LAPORAN
PENELITIAN LANJUT

Studi Perancangan Biosensor Berbasis UV-Vis Spektrofotometri untuk Deteksi Bakteri Patogen secara Simultan Berdasarkan Proses DNA *Recognition*

Oleh:

Dr.rer.nat Maria Goretti M. Purwanto
Ruth Chrisnasari STP., MP

Fakultas Teknobiologi
Universitas Surabaya

Januari 2013

LAPORAN
PENELITIAN LANJUT

Studi Perancangan Biosensor Berbasis UV-Vis Spektrofotometri untuk Deteksi Bakteri Patogen secara Simultan Berdasarkan Proses DNA *Recognition*

Oleh:

Dr.rer.nat Maria Goretti M. Purwanto
Ruth Chrisnasari STP., MP

Fakultas Teknobiologi
Universitas Surabaya
Januari 2013

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN 1

DAFTAR ISI 2

DAFTAR TABEL 4

DAFTAR GAMBAR 5

DAFTAR LAMPIRAN 7

ABSTRAK DAN KATA KUNCI 8

BAB I. PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 9
1.2 Perumusan Masalah 11
1.3 Tujuan Penelitian 11
1.4 Manfaat Penelitian 11

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Bakteri Patogen 12
2.2 Deteksi Mikroba dalam Suatu Sampel 12
2.3 Biosensor DNA 13
2.4 Biosensor UV Spektrofotometri 14
2.5 Nanomaterial untuk Deteksi DNA
2.5.1 Nanopartikel Emas (AuNPs) 14
2.5.2 Nanopartikel Perak (AgNPs) 15
2.5.3 Magnetic Bead (MB) 17
2.6 Immobilisasi Probe DNA pada Nanopartikel
2.6.1 Penggunaan 11-MUDA dan 16-MHDA sebagai linker 18
2.6.2. Interaksi Avidin-Biotin 20
2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Proses Hibridisasi DNA 21

BAB III. TUJUAN PENELITIAN
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 22
3.2 Bahan 22
3.3 Alat 23
3.4 Skema *Platform* Biosensor untuk Deteksi DNA Patogen Berdasarkan Proses Hibridisasi DNA Berbasis UV Spektrofotometri 23
3.5 Tahapan dan Prosedur Penelitian 25
BAB IV. METODE PENELITIAN
4.1 Sintesis Nanopartikel
4.1.1 Sintesis *Magnetic Beads* 31
4.1.2 Sintesis Nanopartikel Emas 31
4.1.3 Sintesis Nanopartikel Perak 31
4.2 . Fungsionalisasi Nanopartikel

4.2.1 Fungsionalisasi *Magnetic Bead*-APTS dengan Avidin (MB-Avidin) 33
4.2.2 Fungsionalisasi AgNPs dengan 16-MHDA (AgNPs-COO^-) 33
4.2.3 Fungsionalisasi AuNPs dengan 16-MHDA (AuNPs -COO^-) 34
4.3 Konjugasi *probe* DNA pada Nanopartikel Terfungsionalisasi
4.3.1 Konjugasi *Probe* DNA Termodifikasi Biotin pada MB-Avidin 35
4.3.2 Konjugasi *Probe* DNA Termodifikasi pada AgNPS Terfungsionalisasi ... 35
4.3.3 Konjugasi *Probe* DNA Termodifikasi pada AuNPS Terfungsionalisasi ... 36
4.4 Hibridisasi Biosensor dengan DNA Target Sintetik pada Berbagai Konsentrasi DNA Probe
4.4.1 Hibridisasi Biosensor Perak dengan DNA Target Sintetik 37
4.4.2 Hibridisasi Biosensor Emas dengan DNA Target Sintetik pada Berbagai Konsentrasi DNA Probe 38
4.5 Hibridisasi Biosensor dengan DNA Target Sintetik pada Berbagai Variasi pH
4.5.1 Hibridisasi Biosensor Perak dengan DNA Target pada Berbagai pH... 40
4.5.2 Hibridisasi Biosensor Emas dengan DNA Target pada Berbagai pH... 41
4.7 Fungsionalisasi Nanopartikel
4.7.1 Fungsionalisasi *Magnetic Bead*-APTS dengan Avidin (MB-Avidin)..... 42
4.7.2 Fungsionalisasi AgNPs Menggunakan *Linker* 16-MHDA dan 11-MUDA. 42
4.7.3 Fungsionalisasi AuNPs Menggunakan *Linker* 16-MHDA dan 11-MUDA... 44
4.8 Perancangan *Sequence Probe* DNA Berdasarkan Analisa *Sequence* Spesifik pada DNA Bakteri Patogen *E.coli* dan *Salmonella*
4.8.1. Rancangan Probe DNA sintetik..... 45
4.1.2. Hasil Rancangan Target Sintetik untuk Pengujian Probe DNA Sintetik... 47
4.9 Konjugasi *probe* DNA pada Nanopartikel Terfungsionalisasi
4.9.1 Konjugasi *Probe* DNA Termodifikasi Biotin pada MB-Avidin 48
4.9.2 Konjugasi *Probe* DNA Termodifikasi Amin pada AgNPs-COO^-..... 49
4.9.3 Konjugasi *Probe* DNA Termodifikasi Amin pada AuNPs -COO^-..... 51
4.10 Hibridisasi Biosensor dengan DNA Target dari Sampel Bakteri Patogen *E.coli* dan *Salmonella*
4.10.1 Hasil pengujian kontrol positif dan negative..... 52
4.10.2 Hasil Hibridisasi Biosensor (Multiplex) dengan Berbagai Target..... 52
4.11 Pengujian Limit Deteksi dengan DNA dari Sampel Bakteri *E.coli* dan *Salmonella*
4.11.1 Pengaruh Konsentrasi DNA Target *E. coli* terhadap Kemampuan Deteksi Sensor..... 58
4.11.2 Pengaruh Konsentrasi DNA Target *Salmonella* terhadap Deteksi Sensor . 60

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan..... 63
5.2 Saran..... 63

DAFTAR PUSTAKA..... 64

LAMPIRAN..... 68

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Daftar oligonukleotida yang digunakan dalam penelitian..... 22
Tabel 4.1. Hasil absorbansi avidin pada supernatan fungsionalisasi *magnetic beads* 33
Tabel 4.2. Tabel Absorbansi dan Konsentrasi Avidin yang Tertempel pada *MB*.. 42
Tabel 4.3. Rancangan Probe DNA Sintetik..... 44
Tabel 4.4. Rancangan Target Sintetik untuk Hibridisasi pada Probe..... 47
Tabel 4.5. Tabel Absorbansi dan Konsentrasi Probe yang Tertempel pada *MB*.. 48
Tabel 4.6. Tabel Absorbansi dan Konsentrasi Probe yang Tertempel pada Nanopartikel Perak -16-MHDA..... 50
Tabel 4.7. Tabel Absorbansi dan Konsentrasi Probe yang Tertempel pada Nanopartikel Perak -11-MUDA..... 50
Tabel 4.8 Tabel Konsentrasi Probe yang Tertempel pada AuNPs-16-MHDA... 52
Tabel 4.9. Hasil *tukey* antara 4 macam target pada AgNPS..... 53
Tabel 4.10. Hasil *tukey* interaksi antara *E.coli* dan *Salmonella* pada panjang gelombang 405nm di suhu 55°C..... 55
Tabel 4.11. Hasil *tukey* antara 4 macam target pada AuNPS..... 56
Tabel 4.12. Hasil *tukey* interaksi antara *Salmonella* dan *E.coli* pada panjang gelombang 533 di suhu 55°C..... 57
Tabel 4.13.. Tabel Konsentrasi dan Rasio 260/280 DNA Target Hasil Ekstraksi dengan metode Chen *and* Kuo..... 58
Tabel 4.14. Data Absorbansi Tertinggi Pengenceran Target 10x, 100x, 1000x, 10000x, dan kontrol negative..... 59
Tabel 4.15. Hasil Uji *Tukey* Data Pengenceran Target 10x, 100x, 1000x, 10000x, dan kontrol negative..... 59
Tabel 4.16. Tabel Konsentrasi dan Rasio 260/280 DNA Target Hasil Ekstraksi dengan metode Chen *and* Kuo..... 60
Tabel 4.17. Nilai selisih rerata absorbansi kontrol negatif dengan rerata absorbansi supernatant pada berbagai variasi pengenceran sampel..... 61
Tabel 4.18. Uji Statistik ANOVA untuk mengetahui selisih absorbansi kontrol negatif dengan absorbansi supernatant pada berbagai variasi pengenceran sampel 61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Skema Dasar Biosensor 13
Gambar 2.2. Nanopartikel Emas (AuNPs): (a). Koliod AuNPs dengan variasi ukuran yang berbeda; (b) Hasil TEM AuNPs 15
Gambar 2.3. Foto TEM Nanopartikel Perak (AgNPs), (a). AgNPs berdiameter 20nm; (b). AgNPs berdiameter 60 nm; (c). AgNPs berdiameter 100nm 16
Gambar 2.4. Perbedaan Spektrum Absorbansi Nanopartikel Emas dan Perak 16
Gambar 2.5. Foto TEM *Magnetic beads* 17
Gambar 2.6. Reaksi pembentukan ikatan *xilene* dengan serbuk besi 18
Gambar 2.7 Reaksi penempelan MB-APTS dengan ssDNA probe 18
Gambar 2.8. Struktur kimia (a) 11-MUDA, (b) 16-MHDA 19
Gambar 2.9. Fungsionalisasi AuNPs dengan modifikasi merkapto alkane 20
Gambar 2.10. Mekanisme pengikatan Avidin-Biotin 21
Gambar 3.1. Skema Deteksi DNA Biosensor Berbasis UV-Spektrofotometri 23
Gambar 3.2. Formasi Lapis demi Lapis Rancangan Nanopartikel 24
Gambar 4.1. Ilustrasi reaksi sintesis MB-APTS 31
Gambar 4.2. Kurva Sintesis Nanopartikel Emas (AuNPs) 32
Gambar 4.3. Absorbansi nanopartikel perak hasil sintesis 33
Gambar 4.4 Hasil *scanning* absorbansi nanopartikel perak terfungsionalisasi 16-MHDA 34
Gambar 4.5. Kurva Fungsionalisasi Nanopartikel Emas (AuNPs)- 16 MHDA 34
Gambar 4.6 Perbandingan konsentrasi DNA probe awal dan konsentrasi DNA probe pada supernatant 35
Gambar 4.7 Hasil konjugasi nanopartikel perak dengan DNA probe Escherichia coli 36
Gambar 4.8 Perbandingan konsentrasi DNA probe awal dan konsentrasi DNA probe pada supernatant 36
Gambar 4.9 Kurva Konjugasi Gold Nanoparticles (AuNPs)- 16 MHDA 37
Gambar 4.10. Hibridisasi dengan variasi konsentrasi probe 38
Gambar 4.11. Kurva Hasil Hibridisasi dengan berbagai Konsentrasi Probe 39
Gambar 4.12. Kurva Hibridisasi Nanopartikel Perak dengan variasi pH 40
Gambar 4.13. Kurva Hasil Hibridisasi Nanopartikel emas pada berbagai pH 41
Gambar 4.14. Kurva Absorbansi AgNPs Terfungsionalisasi 16-MHDA 43
Gambar 4.15. Kurva Absorbansi AgNPs Terfungsionalisasi 11- MUDA 43
Gambar 4.16. Kurva Absorbansi AuNPs terfungsionalisasi 16-MHDA 44
Gambar 4.17. Kurva Absorbansi AuNPs Terfungsionalisasi 11-MUDA 44
Gambar 4.18. Kurva Konjugasi Nanopartikel Perak (AgNPs)- 16-MHDA-Probe 49
Gambar 4.19. Kurva Konjugasi Nanopartikel Perak (AgNPs)- 11- MUDA-Probe 49
Gambar 4.20. Kurva AuNPs terkonjugasi Probe Spesifik Salmonella 51
Gambar 4.21. Hasil Absorbansi Kontrol Positif dan Kontrol Negatif 52
Gambar 4.22.. Hasil Absorbansi Biosensor dengan Target *E.coli* pada suhu 27°C 53
Gambar 4.23.. Hasil uji statistik antara 4 macam target pada AgNPs 53
Gambar 4.24. Hasil Absorbansi Biosensor dengan Target *E.coli* pada suhu 55°C 54
Gambar 4.25. Hasil uji statistik interaksi antara *E.coli* dan *Salmonella* pada panjang gelombang 405 di suhu 55°C 54

Studi Perancangan Biosensor Berbasis UV-Vis Spektrofotometri untuk Deteksi Bakteri Patogen secara Simultan Berdasarkan Proses DNA *Recognition*

ABSTRAK

Kebutuhan yang besar akan deteksi patogen secara cepat, tepat dan harga terjangkau mendorong penggunaan 3 jenis nanopartikel untuk mendeteksi *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* secara simultan. Prinsipnya, universal probe diimobilkan ke MB, sedangkan probe spesifik untuk *Escherichia coli* diimobilkan pada AuNPs dan probe spesifik untuk *Salmonella enterica Typhimurium* diimobilkan pada AgNPs. Oleh karena AuNPs dan AgNPs menunjukkan spektrum absorbansi pada panjang gelombang yang berbeda, maka kedua nanopartikel tersebut dapat digunakan sebagai label. Keberadaan DNA target dapat dideteksi dengan mengukur adanya penurunan absorbansi AuNPs dan/atau AgNPs setelah dilakukan proses presipitasi MB. Pada penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi probe DNA, kondisi pH buffer dan lama proses hibridisasi, yang merupakan faktor-faktor penting pada keberhasilan proses hibridisasi. Selain itu kemampuan deteksi biosensor ini juga dikaji dengan menghitung konsentrasi sampel minimum yang dapat terdeteksi. Terbukti bahwa keberadaan DNA *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* yang ditandai dengan hibridisasi DNA target dan probe pada suhu 55 °C dapat dideteksi menggunakan UV-vis spektrofotometer. Konsentrasi DNA probe yang optimum pada proses konjugasi dengan nanopartikel adalah 500 nM. Senyawa 16-MHDA dibukrikan merupakan *linker* yang lebih baik untuk imobilisasi *probe* pada nanopartikel Au dan Ag jika dibandingkan dengan 11-MUDA. pH optimum hibridisasi adalah pH 7,0-7,5 dengan nanopartikel perak atau 6,5-7,0 dengan nanopartikel emas. Juga ditemukan bahwa biosensor berbasis AgNPs (sampel *E. coli*) dapat mendeteksi hingga batas konsentrasi target DNA sekitar 1,3 ng/µl. Sedangkan biosensor berbasis AuNPs (sampel *Salmonella*) nanya dapat mendeteksi hingga batas konsentrasi target DNA sekitar 90-140ng/µl.

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, keamanan pangan menjadi salah satu isu utama di Indonesia karena merupakan syarat penting yang harus melekat pada bahan pangan untuk konsumsi masyarakat. Keamanan pangan penting dalam menjamin pangan yang aman dan layak dikonsumsi. Jaminan akan keamanan pangan adalah merupakan hak asasi konsumen. Lebih dari 90% terjadinya penyakit pada manusia yang terkait dengan makanan (*foodborne diseases*) disebabkan oleh kontaminasi bakteri patogen (Potter *et al.*, 1997). Bakteri patogen yang dilaporkan sangat berbahaya sebagai penyebab infeksi dan keracunan pangan adalah *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* (Vogt and Dippold, 2005; Ivinitski *et al.*, 1999).

Berbagai metode telah dikembangkan untuk mendeteksi keberadaan bakteri patogen baik secara mikrobiologis maupun secara molekuler. Metode deteksi konvensional seperti cara mikrobiologis membutuhkan waktu inkubasi yang lama (1-3 hari). Sedangkan metode molekuler seperti PCR dan elektroforesis membutuhkan ekspertis bidang biologi molekuler, peralatan dan bahan yang mahal, serta waktu inkubasi yang lama untuk mencapai jumlah sampel yang dapat terdeteksi (Waswa *et al.*, 2007). Selain itu, kebutuhan akan pelaratan yang khusus dan kondisi yang steril, membuat pengujian secara mikrobiologis dan molekuler harus dilakukan di laboratorium. Di sisi lain, metode pengujian bakteri patogen yang efektif harus mampu dilakukan secara cepat, selektif dan sensitif meski keberadaan bakteri patogen dalam sampel sangat sedikit. Metode deteksi yang selektif ini sangat dibutuhkan karena seringkali bakteri patogen ada dalam jumlah yang relatif kecil dan berada dalam suatu sampel yang kompleks dengan banyak organisme non-patogen lainnya (Federal Register, 1991; Greenberg *et al.*, 1992).

Kebutuhan yang besar akan pengujian biologis yang murah, mendorong pengembangan biosensor yang mudah digunakan dan bersifat *portable*. Biosensor ini juga harus mampu menganalisis sampel dalam waktu yang singkat serta mampu mendeteksi sampel secara selektif, sensitif dan dalam jumlah sampel yang terbatas. Akhir-akhir ini biosensor telah banyak dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan tersebut berdasarkan aplikasi ilmu nanoteknologi dan bioteknologi. Biosensor adalah alat analitis yang terdiri atas 3 komponen utama yaitu bioreseptor, *signal transducer* dan *signal processing* (Li *et al.*, 2010). Bioreseptor yang digunakan dapat berupa sel, enzim, antibodi ataupun DNA yang dapat terintegrasi dengan *transducer* melalui proses immobilisasi baik secara adsorbsi, *crosslinking* ataupun melalui ikatan kovalen (Suman *and* Kumar, 2008). Salah satu bioreseptor yang banyak dikembangkan adalah DNA karena struktur *double heliks* dan mekanisme *basepairing* yang unik sehingga suatu untai tunggal DNA mampu terhibridisasi secara *self assembly* dengan untai komplemennya. Dengan semakin meningkatnya

pengetahuan dan pemahaman tentang struktur, sekuen, dan fungsi DNA, deteksi sekuen DNA dalam sampel biologis kini memiliki peran yang sangat penting. Sekuen DNA menyediakan informasi genetik secara spesifik sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan suatu bakteri patogen dalam sampel (Ivinitski *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2005).

Biosensor berbasis DNA adalah alat analitis yang menggunakan DNA untai tunggal sebagai bioreseptor/probe untuk mendeteksi keberadaan DNA target. Metode deteksinya didasarkan pada proses hibridisasi DNA probe dengan target analit. Pengukuran signal dapat dilakukan secara *optical/colorimetric* (Cao *et al.*, 2005; Han *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008; Jin et al., 2009), *piezoelectric* (Lucarelli *et al.*, 2009), *microcantilever* (Huber *et al.*, 2008), dan *electrochemical techniques* (Pinijsuwan *et al.*, 2008; Schüler *et al.*, 2009). Dari berbagai teknik yang telah dilaporkan, metode deteksi secara optical/colorimetric merupakan salah satu yang paling sederhana. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan metode deteksi secara *optical/colorimetric*.

Berbagai jenis nanopartikel digunakan sebagai material *transducer*, termasuk metal nanopartikel, oxide nanopartikel, semikonduktor nanopartikel, bahkan polimer nanodimensional juga telah digunakan dalam biosensor. Salah satu nanopartikel yang umumnya digunakan antara lain nanopartikel emas (AuNPs), nanopartikel perak (AgNPs) dan *magnetic beads* (MB). Metal nanopartikel seperti AuNPs dan AgNPs dilaporkan merupakan substrat penempelan DNA dan pengamplifikasi signal yang efektif (Thompson *et al.*, 2008; Suman *and* Kumar, 2008; Xu *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010). AuNPs dan AgNPs dapat berikatan dengan probe DNA termodifikasi melalui ikatan dengan gugus thiol membentuk ikatan SH-AuNPs atau SH-AgNPs (Xu *et al.*, 2009). Selain itu, penggunaan MB seperti nanopartikel *zinc sulfide* dalam DNA biosensor juga semakin meningkat (Li *et al.*, 2003; Graham *et al.*, 2005; Kouassi and Irudayaraj, 2006). Keunggulan nanopartikel *zinc sulfide* adalah memiliki gugus karboksil bebas pada permukaannya sehingga dapat dengan mudah larut di air serta dapat dengan mudah berikatan dengan DNA probe yang termodifikasi gugus amin (Zhu *et al.*, 2004).

Selama beberapa dekade terakhir, kemajuan luar biasa telah dibuat pada desain *colorimetric biosensor* (Liu *and* Lu, 2004; Wang *et al.*, 2008; Sato *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2008),. Dari berbagai desain yang telah dilaporkan, belum ada metode yang mengaplikasikan AuNPs, AgNPs, dan MB secara bersamaan. Kebutuhan yang besar akan deteksi patogen secara cepat, tepat dan harga terjangkau mendorong penggunaan 3 jenis nanopartikel tersebut untuk mendeteksi *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* secara simultan. Prinsipnya, universal probe diimobilkan ke MB, sedangkan probe spesifik untuk *Escherichia coli* diimobilkan pada AuNPs dan probe spesifik untuk *Salmonella enterica Typhimurium* diimobilkan pada AgNPs. Oleh karena AuNPs dan AgNPs menunjukkan spektrum absorbansi pada panjang gelombang yang berbeda (Huang *and* Yang, 2004), maka kedua nanopartikel tersebut dapat digunakan sebagai label. Keberadaan DNA target

dapat dideteksi dengan mengukur adanya penurunan absorbansi AuNPs dan/atau AgNPs setelah dilakukan proses presipitasi MB. Konsentrasi probe DNA, kondisi pH buffer yang digunakan dan lamanya proses hibridisasi sangat berpengaruh pada keberhasilan proses hibridisasi. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi probe DNA, kondisi pH buffer dan lama proses hibridisasi. Selain itu kemampuan deteksi biosensor ini juga perlu dikaji dengan menghitung jumlah sampel minimum yang dapat terdeteksi.

1.2 Perumusan Masalah

a. Apakah keberadaan DNA *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* yang ditandai dengan hibridisasi DNA target dan probe dapat dideteksi menggunakan UV-vis spektrofotometer?
b. Berapakah konsentrasi DNA probe yang optimum pada proses konjugasi dengan nanopartikel?
c. Manakah jenis *linker* dan metode/kondisi yang lebih baik untuk imobilizasi *probe* pada nanopartikel Au dan Ag?
d. Berapakah pH yang optimum untuk deteksi DNA *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* menggunakan biosensor DNA berbasis UV-vis spektrofotometri?
e. Berapakah limit deteksi biosensor DNA bebasis UV-vis spektrofotometri ini?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Untuk memastikan keberadaan DNA *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* yang ditandai dengan hibridisasi DNA target dan probe dapat dideteksi menggunakan UV-vis spektrofotometer
b. Untuk mengetahui konsentrasi DNA probe yang optimum pada proses konjugasi dengan nanopartikel.
c. Untuk mengetahui jenis *linker* dan metode/kondisi yang lebih baik untuk imobilizasi *probe* pada nanopartikel Au dan Ag.
d. Untuk mengetahui pH yang optimum untuk deteksi *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* menggunakan biosensor DNA berbasis UV-vis spektrofotometri
e. Untuk mengetahui limit deteksi biosensor DNA berbasis UV-vis spektrofotometri

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan suatu alat biosensor untuk mendeteksi DNA *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica Typhimurium* secara simultan, cepat, tepat, murah, dan memiliki sensifitas yang tinggi sehingga diharapkan bisa menggantikan metode deteksi konvensional baik secara mikrobiologis dan molekuler yang membutuhkan waktu yang lama.