

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Sampel Lawar Plek

Sampel lawar plek yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dengan cara membeli dari pedagang lawar plek yang berada di kawasan Desa Ketewel, Kabupaten Gianyar.



Gambar 2. Sampel lawar plek yang Berhasil Diperoleh Oleh Penulis

Karakteristik dari lawar plek yang digunakan sebagai sampel penelitian oleh penulis yakni terbuat dari daging mentah serta dicampur menggunakan bahan lain seperti sayur dan bumbu rempah yang tidak melalui proses pemasakan. Karakteristik ini sesuai dengan karakteristik lawar plek menurut Purwanatha, Damiati, dan Ekayani (2023). Jumlah sampel lawar plek yang berhasil diperoleh oleh penulis sesuai dengan karakteristik inklusi yakni sebanyak 12 sampel lawar plek dari 12 pedagang yang berbeda. Hasil observasi sampel disajikan dalam tabel 5.

Tabel 5
Hasil Observasi Sampel lawar plek

No	Kode Sampel	Jenis Daging	Penggunaan Bumbu Rempah-Rempah	Proses Pemasakan	Keterangan
1	LP 1 A	Daging kambing	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
2	LP 2 A	Daging ikan	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
3	LP 3 A	Daging ayam	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
4	LP 4 A	Daging ayam	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
5	LP 5 A	Daging ayam	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
6	LP 6 A	Daging ayam	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
7	LP 7 A	Daging babi	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
8	LP 8 A	Daging babi	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
9	LP 9 A	Daging babi	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
10	LP 10 A	Daging babi	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
11	LP 11 A	Daging babi	Pakai	Tidak dimasak	Mentah
12	LP 12 A	Daging babi	Pakai	Tidak dimasak	Mentah

Berdasarkan tabel 5 diperoleh hasil yakni seluruh sampel lawar plek menggunakan daging mentah dan dicampur bumbu rempah-rempah dan tidak melalui proses pemasakan. Jenis daging yang digunakan yakni daging kambing, daging ikan, daging ayam, dan daging babi.

2. Identifikasi Bakteri Enterotoxigenic *Escherichia coli*



Gambar 3. Proses Pengamatan Koloni Pada Media EMBA

Dalam penelitian yang telah dilakukan ini, identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada 12 sampel lawar plek diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan dalam tabel 6.

Tabel 6
Hasil Inokulasi Pada EMBA

Hasil Inokulasi	Jumlah	Persentase (%)
Terdapat Pertumbuhan Koloni	12	100
Tidak Terdapat Pertumbuhan Koloni	0	0
Total	12	100

Berdasarkan tabel 6 diperoleh hasil yakni seluruh sampel lawar plek (100%) yang diinokulasikan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* atau EMBA menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri.



Gambar 4. Koloni Terduga Bakteri *Escherichia coli* Ditandai Dengan Warna Hijau Metalik

Seluruh media EMBA yang ditumbuhi koloni bakteri dilakukan identifikasi koloni berdasarkan ciri-ciri yang ditunjukkan. Masing-masing koloni bakteri menunjukkan ciri-ciri yang beragam sehingga diperlukan identifikasi untuk mengetahui jenis koloni yang tumbuh pada media EMBA berdasarkan ciri-ciri yang ditunjukkan dari setiap koloni yang tumbuh. Hasil identifikasi koloni yang tumbuh pada media EMBA disajikan pada tabel 7.

Tabel 7
Hasil Identifikasi Koloni Bakteri Pada EMBA

No	Kode Sampel	Ciri-Ciri Koloni	Keterangan
1	LP 1 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
2	LP 2 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
3	LP 3 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
4	LP 4 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau metalik dengan inti gelap kehitaman	Terduga koloni bakteri <i>Escherichia coli</i>
5	LP 5 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau metalik dengan inti gelap kehitaman	Terduga koloni bakteri <i>Escherichia coli</i>
6	LP 6 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
7	LP 7 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau metalik dengan inti gelap kehitaman	Terduga koloni bakteri <i>Escherichia coli</i>
8	LP 8 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
9	LP 9 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
10	LP 10 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
11	LP 11 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna	Negatif <i>Escherichia coli</i>
12	LP 12 A	Koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau metalik dengan inti gelap kehitaman	Terduga koloni bakteri <i>Escherichia coli</i>

Berdasarkan tabel 7, diperoleh hasil yakni sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli* menunjukkan ciri-ciri koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau metalik dengan inti gelap kehitaman. Sedangkan, sampel negatif menunjukkan ciri-ciri koloni berbentuk bulat dan berwarna merah muda hingga tidak berwarna.

Tabel 8
Hasil Persentase Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada EMBA

Hasil Identifikasi Koloni	Jumlah	Persentase (%)
Terduga Koloni Bakteri <i>Escherichia coli</i>	4	33,33
Negatif Koloni Bakteri <i>Escherichia coli</i>	8	66,66
Total	12	100

Berdasarkan tabel 8, sebanyak 4 sampel (33,33 %) terduga koloni bakteri *Escherichia coli*. 8 sampel (66,66%) negatif koloni bakteri *Escherichia coli*. Pada 4 sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli*, pemeriksaan dilanjutkan ke tahap ekstraksi.



Gambar 5. Proses Ekstraksi Koloni Terduga Bakteri *Escherichia coli*

Pada sampel yang terduga koloni bakteri *Escherichia coli*, pemeriksaan dilanjutkan ke tahap ekstraksi untuk memperoleh DNA yang terkandung pada koloni tersebut. Untuk menilai kualitas hasil proses ekstraksi, dilakukan pemeriksaan secara elektroforesis.



Gambar 6. Hasil Elektroforesis Ekstraksi DNA

Penilaian hasil ekstraksi secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan alat nanodrop.



Gambar 7. Hasil Nanodrop Ekstraksi DNA

Setelah dilakukan pemeriksaan hasil ekstraksi, dilakukan penilaian pada setiap pemeriksaan ekstraksi seperti yang disajikan pada tabel 9.

Tabel 9
Hasil Ekstraksi Koloni Terduga Bakteri *Escherichia coli*

No	Kode Sampel	Elektroforesis	Konsentrasi (ng/μl)	Nanodrop	
				Kemurnian	
				A260/280	A260/230
1	LP 4 A	Terdapat pita / band	107,9	1,87	2,14
2	LP 5 A	Terdapat pita / band	110,4	1,93	2,11
3	LP 7 A	Terdapat pita / band	113,3	1,81	2,17
4	LP 12 A	Terdapat pita / band	112,4	1,90	2,10

Berdasarkan tabel 9, diperoleh hasil bahwa seluruh sampel menunjukkan terdapat DNA total secara kualitatif dan secara kuantitatif konsentrasi hasil ekstraksi dapat diukur dan diperoleh nilai kemurnian yang baik.



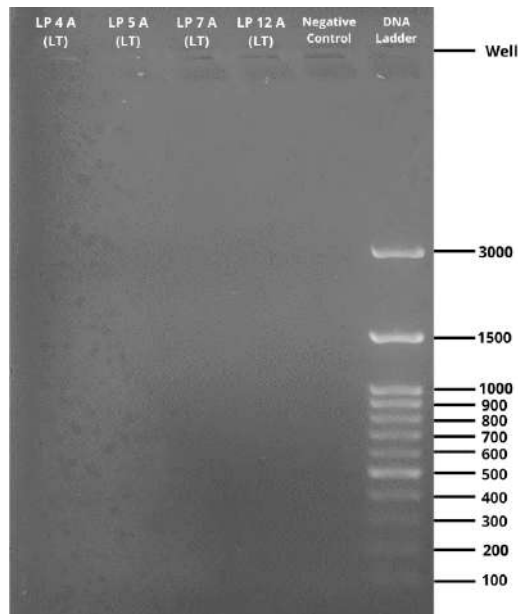
Gambar 8. Proses Persiapan PCR

Hasil ekstraksi tersebut kemudian dilanjutkan untuk proses pemeriksaan selanjutnya yakni identifikasi dengan metode PCR.



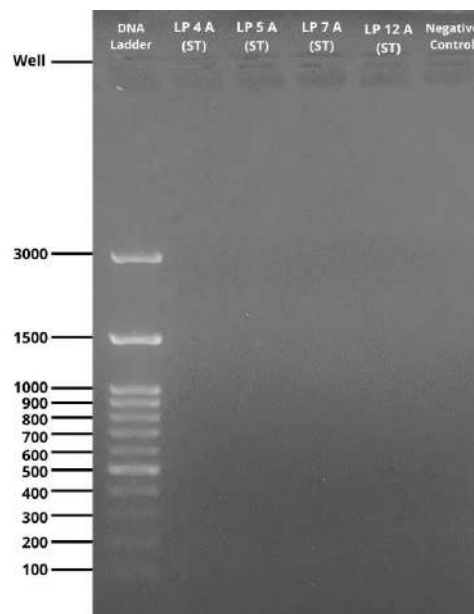
Gambar 9. Proses Persiapan Elektroforesis Hasil PCR

Hasil PCR kemudian dilanjutkan ke tahap elektroforesis untuk mengetahui keberadaan dari gen target.



Gambar 10. Hasil Visualisasi *Ultraviolet* Dari Hasil Elektroforesis Gen LT

Visualisasi hasil elektroforesis dilakukan untuk membaca hasil elektroforesis dan menganalisis keberadaan gen target LT.



Gambar 11. Hasil Visualisasi *Ultraviolet* Dari Hasil Elektroforesis Gen ST

Visualisasi hasil elektroforesis dilakukan untuk membaca hasil elektroforesis dan menganalisis keberadaan gen target ST.

Tabel 10
Hasil Identifikasi Analisis PCR Gen LT dan ST Bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli*

No	Kode Sampel	Hasil Elektroforesis	Keterangan
1	LP 4 A	Tidak muncul pita / band	Negatif <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i> (—)
2	LP 5 A	Tidak muncul pita / band	Negatif <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i> (—)
3	LP 7 A	Tidak muncul pita / band	Negatif <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i> (—)
4	LP 12 A	Tidak muncul pita / band	Negatif <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i> (—)

Berdasarkan tabel 10, diperoleh hasil yakni tidak ditemukan pita / band pada hasil elektroforesis sampel yang menandakan sampel negatif gen virulensi ETEC.

Tabel 11
Hasil Persentase Identifikasi Analisis PCR Gen LT dan ST Bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli*

Hasil Elektroforesis	Jumlah	Persentase (%)
Positif Gen Virulensi LT Bakteri <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>	0	0
Positif Gen Virulensi ST Bakteri <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>	0	0
Positif Gen Virulensi LT dan ST Bakteri <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>	0	0
Negatif Gen Virulensi Bakteri <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>	8	100
Total	8	100

Berdasarkan tabel 11, diperoleh hasil yakni seluruh sampel uji PCR (100%) menunjukkan hasil negatif gen virulensi bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli*.

B. Pembahasan

1. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada EMBA

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh sampel lawar plek sebanyak 12 sampel. Seluruh sampel dibuat dengan menggunakan daging mentah dengan jenis daging yang beragam seperti daging kambing, daging ikan, daging ayam, dan daging babi. Selain itu, seluruh sampel juga dibuat dengan dicampur dengan bumbu rempah-rempah dan tidak melalui proses pemasakan sehingga makanan tersebut dalam keadaan mentah seperti yang disajikan pada tabel 5.

Meskipun terbuat dari daging mentah, lawar plek tetap memiliki nilai minat jual-beli yang tinggi sebab konsumen tertarik membeli sebab lawar plek unik dan memiliki cita rasa yang khas (Purwanatha, Damiati, and Ekayani, 2023).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dengan inokulasi pada EMBA seperti yang disajikan pada tabel 6, dari 12 sampel diperoleh hasil inokulasi berupa terdapatnya pertumbuhan koloni pada seluruh sampel (100%). Seluruh koloni yang tumbuh pada EMBA memiliki ciri beragam. Dari seluruh koloni yang tumbuh dilanjutkan dengan proses identifikasi ciri-ciri koloni. Seperti yang disajikan pada tabel 7, ditemukan sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli* sebanyak 4 sampel (33,33%) dan 8 sampel (66,66%) *negative Escherichia coli*. Sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli* ditandai dengan koloni bulat berwarna hijau metalik dengan bagian inti gelap kehitaman. Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Purnama, Purnama, dan Subrata (2017) mengenai Kualitas Mikrobiologis dan Higiene Pedagang Lawar di Kawasan Pariwisata Kabupaten Gianyar, Bali. Sampel dengan jumlah total 44 sampel, 32 diantaranya

menunjukkan hasil positif bakteri *Escherichia coli* pada pemeriksaan mikrobiologis dengan EMBA.

Ditemukan sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli* sebanyak 4 sampel dan 8 sampel *negative Escherichia coli*. Meskipun begitu seluruh media ditumbuhi oleh koloni bakteri. Hal ini disebabkan oleh penggunaan bahan baku mentah dan makanan tidak melalui proses pemasakan. Makanan dengan daging mentah dan tidak dimasak dengan baik berpotensi mengandung bakteri *pathogen* seperti *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella enteritidis* (Ballout, R *et al*, 2023). Meskipun demikian 8 sampel tidak menunjukkan ciri-ciri koloni bakteri *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan oleh penggunaan bahan rempah-rempah yang sering disebut dengan *base genep* yang berisikan lengkuas, jahe, kencur, kunyit, bawang, cabai, terasi, daun salam, dan daun serai. Bahan tersebut diduga memiliki sifat antibakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogenik. Kandungan fitokimia dari bahan tersebut dapat merusak dinding sel bakteri dan bahkan mengurangi racun atau toksinitas yang dihasilkan oleh bakteri. Tidak dilakukan penelitian secara mandiri pada sifat antibakteri dari bahan tersebut dalam penelitian ini. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Suastina, G. A. P. D., *et al* (2023) menunjukkan bahwa lawar plek yang ditambahkan bumbu *base genep* atau menggunakan rempah-rempah memengaruhi nilai pemeriksaan *total plate count* dan *most probable number* dari bakteri *Escherichia coli* dimana adanya tren penurunan nilai yang signifikan pada pemeriksaan *total plate count* dan *most probable number*.

Media EMB merupakan media selektif diferensial dengan kandungan *eosin* dan *methylene blue*. Kandungan ini dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri

gram positif sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri gram negatif. Bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada EMBA akan menghasilkan warna hijau metalik dan disertai dengan inti berwarna gelap kehitaman sebagai akibat dari fermentasi laktosa yang terdapat dalam EMBA. Bakteri *Escherichia coli* yang memfermentasi laktosa mengakibatkan kadar asam meningkat dalam media sehingga kandungan *methylene blue* dalam media akan mengendap (Jamilatun and Aminah, 2016). Dalam penelitian ini diperoleh hasil negatif sebanyak 8 sampel (66,66%) yang ditandai dengan pertumbuhan koloni berwarna merah muda hingga tidak berwarna. Koloni dengan warna merah muda hingga tidak berwarna yang tumbuh pada media EMB diduga bakteri anggota spesies *Enterobacter aerogenes* dan *Klebsiella* (Khakim and Rini, 2018; Trisno, Tono, and Suarjana, 2019). Dengan demikian, identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada EMBA dengan persentase yang disajikan pada tabel 8 mendapatkan hasil 4 sampel (33,33%) terduga koloni bakteri *Escherichia coli* dan 8 sampel (66,66%) *negative* koloni *Escherichia coli*.

2. Identifikasi Bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* dengan *Polymerase Chain Reaction*

Berdasarkan hasil penelitian ini, pada tabel 8 diperoleh 4 sampel (33,33%) terduga koloni bakteri *Escherichia coli* pada uji identifikasi dengan EMBA. Setelah ditemukan sampel terduga koloni bakteri *Escherichia coli*, koloni tersebut diekstraksi untuk mendapatkan DNA-nya dengan metode *Phenol-Chloroform-Isoamyl Alcohol* (PCIA). Hasil ekstraksi kemudian dianalisis secara elektroforesis dan spektrofotometri. Kemudian dilanjutkan dengan pelaksanaan proses PCR.

Komposisi komponen PCR yang digunakan disajikan pada tabel 2, *primer* dan ukuran produk PCR disajikan pada tabel 3, dan program PCR disajikan pada tabel 4. Setelah dilakukan PCR, dilanjutkan dengan proses elektroforesis produk PCR. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa seluruh sampel negatif gen virulensi ETEC seperti yang disajikan pada tabel 10. Seluruh sampel tidak memiliki gen LT, ST, maupun kedua gen tersebut sekaligus seperti yang disajikan pada tabel 11.

Sampel yang menunjukkan hasil terduga koloni bakteri *Escherichia coli* pada identifikasi dengan EMBA dilanjutkan dengan identifikasi bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli*. Diawali dengan proses ekstraksi pada koloni terduga bakteri *Escherichia coli*. Ekstraksi DNA merupakan suatu proses untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen lain yang tidak diinginkan dalam proses identifikasi seperti komponen lemak, komponen karbohidrat, dan komponen protein (Hutami, R. *et al.* 2018). Dalam penelitian ini digunakan ekstraksi dengan metode PCIA sebab metode tersebut memiliki keuntungan yakni mampu memberikan hasil konsentrasi DNA yang baik. Namun, penggunaan metode ini memiliki kelemahan yakni menggunakan bahan kimia berbahaya dan waktu pengerjaan yang lama (Javadi, A., *et al.* 2014).

Dalam penelitian ini hasil ekstraksi diidentifikasi secara elektroforesis dan spektrofotometri dengan menggunakan nanodrop. Hasil elektroforesis menunjukkan pita atau *band* yang menunjukkan terdapat kandungan DNA total dalam hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi disajikan pada tabel 9 dan menunjukkan konsentrasi DNA yang tinggi yakni berada dikisaran 100 ng/μl dengan tingkat kemurnian diantara 1,8-2,0 untuk rasio panjang gelombang A260/A280 dan tingkat kemurnian 2,0-2,2 untuk rasio panjang gelombang A260/A230. Nilai

tersebut berada dalam rentang yang baik yakni antara 1,8 – 2,0 untuk rasio 260/280 dan 2,0-2,2 untuk rasio 260/230. Rasio 260/230 digunakan untuk mengukur kontaminasi dari suatu komponen yang tidak diinginkan seperti *trizol*, *fenol*, *guanidine HCl*, dan *guanidine tiosianat*. Rasio 260/280 digunakan untuk mengukur kontaminasi dari protein dan fenol (Qamariya, K., Sulihingtyas, W. D., and Wirajana, I. N. 2016; Sophian, A., and Yustina. 2022). Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Hutami, R. *et al.* (2018) tentang Ekstraksi DNA Dari Daging Segar Untuk Analisis Dengan Metode *Loop-Mediated Isothermal Amplification* dimana sampel daging babi yang diekstraksi dengan PCIA memiliki kemurnian 2,0 untuk rasio 260/280 yang termasuk dalam rentang baik. Selain itu, hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Sophian dan Yustina (2022) tentang Analisis Nilai Kemurnian DNA Menggunakan Nano Fotometer Pada Rasio 260/230 Yang Diisolasi Dari Produk *Nugget* dimana nilai kemurnian berkisar diantara 2,0 – 2,2 untuk rasio 260/230.

Setelah mendapatkan hasil dari ekstraksi DNA, dilakukan proses PCR untuk memperbanyak gen DNA target. Tahapan utama dalam PCR mencakup *denaturation*, *annealing*, dan *extension*. Pada tahap *denaturation*, *double-helical DNA strands* diubah menjadi 2 *single-strands DNA strand*. Pada tahap *annealing*, terjadi proses penempelan primer dengan *single-strands DNA strand* target yang terbentuk pada tahap sebelumnya. Dilanjutkan dengan tahapan terakhir yakni *extension* atau pemanjangan basa nitrogen. Reaksi ini terjadi dengan menggunakan alat *thermal cycler* dan komposisi komponen PCR. Sekuens molekuler yang terbentuk dari DNA target dan *primer* merupakan produk dari PCR (Putra, L. A. G. *et al.* 2020).

Dilanjutkan dengan melakukan elektroforesis pada hasil PCR. Elektroforesis adalah teknik untuk memisahkan molekul seluler berdasarkan ukurannya dengan bantuan aliran listrik yang mengalir pada suatu medium. Partikel dengan muatan negatif akan bergerak dari kutub negatif menuju kutub positif, sedangkan partikel dengan muatan positif akan bergerak dari kutub positif menuju kutub negatif. DNA memiliki muatan negatif sehingga jika dialirkan listrik dari kutub satu ke kutub lainnya pada suatu medium seperti *agarose*, maka DNA akan bergerak menuju kutub yang berlawanan. Konsentrasi *agarose* yang umum digunakan akan memengaruhi gesekan molekul ketika bergerak, konsentrasi yang umum yakni mulai dari 0,2% - 3%. Untuk produk PCR yang berukuran kecil digunakan konsentrasi yang tinggi (Nugraha, F. *et al.* 2014; Nurhayati and Darmawati, 2017). Dalam penelitian ini digunakan *gel agarose* sebagai medium dengan persentase 1,5% dan tegangan listrik 77 volt selama 77 menit. Produk PCR yang diletakkan pada well *agarose* yakni 8 µl dan 2 µl *loading dye* dan pada well terpisah digunakan 6 µl DNA *ladder*.

Loading dye berfungsi sebagai pemberi warna pada DNA dan menambah densitas sehingga DNA berada dibagian dasar well *agarose*. DNA *ladder* berfungsi sebagai penanda untuk mengetahui berat molekul berdasarkan perbandingannya dengan laju migrasi dari fragmen-fragmen DNA yang terbentuk dari DNA *ladder* yang telah diketahui ukurannya (Novitasari, D. A., Elvyra, R., and Roslim, D. I., 2014; Tilawah, S., Sari, R., and Apridamayanti, P., 2019). Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan *nuclease free water*. Dalam penelitian ini, seperti yang disajikan pada tabel 10, hasil elektroforesis menunjukkan hasil negatif gen virulensi ETEC pada seluruh sampel. Hal ini

ditandai dengan membandingkan *well* sampel dengan DNA *ladder*. *Well* sampel pemeriksaan gen LT (*well* urutan 1-4) ketika dibandingkan dengan DNA *ladder* dengan *base pairs* 273, tidak ditemukan pita / *band*. Hasil ini juga dijumpai pada *well* sampel pemeriksaan gen ST (*well* urutan 7-10) ketika dibandingkan dengan DNA *ladder* dengan *base pairs* 120 dimana tidak muncul pita / *band*. Hanya muncul *band* pada DNA *ladder* pada *well agarose* urutan ke 6. Sedangkan pada *well agarose* urutan 5 dan 11 sebagai kontrol *negative*. Hasil *negative* pada pemeriksaan PCR disebabkan karena pada koloni terduga bakteri *Escherichia coli* tidak mengandung gen ETEC. Hasil dalam penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian oleh Ekawati, Husnul, dan Hamidi (2017), tentang Deteksi *Escherichia coli* Patogen Pada Pangan Menggunakan Metode Konvensional Dan Metode *Multiplex* PCR dimana dari hasil penelitian tersebut berhasil mendeteksi keberadaan bakteri *Escherichia coli* dengan metode EMBA dan seluruh sampel positif dilanjutkan dengan uji PCR gen ETEC, EPEC, dan EHEC. Namun seluruh sampel menunjukkan hasil negatif pada uji PCR tersebut.

Bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* atau ETEC merupakan bakteri *Escherichia coli* yang patogenik. Untuk mendeteksi keberadaan bakteri tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan metode PCR. Metode ini digunakan untuk mendeteksi enterotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli*. Pada bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* enterotoksin LT dan ST digunakan untuk mendeteksi keberadaannya, sebab bakteri ETEC dapat memiliki salah satu gen enterotoksin tersebut atau bahkan keduanya (Gomes *et al*, 2016).

Keterbatasan dalam penelitian penulis yakni tidak digunakan kontrol positif pada identifikasi dengan media EMBA dan identifikasi dengan metode PCR

sehingga tidak ada pembandingan hasil positif. Tidak dilakukan optimasi pada program PCR sehingga program reaksi PCR pada alat *thermal cycler* yang dijalankan tidak beragam. Selain itu, penelitian ini hanya mendeteksi gen bakteri *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) sehingga tidak dapat mendeteksi keberadaan gen lain seperti EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*), EAEC (*Enteragggregative Escherichia coli*), EIEC (*Enteroinvasive Escherichia coli*), maupun DAEC (*Diffusely-adherent Escherichia coli*).