IDENTIFIKASI BAKTERI DENGAN METODE *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight* (MALDI-TOF) PADA MINUMAN KOPI YANG DIJUAL KELILING DI KOTA MAKASSAR

BACTERIAL IDENTIFICATION USING Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time Of Flight (MALDI-TOF) METHOD IN STREET-VENDED COFFEE BEVERAGES IN MAKASSAR CITY

Rezandis[1], M.Askar[2], Rafika[3]
Poltekkes Kemenkes Makassar

korespondensi: rezandisrmli@gmail.com 081243001067

ABSTRACT

The mobile coffee vending business using bicycles and electric motorcycles has grown rapidly; however, it poses a potential risk of microbial contamination due to inadequate sanitation. Key contributing factors to microbial growth include location, equipment, raw materials, and the hygiene of the vendors. This study aims to identify the presence of bacteria in street-vended coffee in Makassar City using the MALDI-TOF method. This descriptive research used a laboratory observation approach with purposive sampling, collecting 12 samples from various national road points in Makassar City. Testing was conducted in two laboratories: the Microbiology Laboratory of the Department of Medical Laboratory Technology at the Makassar Health Polytechnic and the Microbiology Laboratory of the Makassar Public Health Laboratory Center in April 2025. The results showed that 10 out of 12 samples were identified as containing bacteria using the MALDI-TOF method. Among them, three samples were found to contain *Klebsiella pneumoniae*. No presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., or *Shigella* spp. was detected. Other bacteria identified included *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter cloacae/asburiae*, *Acinetobacter colcaceticus/radioresistens*, *Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter seifertii*, and *Serratia marcescens*. Mobile coffee vendors are advised to maintain hygiene during the preparation process to prevent contamination. Consumers are encouraged to be more selective in choosing coffee products. Health authorities and BPOM are expected to conduct regular inspections. Further research using quantitative methods such as MPN, membrane filtration, total plate count (TPC), or multiple tube techniques is recommended to determine the level of contamination more precisely.

Keywords *: Klebsiella pneumoniae, makassar city, MALDI-TOF, microbial contamination, mobile coffee vendors*

ABSTRAK

Penjualan kopi keliling dengan sepeda dan motor listrik berkembang pesat, namun berpotensi menimbulkan kontaminasi mikroba akibat sanitasi yang kurang. Faktor lokasi, alat, bahan baku, dan kebersihan pelaku usaha menjadi alasan utama tumbuhnya mikroorganisme.Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri pada minuman kopi yang dijual keliling di Kota Makassar menggunakan metode MALDI-TOF. Penelitian secara deskriptif menggunakan pendekatan observasi laboratorium dengan teknik *purposive sampling*, diperoleh 12 sampel dari berbagai titik jalan nasional di Kota Makassar. Pengujian dilakukan di dua laboratorium yakni laboratorium mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar dan laboratorium mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar pada bulan April 2025. Hasil penelitian ditemukan 10 sampel teridentifikasi mengandung bakteri dengan menggunakan metode MALDI-TOF. Dari keseluruhan ditemukan tiga di antaranya mengandung bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Tidak ditemukan adanya bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., maupun *Shigella* sp. Bakteri lain yang ditemukan *Enterobacter hormaechei, Enterobacter cloacea/asburiae, Acinetobacter colcacetticus/radioresistens, Acinetobacter ursingii, Acinetobacter seifertii dan Serratia marcessens.* Penjual kopi keliling disarankan menjaga kebersihan selama proses pengolahan guna mencegah kontaminasi. Konsumen diimbau untuk lebih selektif dalam memilih produk kopi. Dinas Kesehatan dan BPOM diharapkan melakukan pengawasan berkala. Penelitian lanjutan dianjurkan menggunakan metode kuantitatif seperti MPN, membran filter, ALT, atau tabung ganda untuk mengetahui tingkat cemaran secara lebih mendetail.

Kata kunci : kedai kopi keliling, *Klebsiella pneumoniae*, kontaminasi mikroorganisme, kota makassar, metode MALDI-TOF

PENDAHULUAN

Minuman kopi yang mempunyai banyak manfaat, membuka peluang usaha, dan diminati oleh masyarakat di Indonesia, kualitasnya tidak selalu terjamin. Berdasarkan survei awal yang dilakukan oleh peneliti terhadap minuman kopi yang dijual secara keliling di kota Makassar, proses pembuatan minuman kopi dibuat secara terbuka. Selain itu, peralatan untuk membuat minuman kopi digunakan secara berulang tanpa diperhatikan kebersihannya serta es batu yang digunakan disimpan ditempat yang kurang higienis.

Angka kejadian penyakit yang disebabkan karena minuman di dunia terus meningkat. Prevalensi tertinggi adalah diare dan gastroenteritis akibat bakteri dari makanan dan minuman, selanjutnya adalah demam tifoid kemudian demam paratifoid (Mulyati *et al*., 2024). Berdasarkan hasil pemetaan penyakit berpotensi Kejadian Luar Biasa (KLB) melalui Sistem Kewaspadaan Dini dan Respon (SKDR) pada semester I (minggu ke-1 hingga 24) di Provinsi Sulawesi Selatan Tahun 2022, dua penyakit dengan jumlah kasus terbanyak adalah diare akut sebanyak 39.452 kasus dan Penyakit serupa Influenza (ILI) dengan 13.618 kasus. Dalam pemetaan penyakit diare akut, Kota Makassar tercatat sebagai daerah dengan jumlah kasus terbanyak, yaitu 4.611 kasus. Salah satu penyebab meningkatnya kasus diare adalah buruknya kondisi sanitasi serta kebiasaan mengonsumsi makanan dan minuman yang tidak *higienis* (Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Dan Pengendalian Penyakit, 2022)

Menurut Ramadhani (2023) dalam penelitiannya tentang uji cemaran *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada 14 sampel minuman kopi menunjukkan bahwa 8 sampel positif *Escherichia coli* dengan nilai cemaran tertinggi >1.100 koloni/ml. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yustika *et al* (2022) tentang bakteri *Coliform* pada minuman kekinian, didapatkan sebanyak 96,67% sampel minuman kekinian mengandung bakteri *Coliform*, termasuk di antaranya *Escherichia coli dan Klebsiella sp*

Penelitian Husain *et al*., (2023) menyatakan bahwa kontaminasi mikroorganisme dapat terjadi selama proses penyimpanan dan pengolahan. Dalam penelitian tersebut, ditemukan pertumbuhan bakteri patogen pada seluruh sampel susu formula yang diuji (100%). Jenis bakteri yang teridentifikasi meliputi *Bacillus cereus* (60%) dan *Bacillus licheniformis* (40%) pada lima sampel yang dianalisis menggunakan metode *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight* (MALDI-TOF). Metode ini dikenal memiliki tingkat spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi mikroorganisme, dengan kemampuan untuk mengidentifikasi bakteri meskipun dalam jumlah yang sangat kecil. Bahkan, metode ini mampu mendeteksi bakteri pada konsentrasi serendah 10^3 CFU/ml. Selain itu, metode ini menunjukkan kemampuan spesifik yang sangat baik dalam membedakan antara berbagai spesies bakteri dengan akurasi yang tinggi. Dalam beberapa kasus, spesifisitasnya bisa mencapai lebih dari 98%. Namun, spesifisitas ini bisa terpengaruh oleh faktor-faktor seperti kesamaan profil spektrum massa antar spesies yang serupa (Wulandari *et al*., 2024).

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF) dianggap sebagai metode yang mampu mempercepat proses identifikasi bakteri dari isolat biakan hanya dalam waktu 2 jam, jauh lebih cepat dibandingkan dengan metode biakan serta uji biokimia atau serologi konvensional. MALDI-TOF bekerja dengan cara mengionisasi komponen kimia menjadi molekul bermuatan, kemudian mengukur rasio massa terhadap muatan (m/z). Persiapan sampel untuk MALDI-TOF dilakukan dengan mencampurkan isolat biakan dengan larutan penyerap energi organik yang dikenal sebagai matriks (Purwanto & Astrawinata, 2019).

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian mengenai identifikasi yang cepat dan akurat bakteri pada kopi yang dijual keliling di 12 jalan Nasional Kota Makassar dengan Metode MALDI-TOF. Jalan Nasional adalah jalan utama yang dikelola oleh pemerintah pusat dan berfungsi sebagai penghubung antarwilayah di kota-kota besar. Jalur ini mendukung mobilitas jarak jauh, transportasi umum, serta distribusi barang, sehingga memiliki arus kendaraan yang tinggi. Pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif dengan fokus pada karakterisasi jenis bakteri yang terdeteksi serta potensi risiko yang ditimbulkan terhadap kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri pada

minuman kopi yang dijual keliling di Kota Makassar dengan metode MALDI-TOF dan mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli, Salmonella Sp., Shigella Sp., dan Klebsiella Sp* dengan metode MALDI-TOF.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian ini adalah observasi laboratorium dengan rancangan deskriptif untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat dalam minuman kopi menggunakan metode MALDI-TOF yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar dan dilanjutkan di Laboratorium Instalasi Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat (BBLKM) Makassar pada tanggal 18-25 April 2025.

Jumlah dan cara pengambilan sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah minuman kopi yang dijual keliling di 12 jalan Nasional Kota Makassar. Besaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 12 sampel penelitian. Penentuan jumlah sampel tersebut ditetapkan berdasarkan keberadaan jalan Nasional yang ada di Kota Makassar. Nama jalan yang dimaksud adalah Jl. Perintis Kemerdekaan, Jl. Urip Sumoharjo, Jl. Gunung Bawakaraeng, Jl. Masjid Raya, Jl. Bulusaraung, Jl. Ahmad Yani, Jl. Riburane, Jl. Nusantara, Jl. Veteran Utara, Jl. Veteran Selatan, Jl. Sultan Alauddin dan Jl. Andi Pangeran Pettarani. Sampel diambil 1 jenis minuman kopi yang dijual keliling dari setiap jalan nasional yang ada.

Prosedur Kerja

a. Persiapan sampel minuman kopi keliling
   Sampel yang diambil dari penjual kopi keliling di 12 jalan Nasional di Kota Makassar kemudian sampel tersebut di masukkan kedalam *coolbox* untuk di bawah ke laboratorium kemudian dipindahkan ke dalam botol sampel steril dan diberi label pada tiap sampel.
b. Isolasi sampel.
   - Penanaman sampel pada media *Lactose Broth* (LB) yang dilakukan dengan menambahkan 1 ml sampel minuman kopi ke dalam media *Lactose Broth* (LB), kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37^{o}C (Yustika *et al*., 2022).
   - Suspensi bakteri diambil dari media Luria Bertani (LB) menggunakan ose yang telah disterilkan, kemudian digoreskan secara aseptik pada permukaan media Mac Conkey Agar (MCA). Setelah itu, media diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C untuk menumbuhkan koloni bakteri. Selanjutnya, koloni yang tumbuh pada MCA diambil menggunakan ose steril dan digoreskan pada permukaan media Nutrien Agar (NA) untuk proses pemurnian isolat. Media NA kemudian diinkubasi kembali selama 18–24 jam pada suhu 37°C..
c. Identifikasi bakteri dengan metode MALDI-TOF
   Mengambil 1 ose buah koloni murni dari Media *Nutrien Agar* diletakkan pada slide Maldi dan ratakan, langkah selanjutnya yaitu ditambahkan 1µ Reagen CHCA tunggu 1-2 menit. Memasukkan data sampel pada alat lalu diletakkan slide *maldi* ke dalam Vitek MS metode MALDI-TOF. Proses pembacaan dalam bentuk grafik dalam waktu 2 jam. Grafik hasil yang keluar dicocokkan berdasarkan grafik *database* yang tersimpan pada alat.
d. Isolat bakteri yang tidak dapat diidentifikasi menggunakan alat Vitek-MS diambil dari media Mac Conkey Agar (MCA) menggunakan nall steril, kemudian diinokulasikan ke dalam media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dengan cara menusukkan nall secara hati-hati tanpa menyentuh dasar tabung, lalu menggoreskan nall pada permukaan miring media. Media TSIA kemudian diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, isolat dari media TSIA diambil menggunakan nall steril dan digoreskan pada bagian miring media SCA dan media SIM, kemudian diinkubasi kembali selama 18–24 jam pada suhu 37°C.

Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh dari identifikasi bakteri menggunakan metode MALDI-TOF pada

minuman kopi keliling disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel yang memuat jenis bakteri yang teridentifikasi, dan karakteristiknya.

HASIL

Hasil uji isolasi sampel pada minuman kopi pada media *lactose broth* dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1 Hasil isolasi sampel minuman kopi pada media *Lactose Broth*

No	Kode sampel	Hasil isolasi media L*actose Broth*
1.	KP.1	(+) Air Keruh, Ada Gas
2.	KP.2	(+) Air Keruh, Ada Gas
3.	KP.3	(+) Air Keruh, Ada Gas
4.	KP.4	(+) Air Keruh, Ada Gas
5.	KP.5	(+) Air Keruh, Ada Gas
6.	KP.6	(+) Air Keruh, Ada Gas
7.	KP.7	(+) Air Keruh, Ada Gas
8.	KP.8	(+) Air Keruh, Ada Gas
9.	KP.9	(+) Air Keruh, Ada Gas
10.	KP.10	(+) Air Keruh, Ada Gas
11.	KP.11	(+) Air Keruh, Ada Gas
12.	KP.12	(+) Air Keruh, Ada Gas

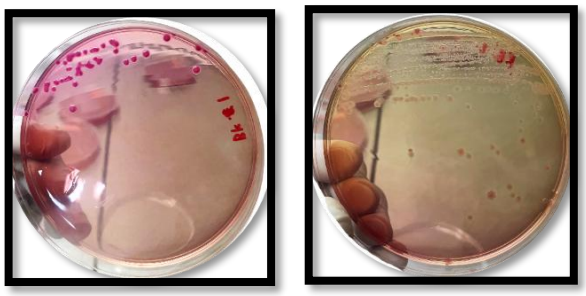
(Sumber : data Primer, 2025)

Berdasarkan Tabel 1 hasil isolasi sampel minuman kopi pada media *Lactose Broth* pada 12 sampel minuman kopi yang dijual keliling, didapatkan
positif (100%) ditandai dengan terbentuknya air keruh dan gas pada tabung durham

Tabel 2 Hasil isolasi biakan dari *Lactose Borth* diinokusi pada media *Mac Conkey Agar*

Kode sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Fermentasi Lactosa
KP.1	Bulat besar	Merah muda	Cembung	Positif
KP.2	Bulat kecil	Merah muda transparan	Cembung	Positif
KP.3	Bulat besar	Merah muda	Cembung	Positif
KP.4	Bulat besar	Merah muda	Cembung	Positif
KP.5	Bulat kecil	Putih keruh	Cembung	Negatif
KP.6	Bulat besar	Merah muda	Cembung	Positif
KP.7	Bulat kecil	Merah muda transparan	Cembung	Positif
KP.8	Bulat besar	Merah muda	Cembung	Positif
KP.9	Bulat kecil	Abu-abu	Cembung	Negatif
KP.10	Bulat sedang	Transparan	Cembung	Negatif
KP.11	Bulat besar	Abu-abu	Cembung	Negatif
KP.12	Bulat kecil	Abu-abu	Cembung	Negatif

(Sumber : data primer, 2025)



(a) (b)

Gambar 2. (a). Makroskopis pertumbuhan koloni bakteri pada media MCA memfermentasi laktosa (b). Makroskopis pertumbuhan bakteri pada media MCA tidak mampu memfermentasi laktosa

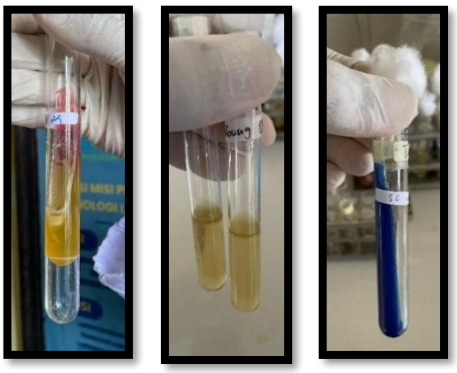
Tabel 2 menunjukkan hasil isolasi bakteri pada media MCA yakni semua isolat menunjukkan bentuk koloni bulat dengan variasi ukuran, yaitu bulat besar, bulat kecil, dan bulat sedang. Terdapat 7 sampel (58,3%) menunjukkan warna koloni merah muda atau merah muda transparan serta menghasilkan fermentasi laktosa positif. Sementara itu, 5 sampel (41,7%) menunjukkan hasil fermentasi laktosa negatif dengan karakteristik koloni berwarna putih keruh, abu-abu, atau transparan.

Tabel 3 hasil pemurnian koloni *Nutrien Agar* dan Identifikasi Vitek-MS

Kode sampel	**Kultur Nutrien Agar**	**Identifikasi Vitek-MS metode MALDI-TOF**
KP.1	Tumbuh	*Klebsiella pneumoniae*
KP.2	Tumbuh	*Enterobacter hormaechei*
KP.3	Tumbuh	*Klebsiella pneumoniae*
KP.4	Tumbuh	*Enterobacter hormaechei*
KP.5	Tumbuh	*Acinetobacter colcacetticus/radioresistens*
KP.6	Tumbuh	*Enterobacter cloacea/asburiae*
KP.7	Tumbuh	*Enterobacter hormaechei*
KP.8	Tumbuh	*Klebsiella pneumoniae*
KP.9	Tumbuh	*Acinetobacter ursingii*
KP.10	Tumbuh	*No identification*
KP.11	Tumbuh	*Acinetobacter seifertii*
KP.12	Tumbuh	*No idenfication*

(sumber : data primer, 2025)

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan terjadi pertumbuhan pada semua sampel (100%) setelah dimurnikan pada media NA. Dari 12 sampel dilakukan identifikasi menggunakan metode MALDI-TOF, ditemukan sebanyak 10 isolat (83,3%) berhasil diidentifikasi meliputi bakteri *Klebsiella pneumoniae* (25%), bakteri *Enterobacter sp*. (33,3%) meliputi 3 spesies *Enterobacter hormaechei* dan 1 spesies *Enterobacter cloacea/asburiae* serta bakteri *Acinetobacter sp.* (25%) meliputi 1 spesies *Acinetobacter ursingii,* 1 spesies *Acinetobacter colcacetticus/radioresistens* dan 1 spesies *Acinetobacter seifertii. S*ementara 2 isolat (16,7%) tidak dapati diidentifikasi oleh alat Vitek-MS. Kemudian dilanjutkan ke uji biokimia pada kedua sampel (KP.10 dan KP.12) untuk mendapatkan spesies jenis bakteri yang tumbuh pada sampel minuman tersebut



(a) (b) (c)

Gambar 2. (a). Makroskopis pertumbuhan koloni bakteri pada media TSIA (b). Pertumbuhan bakteri pada media SIM (c). pertumbuhan koloni bakteri pada media SCA

Tabel 4 Hasil uji Biokimia sampel yang tidak teridetifikasi oleh Vitek-MS metode MALDI-TOF

Kode sampel	Uji biokimia								Jenis bakteri
	TSIA				SIM			SCA	
	L	D	H_2S	Gas	S	I	M		
KP.10	Alkali	Acid	-	+	-	-	+	+	*Serratia marcessens*
KP.12	Alkali	Acid	-	+	-	-	+	+	*Serratia marcessens*

(TSIA : *Triple sugar iron agar*, SIM : *Sulfur indol mutility*, SCA: *Simmon Citrat Agar*, Sumber : data primer, 2025)

PEMBAHASAN

Hasil penelitian pada 12 sampel minuman kopi yang diisolasi pada media *LB* ditemukan semua sampel positif yang ditandai terbentuk gas pada tabung durham dan kekeruhan air pada media tersebut yang menandakan adanya bakteri pada *coliform* pada media *LB*. Kekeruhan tersebut dikarenakan laktosa digunakan sebagai sumber karbon bagi bakteri (Aji & Fiani, 2021). Bakteri mengolah laktosa dengan bantuan enzim *β-galactosidase,* yang menghasilkan asam dan gas setelah diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 36±2°C (Ashbolt *et al*., 2001). Gas yang dihasilkan dari proses fermentasi akan terakumulasi dalam tabung durham (Aji & Fiani, 2021). Penelitian ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Yustika *et al*., (2022) yang menemukan adanya kandungan bakteri *coliform* dengan menggunakan media *lactose broth*, sebanyak 58 sampel minuman kekinian salah satunya minuman kopi yang menunjukkan adanya gas yang dihasilkan dan kekeruhan pada media tersebut.

Dari ke 12 sampel uji yang positif dimedia *LB,* dilanjutkan dengan isolasi pada media MCA untuk menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme. Hasil isolasi pada media MCA ditemukan 7 sampel (KP1, KP2, KP3, KP4, KP6, KP7, KP8) dengan warna koloni merah muda atau merah muda transparan yang menandakan mampu memfermentasi laktosa sebagai sumber karbon. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan Hadizah *et al*., (2022) bahwa koloni bakteri mampu memfermentasi laktosa dengan ciri khas pada media MCA yaitu koloni umumnya berbentuk bulat atau bundar, bervariasi dalam ukuran dan berwarna merah muda.

Sementara itu, 5 sampel (KP5, KP9, KP10, KP11, KP12) menunjukkan warna putih keruh, abu-abu, atau transparan yang berarti tidak terjadi fermentasi laktosa. Penelitian ini sejalan dengan ungkapan Umaruddin *et al*., (2019) Warna transparan atau pucat pada media MCA menunjukkan bahwa tidak ada bakteri yang mengubah laktosa menjadi asam, dengan koloni yang bervariasi dari kecil hingga sedang. Dari hasil isolasi media MCA dilakukan pemurnian pada media *Nutrien Agar* (NA) dan ditemukan pertumbuhan bakteri dari ke 12 sampel uji pada media tersebut. Hasil dari pemurnian media NA dilanjutkan identifikasi bakteri metode MALDI-TOF.

Berdasarkan hasil identifikasi ditemukan *Klebsiella pneumonia* pada 3 sampel (KP1, KP 3, KP 8), *Enterobacter sp*. pada 4 sampel (KP2, KP4, KP 6, KP 7) meliputi *Enterobacter hormaechei* 3 sampel dan *Enterobacter cloacea/asburiae* 1 sampel. *Acinetobacter sp.* pada 3 sampel (KP5, KP9, KP 11) meliputi 1 sampel *Acinetobacter ursingii,* 1 sampel *Acinetobacter colcacetticus/radioresistens* dan 1 sampel *Acinetobacter seifertii.* Namun, terdapat 2 sampel (KP10, KP12) tidak teridentifikasi oleh Vitek-MS. Hal ini sejalan dengan penelitian Luo *et al*., (2018) yang mengevaluasi database Vitek-MS dengan mengidentifikasi bakteri *Mycobacterium sp.* dan ditemukan 23 dari 507 isolat *mycobacterium* tidak teridentifikasi.

Ketidakmampuan sistem database Vitek-MS dalam mengidentifikasi mikroorganisme tersebut menunjukkan adanya keterbatasan pada metode ini. Hal ini karena, identifikasi mikroorganisme menggunakan MALDI-TOF sangat bergantung pada database yang berisi spektrum organisme yang diketahui. Sebagaimana prinsip kerja MALDI-TOF yaitu teknik

analisis partikel-partikel yang diionisasi, dipisahkan berdasarkan rasio massa terhadap muatannya dan diukur dengan menentukan waktu yang dibutuhkan ion untuk mencapai detektor di ujung tabung (*time-of-flight).* Spektrum yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan database spektrum dari organisme yang telah diketahui (Rychert, 2019). Oleh karena itu, diperlukan penggunaan metode tambahan atau teknik identifikasi lain untuk memastikan keberadaan mikroorganisme secara akurat.

Beberapa kasus dalam mengidentifikasi bakteri sistem dapat menghasilkan dua hasil identifikasi berbeda untuk satu isolat yang sama. Dalam situasi seperti ini, hasil identifikasi umumnya dianggap valid hanya sampai pada tingkat genus, terutama jika kedua hasil yang ditampilkan merujuk pada genus yang sama (Martiny *et al*., 2012). Sebagai contoh, *Burkholderia cepacia* dan *Acinetobacter baumannii* hanya dapat diidentifikasi dalam cakupan yang luas (bukan spesifik ke tingkat spesies), sedangkan spesies dari genus *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, dan *Ralstonia* hanya dapat diidentifikasi sampai pada tingkat genus. (Calderaro & Chezzi, 2024). Di sisi lain, tingkat sensitivitas metode MALDI-TOF pada perangkat VITEK-MS mencapai 98,9%, spesifisitasnya tercatat sebesar 97,9% untuk identifikasi pada tingkat genus dan 96,2% pada tingkat spesies (Calderaro & Chezzi, 2024)

Dari 2 sampel uji yang tidak dapat diidentifikasi oleh vitek-MS dilakukan Uji Biokimia (TSIA, SIM dan SCA) dan ditemukan bakteri *Serratia marcessens* pada kedua sampel (KP 10, KP 12). Uji TSIA yang digunakan mengandung tiga macam gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Uji TSIA ini dirancang untuk mengevaluasi kemampuan bakteri dalam melakukan fermentasi gula yang menghasilkan asam atau gas. Jika agar berwarna merah, itu menunjukkan reaksi basa serta kemampuan memfermentasi glukosa, sementara warna kuning menandakan reaksi asam (Kosasi *et al*., 2019).

Bakteri pencemar yang ditemukan dari 12 sampel minuman kopi yang dijual secara keliling tergolong dalam kelompok bakteri *coliform* meliputi *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter hormaechei*, serta *Enterobacter cloacae/asburiae*. Selain itu, ditemukan keberadaan bakteri lain yang tidak termasuk kategori bakteri *coliform*, seperti *Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter calcoaceticus/radioresistens*, *Acinetobacter seifertii*, dan *Serratia marcescens*. Jenis bakteri yang ditemukan merupakan bakteri yang bersifat patogen oportunistik yang dapat menyebabkan pneumonia berat, pielonefritis, dan sepsis pada inang yang mengalami gangguan kekebalan (Labunda *et al*., 2024). Selain itu, juga dapat menyebabkan bakterimia, gastroenteritis dan infeksi saluran kencing (Riga *et al*., 2015).

Temuan ini sejalan dengan hasil observasi yang dilakukan peneliti, pada proses penyimpanan minuman kopi disimpan di dalam gerobak dengan cara ditumpuk bersama jenis minuman lainnya, tanpa pemisahan yang memadai. Selain itu, es batu yang digunakan dalam penyajian disimpan dalam wadah tanpa penutup yang *higienis*, sehingga meningkatkan risiko terjadinya kontaminasi silang. Proses pembuatan minuman kopi dilakukan secara terbuka di lingkungan yang tidak steril dan tanpa menggunakan sarung tangan ataupun mencuci tangan terlebih dahulu, serta alat-alat yang digunakan seperti pisau dan gelas takar tidak dibersihkan sebelum digunakan kembali. Kondisi-kondisi ini menjadi faktor terjadinya kontaminasi mikroorganisme pada minuman kopi yang dijual keliling.

Bakteri yang teridentifikasi pada minuman kopi keliling tergolong sebagai bakteri pencemar yang dapat menyebar melalui lingkungan penjualan, tanah, air, es batu, proses penyajian serta peralatan yang digunakan. Sejalan dengan penelitian Ramadan *et al*., (2024) yang mengidentifikasi keberadaan *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* sp., dan *Escherichia coli* pada minuman es tebu, air tahu serta es teh. Kontaminasi bakteri tersebut disebabkan oleh pedagang yang tidak menggunakan sarung tangan maupun masker saat berjualan. Selain itu, es batu yang digunakan dibiarkan dalam wadah terbuka dan meningkatkan risiko pencemaran. Menurut Ramadhani, (2023) *Personal hygiene* juga menjadi faktor tingginya kontaminasi *coliform* pada minuman kopi. Faktor lain yang turut berkontribusi adalah lokasi berjualan yang berada di tepi jalan dengan lalu lintas kendaraan yang padat. Sedangkan adanya bakteri *Acinetobacter sp* pada minuman tersebut karena merupakan saprofit yang hidup secara bebas

dan hampir ditemui di mana saja di sekitar lingkungan tergantung dari jenis spesiesnya. Spesies atau genus tertentu yang berbeda bisa ditemui di tanah, air, makanan, manusia ataupun binatang tergantung dari jenis spesiesnya (Suraya *et al*., 2023).

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Yustika *et al*., (2022) menyatakan bahwa faktor-faktor seperti lokasi, peralatan, dan bahan yang kotor serta berdebu dapat menjadi tempat berkembang biaknya bakteri *Enterobacter sp.* dan *Klebsiella sp.* pada minuman kopi. Kondisi sanitasi minuman juga sangat dipengaruhi oleh kesehatan orang yang menangani makanan atau minuman. Disisi lain, penyimpanan peralatan, bahan, dan kemasan yang tidak memadai atau tidak tertutup rapat juga dapat menyebabkan kontaminasi bakteri pada minuman.

Serratia marcescens teridentifikasi sebagai bakteri yang berpotensi mencemari produk melalui udara di sekitar lingkungan penjualan. Penelitian oleh Yobee *et al*., (2017) membuktikan bahwa *S. marcescens* dapat terdeteksi pada sampel udara, sehingga mendukung kemungkinan kontaminasi melalui media tersebut. Pertumbuhan bakteri dalam minuman tidak hanya dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi sebagai sumber makanan, tetapi juga sangat ditentukan oleh kondisi lingkungan dan suhu yang mendukung. Dalam lingkungan yang optimal, satu sel bakteri dapat mengalami pembelahan setiap 20 hingga 30 menit, sehingga berdasarkan estimasi laboratorium, jumlahnya dapat meningkat menjadi sekitar 2 juta sel hanya dalam kurun waktu 7 jam. Kecepatan pertumbuhan bakteri ini tidak semata-mata ditentukan oleh waktu, melainkan juga dipengaruhi oleh berbagai faktor pendukung lainnya (Jiastuti, 2018). Faktor-faktor tersebut terbagi menjadi dua kategori utama, yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik mencakup karakteristik bawaan dari bahan minuman seperti tingkat keasaman (pH) dan kadar air (kelembapan), sedangkan faktor ekstrinsik mencakup aspek-aspek seperti proses pengolahan, metode penyimpanan, dan jenis kemasan, yang secara keseluruhan memengaruhi kondisi lingkungan tempat makanan atau minuman disimpan (Jiastuti, 2018).

Mencuci tangan atau menggunakan sarung tangan sebelum meracik minuman kopi merupakan salah satu langkah protektif yang efektif dalam menurunkan risiko kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan. Selain itu, praktik sanitasi dalam penyimpanan minuman juga merupakan bagian penting dari upaya penjamah minuman dalam menjaga kebersihan dan keamanan produk agar tetap layak konsumsi serta terhindar dari kontaminasi bakteri (Nurseni *et al*., 2025). Disisi lain, dalam proses produksi makanan dan minuman, penerapan tindakan *higiene* dan sanitasi yang merupakan bagian dari upaya menjaga kesehatan lingkungan.

Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa minuman kopi yang diperjualbelikan pada berbagai daerah di Indonesia tidak memenuhi syarat mutu SNI. Didalam penelitian Yustika *et al*., (2022) mendapatkan bahwa sebagian besar minuman kekinian yang terdapat di Kota Salatiga belum memenuhi standar SNI karena cemaran bakteri *coliform* yang tinggi. Sebanyak 96,67% sampel minuman kekinian yang diteliti di wilayah Kota Salatiga terkonfirmasi mengandung bakteri *coliform*, yang meliputi bakteri *E. coli, Enterobacter sp., dan Klebsiella sp.*. Pada beberapa sampel minuman yang diteliti juga terdapat bakteri *non coliform* seperti *Shigella sp., Acinetobacter, dan Staphylococcus.*

Ramadhani, (2023) juga melakukan analisis cemaran bakteri *Escherichia coli dan Staphylococcus aureus* pada minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang dan menemukan hasil uji Angka Lempeng Total melebihi batas standar dengan nilai cemaran tertinggi 1,1 x 105 koloni/ml dan hasil uji cemaran *Escherichia coli dan Staphylococcus aureus* dari 14 sampel menunjukkan bahwa 8 sampel positif *E. coli* dengan nilai cemaran tertinggi >1100/ml dan 13 sampel terkontaminasi *S. aureus* dengan nilai cemaran tertinggi 6,3 x 105. Hal tersebut mendukung hasil penelitian ini yakni ditemukannya jenis bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter hormaechei*, dan *Enterobacter cloacae/asburiae*, yang tergolong dalam kelompok bakteri *coliform*. Selain itu, penelitian ini juga menemukan bakteri *Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter calcoaceticus/radioresistens*,

Acinetobacter seifertii, dan *Serratia marcescens* yang tidak tergolong dalam bakteri *coliform.*

Penelitian ini memiliki keterbatasan yakni hasil belum dapat menentukan tingkat cemaran pada sampel sehingga tidak dapat dibandingkan dengan kriteria minuman yang memenuhi SNI tentang batas cemaran mikroba dalam pangan 7388 : 2009. Dengan demikian , penelitian lebih lanjut masih diperlukan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dari 12 sampel minuman kopi keliling dapat disimpulan bahwa :

1. Sebanyak 10 sampel teridentifikasi mengandung bakteri menggunakan metode MALDI-TOF
2. Hasil identifikasi bakteri pada 12 sampel ditemukan 3 sampel mengandung bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan tidak ditemukan adanya bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., maupun *Shigella* sp. pada seluruh sampel yang diuji.
3. Bakteri lain yang ditemukan selain *Klebsiella pneumoniae* adalah*, Enterobacter hormaechei, Enterobacter cloacea/asburiae, Acinetobacter colcacetticus/radioresistens, Acinetobacter ursingii, Acinetobacter seifertii dan Serratia marcessens.*

SARAN

Setelah melakukan penelitian ini, peneliti dapat menyarankan :

1. Agar penjual minuman kopi keliling dapat melakukan dan menerapkan kebersihan lingkungan pengolahan dan pembuatan minuman kopi sebagai upaya mencegah terjadinya kontaminasi cemaran mikroorganisme.
2. Agar masyarakat dapat memilih minuman kopi yang berkualitas baik dan tidak tercemar dengan memperhatikan bau dan rasa pada minuman kopi.
3. Dinas Kesehatan atau Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), diharapkan mampu melakukan pengawasan dan pengecekan secara berkala terhadap potensi cemaran mikroorganisme pada minuman kopi yang dijual secara keliling guna menjamin keamanan pangan bagi masyarakat
4. Bagi peneliti selanjutnya, disarankan untuk melakukan identifikasi bakteri secara kuantitatif dengan menggunakan metode Tabung ganda, MPN, ALT atau membran filter sehingga dapat diperoleh informasi yang lebih jelas mengenai tingkat cemaran mikroorganisme.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tuhan yang Maha Esa yang Telah memberikan kesehatan dan kekuatan untuk mengerjakan semuanya dengan baik dan kepada orangtua beserta keluarga tercinta yang selalu dukungan dan semangat. Terima kasih yang sebesar besarnya kepada : Bapak Rusli,. Sp, FRS, Apt selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar, Bapak Rahman, S.Si, M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Ibu Hj. Syahida Djasang, SKM, M. MKes, selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, bapak M.Askar, S.Kep., Ns. M.Kes selaku Pembimbing I sekaligus pembimbing akademik, Ibu Raafika, S.Si.,M.Kes selaku pembimbing II dan bapak Alfin Resya Virgiawan, S.ST.,M.Si selaku penguji serta teman-teman sejawat yang telah menemani penliti selama jadi mahasiswa di TLM.

DAFTAR PUSTAKA

Aji, O. R., & Fiani, N. N. (2021). Deteksi Keberadaan Coliform dan Escherichia coli Pada Es Batu Dari Penjual Minuman Di Sekitar Kampus 4 Universitas Ahmad Dahlan. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, *8*(2), 222. https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p05

Ashbolt, N., Grabow, W., & Snozzi, M. (2001). Indicators of microbial water quality. *Water Quality: Guidelines, Standards and Health*, *Grabow 1996*, 289–316. https://doi.org/10.4324/9781315693606

Calderaro, A., & Chezzi, C. (2024). MALDI-TOF MS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory. *Microorganisms*, *12*(2). https://doi.org/10.3390/microorganisms12020322

Hadizah, N., Rukaya, B. E., & Syuhada. (2022). Identifikasi Bakteri Patogen Gram Negatif Pada Alat Praktikum Mikrobiologi Di Laboratorium Central Stikes Maharani Malang. *Journal Borneo Science Technology and Health Journal Artikel*, *2*(2), 86–92.

Husain, R. F., Makkadafi, S. P., & Aina, G. Q. (2023). Identifikasi Bakteri Patogen Pada Minuman Susu Formula 2 Jam Setelah Diseduh. *Jambura Journal of Health Sciences and Research*, *5*(3), 825–833. https://doi.org/10.35971/jjhsr.v5i3.20478

Jiastuti, T. (2018). Higiene Sanitasi Pengelolaan Makanan dan Keberadaan Bakteri pada Makanan Jadi di RSUD Dr. Harjono Ponorogo. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, *10*(1), 13. https://e-journal.unair.ac.id/JKL/article/view/9382

Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Alga Turbinaria Ornata (Turner) J. Agardh Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, *8*(2), 351. https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29301

Labunda, A. I., Fatayati, I., & Slamet, S. (2024). Identifikasi Bakteri Klebsiella pneumoniae pada SWAB Luka Diabetes Mellitus di Klinik Perawatan Luka Kota Pontianak. *MAHESA : Malahayati Health Student Journal*, *4*(2), 598–604. https://doi.org/10.33024/mahesa.v4i2.13207

Luo, L. L., Cao, W., Chen, W. W., Zhang, R. R., Jing, L. J., Chen, H. P., Yu, F. Y., & Yue, J. (2018). Evaluation of the VITEK MS knowledge base version 3.0 for the identification of clinically relevant Mycobacterium species article. *Emerging Microbes and Infections*, *7*(1). https://doi.org/10.1038/s41426-018-0120-3

Martiny, D., Busson, L., Wybo, I., Ait El Haj, R., Dediste, A., & Vandenberg, O. (2012). Comparison of the Microflex LT and Vitek MS systems for routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(4), 1313–1325. https://doi.org/10.1128/JCM.05971-11

Mulyati, S., Mursid Raharjo, & Nurjazuli. (2024). Factors Associated with the Presence of E.coli in Food: Literature Review. *Media Publikasi Promosi Kesehatan Indonesia (MPPKI)*, *7*(7), 1804–1810. https://doi.org/10.56338/mppki.v7i7.5325

Nurseni, Tosepu, R., & Nurmaladewi. (2025). Gambaran Hygiene Penjamah, Sanitasi Tempat Pengolahan Dan Keberdaan Bakteri Salmonella Typhi Pada Minuman Thai Tea Di Kecamatan Wua Wua Kota Kendari. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, *1*(1), 26–35.

Penyakit, B. T. K. L. D. P. (2022). *Pemetaan Penyakit Berpotensi KL Di Provinsi Sulawesi Selatan Periode : Semester 1 (Minggu 1-24) Tahun 2022*. Balai Teknik Kesehatan Lingkungan Dan Pengendalian Penyakit (BTKLPP). https://www.btklmakassar.or.id/index.php?target=infografis&hal=UHJvcC4gU3VsYXdlc2kgU2VsYXRhbg==

Purwanto, D. S., & Astrawinata, D. A. W. (2019). Pemeriksaan Laboratorium sebagai Indikator Sepsis dan Syok Septik. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, *11*(1), 1. https://doi.org/10.35790/jbm.11.1.2019.23204

Ramadan, A., Jordan, A., Ardhani, A. R., Monalita, R., Munardi, fhatia natasya, Syahdilla, A., Nuswantoro, A., & Triana, L. (2024). Identifikasi Bakteri Coliform pada Minuman Air Tahu dan Air Tebu yang Dijual di Wilayah Kota Pontianak. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, *7*(2), 149. https://doi.org/10.30602/jlk.v7i2.1470

Ramadhani, alifia syahira. (2023). Analisis cemaran bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus pada minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. In *AT-TAWASSUTH: Jurnal Ekonomi Islam: Vol. VIII* (Issue I).

Riga, P. N., Buntuan, V., & Rares, F. (2015). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Aerob Yang Dapat Menyebabkan Infeksi Nosokomial Di Ruangan Instalasi Gizi Blu Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, *3*(1). https://doi.org/10.35790/ebm.3.1.2015.6644

Rychert, J. (2019). Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the

Identification of Microorganisms. *Journal of Infectiology*, *2*(4), 1–5. https://doi.org/10.29245/2689-9981/2019/4.1142

Suraya, U., Yasin, M. N., & Hermasyah. (2023). Identifikasi Jenis Bakteri yang Ditemukan pada Ikan Tapah (Wallago leeri)di Hulu Sungai Sebangau2. *JurnalIlmuHewanTropika*, *12*(1), 1–7.

Umaruddin, Adnyana, i gede angga, Rohayati, Slamet, nangsih sulastri, Sembiring, F., & Rakanita, Y. (2019). Bakteriologi 2. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 1). CV Media Sains Indonnesia.

Wulandari, R., Budi, R., & Nony, N. (2024). Identifikasi dan Uji Sensitivitas Antibiotik pada Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih di RS Soeradji Tirtonegoro Klaten. *Medical Journal Of Soeradji*, *01*(02), 122–132.

Yobee, F. E. A., Rares, F. E. S., & Homenta, H. (2017). Isolasi dan identifikasi bakteri aerob yang berpotensi menyebabkan infeksi nosokomial di Irina F ruangan intermediate care (IMC) Bagian Neurologi RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, *5*(1). https://doi.org/10.35790/ebm.5.1.2017.14803

Yustika, A., Wijayanti, A. W., & Kushartanti, R. (2022). Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform Pada Berbagai Minuman Kekinian Yang Dijual Pedagang Kaki Lima Di Kota Salatiga. *Buletin Keslingmas*, *41*(3), 100–107. https://doi.org/10.31983/keslingmas.v41i3.8954