunakan itu spesifik hanya terdapat pada *Propionibacterium acnes*. Tahap selanjutnya dilakukan uji primer untuk mengetahui panjang nukleotida primer *forward* maupun primer *reverse*, persentase GC, *temperature melting* (Tm) dan panjang produk yang dihasilkan melalui laman <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>.



	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CGTGTCAAGGTTGCCAAGAA	Plus	20	786	805	58.98	50.00	6.00	0.00
Reverse primer	CCTGACCCAACTGCTCATTG	Minus	20	960	941	58.83	55.00	4.00	4.00
Product length	175								

Gambar VI.4 Hasil Primer BLAST

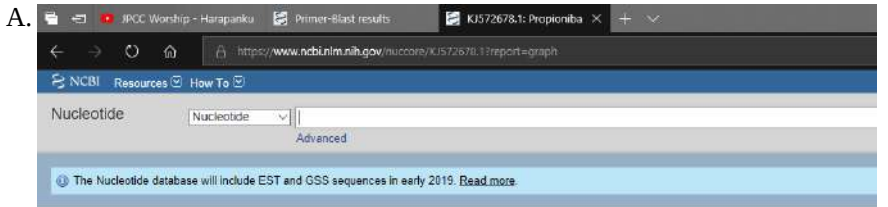
(sumber : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>)

Diakses pada bulan Maret 2019

Tabel VI.1
Hasil evaluasi primer

Evaluasi	Primer	Hasil evaluasi	Persyaratan (Jalali <i>et al</i> , 2017)
Nukleotida	Forward	20	20-23
	Reverse	20	
% GC	Forward	50%	40%-60%
	Reverse	55%	
Temperature melting (Tm)	Forward	58,98°C	42 °C-65 °C
	Reverse	58,83 °C	

Selanjutnya dilakukan uji penempelan primer pada gen target yang akan dideteksi pada penelitian ini yaitu gen *recA* yang terdapat pada *Propionibacterium acnes*. Uji penempelan primer dilakukan dengan 2 software yaitu BLAST pada NCBI dan *snappene*. Berdasarkan hasil pengujian pada NCBI maupun *Snappene* primer, yang telah didesain menggunakan primer3 dapat menempel pada gen *recA*, dimana untuk primer *forward* penempelan dimulai dari urutan nukleotida ke-786 sedangkan primer *reverse* dimulai dari nukleotida ke-960 dengan menghasilkan produk PCR sebesar 175bp (Gambar VI.5). Komposisi nukleotida primer *forward* dan *reverse* terdapat pada gen *recA* sehingga dapat menempel pada gen tersebut.

A. 

NCBI Nucleotide

Advanced

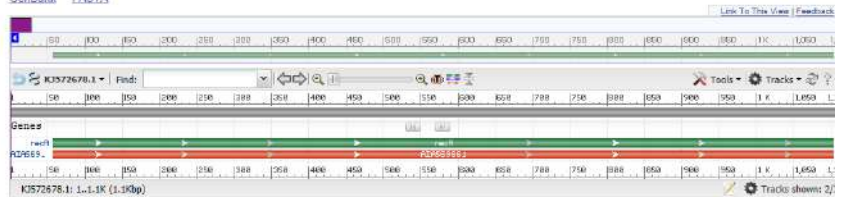
The Nucleotide database will include EST and GSS sequences in early 2019. [Read more](#)

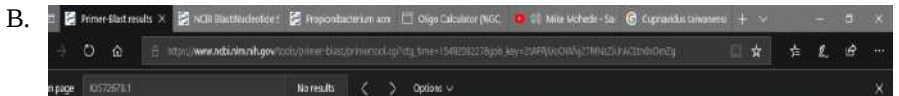
Graphics

Send to

Propionibacterium acnes strain PA62 recombinaase A (recA) gene, complete cds

GenBank: KJ572678.1

[GenBank](#) [FASTA](#)

B. 

NCBI Primer-Blast results

Propionibacterium acnes

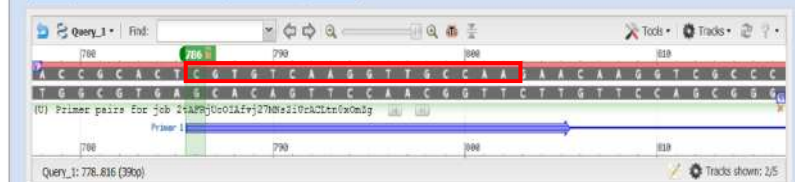
Oligo Calculator (NGC)

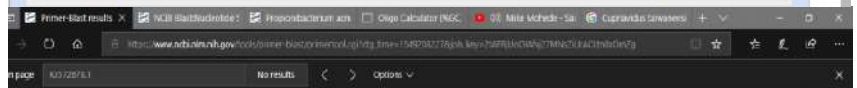
Query: KJ572678.1

No results

Options

Graphical view of primer pairs





NCBI Primer-Blast results

Propionibacterium acnes

Oligo Calculator (NGC)

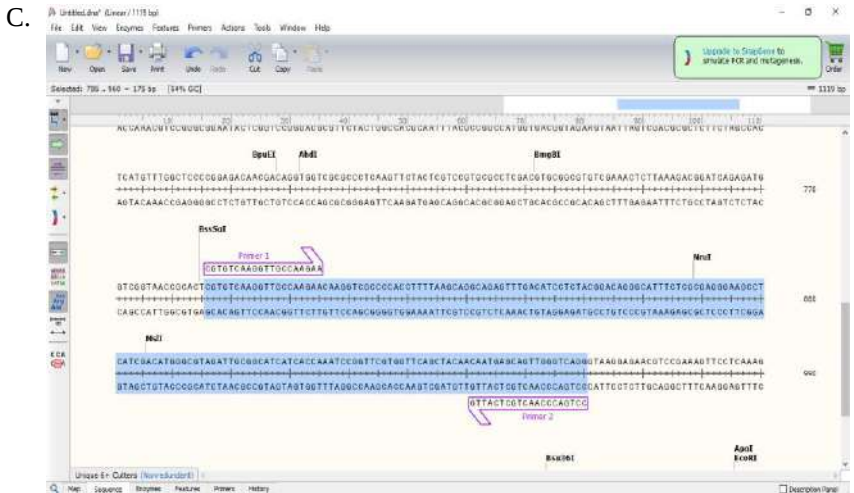
Query: KJ572678.1

No results

Options

Graphical view of primer pairs





Gambar VI.5 Hasil uji penempelan primer pada *Propionibacterium acnes* *recA* gene. (A) urutan gen *recA* (B) uji penempelan primer pada NCBI (C) uji penempelan primer pada *snappgene*

VI.2 Kultur bakteri *P.acnes* sebagai kontrol positif

Bakteri yang digunakan sebagai kontrol positif adalah kultur murni *Propionibacterium acnes* yang diperoleh dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung (ITB). Kultur murni tersebut diremajakan terlebih dahulu ke media selektif yaitu *Manitol Salt Agar* (MSA) selama 24 jam. Subkultur dilakukan pada media selektif untuk meminimalisir kontaminasi dari bakteri jenis lainnya. Subkultur dilakukan maksimal 2 minggu sekali. Media ini merupakan media selektif untuk golongan bakteri *P.acne* (Fitri, 2017). Pada media mannitol salt agar (MSA) menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan dikelilingi zona

kuning karena kemampuan memfermentasi mannitol. Zona berwarna merah menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *P.acnes*. Zona kuning menunjukkan adanya fermentasi mannitol, yaitu asam yang dihasilkan, menyebabkan perubahan phenol red pada agar yang berubah dari merah menjadi berwarna kuning (Austin, 2006).



Gambar VI.6 Hasil subkultur *P.acne* pada media MSA

Untuk isolasi DNA, bakteri *P.acne* di kultur terlebih dahulu pada media cair yaitu Manitol Salt Broth (MSB) selama 24 jam pada suhu 37° C.



Gambar VI.7 Hasil subkultur *P.acne* murni pada media MSB

VI.3 Isolasi DNA *P.acne* dari kontrol positif dan sampel

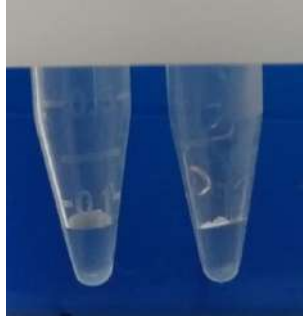
Isolasi DNA dilakukan sesuai protokol *Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega* (Corporation, 2009). Tahapan isolasi ini dilakukan untuk mendapatkan DNA murni dari bakteri baik itu dari kontrol positif maupun sampel kosmetik. Tahapan utama isolasi DNA terdiri dari (1) Isolasi sel (2) Pemecahan (lisis) dinding sel dan membran sel (3) Purifikasi, dan (4) Pengendapan protein. *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif maka dari itu isolasi menggunakan protocol khusus untuk bakteri gram positif.

Langkah awal yang dilakukan yaitu sentrifugasi 1 ml kultur bakteri dengan kecepatan 14500 rpm selama 2 menit untuk mendapatkan pellet sel. Sentrifugasi bertujuan untuk mengendapkan sel dari komponen lainnya berdasarkan berat jenis molekul. Tahap selanjutnya dilakukan tahap pemecahan sel yang bertujuan untuk mengeluarkan isi dari sel dengan penambahan *Nuclei Lysis Solution* (Hoarau et al., 2007). Namun sebelum ditambahkan *Nuclei Lysis Solution*, untuk bakteri gram positif harus ditambahkan enzim pelisis terlebih dahulu karena bakteri gram positif memiliki dinding sel dan peptidoglikan yang lebih tebal daripada bakteri gram negatif sehingga dibutuhkan suatu enzim untuk merusak dinding sel bakteri. Enzim yang digunakan yaitu lisozyme. Lisozyme adalah enzim yang memutuskan ikatan β -1,4-glikosida antara asam-N-asetil glukosamin dengan asam-N-asetil muramat pada peptidoglikan sehingga dapat merusak dinding sel bakteri. Ketika dinding sel rusak atau melemah maka akan lebih memungkinkan terjadi lisis secara

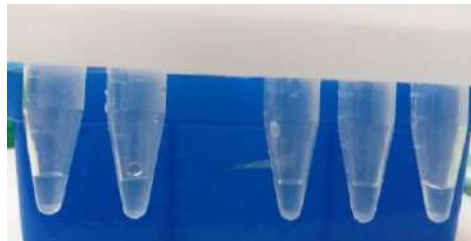
sempurna. Selanjutnya yaitu penambahan *RNAse Solution* untuk menghilangkan RNA pada larutan DNA. RNAse merupakan enzim pendegradasi RNA. setelah ditambahkan RNAse diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit untuk mengoptimalkan kerja enzyme RNAse.

Hasil dari inkubasi ditambahkan *Protein Precipitation Solution* dibantu dengan vortex kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14500 rpm selama 3 menit yang bertujuan untuk mengendapkan protein (Sambrook *et al.*, 2001). Endapan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi dibuang dan diambil supernatannya lalu ditambahkan dengan isopropanol sebagai agen presipitasi lanjutan. Setelah didapat pellet DNA dicuci dengan etanol 70% untuk menghilangkan pengotor (Hoarau *et al.*, 2007). Etanol diuapkan dan pellet DNA dikeringkan, setelah kering ditambahkan *Rehydration Solution* sebagai pelarut dan mencegah degradasi DNA. DNA disimpan pada suhu 2-8 °C yang selanjutnya akan dilakukan analisis kualitatif (Corporation, 2009).

Pada saat pemipetan semua reagen disimpan diatas es agar berada dalam keadaan dingin, lalu enzyme harus disimpan pada suhu -20°C dan hanya dikeluarkan dari freezer sesaat sebelum digunakan, kemudian ketika menambahkan reagen harus selalu dilakukan resuspensi.



Gambar VI.8 Hasil isolasi DNA Kontrol Positif *P.acne*



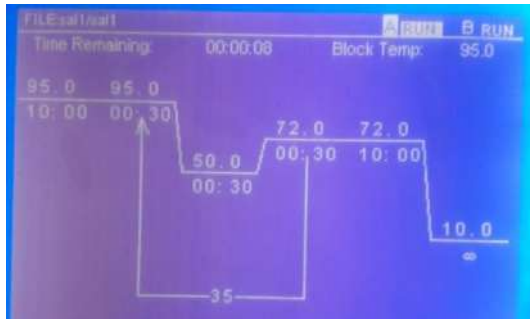
Gambar VI.9 Hasil Isolasi DNA Sampel *Foundation*

VI.4 Hasil PCR dan Visualisasi Elektroforesis

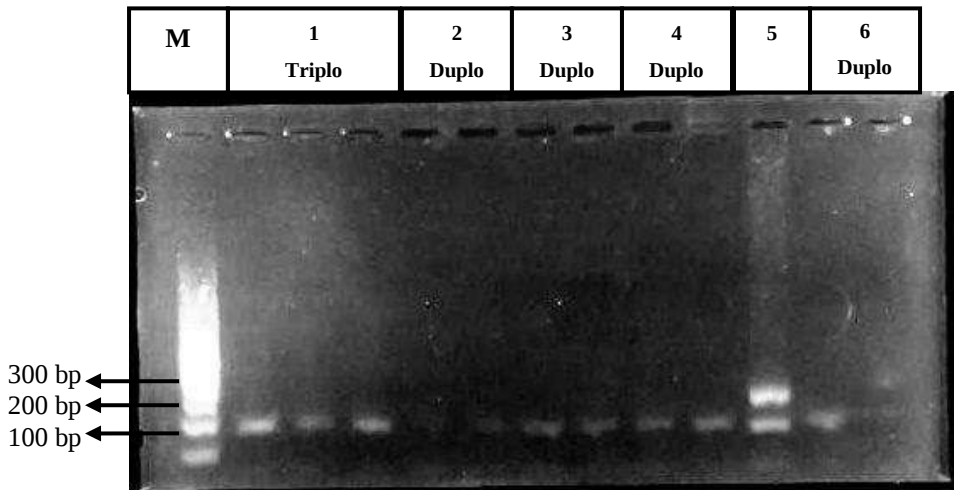
Pada metode PCR, amplifikasi DNA dilakukan melalui 3 tahap utama antara lain denaturasi, annealing, dan extension. Denaturasi adalah proses terputusnya ikatan hydrogen antar basa yang terdapat dalam pasangan untai *DNA template*. Untai ganda DNA *templated* dengan denaturasi termal (95°C) yang menyebabkan terjadinya pemisahan untai ganda menjadi untai DNA tunggal dan proses berlanjut pada tahapan berikutnya yaitu penempelan primer (*annealing*). *Annealing* merupakan proses menempelnya primer pada template DNA sampel untuk memulai proses amplifikasi

DNA. Agar suatu primer dapat menempel dengan tepat pada target, diperlukan suhu yang rendah sekitar 55° C selama 30-60 detik. Setiap pasangan primer tersebut telah dipilih sedemikian rupa agar satu primer bersifat komplementer terhadap salah satu ujung gen yang diinginkan pada salah satu rantai. Masing- masing primer akan menempati ujung yang berbeda pada untai DNA. Pasangan primer ini akan membentuk ikatan hydrogen dengan sekuen komplementernya, dengan demikian maka akan terbentuk molekul untai ganda yang stabil. Proses extension menunjukkan proses pemanjangan yang dilakukan enzim DNA Polymerase. Setelah primer menempel pada untai DNA target, enzim DNA polymerase akan memanjangkan sekaligus membentuk DNA yang baru dari gabungan antara primer, DNA *template* dan nukleotida.

Ketika tiga tahap tersebut dilakukan pengulangan, maka untai DNA yang baru dibentuk akan kembali mengalami proses denaturasi, penempelan dan pemanjangan untai DNA menjadi untai DNA yang baru. Pengulangan proses PCR akan menghasilkan amplifikasi DNA cetakan baru yang eksponensial (Jalaliet *al.*, 2017). Pada penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 35 siklus yang dapat dilihat pada gambar VI.10.



Gambar VI.10 Proses amplifikasi PCR



Gambar VI.11 Hasil PCR Kontrol Positif dan Sampel Foundation.

(M) Marker/penanda (1) Pita hasil *elektroferogram* pada kontrol positif *P.acnes* (2) Pita hasil *elektroferogram* pada Sampel 1 (3) Pita hasil *elektroferogram* pada sampel 2 (4) Pita hasil *elektroferogram* pada sampel 3 (5) Pita hasil *elektroferogram* pada sampel 4 (6) Pita hasil *elektroferogram* pada sampel 5

Berdasarkan hasil amplifikasi PCR yang dikarakterisasi dengan elektroforesis (Gambar VI.11) dapat dilihat terdapat beberapa sampel yang positif bakteri *Propionibacterium acnes* yang ditandai dengan munculnya pita dengan ketebalan yang bervariasi. Pembanding yang digunakan yaitu kontrol positif yang merupakan kultur murni *Propionibacterium acnes*. Hasil *elektroferogram* pada kontrol positif menunjukkan pita yang berada di atas marker 100 bp dan mendekati 200 bp dimana pita tersebut sesuai dengan hasil produk PCR dari primer yang telah didesain dan dievaluasi menggunakan BLAST yaitu 175 bp. Pada sampel 1 mengalami amplifikasi negatif karena primer tidak menempel pada gen target *P.acnes* yang ditandai dengan tidak ada pita yang muncul sehingga dapat dikatakan bahwa pada sampel 1 tidak terdapat cemaran bakteri *Propionibacterium acnes*. Pita elektroforesis yang dihasilkan pada sampel 2,3, dan 5 merupakan pita tunggal yang menunjukkan produk yang dihasilkan spesifik karena menggunakan primer spesifik untuk gen target *P.acnes* dan menempel pada posisi yang ditargetkan. Pita yang dihasilkan pada sampel 2,3, dan 5 sesuai dengan pembanding yaitu kontrol positif sehingga dapat dikatakan bahwa pada ketiga sampel tersebut terdapat cemaran bakteri *Propionibacterium acnes*. Namun pada sampel 4 terdapat 2 pita yang muncul yaitu 175 bp dan 300 bp. Hal ini dapat disebabkan mungkin dikarenakan pada saat amplifikasi menggunakan PCR primer menempel di dua tempat pada DNA target/template.

Elektroforesis dapat digunakan untuk memanfaatkan muatan listrik yang ada pada molekul misalnya DNA yang bersifat negatif. Molekul yang dapat dipisahkan antara lain DNA, RNA, atau protein. Jika suatu molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium, misalnya gel agarosa, kemudian dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya, maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif (Yuwono, 2006). Elektroforesis gel agarose 2% yang berperan untuk memisahkan DNA berdasarkan besarnya pasangan nukleotida penyusun DNA tersebut. Pasangan basa nukleotida dengan ukuran kecil lebih mudah bermigrasi ke kutub positif, sedangkan pasangan nukleotida dengan ukuran besar lebih sulit bermigrasi, karena terhalang oleh serat-serat yang ada pada agarose.