

Rezandis Rezandis

Identifikasi Bakteri Dengan Metode Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF) pada Minu...



Skripsi dan KTI



Skripsi dan KTI D4 & D3 TLM



Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

Document Details

Submission ID

trn:oid:::1:3263062058

Submission Date

May 29, 2025, 9:57 AM GMT+7

Download Date

May 29, 2025, 10:04 AM GMT+7

File Name

REZANDIS_TURNITIN.pdf

File Size

783.1 KB

77 Pages

12,002 Words

75,832 Characters

24% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
 - Quoted Text
-

Top Sources

- 21%  Internet sources
 - 7%  Publications
 - 9%  Submitted works (Student Papers)
-

Top Sources

- 21% Internet sources
- 7% Publications
- 9% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Internet	etheses.uin-malang.ac.id	3%
2	Student papers	Konsorsium Perguruan Tinggi Swasta Indonesia	2%
3	Student papers	Badan PPSPM Kesehatan Kementerian Kesehatan	2%
4	Internet	repository.istn.ac.id	1%
5	Internet	docplayer.info	<1%
6	Internet	core.ac.uk	<1%
7	Internet	ejournal.poltekkes-smg.ac.id	<1%
8	Internet	text-id.123dok.com	<1%
9	Internet	123dok.com	<1%
10	Internet	fr.scribd.com	<1%
11	Internet	pdfcoffee.com	<1%

12	Student papers	Universitas Islam Bandung	<1%
13	Publication	Diana S. Purwanto, Dalima A.W. Astrawinata. "Pemeriksaan Laboratorium sebaga...	<1%
14	Internet	ojs.unud.ac.id	<1%
15	Internet	www.scribd.com	<1%
16	Internet	ejurnal.ung.ac.id	<1%
17	Internet	es.scribd.com	<1%
18	Internet	repository.setiabudi.ac.id	<1%
19	Internet	digilibadmin.unismuh.ac.id	<1%
20	Internet	unkripjournal.com	<1%
21	Internet	adoc.pub	<1%
22	Internet	repository.poltekkes-kdi.ac.id	<1%
23	Internet	pt.scribd.com	<1%
24	Internet	repositori.unimma.ac.id	<1%
25	Student papers	Syiah Kuala University	<1%

26	Student papers	iGroup	<1%
27	Internet	idoc.pub	<1%
28	Publication	Glenaldy Rondonuwu, Billy J. Kepel, Widhi Bodhi. "GAMBARAN BAKTERI RESISTEN...	<1%
29	Internet	bak.undana.ac.id	<1%
30	Internet	journalborneo.com	<1%
31	Internet	susanblogs18.blogspot.com	<1%
32	Student papers	Universitas Muhammadiyah Surakarta	<1%
33	Internet	id.scribd.com	<1%
34	Internet	eprints.umm.ac.id	<1%
35	Internet	jurnal.payungnegeri.ac.id	<1%
36	Internet	www.coursehero.com	<1%
37	Internet	www.referensibiologi.com	<1%
38	Student papers	Universitas Binawan	<1%
39	Internet	repository.usd.ac.id	<1%

40	Internet	lp2m.stikesayani.ac.id	<1%
41	Publication	Aura Iqlima Labunda, Imma Fatayati, Slamet Slamet. "Identifikasi Bakteri Klebsie...	<1%
42	Publication	Tika Fausa Nur Sitaba, Andi Nurlinda, Yusriani. "Identifikasi Kandungan Escheric...	<1%
43	Internet	repository.radenintan.ac.id	<1%
44	Internet	www.kompas.com	<1%
45	Student papers	LL DIKTI IX Turnitin Consortium Part II	<1%
46	Student papers	UIN Raden Intan Lampung	<1%
47	Student papers	Universitas Andalas	<1%
48	Student papers	Universitas Brawijaya	<1%
49	Internet	etd.umy.ac.id	<1%
50	Internet	jurnal.poltekkesbanten.ac.id	<1%
51	Internet	repo.poltekkesbandung.ac.id	<1%
52	Internet	repositori.uin-alauddin.ac.id	<1%
53	Internet	repository.unimus.ac.id	<1%

54	Publication	Ayu Sholaekah, Evi Nurul Hidayati, Sardjiman. "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDI...	<1%
55	Student papers	UIN Maulana Malik Ibrahim Malang	<1%
56	Internet	academic.oup.com	<1%
57	Internet	ayiwahyuni29.blogspot.com	<1%
58	Internet	docobook.com	<1%
59	Internet	repository.ub.ac.id	<1%
60	Student papers	Universitas Slamet Riyadi	<1%
61	Internet	bppsdmk.kemkes.go.id	<1%
62	Internet	dspace.uui.ac.id	<1%
63	Internet	id.123dok.com	<1%
64	Internet	jurnalmahasiswa.stiesia.ac.id	<1%
65	Internet	mplk.politanikoe.ac.id	<1%
66	Internet	repository.itk.ac.id	<1%
67	Publication	Alvi Nurin Deaniera, Elly Rasmikayati, Bobby Rachmat Saefudin, Dika Supyandi, Y...	<1%

68	Publication	Firman Edigan, Suri Ramadhana. "ANALISIS PENERAPAN ZONA SELAMAT SEKOLA...	<1%
69	Publication	Muhammad Nursid, Dedi Novienderi. "KANDUNGAN FUKOSANTIN DAN FENOLIK ...	<1%
70	Internet	jtein.ppj.unp.ac.id	<1%
71	Internet	repository.upi.edu	<1%
72	Publication	Liss Dyah Dewi Arini, Rahaju Muljo Wulandari. "Kontaminasi Bakteri Coliform pad...	<1%
73	Internet	bahren13.wordpress.com	<1%
74	Internet	denyrebel.blogspot.com	<1%
75	Internet	digilib.unila.ac.id	<1%
76	Internet	jurnal.untan.ac.id	<1%
77	Internet	repository.poltekkes-tjk.ac.id	<1%
78	Internet	repository.uin-suska.ac.id	<1%
79	Internet	www.slideshare.net	<1%
80	Publication	Devita Febriani Putri, Tusy Triwahyuni, Jovani Ruth Nadia Saragih. "Activities Of D...	<1%
81	Publication	Ervina Surnianingsi Jufri, Ismail Rahman. "Analisis Cemarkan Bakteri Coliform Pad...	<1%

82	Internet	digilib.uinsgd.ac.id	<1%
83	Internet	eghbj.blogspot.com	<1%
84	Internet	ejournal.unesa.ac.id	<1%
85	Internet	garuda.kemdikbud.go.id	<1%
86	Internet	jazilahdina.wordpress.com	<1%
87	Internet	journal.ipb.ac.id	<1%
88	Internet	kopitubruuk.blogspot.com	<1%
89	Internet	repositori.buddhidharma.ac.id	<1%
90	Internet	repository.upstegal.ac.id	<1%
91	Internet	www.kabarukm.com	<1%
92	Internet	www.luwuraya.com	<1%
93	Internet	www.neliti.com	<1%
94	Publication	Anisah Siregar, Ridwanto Ridwanto, Anny Sartika Daulay, Haris Munandar Nasuti...	<1%
95	Internet	doku.pub	<1%

96	Internet	e-renggar.kemkes.go.id	<1%
97	Publication	Putri Hagalang Sinta, Dewi Klarita Furtuna, Fatmaria Fatmaria. "UJI AKTIVITAS AN...	<1%
98	Internet	jmi.mikoina.or.id	<1%

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Saat ini kopi menjadi salah satu minuman yang sangat digemari oleh masyarakat. Tradisi minum kopi telah menjadi bagian penting dalam merayakan kebersamaan dan mempererat hubungan persaudaraan. Kopi membuka peluang besar sebagai bisnis, yang terlihat dari semakin banyaknya kedai kopi bermunculan di berbagai Kota di Indonesia, termasuk di Makassar (Adithia & Jaya, 2021). Usaha kedai kopi atau kafe semakin berkembang dengan berbagai variasi, mulai dari warung kopi yang menyediakan kopi instan hingga kafe yang menawarkan racikan kopi modern. Biasanya, kopi disajikan menggunakan air panas dengan suhu 90-96°C. Namun, belakangan ini muncul metode penyeduhan baru, yaitu kopi seduh dingin yang menggunakan air bersuhu ruang sekitar 20-25°C (Haryono *et al.*, 2021).

Baru-baru ini, muncul inovasi baru dalam metode penjualan, di mana pelaku usaha menghadirkan konsep kedai kopi berjalan. Kedai ini hadir dalam berbagai bentuk, mulai dari sepeda, motor, hingga yang paling mutakhir menggunakan sepeda listrik. Konsep ini tidak hanya membantu pelaku usaha tetap beroperasi, tetapi juga memberikan kemudahan bagi konsumen untuk menikmati kopi tanpa harus mengunjungi kafe secara langsung (Hardiyanti, 2024).

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.

Salah satu bahan utama dalam penyajian minuman kopi adalah air yang harus dijaga kebersihannya agar kopi aman dikonsumsi bagi masyarakat (Krisno *et al.*, 2021). Hal ini telah diatur dalam SNI 7388:2009, yang mencakup pengujian cemaran mikroba (ALT, *Coliform*, *Clostridium perfringes*, *Salmonella Sp*) dan cemaran logam lainnya (Standar Nasional Indonesia, 2009)

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.* Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Martati (2019) tentang mikroba yang terdapat dalam fermentasi kopi didapatkan bakteri dari kelompok *Bacillus sp*, *Moraxella* dan *Acinetobacter*. Selain itu, terdapat pula bakteri asam laktat, khamir, dan kapang.

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).

Salah satu hasil penelitian Andriani *et al.*, (2024) didapatkan hasil isolasi pada media SSA berwarna hitam menunjukkan bahwa *Salmonella sp.* menghasilkan gas H_2S sebagai hasil pemecahan sodium thiosulfate pada media. Namun, setelah dilakukan konfirmasi menggunakan MALDI-TOF, bakteri tersebut teridentifikasi sebagai *Serratia rubidaea*, salah satu anggota famili *Enterobacteriaceae*.

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

13 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).

6 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.

B. Rumusan Masalah

45 Rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu apakah terdapat bakteri pada minuman kopi yang dijual keliling di kota makassar dengan metode MALDI-TOF

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri pada minuman kopi yang dijual keliling di Kota Makassar dengan metode MALDI-TOF.

2. Tujuan khusus

Untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella Sp.*, *Shigella Sp.*, dan *Klebsiella Sp* dengan metode MALDI-TOF.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini memperkaya pengetahuan dalam bidang mikrobiologi terapan, khususnya terkait penggunaan teknologi MALDI-TOF dalam identifikasi mikroorganisme pada produk pangan.

2. Manfaat praktis

a. Bagi peneliti

Memberi bekal pengalaman untuk mengimplementasikan ilmu pengetahuan khususnya mikrobiologi terapan yang didapatkan selama bangku kuliah ke dalam sebuah karya nyata.

19

b. Bagi mahasiswa lain

Penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan referensi atau kajian untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

9

c. Bagi Masyarakat Umum

Penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi bagi masyarakat untuk memilih dan mengkonsumsi kopi yang di perjual belikan telah memenuhi syarat mutu terutama bagi masyarakat kota Makassar.

31

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan tentang Kopi

1. Definisi kopi

Kopi merupakan tanaman yang tumbuh di wilayah tropis dan dapat dibudidayakan di berbagai lokasi, kecuali di daerah bersuhu sangat panas, karena suhu ekstrem tersebut tidak mendukung pertumbuhan optimalnya. Selama berabad-abad, kopi telah menjadi komoditas bernilai tinggi dan selalu diminati di pasar, karena dapat diolah menjadi minuman yang memiliki rasa yang nikmat. Selain rasanya yang enak, kopi juga bermanfaat untuk menyegarkan tubuh dan pikiran. Mengonsumsi kopi dapat menghilangkan rasa mengantuk dan memberikan energi, membuat tubuh kembali bersemangat. Di pasaran, kopi hadir dalam beragam jenis, namun yang paling sering dibudidayakan secara massal adalah jenis robusta, arabika, dan liberika. (Harun, 2022).

Indonesia berada di urutan ketiga sebagai penghasil kopi terbesar di dunia, menjadikannya salah satu produk utama dalam sektor pertanian nasional. Di tahun 2022, kopi tercatat sebagai komoditas ekspor terbesar kelima di Indonesia, setelah minyak sawit, karet, kakao, dan kelapa, dengan total nilai ekspor

mencapai 1,15 miliar USD dan jumlah volume sebesar 497,97 ribu ton (Widaningsih, 2023).

Selama periode 2001-2023, perkembangan produktivitas kopi berdasarkan jenis menunjukkan bahwa meskipun luas area kopi arabika kurang dari 21% dari total, produktivitasnya cenderung lebih tinggi dibandingkan robusta. Rata-rata produktivitas kopi arabika mencapai 799,72 kg/ha, sedangkan robusta hanya sebesar 724,47 kg/ha. Dalam hal pertumbuhan, produktivitas arabika mencatat peningkatan rata-rata tahunan sebesar 2,89%, jauh lebih tinggi dibandingkan robusta yang hanya tumbuh rata-rata 1,46% per tahun (Widaningsih, 2023).

Pengolahan kopi dimulai dengan prinsip dasar yang mencakup pengelupasan tiga lapisan kulit buah kopi. Proses ini dilanjutkan dengan pengeringan untuk menurunkan kadar air hingga mencapai standar yang ditetapkan oleh Departemen Perdagangan, serta memenuhi persyaratan tertentu sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) (Achadiyah, 2017). Biji kopi bisa diproses dengan berbagai metode, salah satunya adalah dengan melakukan fermentasi. Proses ini bertujuan untuk menghapus lapisan lendir (mucilage) yang masih melekat pada biji. Selama proses fermentasi, terbentuk senyawa volatil dan non-volatil yang berperan dalam penciptaan aroma, kualitas, serta karakteristik dari kopi tersebut. Beberapa senyawa yang

terbentuk di antaranya yaitu kafein, yang termasuk dalam kelompok alkaloid xantin, dan asam klorogenat yang tergolong polifenol dengan sifat antioksidan. Asam klorogenat sendiri merupakan salah satu komponen penting dalam kopi yang memiliki sifat antioksidan yang berpotensi menurunkan tekanan darah dan berat badan (Ridwan, 2022).

Ada banyak teknik penyeduhan kopi. Secara umum, proses ini dapat dibagi menjadi proses suhu tinggi dan rendah. Metode penyeduhan kopi panas yang paling populer adalah teknik Turki, French press, Aeropress, espresso, dan metode infus sederhana. Penyeduhan kopi Turki melibatkan perebusan campuran kopi dengan air (Nowak *et al.*, 2021).

2. Kopi seduh dingin

Cold brew atau kopi seduh dingin, merupakan metode penyeduhan kopi dengan menggunakan air bersuhu rendah, sekitar 40°C, dan membutuhkan waktu ekstraksi antara 12 hingga 24 jam (Istanti *et al.*, 2023). Belakangan ini, banyak masyarakat yang memilih menyeduh kopi pada suhu rendah, sekitar 20°C hingga 25°C, menggunakan metode yang dikenal sebagai *cold brew*. Proses *cold brew* memerlukan waktu penyeduhan yang lebih lama, yaitu 3-24 jam, dibandingkan dengan metode penyeduhan panas. Lama proses penyeduhan ini bertujuan untuk meningkatkan interaksi antara bubuk kopi dan

1 air. Kopi yang diperoleh dari metode *cold brew* umumnya memiliki tingkat keasaman yang lebih rendah dibandingkan kopi yang diseduh dengan air panas, sehingga lebih aman dan nyaman bagi penderita GERD atau masalah lambung seperti maag (Ola *et al.*, 2022).

1 Cara ekstraksi kopi dingin meliputi perendaman secara langsung dan tidak langsung, penyaringan tetesan, serta penggunaan metode French press. Untuk menyeduh kopi dingin menggunakan metode langsung, digunakan air bersuhu ruang, seperti pada metode tetes dingin. Biji kopi yang sudah digiling direndam dalam air dengan perbandingan yang tepat selama 6-24 jam, diikuti dengan proses penyaringan. Dalam metode tetes dingin, air bersuhu 20-25°C diteteskan perlahan ke bubuk kopi yang ditempatkan di penyaring, menghasilkan ekstrak kopi yang relatif pekat dalam wadah penampung (Nowak *et al.*, 2021).

3. Kandungan senyawa dan manfaat kopi

77 Kopi memiliki kandungan senyawa polifenol yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan tinggi, seperti asam fenolik, kafein, asam klorogenat, kumarin, fenol, dan asam sinapik. Kandungan polifenol dalam biji kopi turut menentukan kualitas biji serta efektivitas aktivitas antioksidannya. Polifenol dalam kopi terbukti mampu melindungi hati dari steatosis dan proses fibrogenesis dengan cara meningkatkan keseimbangan lemak serta

88 mengurangi stres oksidatif. Selain itu, polifenol juga berfungsi sebagai agen anti-penuaan dengan menghambat pembentukan radikal bebas pada kulit. (Latunra *et al.*, 2021). Isi ini tergantung pada tipe kopi, cara pengolahan, dan daerah geografis di mana kopi dibudidayakan. Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa polifenol yang dapat menghasilkan metabolit sekunder untuk melindungi dari radiasi ultraviolet serta serangan hama patogen. Selain itu, senyawa fenolik memengaruhi kualitas minuman kopi, terutama dalam aspek keasaman, kepahitan, dan cita rasanya. Kandungan awal senyawa fenolik yang tinggi penting untuk memastikan keberlanjutannya selama proses pengolahan kopi (Maskum *et al.*, 2021).

69 Asam klorogenat merupakan salah satu senyawa polifenol yang terkandung dalam jumlah besar pada kopi dan berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan ini berfungsi menghambat reaksi oksidatif dengan mencegah pembentukan radikal bebas (Afriyanti *et al.*, 2023). Selain itu, antioksidan berperan penting dalam menjaga makanan, sel, dan organ agar tetap terlindungi dari kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidatif degeneratif. Penelitian Ayelign & Sabally (2013) mengungkapkan bahwa asam klorogenat berkontribusi signifikan dalam mencegah berbagai penyakit yang berkaitan dengan stres

oksidatif, termasuk kanker, penyakit kardiovaskular, penuaan, serta gangguan neurodegeneratif.

Kafein merupakan senyawa alkaloid jenis metilxantin (basa purin) yang berbentuk kristal putih dan memiliki sifat psikoaktif. Kafein dalam kopi diketahui memberikan manfaat bagi manusia ketika dikonsumsi, tetapi juga dapat memberikan efek negatif jika tubuh berada dalam kondisi tertentu atau jika dikonsumsi dalam jumlah yang terlalu tinggi. Mengonsumsi kafein bermanfaat untuk meningkatkan kewaspadaan, mengurangi rasa kantuk, dan memperbaiki suasana hati (Latunra *et al.*, 2021). Kafein bekerja dengan cara menghalangi reseptor adenosin tipe A1 dan A2 serta berpengaruh pada sistem saraf otonom, sehingga menetralkan dampak adenosin dan meningkatkan kinerja sistem saraf pusat melalui pelepasan katekolamin (Pradhan *et al.*, 2022). Selain itu, kafein menunjukkan efek anti-obesitas dengan menekan nafsu makan, meningkatkan keseimbangan energi, laju metabolisme basal, dan thermogenesis. Efek tersebut terjadi melalui peningkatan ekspresi uncoupling protein-1 pada jaringan lemak coklat serta aktivasi sistem saraf simpatik. Kafein juga berpotensi membantu penurunan berat badan karena kemampuannya dalam mengurangi nafsu makan. (Mindiroeseno *et al.*, 2024).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Mindiroeseno *et al* (2024) menunjukkan bahwa kopi dapat menurunkan kadar kortisol

dalam darah, sehingga berkontribusi pada relaksasi. Kopi yang mengandung kafein memiliki efek langsung terhadap kadar kortisol serum, namun tidak memengaruhi kadar glukosa darah. Pengaruh kafein terhadap glukosa darah berkaitan dengan sifat euglikemiknya, yang dapat menurunkan sensitivitas insulin dalam jangka pendek sambil menghambat proses glikogenesis pada otot akibat peningkatan pelepasan *epinefrin*.

4. Syarat mutu minuman kopi kemasan

Persyaratan mengenai cemaran mikroba didasarkan SNI 7388 : 2009 yang mengatur batas maksimal keberadaan mikroba dalam produk pangan olahan. Adapun batasan mikroba yang telah diatur dalam peraturan obat dan makanan yaitu *Clostridium perfringens* dengan batas maksimal negatif/100 ml, *Salmonella Sp.* dengan batas maksimal negatif/100 ml, APM *coliform* batas maksimal <2/100 ml dan Angka Lempeng Total (ALT) (20°, 72 jam) batas maksimal 1×10^2 koloni/ml (Standar Nasional Indonesia, 2009)

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella sp.* yang termasuk dalam bakteri *coliform*. Bakteri ini merupakan bakteri yang dapat bersifat patogen dalam tubuh dan keberadaan kedua bakteri dalam minuman mengindikasikan adanya kontaminasi dari kotoran, praktik sanitasi yang tidak memadai, atau penanganan bahan

yang kurang higienis. Meminum cairan yang tercemar oleh bakteri ini bisa mengakibatkan masalah pencernaan yang serius, terutama bagi kelompok yang lebih rentan seperti anak-anak, orang lanjut usia, atau mereka yang memiliki kekebalan tubuh yang rendah. Risiko menjadi lebih serius jika bakteri tersebut memiliki resistensi tinggi terhadap antibiotik, seperti *Klebsiella* penghasil ESBL atau carbapenemase. Selain itu, bakteri *salmonella sp.* juga telah diatur dalam SNI 7388 : 2009 karena resiko kontaminasi fekal. Kehadiran *Salmonella sp.* dalam minuman kopi menunjukkan bahwa bahan baku (air, es batu, atau kopi bubuk) mungkin telah terkontaminasi oleh kotoran (kontaminasi fekal) akibat sanitasi yang buruk.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Yustika *et al.*, (2022) selain bakteri *Coliform (Escherichia coli dan Klebsiella sp.)*, didapatkan pada beberapa sampel minuman yang diteliti bakteri Non *Coliform* seperti *Shigella sp.* jenis bakteri ini dapat menyebabkan diare berat. Kehadiran *Shigella sp.* dalam minuman menunjukkan kontaminasi akibat air atau es yang tidak bersih, berasal dari sumber tercemar, penanganan yang tidak higienis, terutama jika ada kontak dengan tangan yang tidak dicuci setelah buang air besar (kontaminasi fekal).

Beberapa penurunan kualitas minuman kopi kemasan yang disebabkan karena aktivitas mikroba dapat terjadi pada berbagai tahap, mulai dari pascapanen hingga penyimpanan, yaitu :

a. Perubahan cita rasa dan aroma

Fermentasi yang tidak terkontrol dapat menyebabkan perubahan cita rasa dan aroma kopi. Aktivitas mikroba yang berlebihan selama fermentasi dapat menghasilkan senyawa yang tidak diinginkan, sehingga menurunkan kualitas sensorik kopi.

b. Penurunan kadar kafein

Fermentasi biji kopi Arabika dengan mikroorganisme lokal (MOL) dapat menyebabkan penurunan kadar kafein hingga 86,4%. Selain itu, terjadi peningkatan kadar etanol dan nilai pH, yang dapat mempengaruhi kualitas akhir kopi.

c. Kontaminasi oleh mikroba patogen

Selama proses fermentasi, jika tidak diawasi dengan baik, mikroba patogen dapat berkembang biak, menghasilkan senyawa berbahaya, dan menurunkan kualitas serta keamanan kopi.

d. Proses pengolahan kopi

Harus dilakukan dengan memperhatikan kebersihan dan sanitasi. Semua peralatan harus dibersihkan secara

menyeluruh, dan biji kopi harus disimpan dalam kondisi yang kering dan bersih.

e. Pembentukan mikotoksin.

Kondisi penyimpanan yang tidak optimal dapat menyebabkan pertumbuhan jamur penghasil mikotoksin pada biji kopi, yang berbahaya bagi kesehatan dan menurunkan kualitas produk.

f. Penurunan kadar polifenol

Metode pascapanen yang tidak tepat dapat menyebabkan penurunan kadar polifenol dalam biji kopi, yang berperan penting dalam menentukan kualitas dan cita rasa kopi.

g. Degradasi komponen kimia biji kopi

Aktivitas enzimatik mikroba selama fermentasi dapat mempengaruhi komposisi kimia biji kopi, seperti penurunan kadar kafein dan perubahan nilai pH, yang berdampak pada kualitas akhir produk (Winanti *et al.*, 2024).

B. Tinjauan tentang Bakteri

1. Definisi bakteri

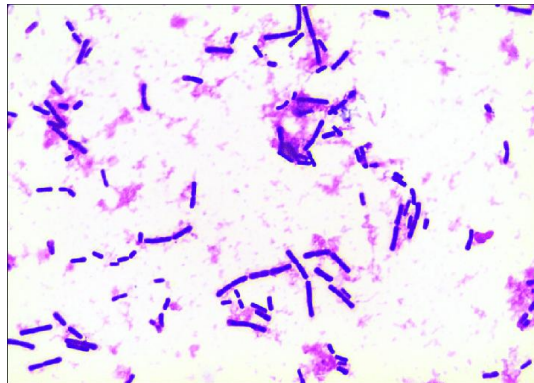
Bakteri adalah mikroorganisme prokariot yang tidak mengandung klorofil. Mereka bersifat sel tunggal dan umumnya tidak memperlihatkan perbedaan yang mencolok, kecuali pada jenis bakteri yang lebih kompleks seperti yang termasuk dalam kelompok *Actinomycetales* (Yunita *et al.*, 2020). Cara hidup

27 bakteri sangat beragam, mulai dari hidup bebas, bersifat parasit, saprofit, hingga menjadi patogen yang dapat menginfeksi manusia, hewan, dan tumbuhan. Bakteri dapat dijumpai di banyak tempat di alam, seperti tanah, udara hingga sekitar 10 km di atas permukaan bumi, lumpur, dan lautan (Suryani, 2021).

Bakteri memiliki beragam bentuk morfologi, yaitu bulat (kokus), batang (basil), dan spiral, yaitu (Apriani *et al.*, 2014) :

a. Bakteri bentuk batang (Basil)

5 Salah satu morfologi bakteri adalah berbentuk basil (batang) seperti yang terlihat pada Gambar 2.1 berikut :



Gambar 2. 1 Bakteri bentuk basil (batang) (Mehmood *et al.*, 2014).

Bakteri berbentuk batang atau basil (*Bacillus*) dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan penataan selnya:

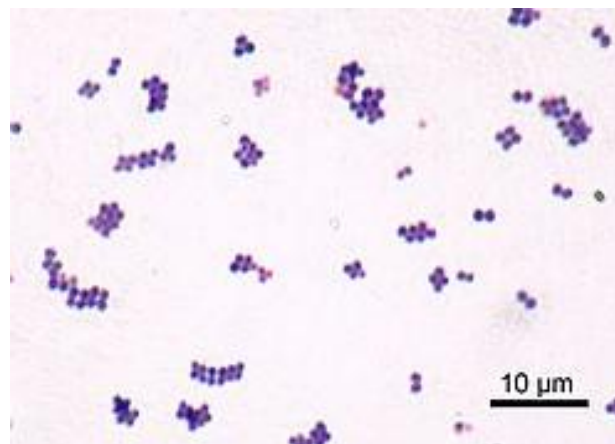
- 1) Monobasil (batang tunggal): bakteri yang berbentuk satu batang tunggal, seperti *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*.

2) Diplobasil (berkelompok dua-dua): bakteri batang yang tersusun berpasangan dalam dua sel, seperti *Renibacterium salmoninarum*.

3) Streptobasil (rantai batang): bakteri berbentuk batang yang tersusun membentuk rantai, seperti *Bacillus anthracis* dan *Azotobacter* sp.

b. Bakteri bentuk bulat (Coccus)

Morfologi bakteri selain bentuk basil adalah berbentuk bulat (Coccus) seperti yang terlihat pada Gambar 2.2 berikut:



Gambar 2. 2 Bakteri bentuk coccus (bulat)
(Apriani, 2022)

Bakteri berbentuk bulat (*coccus*) dapat dikelompokkan menjadi beberapa jenis berdasarkan penataan selnya:

1) Monokokus

Bakteri berbentuk bulat tunggal, contohnya *Neisseria gonorrhoeae*.

2) Diplokokus (diplococci)

Bakteri berbentuk bulat yang tersusun berpasangan (dua-dua), contohnya *Diplococcus pneumoniae*.

3) Sarkina

Bakteri berbentuk bulat yang tersusun dalam kelompok 8 sel atau lebih, sehingga tampak seperti kubus.

4) Streptokokus

Bakteri berbentuk bulat yang membentuk rantai, baik pendek maupun panjang.

5) Stafilokokus

Bakteri berbentuk bulat yang berkoloni membentuk kelompok sel tidak teratur, menyerupai kumpulan buah anggur.

c. Bakteri berbentuk spiral

Bakteri berbentuk spiral dapat dikelompokkan menjadi beberapa jenis:

1) Spiral

Bakteri dengan bentuk spiral sempurna, contohnya *Spirillum*.

2) Vibrio

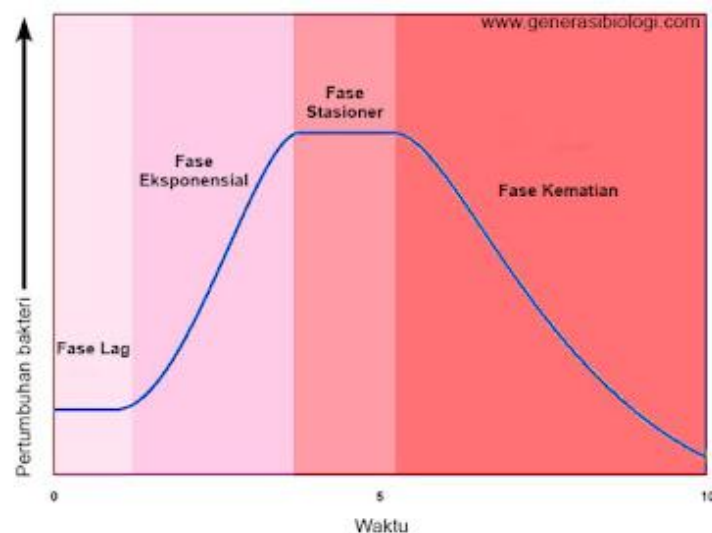
Bakteri berbentuk spiral tidak sempurna, contohnya *Vibrio cholerae*.

3) Spiroseta

Bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur, dengan tubuh yang dapat memanjang dan mengerut saat bergerak, contohnya *Treponema pallidum*.

2. Fase pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan bakteri terbagi ke dalam empat tahap utama, yaitu: fase lag (fase lambat atau tertinggal), fase eksponensial (fase pertumbuhan cepat atau logaritmik), fase stasioner, dan fase penurunan populasi. Setiap fase mencerminkan kondisi bakteri selama berada di media pertumbuhan, dengan setiap tahap memiliki periode transisi sebelum semua sel bergerak ke fase berikutnya (Yunita *et al.*, 2020). Fase pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.3 berikut :



Gambar 2. 3 Grafik fase pertumbuhan bakteri (Yunita, 2016)

34

a. Fase lag/ adaptasi

Pada fase lag, bakteri melakukan penyesuaian terhadap lingkungan barunya. Lama waktu fase ini dipengaruhi oleh sejumlah faktor, antara lain pH, suhu, susunan medium, jumlah sel yang digunakan pada awal kultur, serta sifat fisiologis mikroba dari medium yang digunakan sebelumnya. Setelah inokulasi, ukuran sel mulai meningkat meskipun pembelahan sel masih sedikit atau bahkan belum terjadi. Pada tahap ini, terjadi peningkatan produksi makromolekul, aktivitas metabolisme, serta sensitivitas terhadap faktor kimia dan fisik. Fase ini juga berfungsi sebagai periode adaptasi untuk meningkatkan metabolit dalam populasi sel, yang nantinya akan mengarah pada sintesis sel secara optimal.

4

b. Fase tumbuh dipercepat (Logaritme, Eksponensial, Logaritma phase)

Bakteri mengalami perkembangan yang sangat cepat. Sel-sel terbagi dengan aktif menjadi dua, dan hal ini dipengaruhi oleh faktor genetik yang ada pada bakteri. Sel-sel berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang, di mana massa serta jumlah sel meningkat secara proporsional, karena struktur sel dan kadar metabolit tetap stabil. Laju pertumbuhan pada fase ini bersifat sejajar dan dapat

dijelaskan melalui fungsi eksponensial alami. Pembelahan sel terjadi pada kecepatan konstan yang dipengaruhi oleh sifat internal bakteri dan kondisi lingkungannya.

Beberapa faktor yang memengaruhi peningkatan pertumbuhan ini meliputi:

1) Faktor biologis

Mencakup bentuk dan sifat bakteri dalam hubungannya dengan lingkungan serta interaksi antarorganisme, terutama jika terdapat lebih dari satu jenis mikroorganisme.

2) Faktor abiotik

Mencakup sumber nutrisi dalam lingkungan, suhu, konsentrasi oksigen, cahaya, dan faktor lingkungan lainnya. Selama fase ini, stabilitas pertumbuhan dapat tercapai, sehingga memungkinkan pertumbuhan eksponensial yang optimal. Fase ini menentukan kapasitas reproduksi mikroorganisme secara maksimal.

3) Kemampuan hidup dan reproduksi

Sel memiliki kapasitas untuk hidup dan bereproduksi secara efektif. Namun, fase de-growth akan terjadi di akhir fase log sebelum memasuki fase stasioner. Pada tahap ini, penambahan jumlah individu mulai menurun akibat berkurangnya sumber nutrisi dan faktor lainnya.

4) Fase pertumbuhan lambat

Ketika fase logaritmik mencapai puncaknya, pertumbuhan melambat karena nutrisi yang tersedia mulai terbatas. Nutrisi ini menginduksi perkembangan bakteri tetapi tidak lagi mencukupi untuk mendukung pertumbuhan yang pesat.

c. Fase stasioner

Tahap ini berlangsung ketika laju pertumbuhan bakteri seimbang dengan kecepatan kematiannya, sehingga total jumlah bakteri tidak berubah. Keseimbangan ini terjadi karena perlambatan proses pembelahan sel akibat kurangnya nutrisi dan akumulasi zat beracun yang mengganggu pembelahan. Setelah melewati fase ini, bakteri akan memasuki tahap kematian, di mana jumlah sel yang mati melebihi sel yang baru terbentuk, mengakibatkan penurunan jumlah populasi secara keseluruhan. Pada fase ini, jumlah sel hidup dapat tetap stabil untuk beberapa waktu, tergantung pada spesies bakteri, meskipun seiring waktu populasi akan mengalami penurunan secara bertahap.

d. Fase kematian

Jumlah bakteri pada tahap ini lebih banyak yang sudah mati daripada jumlah yang sedang berkembang biak. Tahap

kematian ini ditunjukkan oleh tingkat kematian bakteri yang tinggi dan penurunan populasi secara signifikan. Faktor utama yang memicu kondisi ini adalah habisnya nutrisi serta penumpukan produk limbah beracun yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri. Keadaan ini dapat berlangsung selama beberapa minggu, bergantung pada spesies bakteri dan faktor lingkungan sekitarnya. Jika kondisi ini terus berlanjut, bakteri kemungkinan besar tidak akan mampu berfungsi lagi di lingkungan barunya.

C. Tinjauan tentang Bakteri Pencemar pada Minuman Kopi

Kopi merupakan salah satu minuman yang sangat diminati oleh masyarakat di berbagai belahan dunia. Popularitasnya tidak hanya karena cita rasanya yang khas, tetapi juga didukung oleh aspek tradisi, sejarah, sosial, serta nilai ekonominya, yang menjadikannya memiliki daya tarik tersendiri bagi berbagai kalangan. Di Indonesia, konsumsi kopi kini telah berkembang menjadi bagian dari gaya hidup masyarakat, sehingga fungsinya tidak lagi sebatas kebutuhan sehari-hari (Kusumaningrum & Supradewi, 2019).

Saat ini, produk kopi yang telah diproses menjadi bagian dari gaya hidup sosial. Minuman kopi kini tidak hanya disukai oleh generasi muda, tetapi juga oleh orang dewasa. Terdapat berbagai macam jenis kopi, namun saat ini jenis yang banyak dijumpai adalah

kopi arabika dan kopi robusta (Ridwan, 2022). Meningkatnya konsumsi kopi telah mendorong pertumbuhan pesat *coffee shop* di berbagai kota besar di Indonesia. Kehadiran *coffee shop* ini mendapat respons positif dari masyarakat, karena dianggap mampu memenuhi kebutuhan mereka. Sebagian besar *coffee shop* sering dimanfaatkan sebagai tempat untuk berdiskusi dengan relasi atau sekadar bersantai bersama teman sambil menikmati sajian kopi (Kusumaningrum & Supradewi, 2019).

Saat menyeduh kopi, kedai dapat memilih metode penyeduhan panas atau dingin (*cold brew*). Proses penyeduhan dingin menggunakan air dingin dengan merendam bubuk kopi dalam waktu yang cukup lama, menciptakan kondisi yang mendukung pertumbuhan mikroba yang mungkin ada pada bubuk kopi atau air seduhan. Kopi yang diseduh secara dingin cenderung memiliki tingkat keasaman lebih rendah dibandingkan metode seduh panas, yang biasanya menarik lebih banyak komponen asam. Pada metode penyeduhan dingin, tingkat keasaman, yang diukur berdasarkan pH, berkisar antara 4,85 hingga 5,10 (Rahayu, 2024)

Proses pencemaran bakteri pada minuman kopi dapat diakibatkan karena air yang digunakan, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kusmawati & Rahayu (2019) disebutkan bahwa dari 20 sampel yang diambil dari depo air minum isi ulang (DAMIU) di Kota Malang, 18 di antaranya terkontaminasi *Coliform*, dan 10

1 sampel diketahui mengandung *Escherichia coli*. Hal ini mengindikasikan bahwa kemungkinan kontaminasi bakteri *Escherichia coli* dapat berasal dari air isi ulang yang digunakan di kafe tersebut. Selain itu, cemaran juga dapat disebabkan karena suhu ruang pada saat pembuatan minuman kopi sebagaimana Kopi seduh dingin disiapkan menggunakan air dengan suhu 20-25°C tanpa melibatkan air panas. Kondisi ini membuat suhu ruangan tersebut tidak efektif untuk membunuh mikroba yang mungkin terdapat dalam minuman kopi. Selain itu, partikel-partikel seperti tetesan air, debu, atau bahan partikulat yang mengandung mikroba. Umumnya, bakteri yang sering ditemukan meliputi basil gram positif berspora dan non-spora, basil gram negatif, serta kokus gram positif (Sumantri *et al.*, 2021)

1 Berdasarkan Standar Nasional Indonesia 7388 : 2009 yang menjadi cemaran mikroba pada minuman kopi kemasan adalah *Clostridiium perfringes*, *Salmonella Sp*, bakteri *coliform* kapang dan khamir. Adapun batas cemaran yang telah ditentukan adalah <2/100ml bakteri *Escherichia coli* dalam minuman kopi yang telah diatur dalam SNI 7399:2009 Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Ramadhani (2023) dari 14 sampel menunjukkan bahwa 8 sampel positif *Escherichia coli* dengan nilai cemaran tertinggi >1.100/ml.

Peneliti dari Pusat Keamanan Pangan Universitas Georgia mengungkapkan bahwa kopi seduh dingin (*cold brew*) berpotensi mengandung empat jenis patogen umum penyebab penyakit bawaan makanan, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella Sp*, *Bacillus cereus*, dan *Listeria monocytogenes*. Dalam penelitian tersebut, keempat bakteri ini sengaja dimasukkan ke dalam kopi *cold brew*. Hasilnya menunjukkan bahwa bakteri-bakteri tersebut dapat bertahan hidup hingga 12 hari di dalam minuman tersebut (Amadea, 2024). Berikut beberapa jenis bakteri yang sering ditemukan pada minuman kopi :

51 1. Bakteri *Escherichia coli*

12 *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri koliform yang termasuk dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. Keluarga ini terdiri dari bakteri enterik, yaitu bakteri yang mampu hidup dan bertahan di saluran pencernaan. Bentuk *Escherichia coli* adalah batang, bersifat Gram-negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan merupakan flora normal di usus mamalia. Beberapa strain bakteri ini bermanfaat bagi manusia, seperti membantu mencegah kolonisasi bakteri patogen di saluran pencernaan. Namun, ada juga beberapa kelompok yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia, yang dikenal sebagai *Escherichia coli* patogen (Rahayu *et al.*, 2018).

11

Escherichia coli patogen pertama kali diidentifikasi pada tahun 1935 sebagai penyebab diare. *Escherichia coli* patogen yang menyebabkan diare, atau dikenal sebagai *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC), terbagi menjadi enam jenis: *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC), *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC), *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC), dan *Diffusely Adherent Escherichia coli* (DAEC) (Rahayu et al., 2018).



Gambar 2. 4 bakteri *Escherichia coli*

(Rahayu et al., 2018)

1

Klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat sebagai

5

berikut (Umaruddin et al., 2019) :

Kingdom : Bakteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

1 Menurut Umaruddin *et al.*, (2019) karakteristik bakteri *Escherichia coli* dapat diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi awal *Escherichia coli* dapat dilakukan dengan cepat menggunakan media diferensial. Karakteristik *Escherichia coli* dapat dikenali melalui hasil kultur dan pengujian biokimia berikut ini:

- a. *Escherichia coli* membentuk koloni berwarna merah muda di media *Mac Conkey Agar* karena kemampuannya memfermentasi laktosa.
- b. Koloni *Escherichia coli* menghasilkan zona hemolisis di sekelilingnya saat ditumbuhkan pada media agar darah.
- c. Umumnya bersifat motil, kecuali pada jenis *EIEC*.
- d. Memfermentasi laktosa, glukosa, dan beberapa gula lain dengan menghasilkan asam dan gas, kecuali sukrosa.
- e. Menunjukkan pola reaksi IMViC (+/+/-/-).
- f. Tidak menghasilkan enzim oksidase (oksidase negatif).

17 Kehadiran bakteri *Escherichia coli* dalam air digunakan sebagai penanda kualitas air minum, karena menunjukkan adanya kontaminasi dari tinja. Kondisi ini juga menandakan potensi keberadaan mikroorganisme enterik patogen lainnya. 11 Meskipun *Escherichia coli* yang ditemukan dalam air biasanya

6 merupakan strain non-patogen, terkadang strain patogen, seperti *enterotoxigenic E. coli* (ETEC) dan *shiga toxin-producing E. coli* (STEC) atau *enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), juga dapat terdeteksi (Rahayu *et al.*, 2018).

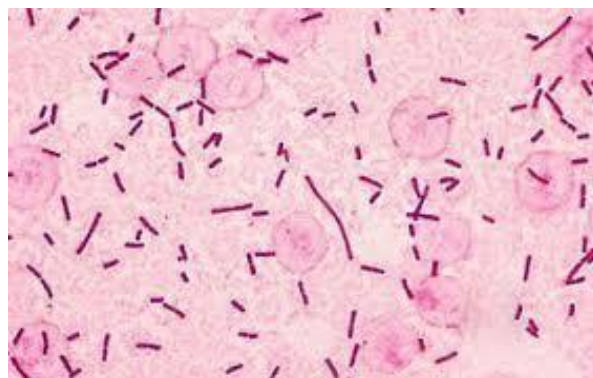
Sayuran mentah khususnya sayuran berdaun hijau, kecambah, serta air minum dan es, berisiko terkontaminasi *E. coli*. Di berbagai negara berkembang, kasus keracunan makanan akibat konsumsi sayuran mentah yang tercemar bakteri patogen terus meningkat, menyebabkan tingginya angka kematian, kesakitan, dan kerugian ekonomi yang signifikan. Sayuran dan buah mentah, termasuk jus yang tidak melalui proses pasteurisasi, sangat rentan terhadap kontaminasi *E. coli*. Kontaminasi dapat berlangsung pada berbagai tahapan, mulai dari penanaman di lahan pertanian, proses panen, pencucian, pengupasan, hingga tahap pengemasan dan penyajian sebelum dikonsumsi (Rahayu *et al.*, 2018).

25 2. Bakteri *Salmonella Sp.*

Salmonella adalah bakteri berbentuk batang pendek (1–2 μm), Gram-negatif, tidak membentuk spora, dan umumnya bersifat motil dengan flagela peritrikus. Bakteri ini merupakan anaerob fakultatif yang secara biokimia memiliki kemampuan memfermentasi glukosa dengan menghasilkan asam dan gas, tetapi tidak dapat memanfaatkan laktosa maupun sukrosa. Isolasi

46 menggunakan media MCA, koloni *Salmonella sp.* membuat agar tampak tidak berwarna (bening) pada media ini akan menghasilkan koloni yang tidak berwarna. Ini disebabkan karena bakteri *Salmonella sp.* tidak melakukan fermentasi laktosa (Dwi *et al.*, 2017).

8 Suhu ideal untuk pertumbuhan *Salmonella* 38°C. Suhu yang paling mendukung bagi pertumbuhan adalah 37°C, namun beberapa pertumbuhan yang teramati biasanya dapat berlangsung pada suhu antara 5 hingga 47°C, dan akan mati pada suhu 60°C dalam waktu 10 menit. *Salmonella* mampu berkembang dalam kisaran pH sekitar 4,0 hingga 9,0, dengan pH yang paling sesuai sekitar 7,0, meskipun beberapa fitur sel seperti flagela dan fimbria mungkin tidak muncul dalam kondisi pH yang ekstrim dan dapat tumbuh di lingkungan dengan aktivitas air (*Aw*) antara 0,93 hingga 0,98, serta dapat mentolerir NaCl hingga 8%.



Gambar 2. 5 Bakteri *Salmonella Sp.*
(Umaruddin *et al.*, 2019)

2 *Salmonella* mampu tumbuh pada aktivitas air rendah ($a_w \leq 0,93$), meskipun responsnya bervariasi tergantung pada jenis strain dan pangan. Bakteri ini juga dapat bertahan pada rentang pH 3,6–9,5, dengan pertumbuhan optimal pada pH mendekati netral (Umaruddin *et al.*, 2019).

Salmonella Sp. yang muncul melalui kotoran bisa mencemari padang, sayuran, tanah, makanan, dan sumber air. Meskipun demikian, mereka mampu bertahan hingga 9 bulan atau lebih dalam kondisi seperti tanah yang lembab, air, partikel kotoran, terutama dari hewan, serta darah, tulang, dan tepung ikan. Kontaminasi di lingkungan bisa menjadi sumber penularan bagi hewan lain serta manusia.

3. Bakteri *Shigella Sp.*

Shigella sp. merupakan bakteri non-motil yang tidak memiliki flagela dan tidak memfermentasi laktosa. Identifikasi lebih lanjut dilakukan melalui uji manitol. Jika hasil uji manitol negatif, bakteri tersebut termasuk dalam kelompok *Shigella dysenteriae*. Sebaliknya, jika hasilnya positif, uji lanjutan diperlukan untuk klasifikasi lebih spesifik. Selain itu, spesies *Shigella* memiliki karakteristik biokimia khas, seperti reaksi negatif terhadap hidrogen sulfida, urease, produksi gas dari glukosa, lisin dekarboksilase, sukrosa, adonitol, inositol, laktosa (dalam 2 hari), kalium sianida, malonat, sitrat, dan salisin. Namun, *Shigella*

menunjukkan hasil positif pada uji metil merah. Saat dikultur pada media agar MacConkey, koloni *Shigella* tampak berwarna agak merah muda dan bening, dengan atau tanpa tepi yang kasar (Umaruddin *et al.*, 2019).

Klasifikasi bakteri *Shigella sp.* Dapat dilihat sebagai berikut (Mustopa *et al.*, 2024) :

Kingdom : Bakteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

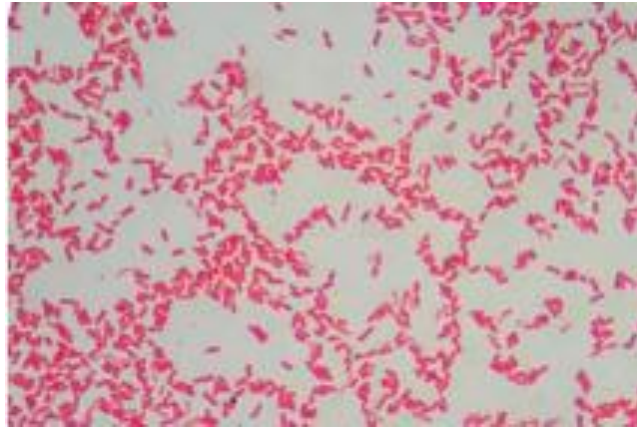
Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Shigella*

Species : *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* dan *Shigella sonnei*.

Shigella adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil) yang bersifat non-motil, tidak membentuk spora, dan tidak memiliki kapsul. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C dan bersifat patogen. *Shigella* merupakan organisme anaerob fakultatif, meskipun pertumbuhannya paling baik terjadi di lingkungan aerobik (Mustopa *et al.*, 2024).



Gambar 2. 6 bakteri *Shigella* sp. (Alifya *et al.*, 2022)

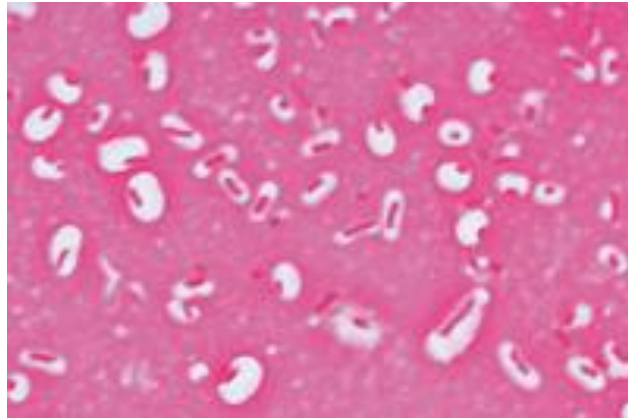
Disentri merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri, dengan disentri basiler umumnya menyerang anak-anak. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Shigella*, yang menyebar melalui makanan dan air yang terkontaminasi atau melalui perantara lalat. Bakteri ini masuk ke saluran pencernaan manusia, menetap di usus besar, dan menyebabkan luka pada dinding usus. Gejala biasanya muncul secara mendadak sekitar dua hari setelah infeksi, meliputi demam, kehilangan nafsu makan, mual, muntah, diare, nyeri perut, perut kembung, serta anak-anak menjadi rewel dan sering mengantuk. Dalam dua hingga tiga hari, penderita dapat mengalami diare berat hingga 20-30 kali sehari, yang berisiko menyebabkan dehidrasi. Jika infeksi semakin parah, kondisi ini dapat berujung pada komplikasi serius hingga kematian (Mustopa *et al.*, 2024).

Infeksi *Shigella* dimulai melalui konsumsi bakteri ini yang terjadi akibat kontaminasi fekal-oral, seperti mengonsumsi

makanan atau minuman yang terkontaminasi. Bakteri ini sangat menular; hanya dengan 10 hingga 100 mikroorganisme sudah cukup untuk menyebabkan penyakit. Hal ini terkait dengan kemampuan *Shigella flexneri* untuk bertahan di lingkungan asam lambung berkat sistem resistensi asam yang dimilikinya. Selain itu, *Shigella* mampu menghambat ekspresi peptida antimikroba yang biasanya dikeluarkan oleh permukaan mukosa usus. Setelah melewati lambung dan usus kecil, bakteri ini mencapai usus besar, tempat terjadinya infeksi. Gejala awal berupa diare disebabkan oleh enterotoksin atau sitotoksin yang diproduksi saat *Shigella* melewati usus kecil. Infeksi ini dikenal sebagai shigellosis, ditandai dengan invasi bakteri pada epitel kolon dan terjadinya kolitis inflamasi. (Umaruddin *et al.*, 2019).

4. Bakteri *Klebsiella Sp.*

Klebsiella sp. memiliki kapsul besar yang terdiri dari polisakarida K, yang menutupi antigen somatik dan dapat diidentifikasi menggunakan tes quellung dengan antiserum khusus. Kapsul ini berfungsi untuk melindungi bakteri dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear dan mencegah kematian bakteri oleh serum bakterisidal. Kehadiran antigen pada kapsul meningkatkan patogenitas *Klebsiella sp* (Indriyanti *et al.*, 2023).



Gambar 2. 7 bakteri *Klebsiella* Sp.

(Cahyaningtyas *et al.*, 2024)

Klebsiella pneumoniae memiliki ciri morfologi berupa bakteri berbentuk batang dengan ukuran bervariasi, dari pendek hingga panjang, yang dapat ditemukan berpasangan atau berderet. Bakteri ini bersifat Gram negatif, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Pertumbuhannya bersifat mukoid karena memiliki kapsul polisakarida yang besar. Pada media *Mac Conkey Agar* *Klebsiella* sp. memberikan perubahan warna media menjadi merah muda (Dwi *et al.*, 2017). Koloni *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan beberapa karakteristik spesifik pada media MCA yang dapat memudahkan dalam proses pengenalan, yaitu koloni biasanya berbentuk bulat atau oval dengan tepi yang licin, memiliki variasi ukuran, namun seringkali memiliki diameter yang cukup besar, berwarna merah muda, dengan tekstur yang halus, berlendir, dan tampak basah (Hadizah *et al.*, 2022).

Spesies ini menunjukkan hasil positif pada uji lisin karboksilase, sitrat, dan reaksi Voges-Proskauer. Secara patogenik, bakteri ini dapat hidup sebagai saprofit di lingkungan seperti air, tanah, makanan, dan sayuran. *Klebsiella pneumoniae* juga dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih, paru-paru, saluran pernapasan, luka, serta septicemia (Cahyaningtyas *et al.*, 2024).

Dari ketiga jenis *Klebsiella* (*Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleroma*, *Klebsiella pneumoniae*), *Klebsiella pneumoniae* merupakan penyebab utama infeksi berat yang dapat memengaruhi kesehatan manusia secara signifikan. Bagian tubuh yang paling rentan terhadap infeksi ini meliputi paru-paru, sistem urin, pembuluh darah, otak, luka, dan juga kulit yang mengalami kerusakan akibat prosedur bedah. Jenis bakteri *Klebsiella* ini mampu menginfeksi berbagai lokasi dalam tubuh, termasuk saluran pernapasan, sistem kemih, sirkulasi darah, luka, atau area yang telah dioperasi, serta otak. (Umaruddin *et al.*, 2019).

D. Tinjauan tentang Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolasi mikroba merupakan teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di luar habitat alaminya. Tujuan dari Teknik ini adalah untuk mendapatkan kultur murni, yaitu kumpulan bakteri yang telah dipisahkan sehingga tidak tercampur dengan jenis

bakteri lainnya (Moses, 2021). Isolasi mikroorganisme dilakukan melalui dua pendekatan utama, yaitu isolasi langsung dan isolasi dengan metode diperkaya. Kedua metode ini diterapkan pada setiap sampel untuk mengoptimalkan perolehan mikroorganisme target. Pendekatan ini didasarkan pada prinsip bahwa populasi setiap jenis mikroorganisme tidak merata, di mana beberapa jenis lebih dominan sementara lainnya kurang mendominasi. Oleh karena itu, diperlukan strategi khusus untuk mengisolasi mikroorganisme tersebut (Pikali *et al.*, 2020). Isolasi bertujuan untuk membedakan kelompok bakteri berdasarkan pola pertumbuhannya serta memperoleh koloni yang terpisah dan tunggal (Moses, 2021).

Metode untuk mengenali mikroba meliputi analisis fisik, biokimia, dan genetik. Analisis fisik umumnya memanfaatkan mikroskop dan teknik pewarnaan, seperti pewarnaan Gram, guna mengamati ciri-ciri morfologi mikroba. Untuk analisis biokimia, digunakan beragam media yang menilai sifat metabolisme dari mikroba yang telah diisolasi. Banyak media biokimia dikembangkan dengan karakteristik selektif dan diferensial. Saat ini, teknik genetik juga diterapkan untuk mempercepat proses identifikasi mikroba. Probe yang berikatan dengan urutan genetik tertentu memungkinkan klasifikasi spesies patogen secara cepat. Teknik *polymerase chain reaction* (PCR) dapat mengidentifikasi urutan genetik spesifik, bahkan jika mikroba hanya ada dalam jumlah kecil. Metode genetik

lain, seperti DNA "sidik jari," menggunakan enzim khusus untuk memotong DNA genom bakteri yang dianalisis (Yunita *et al.*, 2020).

Suarjana dkk (2017) mengatakan nutrisi atau zat makanan yang terkandung pada media pertumbuhan yang diperlukan untuk metabolisme bakteri, yaitu :

- a. Sumber karbon dan energi yang dapat diperoleh dari karbohidrat
- b. Sumber protein berupa pepton yang diperlukan mikroorganisme
- c. Logam dan mineral yang terdiri atas :
 1. Makro komponen : Na, K, Cl, Ca, Mg , Fe, C, N, P, O
 2. Mikro komponen : Zn, Mn, Bi
- d. Sumber vitamin dan air.

Menurut Bintari *et al* (2014) media berdasarkan bentuknya dibedakan atas media kultur bakteri dibagi menjadi tiga jenis, yaitu media cair (broth), media padat (solid), dan media semi-padat.

1) Media cair

Media cair tidak mengandung zat pematat seperti agar, sehingga memiliki konsistensi cair atau encer. Media ini biasanya digunakan untuk menumbuhkan kultur biomassa, melakukan pengujian metabolisme, atau menginokulasi jenis bakteri tertentu. Contoh media cair meliputi *nutrient broth*, *tryptic soy broth*, *thioglycolate broth*, dan *lysogeny broth*.

2) Media padat

Media padat mengandung sekitar 15% zat pematat (agar), yang memberikan tekstur padat. Jenis media ini paling sering digunakan di laboratorium untuk kultivasi bakteri. Inokulasi bakteri pada media padat memungkinkan pembentukan koloni dengan karakteristik unik sesuai spesiesnya. Contoh media padat meliputi *Muller Hinton Agar*, *Nutrient Agar*, *Eosin Methylene Blue Agar*, dan *MacConkey Agar*.

3) Media semi-padat

Media semi-padat mengandung sekitar 0,3–0,4% agar, menghasilkan tekstur yang setengah padat. Media ini biasanya digunakan untuk menguji motilitas bakteri atau sebagai media transportasi spesimen. Contoh media semi-padat meliputi *Sulfide Indole Motility (SIM)*, *Mannitol Motility Medium*, dan *Amies Medium*.

Selain itu media pertumbuhan bakteri juga dapat dibedakan berdasarkan fungsinya yaitu ;

a. Media selektif

Media ini dirancang khusus untuk menumbuhkan jenis bakteri tertentu. Biasanya, media ini mengandung zat yang mendukung pertumbuhan bakteri target sambil menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Contohnya, *Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)* mengandung pewarna metilen biru yang berfungsi menghambat

pertumbuhan bakteri gram positif (Ni Wayan Desi Bintari, dkk, 2014)

3 b. Media diferensial

Media diferensial memungkinkan koloni bakteri dengan sifat fisiologis yang berbeda untuk berkembang, menghasilkan warna yang berbeda pada medium atau mengubah warna media sebagai respons terhadap keberadaan bakteri tertentu. Contoh media diferensial adalah Agar Darah, yang mengandung sel darah merah domba sebagai nutrisi dan indikator pembeda. Beberapa bakteri patogen dapat melisis (memecah) sel darah merah untuk mendapatkan nutrisi dengan melepaskan enzim yang disebut hemolisin (Yunita *et al.*, 2020).

2 c. Media diperkaya

Media diperkaya adalah media yang ditambahkan dengan substansi spesifik pada media dasar untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Substansi yang dapat ditambahkan antara lain darah, serum, albumin, fosfat, dan lainnya.

d. Media penghitung

Media penghitung digunakan khusus untuk menghitung jumlah koloni mikroba dari berbagai sumber, seperti air, susu, atau larutan lain. Contohnya adalah Plate Count Agar (PCA), yang merupakan media standar untuk menghitung total bakteri dari sampel uji.

e. Media penguji

Media penguji adalah media yang digunakan untuk mengkarakterisasi metabolisme bakteri berdasarkan kemampuannya dalam memanfaatkan senyawa tertentu.

f. Media transport

Media transport dirancang untuk transportasi atau pengisian spesimen untuk pemeriksaan mikrobiologi. Misalnya, media Stuart digunakan sebagai media transport spesimen klinis dengan dugaan gonokokus. Selain itu, media ini juga dapat digunakan untuk mengangkut spesimen usap luka, tenggorokan, atau kulit yang dicurigai mengandung bakteri fastidious.

Metode identifikasi mikroba meliputi analisis fisik, biokimia, dan genetik. Analisis fisik umumnya menggunakan mikroskop dan teknik pewarnaan, seperti pewarnaan Gram, untuk mengamati karakteristik morfologi. Analisis biokimia melibatkan berbagai jenis media yang digunakan untuk mengevaluasi sifat metabolisme mikroba yang telah diisolasi. Banyak media biokimia bersifat selektif dan diferensial, yang memungkinkan pemilahan bakteri berdasarkan kemampuan metaboliknya.

Spesimen sering kali diwarnai sebelum diperiksa dengan mikroskop. Sebagian besar teknik pewarnaan bakteri melibatkan pembuatan apusan spesimen, di mana sejumlah kecil sampel diletakkan pada slide kaca. Pada umumnya, apusan ini difiksasi

3 menggunakan panas atau reagen kimia. Fiksasi ini membuat sampel menempel pada slide, mencegahnya tercuci selama proses pewarnaan, serta membunuh sebagian besar sel dalam spesimen, sehingga lebih aman untuk ditangani. Pewarna yang digunakan adalah molekul organik dengan warna berbeda, yang paling umum disebut pewarna dasar. Pewarna dasar yang sering digunakan antara lain biru metilen, violet kristal, safranin, dan hijau perunggu. Terkadang, pewarna asam seperti nigrosin atau tinta India juga digunakan. Pewarna asam bermuatan negatif, sehingga sulit memasuki sel dan hanya mewarnai latar belakang spesimen dalam proses yang disebut pewarnaan negative (Yunita *et al.*, 2020).

4 Uji biokimia terdiri dari berbagai jenis uji yang digunakan untuk mengevaluasi bakteri berdasarkan reaksi enzimatik tertentu. Uji ini memiliki fungsi yang krusial dalam pengenalan spesies mikroba. Proses inokulasi pada media yang membedakan diikuti dengan periode inkubasi dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim tertentu. Keberadaan enzim tersebut bisa diidentifikasi secara kimia tanpa perlu melalui inkubasi, memberikan hasil secara langsung. Ciri-ciri fisiologis atau biokimia yang diperiksa meliputi pengujian fermentasi karbohidrat, yang mencakup adanya pembentukan asam dan gas dalam reaksi terhadap glukosa, laktosa, sukrosa, manitol,

3

maltosa, arabinosa, ribosa, rafinosa, galaktosa, dan xilosa. Tes biokimia lainnya termasuk uji pada media SIM (sulfur, indol, motilitas), uji metil merah, *Voges-Proskauer*, pemanfaatan sitrat, reduksi nitrat menjadi nitrit, reduksi total nitrat, urease, katalase, oksidase, fenilalanase, gelatinase, amilase (pati), lipase, DNase, arginin dekarboksilase, dekarboksilase lisin, ornithine dekarboksilase, dan koagulase.

56 E. Tinjauan tentang Metode *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight* (MALDI-TOF)

95 MALDI-TOF adalah teknik analisis di mana partikel diionisasi, dipisahkan menurut rasio massa terhadap muatan, dan diukur dengan menentukan waktu yang dibutuhkan ion untuk bergerak ke detektor di ujung tabung waktu terbang. Spektrum yang dihasilkan, dengan nilai massa terhadap muatan sepanjang sumbu x dan intensitas sepanjang sumbu y, dibandingkan dengan basis data spektrum dari organisme yang diketahui. Teknologi ini dapat mengidentifikasi bakteri gram positif, gram negatif, aerobik dan anaerobik serta mikobakteri, ragi, dan jamur, biasanya pada tingkat spesies, dengan akurasi yang sama baiknya dan seringkali lebih baik daripada metode tradisional jika dibandingkan dengan pengurutan (Rychert, 2019).

26 *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* (MALDI), yang pertama kali diperkenalkan pada tahun 1987, merupakan teknik

26 ionisasi lunak dalam spektrometri massa. Metode ini digunakan untuk menganalisis biomolekul seperti protein, peptida, dan glukosa, serta molekul organik berukuran besar seperti polimer, dendrimer, dan makromolekul lainnya. Molekul-molekul ini cenderung rapuh dan mudah terfragmentasi jika diionisasi menggunakan metode ionisasi konvensional. Sebelum dianalisis, sampel dicampur dengan larutan matriks khusus yang mengandung molekul kecil yang mampu menyerap sinar ultraviolet. Rasio antara matriks dan sampel biasanya berkisar antara 1000 hingga 10.000 banding 1, dengan nilai umum sekitar 1000:1 (Andayaningsih, 2016).

Metode MALDI-TOF memiliki kelebihan mampu mengidentifikasi organisme dengan lebih cepat, lebih murah dan spesifisitas yang lebih tinggi. Jika dibandingkan dengan metode konvensional dalam mengidentifikasi sebuah mikroba yang membutuhkan waktu yang cukup lama yang mencakup penilaian morfologi koloni dan pewarnaan gram yang diikuti oleh pengujian fenotipik dan biokimia, selain itu dalam metode konvensional sulit untuk membedakan berbagai spesies yang serupa secara fenotip, biokimia atau bahkan genetik dari mikroorganisme tersebut (Rychert, 2019).

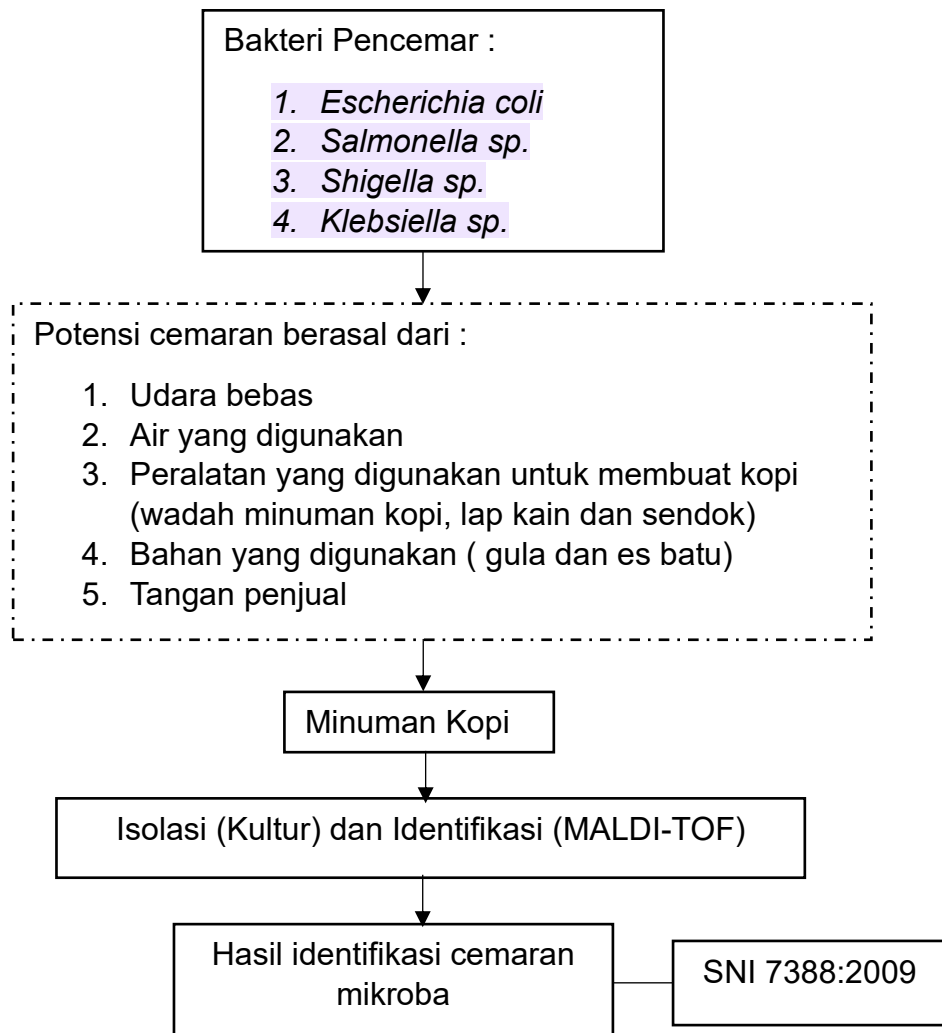
10 Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa MALDI-TOF menyamai atau bahkan melampaui metode diagnostik konvensional dalam hal kecepatan dan akurasi dalam mendeteksi infeksi aliran

10 darah. Selain itu, MALDI-TOF juga telah berhasil diaplikasikan dalam
10 mikrobiologi pangan untuk berbagai keperluan seperti identifikasi
10 dan klasifikasi bakteri asam laktat dalam pangan fermentasi, deteksi
bakteri yang terlibat dalam pembusukan susu dan daging babi,
identifikasi bakteri yang diisolasi dari susu sapi perah, identifikasi
bakteri yang terdapat dalam probiotik dan yoghurt, identifikasi bakteri
patogen yang mencemari makanan formula bayi bubuk,
karakterisasi bakteri penghasil amina biogenik yang bertanggung
jawab atas keracunan pangan dan untuk identifikasi agen penyebab
gastroenteritis bakterial yang ditularkan melalui makanan laut
(Singhal *et al.*, 2015).

F. Kerangka Pikir

Minuman kopi dingin adalah jenis minuman kopi yang disajikan dalam keadaan dingin, baik itu dengan es atau disiapkan dengan metode yang menghasilkan kopi dingin. Minuman kopi yang diperoleh dapat tercemar oleh mikroorganisme melalui udara, air, serta peralatan yang digunakan untuk membuat minuman kopi. Sehingga dengan melakukan identifikasi pada minuman kopi tersebut, dapat diketahui jenis bakteri yang mencemari minuman kopi tersebut. Pemeriksaan tersebut termasuk ke dalam parameter untuk menentukan mutu minuman kopi Standar Nasional Indonesia 7388 :2009. Sehingga dengan melakukan identifikasi dapat diketahui apakah terdapat bakteri pencemar pada minuman kopi tersebut.

8



Gambar 2.8 Skema Kerangka Pikir

Kerangan :

: Diteliti

: Tidak Diteliti

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasi laboratorium dengan rancangan deskriptif untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat dalam minuman kopi menggunakan metode MALDI-TOF.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

a. Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel pada penelitian ini adalah 12 jalan Nasional Kota Makassar dan penelitian ini 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 menggunakan alat Vitek-MS Metode MALDI-TOF.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April tahun 2025

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah minuman kopi yang dijual keliling di 12 jalan Nasional Kota Makassar.

2. Sampel penelitian

Sampel berupa minuman kopi dingin yang dijual keliling di 12 jalan Nasional Kota Makassar.

a. Besaran sampel

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.

b. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *purposive sampling* yaitu teknik pengambilan sampel dimana subjek penelitian dipilih berdasarkan kriteria sampel.

c. Kriteria sampel

1) Kriteria inklusi

- a) Minuman kopi yang disajikan dengan menambahkan es batu langsung pada hari penjualan.

- b) Minuman kopi yang diperjual belikan secara keliling yang terdapat pada 12 jalan Nasional Kota Makassar.

2) Kriteria eksklusi

- a) Minuman kopi yang disajikan dengan menambahkan air hangat pada hari penjualan.
- b) Sampel kopi yang berasal dari kafe, atau tempat usaha menetap yang tidak dijual secara keliling.
- c) Sampel yang mengalami kerusakan selama dalam pengiriman/transportasi ke laboratorium penguji.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah cemaran bakteri pada minuman kopi yang dijual keliling di kota Makassar.

2. Definisi operasional

- a. Minuman kopi keliling yang dijual di sepanjang jalan Nasional di Kota Makassar adalah jenis minuman kopi yang disajikan dalam keadaan dingin, biasanya dengan menambahkan es batu. Minuman ini dijual menggunakan sarana transportasi bergerak, seperti gerobak atau motor yang dirancang untuk memenuhi kebutuhan konsumen secara praktis dan fleksibel di lokasi-lokasi ramai.

- b. Cemaran bakteri adalah keberadaan bakteri pencemar (*Escherichia coli*, *Salmonella Sp*, *Shigella Sp* dan *Klebsiella Sp*.) pada minuman kopi yang telah diisolasi.
- c. Pemeriksaan MALDI-TOF merupakan metode identifikasi bakteri berbasis spektrometri massa yang digunakan untuk mengidentifikasi secara cepat dan akurat menggunakan Vitek-MS.

E. Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan yaitu sampel minuman kopi, kapas, karet gelang, kertas label, kertas pembungkus, spidol/pena, aquadest, Kertas pH, Media *Lactose Broth* (LB), Media *MacConkey Agar* (MCA), media *Nutrien Agar* (NA), *Triple sugar iron agar* (TSIA), *Sulfit Indol Mutility* (SIM), *Simmon Citrat Agar* (SCA), Biakan Murni *Escherichia coli* dan Reagen *Cyano-4-Hydroxycinnamic Acid* (CHCA).

F. Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), neraca analitik, hot plate, lampu spiritus, sendok tanduk, batang pengaduk, erlenmeyer, gelas ukur, corong, rak tabung reaksi, tabung reaksi, ose bulat, nall, cawan petri, pipet Pasteur, *ball pipette filler*, pipet volume 10 ml, pipet ukur 1 ml, inkubator, autoklaf, slide MALDI, alat VITEK MS, dan *coolbox*.

G. Prosedur Penelitian

1. Tahap pra-analitik

a. Pengambilan sampel

Sampel diambil dari penjual kopi keliling di 12 jalan Nasional di Kota Makassar kemudian sampel tersebut dimasukkan ke dalam *cool/box* untuk di bawah ke laboratorium kemudian dipindahkan ke dalam botol sampel steril dan diberi label pada tiap sampel.

b. Sterilisasi alat

Pembuatan media dimulai dari mensterilkan peralatan yang digunakan. Peralatan tersebut mencakup erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, pipet ukur, pipet volume, sendok tanduk, dan cawan petri. Proses sterilisasi dilakukan menggunakan oven pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Pembuatan bahan kontrol kontaminasi

Bahan kontrol yang digunakan adalah media *Mac Conkey Agar* yang dibuat bersamaan dengan media yang dibutuhkan pada penelitian ini.

d. Pembuatan media

1) Media *Lactose Broth* (LB)

Sebanyak 1,69 gram media *Lactose Broth* ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Media tersebut kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai volume

130 ml. Setelah itu, mengukur pH media sampai mencapai 6,9 kemudian media dipipet ke dalam tabung reaksi yang sudah diletakkan tabung durham secara terbalik didalamnya menggunakan pipet volume sebanyak 10 ml per tabung. Tabung reaksi kemudian ditutup menggunakan kapas. Lalu mensterilkan media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Mursalim, *et al.*, 2023)

2) Media *Mac Conkey Agar* (MCA)

Menimbang 11,59 gram media bubuk MCA untuk membuat 15 plate media (1 plate berisi 15 ml media) dan melarutkannya dengan akuades hingga volumenya mencapai 225 ml. Setelah itu, ukur pH media hingga mencapai pH 7,1, kemudian panaskan media tersebut di atas hot plate sampai larut dan menjadi homogen. Selanjutnya, sterilisasi media dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, tuangkan media ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml ketika suhu larutan media sudah hangat kuku (26°C-34°C) dan biarkan hingga mengeras. (Mursalim *et al.*, 2023).

3) Media *Nutrien Agar* (NA)

Media NA disiapkan dengan cara melarutkan 4,5 gram bubuk NA ke dalam 225 liter aquades. Selanjutnya, pH media diukur hingga mencapai angka 7,4. Setelah itu, media dihomogenkan menggunakan pengaduk sambil dipanaskan dengan hot plate, kemudian disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 derajat Celsius selama 15 menit. Setelah proses tersebut, ketika suhu media sudah menurun, tuangkan media ke dalam cawan petri secara perlahan dan tunggu hingga mengeras. (Mursalim *et al.*, 2023).

4) Media *Triple sugar iron agar* (TSIA)

Sebanyak 2,73 gram bubuk media TSIA ditimbang untuk pembuatan 12 tabung media, dengan masing-masing tabung berisi 3,5 mL media. Kemudian bubuk tersebut dilarutkan menggunakan akuades hingga mencapai volume 42 mL. Selanjutnya, pH larutan diuji menggunakan kertas pH, dengan standar pH normal $7,4 \pm 0,2$. Jika pH larutan terlalu rendah (asam), penyesuaian dilakukan dengan menambahkan KOH hingga pH sesuai. Sebaliknya, jika pH terlalu tinggi (basa), HCl ditambahkan untuk menurunkan pH ke batas yang ditentukan.

Setelah itu, larutan media dipanaskan di atas hot plate hingga benar-benar larut dan homogen. Media yang telah larut kemudian dipipet sebanyak 3,5 mL ke dalam masing-masing dari 12 tabung reaksi, lalu ditutup menggunakan kapas. Media tersebut kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media dibiarkan memadat dalam posisi miring.

5) Media *Sulfit Indol Mutility* (SIM)

Menimbang 0,72 gr media bubuk SIM untuk membuat 12 tabung media (1 tabung berisi 2 ml media) dan melarutkannya dengan akuades hingga volumenya mencapai 24 ml. Kemudian menguji larutan dengan menggunakan kertas (pH normal $7,3 \pm 0,2$). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai Ph yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai Ph yang diinginkan.

Setelah itu, memanaskan media tersebut di atas hot plate hingga larut dan homogen. Kemudian memipet larutan media sebanyak 2 ml ke dalam tiap tabung reaksi sebanyak 12 tabung dan menutupnya menggunakan

6

kapas. Lalu mensterilkan media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Lalu media dibiarkan hingga memadat.

6) Media *Simmon Citrat Agar* (SCA)

Menimbang 0,54 gr media bubuk SCA untuk membuat 12 tabung media (1 tabung berisi 2 ml media) dan melarutkannya dengan akuades hingga volumenya mencapai 24 ml. Kemudian menguji larutan dengan menggunakan kertas pH (pH normal $6,6 \pm 0,2$). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai Ph yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan.

6

Setelah itu, memanaskan media tersebut di atas hot plate hingga larut dan homogen. Kemudian memipet larutan media sebanyak 2 ml ke dalam tiap tabung reaksi sebanyak 12 tabung dan menutupnya menggunakan kapas. Lalu mensterilkan media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Lalu media dibiarkan hingga memadat pada posisi miring.

2. Tahap analitik

a. Kontrol kontaminasi media

Meletakkan media *Mac Conkey Agar* (MCA) yang terbuka diatas meja kerja saat proses penanaman sampel pada media pertumbuhan. Langkah selanjutnya adalah menginkubasi media tersebut untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri yang dapat menjadi kontaminan dari lingkungan kerja penelitian.

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°C (Yustika *et al.*, 2022).

c. Penanaman isolat pada media *Mac Conkey Agar* (MCA)

Mengambil suspensi bakteri pada media LB menggunakan ose yang steril dan menggoreskannya pada permukaan *Mac Conkey Agar*. Langkah selanjutnya adalah menginkubasi media yang telah digoreskan suspensi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

d. Pemurnian isolat pada media *Nutrien Agar* (NA)

Mengambil suspensi bakteri pada media *Mac Conkey Agar* menggunakan ose yang steril dan menggoreskannya pada permukaan *Nutrien Agar* (NA). Langkah selanjutnya

yaitu menginkubasi media yang telah digoreskan suspensi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

e. Mengidentifikasi menggunakan alat Vitek MS Metode MALDI-TOF

1) Mengidentifikasi kontrol bakteri

Langkah pertama adalah mengambil 1 ose buah koloni murni *Escherichia coli* sebagai Kontrol dan diletakkan ditengah slide Maldi, Kemudian ditambahkan 1µ Reagen CHCA tunggu 1-2 menit. Tahap selanjutnya adalah 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.

2) Identifikasi bakteri

Langkah pertama adalah 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.

f. Uji Biokimia

1) Penanaman isolat pada media TSIA

Mengambil isolat bakteri pada media BAP/MCA menggunakan nall steril. Kemudian menusuk media TSIA menggunakan nall (tanpa menyentuh dasar tabung) dan menggoreskan nall pada daerah miring di media TSIA. Kemudian menginkubasi media yang telah digoreskan isolat selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

2) Penanaman isolat pada media SCA

Mengambil isolat pada media TSIA menggunakan nall steril, kemudian menggoreskannya pada daerah miring di media SCA. Setelah itu, menginkubasi media yang telah digoreskan isolat selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

3) Penanaman isolat pada media SIM

Mengambil isolat pada media TSIA menggunakan nall steril, kemudian ditusukkan pada media SIM. Setelah itu, diinkubasi dan diisolat selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

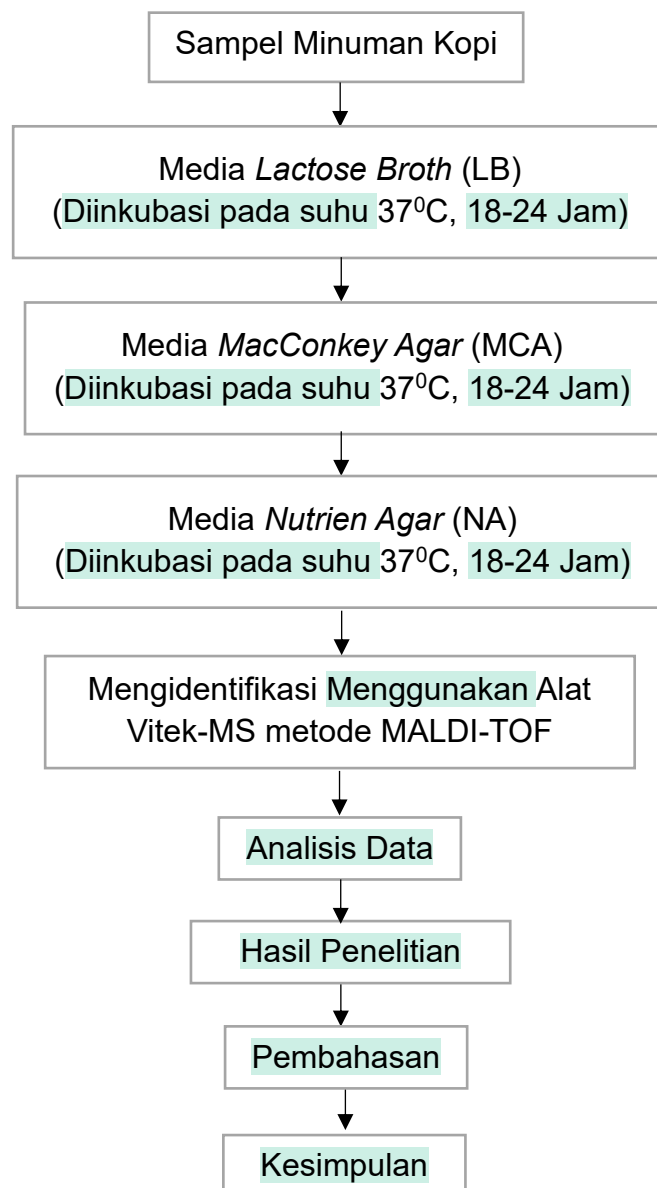
3. Tahap pasca analitik

- a. Mengamati secara makroskopis koloni dari hasil kultur yang tumbuh pada media *Mac Conkey Agar* dan uji biokimia.
- b. Data yang diperoleh dari alat Vitek MS metode MALDI-TOF merupakan hasil dari identifikasi bakteri yang tumbuh pada minuman kopi.

H. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pemeriksaan bakteri menggunakan metode MALDI-TOF pada minuman kopi keliling disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel yang memuat jenis bakteri yang teridentifikasi, dan karakteristiknya.

I. Kerangka operasional



Gambar 3.1 Kerangka Operasional Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada bulan April 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar dan di Instalasi Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar tentang Identifikasi Bakteri Pada Minuman Kopi yang Dijual Keliling di Kota Makassar. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yakni sterilisasi alat, pembuatan media, pengambilan sampel, isolasi sampel pada media *Lactose Broth*, kultur sampel pada media *Mac Conkey Agar*, pemurnian pada media *Nutrien Agar* dan identifikasi bakteri dari hasil pemurnian dengan menggunakan alat Vitek-MS metode MALDI-TOF serta uji biokimia. Hasil penelitian didapatkan sebagai berikut :

Tabel 4.1 Hasil isolasi sampel minuman kopi pada media *Lactose Broth*

No	Kode sampel	Hasil isolasi media <i>Lactose Broth</i>
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 4.1 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 4.2 Hasil isolasi biakan dari *Lactose Borth* diinokusi pada media *Mac Conkey Agar*

Kode sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Fermentasi Laktosa
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)

Tabel 4.2 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 4.3 hasil pemurnian koloni *Nutrien Agar* dan Identifikasi Vitek-MS

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

(sumber : data primer, 2025)

Berdasarkan Tabel 4.3 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 colcaceticus/radioresistens* dan 1 spesies *Acinetobacter seifertii*. Sementara 2 isolat (16,7%) tidak dapat 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.

Tabel 4.4 Hasil uji Biokimia sampel yang tidak teridentifikasi oleh Vitek-MS metode MALDI-TOF

Kode sampel	Uji biokimia								Jenis bakteri
	TSIA				SIM			SCA	
	L	D	H ₂ S	Gas	S	I	M		
KP.10	Alkali	Acid	-	+	-	-	+	+	<i>Serratia marcessens</i>
KP.12	Alkali	Acid	-	+	-	-	+	+	<i>Serratia marcessens</i>

(TSIA : Triple sugar iron agar, SIM : Sulfur indol mutility, SCA: Simmon Citrat

Agar, Sumber : data primer, 2025)

Dari Tabel 4.4 hasil uji biokimia yang meliputi uji TSIA, SIM dan SC dari sampel yang tidak teridentifikasi oleh alat Vitek-MS didapatkan (100%) bakteri *Serratia marcessens* pada sampel KP 10 dan KP 12.

B. 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 $36\pm 2^\circ\text{C}$ (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

7 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. Proses pemeriksaan bakteri ini menggunakan media MCA sebagai media kontrol negatif yang diletakkan pada meja kerja atau lingkungan kerja selama proses pemeriksaan dilakukan. Berdasarkan hasil inkubasi, tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni pada media kontrol tersebut sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terjadi kontaminasi yang berasal dari lingkungan kerja selama penelitian dilakukan.

9 Dari ke 12 sampel uji yang positif di media *LB*, dilanjutkan dengan isolasi pada media MCA untuk menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme. *Mac Conkey Agar* (MCA) merupakan media kultur yang dirancang untuk menekan perkembangan bakteri gram positif dengan penambahan garam empedu yang akan menghasilkan kristal violet serta merupakan media yang membedakan (Apriyanthi *et al.*, 2022). 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.

11

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 colcaceticus/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)

29 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). Uji *Sulfur*, *Indol*, dan *Motilitas* (SIM) bertujuan untuk mengevaluasi gerakan bakteri, pembentukan indol, dan produksi gas H₂S. Selain itu, Uji *Simon Citrate Agar* (SCA) adalah salah satu jenis media yang digunakan untuk menilai kemampuan bakteri dalam memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Hasil yang positif ditunjukkan melalui perubahan warna media dari hijau menjadi biru. (Gergonius & Yuni, 2016).

39

28

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*

41 *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).

17 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

42 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.

8 Ada enam prinsip utama *higiene* dan sanitasi yang perlu diperhatikan selama proses pengolahan, yaitu memilih bahan makanan dan minuman yang berkualitas, menyimpan bahan makanan dan minuman dengan cara yang aman, melaksanakan proses pengolahan secara *higienis*, menyiapkan makanan dan minuman hingga matang sempurna, serta mengangkut makanan dan minuman sesuai dengan standar yang berlaku serta penyajian makanan dan minuman secara bersih dan aman (Hapsari *et al.*, 2021). Menurut Dewi & Wachyudi, (2024) terdapat beberapa indikator sederhana yang dapat digunakan dalam menilai kualitas minuman kopi yang layak dikonsumsi. Indikator tersebut meliputi penilaian terhadap kualitas bahan yang digunakan, adanya rasa asam yang khas, keberadaan lendir pada minuman, konsistensi tampilan yang menarik, serta kemunculan buih atau busa.

Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa minuman kopi yang diperjualbelikan pada berbagai daerah di Indonesia

7 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*.

1 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 $1,1 \times 10^5$ 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 $6,3 \times 10^5$. 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/radiorensistens*, *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.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dari 12 sampel minuman kopi keliling dapat disimpulkan 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 colcaceticus/radioresistens*, *Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter seifertii* dan *Serratia marcessens*.

B. 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.