

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* PADA MINUMAN KOPI SEDUH DINGIN DI KECAMATAN  
LOWOKWARU KOTA MALANG**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
ALIFIA SYAHIRA RAMADHANI  
NIM. 19620043**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus* sp.  
PADA MINUMAN KOPI SEDUH DINGIN DI KECAMATAN  
LOWOKWARU KOTA MALANG**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
ALIFIA SYAHIRA RAMADHANI  
NIM. 19620043**

**Diajukan kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh  
Gelara Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* PADA MINUMAN KOPI SEDUH DINGIN DI KECAMATAN LOWOKWARU KOTA MALANG**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ALIFIA SYAHIRA RAMADHANI**  
NIM. 19620043

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal: 8 Juni 2023

**Pembimbing I**



**Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P**  
NIP. 19620901 199803 2 001

**Pembimbing II**



**Okky Bagas Prasetyo, M.Pd**  
NIP. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Biologi**



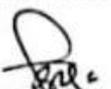
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.**  
NIP. 19741018 200312 2 002

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* PADA MINUMAN KOPI SEDUH DINGIN DI KECAMATAN LOWOKWARU KOTA MALANG**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ALIFIA SYAHIRA RAMADHANI**  
NIM. 19620043

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)  
Tanggal: 14 Juni 2023

<b>Ketua Penguji</b>	<b>: Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si</b> NIP. 196505091999032002	 (.....)
<b>Anggota Penguji 1</b>	<b>: Priya Dewi Fitriyani, M.Sc</b> NIP. 19900428201608012062	 (.....)
<b>Anggota Penguji 2</b>	<b>: Ir. Liliek Harianie A.R., M.P</b> NIP. 19620901 199803 2 001	 (.....)
<b>Anggota Penguji 3</b>	<b>: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd</b> NIP. 19890113 20180201 1 244	 (.....)



Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi

  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.**  
NIP. 19741018 200312 2 002

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan kepada yang telah berjasa mendukung dan membantu selama prosesnya :

1. Ayah dan Ibu tercinta, Mokhammad Toha dan Siti Muniroh yang telah mendukung penuh pendidikan anak-anaknya dengan diiringi kasih sayang dan do'a yang tidak pernah terputus, tanpa keduanya saya tidak akan di posisi seperti saat ini.
2. Adik tersayang, Aprilita Zahra Kamila yang telah memberi semangat dan do'a selama pengerjaan tugas akhir ini.
3. Dosen pembimbing, Ir. Liliek Harianie A.R., M.P., dan Oky Bagas Prasetyo, M.Pd., yang selalu sabar memberi arahan dan motivasi dari awal proses hingga akhir.
4. Seluruh dosen di Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terima kasih atas semua ilmu yang telah diberikan semoga bisa menjadi amal jariyah dan mendatangkan keberkahan dalam hidupnya.
5. Seluruh guru saya baik di pendidikan formal maupun non formal, terima kasih telah mengantarkan saya ke kedudukan saat ini.
6. Sahabat-sahabat saya Indah Puji Lestari, Anisa Safari Putri, dan Lilis Nur Halimah yang telah menemani dan selalu membantu di setiap proses penelitian hingga akhir pengerjaan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2019 yang telah kebersamaian sejak mahasiswa baru,
8. *Support system* terbaik, Sisil, Fara, Tita, Melisa, Prada, dan Andra yang telah saling mendukung dan memahami keadaan satu sama lain meskipun berada di program studi berbeda.
9. Terakhir, terima kasih kepada diri saya yang mampu bertahan di awal yang jauh ini dengan segala rintangan yang dilewati.

## **MOTTO**

“Usaha untuk memperjuangkan skripsi itu lebih berharga dari skripsi itu sendiri.  
Apapun hambatannya akan kunikmati karena berada dalam proses pengerjaan  
skripsi ini menjadi anugerah yang sangat berharga”

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alifia Syahira Ramadhani  
NIM : 19620043  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Pada Es Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar Pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 08 Juni 2023

membuat pernyataan



Alifia Syahira Ramadhani  
NIM. 19620043

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# **Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Pada Minuman Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

Alifia Syahira Ramadhani, Liliek Harianie, Oky Bagas Prasetyo

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

## **ABSTRAK**

Konsumsi minuman kopi di Indonesia mengalami peningkatan yang signifikan dari tahun ke tahun. Minuman kopi dapat disajikan dengan berbagai metode penyeduhan satu di antaranya adalah metode seduh dingin. Metode seduh dingin menyajikan kopi dengan air bersuhu ruang (20-25°C) dan direndam selama 8-12 jam sebelum dikonsumsi sehingga memiliki tingkat keasaman yang rendah. Namun, akhir-akhir ini terdapat beberapa kejadian luar biasa berupa keracunan pangan dan diare di Kota Malang khususnya Kecamatan Lowokwaru yang diduga adanya kontaminasi dari bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya cemaran Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada minuman kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. Metode yang digunakan adalah Angka Lempeng Total (ALT), Angka Paling Mungkin (APM), Uji Mannitol, Uji Katalase, dan Uji Mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 14 sampel yang diuji, lima sampel melebihi batas standar cemaran total mikroba pada uji ALT dengan nilai cemaran tertinggi  $1,1 \times 10^5$  koloni/ml, seluruh sampel melebihi batas cemaran pada uji APM dengan nilai cemaran tertinggi  $>1100$ /ml, delapan sampel terdapat *E. coli*, dan seluruh sampel terkontaminasi *S. aureus* dengan nilai cemaran tertinggi  $6,3 \times 10^5$  koloni/ml.

Kata kunci: Angka Lempeng Total, Angka Paling Mungkin, *Escherichia coli*, Kopi seduh dingin, *Staphylococcus aureus*, Uji Mannitol, Uji Katalase, Uji Mikroskopis

## **Contamination Analysis of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in Coffee Cold Brew In Lowokwaru District Malang City**

Alifia Syahira Ramadhani, Liliek Harianie, Oky Bagas Prasetyo

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

### **ABSTRACT**

Consumption of coffee drinks in Indonesia has increased significantly from year to year. Coffee drinks can be served with various brewing methods, one of which is the cold brew method. The cold brew method serves coffee with room temperature water (20-25°C) and is steeped for 8-12 hours before consumption so it has a low acidity level. However, recently there have been several extraordinary incidents in the form of food poisoning and diarrhea in Malang City, especially Lowokwaru District, which are suspected of being contaminated with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. This study aims to determine the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* contamination in cold brew coffee in Lowokwaru District, Malang City. The methods used are the Total Plate Count (TPC), Most Probable Number (MPN), and Mannitol Test. The results showed that from the 14 samples tested, five samples exceeded the total microbial contamination standard limit in the TPC test with the highest contamination value of  $1.1 \times 10^5$  colonies/ml, all samples exceeded the contamination limit in the MPN test with the highest contamination value  $>1100$ /ml, eight samples contained *E. coli*, and all samples were contaminated with *S. aureus* with the highest contamination value of  $6.3 \times 10^5$  koloni/ml.

Keyword: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Total Plate Count (TPC), Most Probable Number (MPN), Mannitol Test, Coffee Cold Brew.

## تحليل التلوث البكتيري للإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية في مشروبات القهوة الباردة في

### منطقة لوكوارو، بمدينة مالانج

ألفيا شاهيرة رمضاني، ليليك هرياني، أوكي باكاس فراسيتيوا

علوم الحياة، الكلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

#### ملخص البحث

زاد استهلاك القهوة في إندونيسيا بشكل كبير من سنة إلى سنة الأخرى. يمكن تقديم مشروبات القهوة بطرق تخمير مختلفة، أحدها طريقة التخمير الباردة. تقدم طريقة التخمير البارد القهوة مع ماء بدرجة حرارة الغرفة (20-25 درجة مئوية) وتقع لمدة 8-12 ساعة قبل الاستهلاك بحيث تكون حموضتها منخفضة. ومع ذلك، في الآونة الأخيرة كانت هناك العديد من الحوادث غير العادية في شكل التسمم الغذائي والإسهال في مدينة مالانج، وخاصة منطقة لوكوارو التي يشتبه في تلوثها من الإشريكية القولونية وبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية.

يهدف هذا البحث إلى تحديد وجود تلوث بكتيريا الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية في مشروبات القهوة الباردة الموجودة في منطقة لوكوارو، بمدينة مالانج. الطريق المستخدم هي إجمالي رقم اللوحة (ALT)، والرقم الأكثر احتمالاً (APM)، واختبار مانيتول، واختبار الكاتلاز، والاختبار المجهرى. أظهرت النتائج أنه من بين 14 عينة تم اختبارها، تجاوزت خمس عينات الحد القياسي للتلوث الميكروبي الكلي في اختبار ALT بأعلى قيمة تلوث تبلغ  $1.1 \times 10^5$  مستعمرة/م ل، وتجاوزت جميع العينات حد التلوث في اختبار APM بأعلى قيمة تلوث  $< 1100$  / م ل، وثمانية عينات تحتوي على الإشريكية القولونية، وكانت جميع العينات ملوثة بالمكورات العنقودية الذهبية بأعلى قيمة تلوث تبلغ  $6.3 \times 10^5$  مستعمرة / م ل.

**الكلمات الرئيسية:** الرقم الإجمالي للوحة، الرقم الأكثر احتمالاً، الإشريكية القولونية، القهوة الباردة، المكورات العنقودية الذهبية، اختبار مانيتول، اختبار جهد اختزال، الاختبار المجهر

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus* sp. Pada Minuman Kopi Seduh Dingin Di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang”. Shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW. yang telah menegakkan agama Islam dan terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin. Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. HM. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Liliek Harianie A.R., M.P. selaku pembimbing 1 sekaligus Dosen Wali, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I. selaku Pembimbing 2, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyusun skripsi ini menjadi lebih baik..
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Ayah dan Ibu serta keluarga yang telah memberikan dukungan penuh baik secara materi, spiritual, serta motivasi kepada penulis.
8. Teman-teman seperjuangan Biologi yang telah membantu dan saling mendukung dalam proses pengerjaan skripsi ini. Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT.

Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 5 Juni 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PERSETUJUAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
MOTTO .....	vi
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	viii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT.....	x
ملخص البحث.....	xi
KATA PENGANTAR .....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Manfaat.....	6
1.5 Batasan Masalah.....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
2.1 Kopi .....	8
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.4 Metode Analisis.....	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	22
3.2 Populasi dan Sampel.....	22
3.3 Waktu dan Tempat.....	23
3.4 Alat dan Bahan .....	23
3.5 Prosedur Penelitian .....	23
3.6 Analisis Data .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
4.1 Angka Lempeng Total pada Minuman Kopi Seduh Dingin .....	30
4.2 Uji Cemar <i>Escherichia coli</i> pada Minuman Kopi Seduh Dingin ....	34
4.2 Uji <i>Staphylococcus aureus</i> pada Minuman Kopi Seduh Dingin .....	36
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>

<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>
----------------------	-----------

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Lokasi pengambilan sampel minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru .....	22
Tabel 4. 1 Hasil uji Angka Lempeng Total minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang.....	31
Tabel 4. 2 Hasil uji penduga jumlah total Coliform minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang .....	34
Tabel 4. 3 Hasil uji penegasan jumlah total Coliform minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang .....	36
Tabel 4. 4 Hasil uji pelengkap keberadaan <i>Escherichia coli</i> pada minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang.....	39
Tabel 4. 5 Hasil perhitungan koloni <i>S. aureus</i> sampel minuman kopi seduh dingin pada media <i>Mannitol Salt Agar</i> .....	44
Tabel 4. 6 Hasil uji katalase sampel minuman kopi seduh dingin dari beberapa kafe di Kecamatan Lowokwaru .....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Karakteristik mikroskopis bakteri <i>Eschericia coli</i> .....	12
Gambar 2. 2 Karakteristik mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
Gambar 4. 1 Hasil uji Angka Lempeng Total minuman kopi seduhdingin.....	30
Gambar 4. 2 Hasil uji penduga minuman kopi seduh dingin.....	34
Gambar 4. 3 Hasil uji penegasan minuman kopi seduh dingin.....	35
Gambar 4. 4 Hasil uji pelengkap minuman kopi seduh dingin.....	39
Gambar 4.5 Hasil pengamatan mikroskopis karakteristik <i>E. coli</i> pada sampel minuman kopi seduh dingin .....	41
Gambar 4. 6 Hasil uji cemaran <i>Staphylococcus aureus</i> pada media <i>Mannitol Salt Agar</i> . .....	43
Gambar 4. 7 Hasil uji katalase minuman kopi seduh dingin.. .....	47
Gambar 4. 8 Hasil pengamatan mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	49

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Minuman kopi merupakan salah satu minuman yang dikonsumsi hampir di seluruh dunia termasuk Indonesia (Muzykiewicz, *et al.*, 2021). Konsumsi kopi di Indonesia mengalami peningkatan signifikan sebanyak 286 juta kilogram pada tahun 2019-2020, dan diperkirakan akan terus meningkat pada tahun-tahun selanjutnya (Haryono dkk., 2021). Bagi warga Indonesia, minuman kopi bukan hanya sebagai konsumsi biasa tetapi telah menjadi sebuah tradisi yang menggambarkan nilai-nilai kebersamaan dan memperkuat hubungan persaudaraan di antara masyarakat (Adithia & Jaya, 2021). Fenomena ini membuat kedai-kedai kopi bermunculan di berbagai kota termasuk Kota Malang (Yugantara dkk., 2021).

Usaha kedai kopi atau yang lebih dikenal dengan kafe menjadi berkembang dan sangat beragam seperti warung kopi yang menyajikan kopi instan hingga kopi dengan racikan modern. Umumnya, minuman kopi biasa disajikan dengan air bersuhu 90-96°C. Namun, saat ini muncul metode penyeduhan baru yaitu kopi seduh dingin yang disajikan dengan air bersuhu ruang yaitu 20-25°C. Kopi seduh dingin memiliki tingkat keasaman yang lebih rendah daripada kopi yang diseduh dengan air panas, sehingga menjadi alternatif bagi individu yang mengalami asam lambung dan maag (Haryono dkk., 2021).

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam kopi dapat meningkatkan kualitas biji kopi dan juga bermanfaat bagi kesehatan. Trigonelin dan asam volatile merupakan senyawa yang berperan dalam meningkatkan kualitas aroma kopi (Chu, *et al.*, 2018). Adapun senyawa kafein yang memiliki manfaat bagi kesehatan tubuh di antaranya dapat melindungi sel-sel otak, menurunkan risiko berkembangnya

penyakit seperti parkinson, mengurangi resiko batu empedu, meredakan sakit kepala, mengurangi peradangan, mencegah penyakit tertentu yang berkaitan dengan jantung (Chaugule *et al.*, 2019). Selain itu, kafein juga berfungsi sebagai antibakteri, menurut Tanauma, dkk. (2016) ekstrak biji kopi robusta mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* tetapi dalam konsentrasi yang tinggi yaitu 50% dan 100%. Mengonsumsi satu cangkir kopi akan mendapatkan sekitar 1 mg vitamin PP (asam nikotinat) (Patay *et al.*, 2016). Namun, jika disajikan secara tidak higienis akan mengurangi nilai gizi yang terkandung pada kopi.

Penyajian kopi harus dilakukan secara higienis menggunakan bahan yang berkualitas baik dan alat-alat yang bersih. Bahan utama yang digunakan dalam penyajian minuman kopi adalah air sehingga kebersihan air harus diperhatikan. Air yang baik adalah air yang tidak berasa, tidak berbau, dan tidak berwarna. Derajat keasaman atau pH untuk air adalah 6-7, apabila di atas 7 air tersebut cenderung akan membentuk plak atau kerak dan tidak efektif membunuh bakteri (Krisno, dkk., 2021). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam olahan pangan menyebutkan bahwa kandungan bakteri *Escherichia coli* dalam minuman kopi yaitu  $< 2/100$  ml. Adapun menurut SNI 7388:2009 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan, batas maksimal bakteri *Staphylococcus aureus* dalam minuman kopi adalah  $1 \times 10^2$ /ml.

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri yang umum ditemukan di saluran pencernaan manusia, hewan, dan simbion yang juga berperan dalam sistem pencernaan dan sintesis tertentu (Sarowska *et al.*, 2019). *E. coli* yang termasuk golongan bakteri Coliform ini memiliki daya tahan yang lebih kuat daripada bakteri

patogen lainnya tetapi lebih mudah diisolasi dan ditumbuhkan (Sutiknowati, 2018). Bakteri tersebut dapat dijadikan indikator sanitasi yaitu mengindikasikan adanya cemaran feces dari manusia atau hewan. Apabila bakteri tersebut terdapat dalam bahan pangan dan dikonsumsi oleh manusia akan menyebabkan penyakit saluran pencernaan (Mailoa dkk., 2019).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram-positif yang menjadi penyebab berbagai penyakit dan mengeluarkan berbagai faktor virulensi seperti hemolisin, leukosidin, dan toksin eksfoliatif. Bakteri patogen tersebut menghasilkan toksin yaitu enterotoksin stafilokokus (SEs) (Suzuki *et al.*, 2020). *S. aureus* yang menghasilkan toksin SEs telah menjadi salah satu penyebab utama wabah keracunan makanan di seluruh dunia (Nouws *et al.*, 2021). Umumnya, bakteri ini terdapat di saluran pernapasan atas dan beberapa bagian lain pada tubuh manusia seperti kulit (Pidwill *et al.*, 2020).

Beberapa Kejadian Luar Biasa (KLB) keracunan makanan dan diare terjadi di Kota Malang belakangan ini, terutama di Kecamatan Lowokwaru. Berdasarkan data dari Puskesmas Mojolangu menunjukkan bahwa Kecamatan Lowokwaru mengalami kejadian luar biasa pada tahun 2022, di mana 89 orang mengalami keracunan makanan dan diare. Kejadian ini kembali terjadi pada tahun 2023, dengan 105 orang mengalami keracunan makanan. Penyebab keracunan pangan dan diare tersebut diduga akibat makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh Bakteri *Staphylococcus* dan *E. coli*. Selain itu, pada tahun 2019, Badan Pengawas Obat dan Makanan juga melaporkan bahwa Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu dari lima provinsi dengan tingkat keracunan tertinggi dengan 1.312 kasus, 134 kasus dari keracunan ini disebabkan oleh minuman yang terkontaminasi mikroba.

Adapun hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa beberapa sumber air di Kota Malang tercemar oleh mikroba. Menurut Saroh, dkk., (2016) beberapa air sumur warga di RW 12, Kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru tercemar *Coliform* senilai 7 MPN sehingga tidak layak dikonsumsi secara langsung. Adapun hasil penelitian Kusmawati & Rahayu (2019) menyebutkan bahwa 18 dari 20 sampel yang diambil dari depo air minum isi ulang (DAMIU) Kota Malang tercemar *Coliform* dan 10 di antaranya mengandung *E. coli*. Cemarannya bakteri *E. coli* pada air dapat menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan. Bakteri *E. coli* tergolong bakteri *Coliform* dapat menyebabkan infeksi parah pada manusia dan hewan terutama dalam sistem pencernaan (Poirel, *et al.*, 2018).

Firman Allan SWT. dalam QS: Al-Baqarah [2]: 168

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُبِينٌ

*“Wahai manusia, makanlah sebagian (makanan) di bumi yang halal lagi baik dan janganlah mengikuti langkah-langkah setan. Sesungguhnya ia bagimu merupakan musuh yang nyata.”*

Menurut Quraish Shihab dalam tafsir Al-Misbah, Kata “حَلَالًا” memiliki makna yaitu “makanan yang tidak haram, memakannya tidak dilarang oleh agamanya”. Makna tersebut menunjukkan bahwa Allah memerintahkan kepada seluruh manusia untuk mengonsumsi makanan yang halal dan mentaati hukum karena hal tersebut bermanfaat bagi tiap manusia di kehidupan dunia. Namun, tidak semua makanan halal termasuk makanan yang baik. Adapun kata “طَيِّبًا” yang memiliki makna “makanan yang baik, yang bergizi” kata tersebut menunjukkan bahwa makanan yang dikonsumsi juga harus sesuai dengan kondisi tubuh tiap manusia karena setiap manusia memiliki kondisi yang berbeda. Makanan yang

bergizi juga diartikan sebagai makanan yang higienis karena makanan yang diolah dan disajikan secara higienis akan terhindar dari cemaran mikroba yang dapat menyebabkan penyakit. Oleh karena itu, makanan yang dikonsumsi oleh manusia adalah yang halal lagi baik termasuk makanan yang diolah dan disajikan secara higienis.

Surat Al-Baqarah ayat 168 ini memiliki keterkaitan dengan topik penelitian yang akan dibahas yaitu yaitu Allah telah memberi nikmat kepada manusia berupa bahan pangan yang bergizi sehingga harus dimanfaatkan dengan baik. Hal tersebut dapat dilakukan dengan memilih bahan pangan serta kebersihan alat-alat yang digunakan. Sebagaimana bahan yang digunakan dalam membuat minuman kopi seduh dingin, apabila bahannya tercemar oleh mikroba berbahaya seperti *E. coli* atau *S. aureus* maka akan mudah mendatangkan penyakit seperti gangguan sistem pencernaan dan keracunan pangan.

Berdasarkan uraian di atas mendorong penulis untuk melakukan penelitian tentang analisis cemaran bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang. Adanya penelitian ini diharapkan agar masyarakat terutama pelaku usaha kedai kopi lebih memperhatikan kualitas bahan yang digunakan sehingga konsumen dapat memperoleh gizi optimum dari kopi tersebut. Selain itu, diharapkan penelitian ini dapat meningkatkan kesadaran masyarakat untuk menjaga kebersihan air.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang dapat diambil pada penelitian ini adalah:

1. Berapa jumlah Angka Lempeng Total pada minuman kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru?

2. Apakah terdapat cemaran bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada minuman kopi seduh dingin?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jumlah total bakteri pada minuman kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru.
2. Untuk mengetahui jumlah cemaran *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada setiap sampel minuman kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru.

### **1.4 Manfaat**

Manfaat yang dapat diambil pada penelitian ini adalah:

1. Dapat mengetahui tingkat cemaran *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada minuman kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru.
2. Dapat mengetahui jumlah total bakteri pada setiap sampel minuman kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru.

### **1.5 Batasan Masalah**

Batasan-batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Cemaran bakteri yang dianalisis adalah jumlah total bakteri, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*
2. Sampel yang digunakan adalah minuman kopi seduh dingin.
3. Sampel diambil dari beberapa kelurahan yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru di antaranya Kelurahan Sumbersari, Kelurahan Mojolangu, dan Kelurahan Kendalsari.

4. Metode uji yang digunakan adalah Angka Lempeng Total (ALT), Angka Paling Mungkin (APM), dan Uji Mannitol, Uji Katalase, dan Uji Mikroskopis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kopi**

##### **2.1.1 Minuman Kopi**

Minuman kopi merupakan satu di antara minuman yang dikonsumsi hampir di seluruh dunia (Muzykiewicz, *et al.*, 2021). Menurut *International Coffee Organization* (2018) sebanyak 151,3 juta kantong kopi dikonsumsi di seluruh dunia pada tahun 2015-2016. Asia menjadi konsumen kopi terbesar pada tahun 2017 dengan urutan konsumen, Indonesia (19,6%), Turki (17,5%), India (15,1%), dan Vietnam (14,9%) (Berampu *et al.*, 2019). Konsumsi kopi di Indonesia meningkat hingga 286 juta kilogram pada tahun 2019-2020 dan diprediksi akan meningkat setiap tahunnya (Haryono dkk., 2021). Bahkan, salah satu tradisi masyarakat Indonesia adalah minum kopi untuk merayakan prinsip kebersamaan dan mempererat hubungan persaudaraan (Adithia & Jaya, 2021).

Pengolahan biji kopi sampai menjadi minuman terdiri dari tiga tahap utama yaitu proses penyangraian (*roasting*), penggilingan (*grinding*), dan penyeduhan (*brewing*). Penyangraian kopi adalah proses pengeringan biji kopi untuk menghasilkan rasa dan aroma agar dapat diolah menjadi minuman kopi (Santoso dkk., 2022). Penggilingan biji kopi merupakan proses pengolahan yang dilakukan untuk menghasilkan kualitas kopi yang baik seperti rasa dan aroma. Tujuan penggilingan adalah untuk memperluas permukaan biji kopi sehingga proses ekstraksi akan lebih efisien (Anggara dan Marini 2011; Napitupulu, dkk., 2014).

Pembuatan minuman kopi memiliki banyak metode, parameter, dan varian biji kopi yang digunakan. Umumnya, dalam menyeduh kopi terbagi menjadi dua

teknik yaitu menggunakan suhu tinggi atau suhu rendah. Metode penyeduhan kopi panas yang paling populer adalah teknik Turki, *French press*, *Aeropress*, *Espresso*, dan metode infus sederhana (Janda *et al.*, 2020; Muzykiewicz, *et al.*, 2021). Suhu air yang digunakan dalam penyeduhan kopi suhu tinggi berkisar antara 85-95°C. Metode ekstraksi kopi dingin meliputi metode pencelupan langsung dan tidak langsung, *dripping* (Gonzales, *et al.*, 2018; Muzykiewicz, *et al.*, 2021). Metode penyeduhan kopi dingin menggunakan air dengan suhu 20–25 °C yang dituangkan secara perlahan ke bubuk kopi (Janda *et al.*, 2020; Muzykiewicz, *et al.*, 2021).

### **2.1.2 Kopi Seduh Dingin**

Kopi seduh dingin atau *coldbrew* merupakan metode pembuatan kopi dengan teknik seduh dingin. Kopi seduh dingin merupakan metode yang diadopsi dari metode ekstraksi kimia maserasi, pembuatan kopi dilakukan dengan perendaman bubuk kopi pada suhu terkontrol (20-25°C) dan waktu tertentu (8 jam) (Ramdhani, 2019). Kopi seduh dingin tidak terkena suhu panas sehingga tidak mengekstraksi karakter keasaman dari kopi (Hariyanto dkk., 2020). Teknik penyeduhan yang dilakukan lebih lama bertujuan untuk meningkatkan kontak antara bubuk kopi dan air (Haryono dkk., 2017).

Kopi seduh dingin memiliki beberapa keunggulan untuk dikonsumsi. Minuman tersebut memiliki pH yang lebih tinggi daripada kopi seduh panas sehingga kadar keasaman yang dimiliki juga lebih rendah. Umumnya rasa pada kopi seduh dingin juga lebih manis daripada kopi seduh panas (Cordoba *et al.*, 2019). Hal ini membuat kopi seduh dingin lebih dapat diterima bagi orang yang menderita maag dan GERD (penyakit refluks asam lambung) (Rao *et al.*, 2018).

### 2.1.3 Kandungan Senyawa dan Manfaat Kopi

Tanaman Kopi banyak mengandung senyawa fenolik bersifat sekunder metabolit yang diproduksi untuk mencegah radiasi ultraviolet dan hama patogen. Senyawa fenolik di buah kopi terdiri dari *chlorogenic acid*, *quinic asam*, dan sinamit transhidroksi (Perdani *et al.*, 2019; Maksum *et al.*, 2021). Senyawa fenolik berperan penting dalam kualitas minuman kopi untuk memberi rasa khas seperti keasaman dan kepahitan (Farah dan Donangelo, 2006; Maksum *et al.*, 2021). Senyawa fenolik juga berpotensi sebagai bahan antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas yang menyebabkan penyakit degeneratif, kanker, dan penyakit kardiovaskular (DePaula & Farah, 2019; Maksum *et al.*, 2021).

Biji kopi yang digunakan dalam pembuatan minuman kopi juga mengandung senyawa kafein. Kandungan kafein pada biji kopi dapat mencapai 0,3%-2,5% (Patay *et al.*, 2016). Mengonsumsi kafein dapat menghilangkan rasa lelah, meningkatkan kesadaran, dan meningkatkan suasana hati. Konsumsi kafein secara teratur berhubungan dengan penurunan risiko perkembangan penyakit neurodegeneratif, terutama Parkinson dan Alzheimer. Selain itu juga mencegah penurunan memori selama penuaan (DePaula & Farah, 2019).

Mekanisme kafein mempengaruhi kinerja seseorang berlangsung melalui beberapa tahapan dalam waktu tertentu. Kafein masuk ke dalam tubuh dalam waktu 5–15 menit dan menyebar ke seluruh tubuh melalui peredaran darah dari traktus gastrointestinal. Selanjutnya, Kafein dapat diabsorpsi hingga 99% oleh saluran pencernaan selama 45–60 menit (Nandatama, dkk., 2017).

Imam Ahmad bin Ali As-subky juga menyebutkan keutamaan minum kopi:

أحمد علي السبكي: و أما منافعها يعني القهوة تقريبا، فالنشاط للعبادة و الأشغال المهمة و هضم الطعام و تحليل الرياح و القولنج و البلغم كثيرا

*“Imam Ahmad bin Ali as-Subky berkata: “Manfaatnya kopi yaitu kira-kira untuk membuat semangat ibadah dan pekerjaan penting, juga untuk menghancurkan makanan, agar tidak masuk angin pun juga berkhasiat mengurangi lendir dahak yang berlebihan”*

Dari perkataan Imam Ahmad bin Ali As-subky memiliki makna bahwa kopi dapat mengurangi lender dahak. Selain itu kopi juga dapat menstimulasi saraf otak. Oleh karena itu, orang yang meminum kopi akan mendapat semangat lebih yang sebaiknya digunakan untuk beribadah kepada Allah SWT.

Dalam Kitab Ta’lim Muta’alim juga disebutkan (Zarnuji, 2009):

و كل ما يقلل البلغم و الرطوبات يزيد في الحفظ، و كل ما يزيد في البلغم يورث النسيان

*“Setiap sesuatu yang bisa mengurangi lendir dahak dan mengurangi kadar air yang berlebihan pada tubuh; Maka akan berdampak pada kuatnya hafalan. Sedangkan sesuatu yang memperbanyak lendir dahak akan membuat orang jadi pelupa”*

Berdasarkan dua pendapat di atas maka mengonsumsi kopi memiliki beberapa manfaat. Kopi dapat mengurangi lendir dan dahak sehingga dapat menguatkan hafalan atau daya ingat. Kondisi tersebut dapat dimanfaatkan untuk beribadah kepada Allah dan menuntut ilmu untuk menambah wawasan.

## **2.2 Bakteri *Escherichia coli***

### **2.2.1 Karakteristik Bakteri *Escherichia coli***

*Escherichia coli* merupakan jenis bakteri yang umum ditemukan di saluran pencernaan manusia, hewan, dan simbiosis yang juga berperan dalam sistem pencernaan dan sintesis tertentu (Sarowska *et al.*, 2019). *E. coli* akan menjadi bakteri patogen jika masuk ke organ lain atau di luar usus serta jumlahnya meningkat dalam

saluran pencernaan. Bakteri ini dapat dijadikan indikator sanitasi yaitu mengindikasikan adanya cemaran feces dari manusia atau hewan. Air atau bahan pangan yang tercemar oleh *E. coli* tidak dapat dikonsumsi karena mengandung mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan penyakit terutama penyebab infeksi saluran pencernaan (Mailoa dkk., 2019).



**Gambar 2. 1 Karakteristik mikroskopis bakteri *Escherichia coli* (Khakim, 2018)**

Klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli* adalah (ITIS, 2023):

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus: *Escherichia*

Species: *Escherichia coli*

Karakteristik bakteri *E. coli* dapat dilihat secara makroskopis dan mikroskopis. Bakteri *E. coli* yang ditumbuhkan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) memiliki koloni berbentuk bulat, berwarna hijau metalik, tepian

halus dan elevasi datar. Secara mikroskopis, pewarnaan gram pada *E. coli* menunjukkan bakteri berwarna merah sehingga tergolong gram negatif, berbentuk batang, dan susunan menyebar (Lamatokan dkk., 2023).

### **2.2.2 Dampak Cemaran Bakteri *Escherichia coli***

Adanya bakteri golongan Coliform dalam air dapat menjadi salah satu faktor penyebab berbagai jenis penyakit. Kadar bakteri Coliform yang lebih tinggi dalam suatu perairan menunjukkan bahwa ada bakteri patogen lainnya yang lebih banyak. (Bambang, *et al.*, 2014; Widyastuti & Rachmawati., 2022). *Escherichia coli* merupakan salah satu golongan bakteri Coliform fecal yang dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan (UTI) adalah. Bakteri ini dapat menginfeksi saluran pencernaan manusia dan menghasilkan eksotoksin, yang menyebabkan orang terinfeksi diare. (Wulansari, dkk., 2017). *Shigella* sp. dapat menyebabkan penyakit saluran pencernaan. Beberapa penyakit seperti pneumonia, infeksi traktus urinarius, rhinoskleroma, dan ozaena adalah beberapa infeksi manusia yang juga disebabkan oleh golongan Coliform yaitu *Klebsiella* sp. (Widyastuti & Rachmawati., 2022).

*Escherichia coli* yang mencemari daerah perairan juga akan membawa pengaruh pada biota yang hidup di dalamnya. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Imamah dan Efendi (2021) menyatakan bahwa ikan di beberapa perairan Kabupaten Sampang, Madura mengandung bakteri *E. coli*. Nilai cemaran *E. coli* di perairan Ketapang sebesar 3,6 MPN/g sedangkan di perairan Tanglok sebesar 3,0 MPN/g. Bakteri *E. coli* yang terbawa akan menyebabkan penyakit pada manusia atau hewan yang mengonsumsi ikan tersebut.

## 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

### 2.3.1 Karakteristik Bakteri *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang umum ditemui di lingkungan sekitar (Chen *et al*, 2022). *S. aureus* umumnya ditemukan di berbagai bagian tubuh manusia, seperti kulit, tenggorokan, dan hidung sehingga mudah masuk ke dalam makanan. Bakteri ini biasanya merupakan bagian dari mikrobiota normal, pada bayi keberadaannya dapat mencapai 40% dan 50% orang dewasa (Pidwill *et al.*, 2020).

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah (ITIS, 2023):

Kingdom: Bacteria

Phylum: Bacillota

Class: Bacili

Order: Bacillales

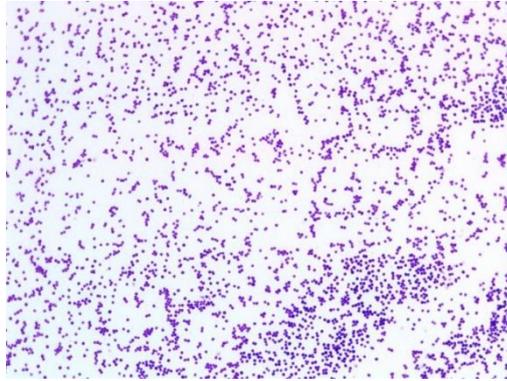
Family: Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species: *Staphylococcus aureus*

Karakteristik *S. aureus* dapat diamati secara mikroskopis dan makroskopis. *S. aureus* adalah termasuk jenis Gram positif, aktifitas katalase positif, fakultatif anaerob. Jika dilihat di bawah mikroskop *S. aureus* memiliki bentuk kokus dan berwarna ungu atau biru. Secara makroskopis, koloni berwarna kuning keemasan di atas media padat (Rungelreath & DeLeo, 2021). *S. aureus* tidak membentuk spora atau flagella tetapi memiliki kapsul, dapat menghasilkan pigmen kuning keemasan, dan menguraikan manitol (Tayeb-Fligelman *et al.*, 2017). Bakteri ini mampu tumbuh maksimal pada suhu 37°C dan pH 7,4. Koloni *S. aureus* pada

permukaan media agar terlihat bulat, tebal, mengkilat dan berdiameter 1-2 mm (Sato *et al.*, 2019).



**Gambar 2. 2 Karakteristik mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus***  
(Jumaah *et al.*, 2018)

### **2.3.1 Dampak Bakteri *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* dapat berperan sebagai patogen, dan keberadaannya sebagai kolonisasi berperan besar dalam penyebaran infeksi (Pidwill *et al.*, 2020). Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh bakteri tersebut di antaranya penyakit kulit, infeksi ringan, hingga kegagalan multi organ (Chen *et al.*, 2022). *S. aureus* juga menjadi penyebab utama penyakit Pneumonia, infeksi saluran pernapasan, infeksi kardiovaskular, dan bakteremia nosocomial (Cheung *et al.*, 2021).

*S. aureus* dapat menghasilkan toksin jenis enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan bagi manusia. Enterotoksin yang dihasilkan *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit radang lapisan usus (Anggriawin & Pakpahan, 2022). Konsumsi jangka panjang bahan pangan yang mengandung enterotoksin dapat menyebabkan efek akut seperti diare hingga peradangan kronis pada usus besar. Selain itu, keracunan dalam waktu singkat dapat menyebabkan gejala kram dan muntah yang hebat (Afrila dkk., 2020).

Islam telah mengajarkan untuk mencegah kontaminasi pada makanan dan minuman sebagaimana dalam HR. Tirmidzi No. 1888:

أَنَّ النَّبِيَّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ هَيَّ أَنْ يُتَنَفَّسَ فِي الْإِنَاءِ أَوْ يُنْفَخَ فِيهِ

“*Nabi shallallahu ‘alaihi wassalam melarang bernafas di dalam gelas atau meniupi gelas*” (HR. Tirmidzi No. 1888).

Menurut Sayyid (2012), Rasulullah SAW melarang meniup makanan dan minuman karena di dalam hidung dan mulut mengandung bakteri yang dapat mengkontaminasi makanan atau minuman sehingga menyebabkan penyakit. Hal ini sejalan dengan pendapat Hidayah & Boleng (2017) bahwa bakteri *S. aureus* banyak terdapat di tubuh manusia seperti kulit, tenggorokan, dan hidung sehingga mudah masuk ke dalam makanan. Oleh karena itu, salah satu cara untuk menjaga makanan dan minuman agar tidak terkontaminasi mikroba adalah dengan tidak meniupnya (Imritiyah, 2016).

## 2.4 Metode Analisis

### 2.4.1 Angka Lempeng Total (ALT)

Metode Angka Lempeng Total atau *Total Plate Count* digunakan untuk mengetahui jumlah total bakteri patogen maupun non patogen dalam suatu sampel (Fatimah dkk., 2023). Uji Angka Lempeng Total Metode ini dilakukan dengan teknik *pour plate* yaitu menuangkan 1 ml sampel dan media *Plate Count Agar* ke dalam cawan petri steril kemudian digoyangkan hingga sampel dan media merata (Ogunware, *et al.*, 2020). Jumlah angka lempeng total yang ditemukan dalam suatu sampel dapat menjadi indikator apakah sampel tersebut masih aman untuk dikonsumsi. Sesuai dengan persyaratan MA.85/MIK/06, perhitungan untuk angka lempeng total adalah sebagai berikut:

- a. Mikroba yang dapat dihitung berkisar antara 30 hingga 300 koloni.

- b. Jika jumlah koloni melebihi 30, dianggap sebagai cecar.
- c. Jika jumlah koloni kurang dari 300, disebut sebagai spreader atau tidak terhingga sehingga tidak dapat dihitung.
- d. Jumlah bakteri dihitung dengan mengalikan jumlah koloni dengan faktor pengenceran.
- e. Jumlah bakteri dibandingkan dari masing-masing pengenceran (pengenceran sebelumnya dan berikutnya).
- f. Jika perbandingannya sama atau kurang dari 2, hasilnya diambil rata-rata. Jika perbandingannya lebih dari 2, pengenceran sebelumnya digunakan.

#### **2.4.2 Angka Paling Mungkin (APM)**

Metode Angka Paling Mungkin atau *Most Probable Number* (MPN) merupakan salah satu teknik penghitungan langsung kepadatan mikroorganisme dalam cairan (Cochran 1950; Kurniawati, dkk., 2022). Secara umum, metode ini digunakan untuk mengidentifikasi semua koloni coliform, coliform fekal, dan *E. coli*. Prosedur ini memerlukan beberapa tahapan, termasuk uji penduga (*presumptive test*), uji penegasan (*confirmed test*), dan uji pelengkap. Secara keseluruhan metode tersebut membutuhkan waktu lebih dari 24 jam (Kurniawati, dkk., 2022).

Metode Angka Paling Mungkin umum digunakan karena memiliki beberapa keunggulan. Tabel Angka Paling Mungkin dapat digunakan untuk menghitung jumlah bakteri Coliform yang terdapat dalam 100 mililiter air. (WHO; Utami 2020). Jumlah tabung yang positif di setiap pengenceran selama proses uji dapat menunjukkan estimasi asli konsentrasi bakteri murni di sampel (Blodgett, 2006; Kurniawati, dkk., 2022).

Uji pertama yang dilakukan pada metode Angka Paling Mungkin adalah uji penduga atau *presumptive test*. Uji penduga bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya bakteri *Coliform* berdasarkan kekeruhan dan terbentuknya gas pada tabung durham yang disebabkan fermentasi laktosa pada medium tersebut. Uji penduga dilakukan dengan menggunakan media *Lactose Broth* media ini mengandung laktosa, yang berfungsi sebagai sumber karbohidrat bagi bakteri untuk melakukan fermentasi. *E. coli* memfermentasikan alkohol menjadi asam karboksilat pada media *Lactose Broth* yang mengandung laktosa hal ini dapat mengubah warna medium menjadi kuning dan keruh (Aulya *et al.*, 2020). Adanya gelembung gas mengindisikan keberadaan bakteri Coliform, gelembung gas tersebut menunjukkan adanya proses fermentasi laktosa yang menghasilkan CO<sub>2</sub>, dimana gas dan asam yang muncul dikarenakan kerja enzim  $\alpha$ -DGlucosidase yang dihasilkan Coliform, enzim ini berfungsi sebagai katalisator hidrolisa laktosa membentuk gas dan asam atau aldehyd. Hal ini sesuai dengan morfologi Coliform yaitu anaerobik fakultatif yang memfermentasi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 24-48 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C -37<sup>0</sup>C.

Uji yang perlu dilakukan setelah uji penduga pada metode Angka Paling Mungkin adalah uji penegasan atau *confirmative test*. Uji penduga ini menggunakan media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) sebagai medium pertumbuhan bakterinya. Media *Brilliant Green Lactose Broth* merupakan media selektif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negative selain *Coliform*. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan hasil uji penegasan yang positif (Aulya, dkk., 2020).

Uji pelengkap merupakan uji terakhir yang dilakukan pada metode Angka Paling Mungkin. Uji pelengkap bertujuan untuk mengetahui keberadaan *E. coli* dengan media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) (Finiarti, dkk., 2022). Media EMBA mengandung eosin yang dapat menghentikan pertumbuhan bakteri Gram positif dan hanya memungkinkan bakteri gram negatif untuk berkembang. Eosin dan metilen biru pada media EMBA berfungsi sebagai pewarna untuk membentuk kompleks pada pH asam yang disebabkan fermentasi laktosa sehingga menghasilkan warna hijau metalik (Widinugroho & Asri, 2022). Media EMBA mengandung karbohidrat laktosa sehingga bakteri *E. coli* dapat terdiferensiasi berdasarkan kemampuannya memfermentasi laktosa. Perubahan warna menjadi hijau metalik pada EMBA menunjukkan bahwa *E. coli* mempunyai kemampuan dalam memfermentasi laktosa yang menyebabkan kenaikan kadar asam dan mengendapkan metilen biru pada media EMBA (Jamilatun & Aminah, 2016). Oleh karena itu, jika terdapat *E. coli* dalam biakan maka fermentasi yang menghasilkan asam akan membuat koloni *E. coli* hijau dengan kilap logam (Aulya, dkk., 2020).

#### **2.4.3 Analisis *Staphylococcus aureus***

Uji cemaran *Staphylococcus* dapat dilakukan dengan beberapa tahap yaitu Uji Mannitol, Uji Katalase, dan Uji Mikroskopis. Uji dengan menggunakan media Mannitol Salt Agar digunakan untuk menumbuhkan dan mengkarakterisasi koloni *S. aureus*. Media ini mengandung garam (NaCl) dengan konsentrasi tinggi yaitu 7,5% - 10% sehingga hanya dapat ditumbuhi oleh bakteri yang dapat mentoleransi kadar garam tinggi. Media ini juga tergolong selektif untuk menumbuhkan bakteri Gram positif (*Staphylococcus* dan *Micrococcaceae*). Media MSA juga mengandung mannitol sebagai sumber karbohidrat dan *phenol red* sebagai pH

indikator untuk mendeteksi asam yang dihasilkan oleh *Staphylococcus* (Novitasari dkk., 2019).

Sampel yang mengandung *S. aureus* ketika diinokulasi pada media MSA akan membentuk koloni bulat berwarna kuning yang dikelilingi oleh zona kuning di sekitarnya. Zona kuning ini terbentuk karena *S. aureus* mampu mengubah mannitol yang termasuk komponen dalam media MSA. Koloni *S. aureus* yang tampak berwarna kuning disebabkan oleh produksi pigmen lipokrom yang berwarna kuning keemasan atau kuning jeruk. Pigmen ini muncul setelah proses inkubasi yang dilakukan selama 18-24 jam dengan suhu 37°C (Anggriawin & Pakpahan, 2022).

Uji lanjutan untuk mengkonfirmasi bakteri *S. aureus* adalah uji katalase. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi kemampuan isolat dalam memproduksi enzim katalase dan juga untuk mengevaluasi tingkat toleransi isolat terhadap oksigen (Manalu dkk., 2020). Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki enzim katalase sehingga membuat hidrogen peroksida tidak dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Enzim katalase akan memecahkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hidrogen Peroksida) menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>. Oleh karena itu, ketika *S. aureus* diberi larutan hydrogen peroksida akan menghasilkan gelembung-gelembung dan memiliki hasil katalase positif (Rassyid dkk., 2021).

Analisis cecaran *S. aureus* dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopis yaitu pewarnaan Gram bakteri. Mekanisme pewarnaan Gram adalah kerusakan pada permukaan sel sebagai akibat proses pelunturan warna (*decolorization*). Bakteri Gram positif seperti *S. aureus* akan mempertahankan warna kristal violet yang ditetaskan. Warna kristal violet mampu diikat karena bakteri Gram positif

memiliki struktur dinding sel yang tebal dan sedikit lemak. Bakteri *S. aureus* jika diamati di bawah mikroskop akan memiliki karakteristik berbentuk kokus dan berwarna biru atau ungu yang menandakan Gram positif (Harmileni dkk., 2023).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif. Tujuan dari adanya penelitian deskriptif kuantitatif adalah untuk menginvestigasi secara sistematis fenomena di sekitar dengan mengumpulkan data dan menggambarkan objek yang diteliti secara apa adanya sesuai kondisi di lapang (Ramdhan, 2021). Penelitian ini menguji beberapa sampel es kopi seduh dingin yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru untuk mengetahui cemaran bakteri patogen khususnya *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara *purposive sampling*. Sampel diambil dari beberapa kafe yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang khususnya di Kelurahan Sumbersari, Kelurahan Mojolangu, dan Kelurahan Kendalsari. Terdapat 14 sampel yang akan diuji meliputi minuman kopi seduh dingin dan es batu. Sampel-sampel tersebut akan diambil dari beberapa kafe di antaranya:

**Tabel 2. 1 Lokasi pengambilan sampel minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru**

<b>No.</b>	<b>Nama Kafe</b>	<b>Lokasi</b>
1.	Kafe A	Kelurahan Sumbersari
2.	Kafe B	Kelurahan Mojolangu
3.	Kafe C	Kelurahan Mojolangu
4.	Kafe D	Kelurahan Mojolangu
5.	Kafe E	Kelurahan Mojolangu
6.	Kafe F	Kelurahan Kendalsari
7.	Kafe G	Kelurahan Kendalsari

### **3.3 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2023 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Malang. Sampel minuman kopi seduh dingin dan es batu diambil dari kafe yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru khususnya Kelurahan Sumbersari, Kelurahan Mojolangu, dan Kelurahan Kendalsari.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *beaker glass*, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, pipet ukur, tabung durham, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *laminar air flow*, mikroskop, inkubator, jarum ose, mikropipet, *blue tip*, *spreader*, pipet hisap, objek glass, timbangan analitik, *colony counter*, autoklaf, *ice box*, rak tabung reaksi, batang pengaduk, bunsen.

#### **3.4.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel kopi seduh dingin, sampel es batu, *Buffer Pepton Water* (BPW), media *Plate Count Agar* (PCA), media *Lactose Broth* (LB), media *Briliant Green Lactose Broth* (BGLB), media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), media *Manitol Salt Agar* (MSA), aquades, alcohol 70%, Hydrogen Peroksida 3%, kristal violet, iodine, safraninplastic wrap, alumunium foil, kapas, kassa,

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Pembuatan Media**

##### **3.5.1.1 Buffer Pepton Water**

*Buffer Pepton Water* ditimbang sebanyak 20,07 gram kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml di dalam Erlenmeyer kemudian dipanaskan

menggunakan *hot plate*. Media BPW yang sudah masak kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm (Maghfiroh dkk., 2022).

#### **3.5.1.2 Media Lactose Broth**

Media *Lactose Broth* single strain ditimbang sebanyak 13 gram dan diletakkan di dalam Erlenmeyer. Media ditambahkan aquades hingga 1000 ml kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate*. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet hisap sebanyak 9 ml. Masing-masing tabung reaksi diisi tabung durham dengan posisi terbalik dan tidak ada gelembung di dalamnya. Tabung reaksi ditutup dengan kapas (Maghfiroh dkk., 2022).

Media *Lactose Broth double strain* ditimbang sebanyak 26 gram dan diletakkan di dalam Erlenmeyer. Media ditambahkan aquades hingga 1000 ml kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate*. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet hisap sebanyak 5 ml. Masing-masing tabung reaksi diisi tabung durham dengan posisi terbalik dan tidak ada gelembung di dalamnya. Tabung reaksi ditutup dengan kapas (Maghfiroh dkk., 2022).

#### **3.5.1.3 Media Brilliant Green Lactose Broth**

Media *Brilliant Green Lactose Broth* ditimbang sebanyak 40 gram dan diletakkan dalam erlenmeyer. Media dilarutkan dengan aquades hingga 1000 ml kemudian dipanaskan di atas *hot plate*. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi menggunakan pipet hisap sebanyak 5 ml. Masing-masing tabung reaksi diberi tabung durham dengan posisi terbalik dan tidak ada gelembung di dalamnya. Tabung reaksi ditutup dengan kapas (Maghfiroh dkk., 2022).

#### **3.5.1.4 Media Eosin Methylen Blue Agar**

Media *Eosin Methylen Blue Agar* ditimbang sebanyak 1,5 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Media dilarutkan dengan aquades hingga 40 ml kemudian diberi magnetic stirrer dan dipanaskan di atas hot plate. Media disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media disimpan dan dituangkan ke dalam cawan petri ketika akan digunakan (Maghfiroh dkk., 2022).

#### **3.5.1.5 Media Plate Count Agar**

Media *Plate Count Agar* ditimbang sebanyak 22,5 gr kemudian dilarutkan dengan 1000 ml aquades didalam Erlenmeyer dan diaduk hingga homogen. Media dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mendidih. Selanjutnya disterilkan media pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Puspitasari dkk., 2022).

#### **3.5.1.6 Media Manitol Salt Agar**

Media Manitol Salt Agar ditimbang sebanyak 11,102 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan 100 mL aquades. Media diberi *magnetic stirrer* dan dipanaskan pada *hot plate* sampai homogen. Media yang sudah homogen kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Octaviani dkk., 2022).

### **3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dimasukkan plastik kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

### **3.5.3 Pengambilan Sampel**

Sampel minuman kopi seduh dingin dan es batu diambil dari tujuh kafe yang terdapat di Kelurahan Sumbersari, Kelurahan Mojolangu, dan Kelurahan Kendalsari. Jumlah total sampel yang diuji pada penelitian ini adalah 14 sampel.

Sampel dibeli dari kafe yang telah ditentukan kemudian dimasukkan ke dalam *ice box* dan dibawa ke laboratorium untuk diuji.

### 3.5.4 Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Pada pengujian metode ALT, sampel diambil sebanyak 2,5 ml dan dimasukkan erlenmeyer steril kemudian ditambahkan pelarut BPW (*Buffer Peptone Water*) sebanyak 22,5 mL/sampel (pengenceran  $10^{-1}$ ). Sebanyak 1 ml pengenceran  $10^{-1}$  dimasukkan ke dalam larutan BPW 9 ml sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ , tahap ini dilakukan sampai pengenceran  $10^{-5}$ . Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan pada cawan petri sesuai jumlah pengenceran kemudian media PCA (*Plate Count Agar*) dituang pada masing-masing cawan dan ditambah untuk media kontrol. Isolat digoyangkan membentuk angka delapan agar sampel merata pada media kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . jumlah koloni yang tumbuh diamati karakteristiknya dan dihitung. Koloni juga dihitung untuk mengetahui berapa banyak mikroba yang tumbuh. Perhitungan koloni dapat menggunakan *colony counter* untuk menandai koloni baru, dan kemudian nilai TPC dihitung menggunakan rumus (BSNI, 2014):

$$\text{Koloni per gr} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

### 3.5.5 Uji Angka Paling Mungkin

#### 3.5.5.1 Uji Penduga

Sampel sebanyak 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml masing-masing dimasukkan ke media LB berisi tabung durham secara aseptis di LAF dengan ragam 3 3 3 . Sampel yang telah diinokulasikan ke dalam media diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 1 x 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas pada tabung durham dan terjadinya perubahan warna atau kekeruhan pada media (Purnama dkk., 2019)..

### 3.5.5.2 Uji Penegasan

Uji penegasan menggunakan media BGLB (*Briliant Green Lactosa Broth*). Hasil positif dari uji penduga dilanjutkan dengan uji penegasan. Hasil positif dari uji penduga diinokulasikan pada media BGLB sebanyak 2-3 ose secara aseptis lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas pada tabung durham dan terjadinya perubahan warna atau kekeruhan pada media. Jumlah tabung yang positif dicatat kemudian untuk menghitung jumlah bakteri digunakan tabel MPN (*Most Probable Number*) (Purnama dkk., 2019).

### 3.5.5.3 Uji Keberadaan *Escherichia coli*

Uji keberadaan *E. coli* menggunakan media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA). Media EMBA dituangkan pada cawan petri sampai membeku. Hasil positif pada uji penegasan diambil menggunakan jarum ose secara aseptis kemudian digoreskan di atas media. Isolat diinkubasi selama 1x24 jam. Koloni bakteri hijau metalik atau biru keunguan muncul pada sampel di dalam cawan petri, yang menunjukkan keberadaan bakteri *Escherichia coli* (Purnama dkk., 2019).

### 3.5.5.4 Uji Mikroskopis

Uji mikroskopis pada penelitian ini bertujuan untuk mengamati karakteristik mikroskopis dari bakteri *E. coli*. Pengamatan dilakukan dengan pewarnaan gram bakteri. Prosedur pewarnaan gram diawali dengan mengambil koloni pada media EMBA dan diletakkan pada kaca preparat yang telah ditetesi aquades steril. Preparat dipanaskan di atas bunsen hingga mengering kemudian ditetesi larutan kristal violet (Gram A) dan didiamkan selama 60 detik. Preparat dibilas dengan aquades lalu ditetesi kembali dengan iodine (Gram B) selama 60 detik. Preparat kemudian dibilas dengan aquades mengalir. Preparat *decolorisasi* dengan alkohol

(Gram C) selama 30 detik. Preparat dibilas dengan aquades lalu ditetesi dengan safranin (Gram D) selama 60 detik. Preparat dibilas dengan aquades dan dikeringanginkan. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai (Prasetyaningsih dkk., 2022).

### **3.5.6 Uji Cemar *Staphylococcus aureus***

#### **3.5.6.1 Uji Mannitol Salt Agar**

Uji cemar *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan membuat pengenceran sampel terlebih dahulu. Sampel sebanyak 2,5 ml dimasukkan ke dalam Erlenmeyer steril dan ditambahkan pelarut BPW (*Buffer Peptone Water*) sebanyak 22,5 mL/sampel (pengenceran  $10^{-1}$ ). Selanjutnya, sebanyak 1 ml pengenceran  $10^{-1}$  dimasukkan ke dalam larutan BPW 9 ml sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-2}$ , proses ini dilakukan hingga pengenceran  $10^{-5}$ . Media *Mannitol Salt Agar* dituangkan ke cawan petri secara aseptis dan dibiarkan hingga memadat. Sampel dari setiap pengenceran diinokulasikan ke cawan petri berisi media dan diratakan menggunakan *spreader*. Isolat diberi label dan diinkubasi selama 48 jam kemudian diamati perubahan warna media dan dihitung jumlah koloninya. Media yang berubah warna menjadi warna kuning menunjukkan bahwa sampel tersebut positif terkontaminasi *S. aureus* (Octaviani dkk., 2022).

#### **3.5.6.2 Uji Katalase**

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas katalase dari bakteri *S. aureus*. Isolat *S. aureus* pada media *Mannitol Salt Agar* diambil sebanyak 1-2 ose kemudian diletakkan pada objek glass yang telah ditetesi larutan Hydrogen Perosida 3%. Jika larutan tersebut menghasilkan gelembung maka menunjukkan adanya aktivitas dari *S. aureus* (Octaviani dkk., 2022).

### 3.5.6.3 Uji Mikroskopis

Uji mikroskopis dilakukan dengan cara pewarnaan gram bakteri untuk mengetahui karakteristik mikroskopis bakteri *S. aureus* yang terdapat pada setiap sampel. Isolat *S. aureus* sebanyak 1 ose diletakkan pada objek glass yang telah ditetesi aquades. Isolat tersebut dibuat apusan dengan cara dipanaskan di atas bunsen hingga aquades mengering. Apusan bakteri ditetesi larutan kristal violet dan didiamkan selama 60 detik kemudian dibilas dengan aquades. Pewarnaan selanjutnya, apusan ditetesi iodine dan didiamkan selama 60 detik kemudian dibilas dengan aquades. Apusan diberi alcohol 70% selama 30 detik dan dibilas dengan aquades. Pewarnaan gram penutup dilakukan dengan meneteskan safranin pada apusan dan didiamkan selama 60 detik kemudian dibilas dengan aquades dan dikering anginkan. Apusan diamati menggunakan mikroskop, jika terlihat koloni berwarna ungu dan berbentuk kokus maka bakteri tersebut adalah *S. aureus* (Octaviani dkk., 2022).

### 3.6 Analisis Data

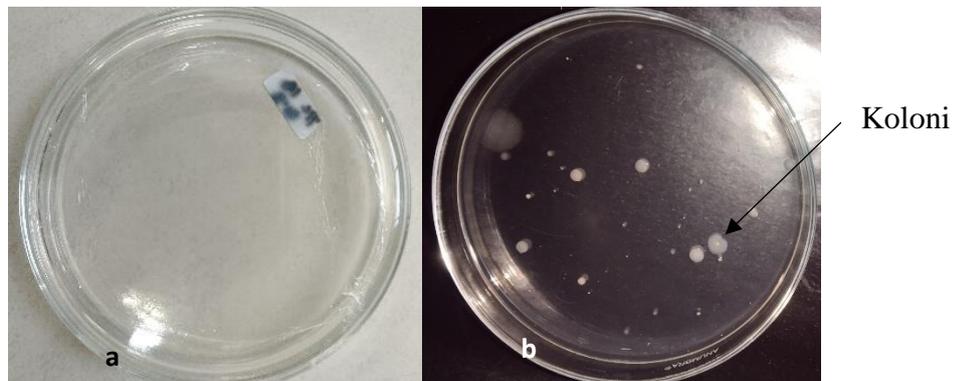
Data yang diperoleh dari hasil uji berupa angka atau nilai cemaran *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan jumlah total bakteri. Data tersebut dicocokkan dengan batas cemaran mikroba pada SNI 7388:2009 dan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan olahan. Data juga berupa gambar hasil pengamatan uji cemaran *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan jumlah total bakteri.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Jumlah Angka Lempeng Total pada Minuman Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang

Uji Angka Lempeng Total pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah total bakteri yang terdapat pada setiap 1 ml sampel (Ogunware, *et al.*, 2020). Sampel yang terkontaminasi oleh mikroba menunjukkan adanya koloni pada media. Koloni tersebut dapat tumbuh di permukaan atau di dalam media dengan karakteristik makroskopis berwarna putih, bulat, halus. Karakteristik koloni serupa juga diungkapkan oleh Puspitasari dkk. (2022) bahwa ciri-ciri koloni pada uji angka lempeng total adalah berbentuk bulat, berwarna putih susu, dan permukaannya halus.



**Gambar 4. 1 Hasil uji Angka Lempeng Total minuman kopi seduh dingin. (a) media kontrol, (b) sampel kopi kafe F pada media dan menumbuhkan koloni bakteri berwarna putih.**

Hasil uji Angka Lempeng Total sebanyak 14 sampel minuman kopi seduh dingin yang diambil dari beberapa kafe di Kecamatan Lowokwaru disajikan pada tabel di bawah ini:

**Tabel 4. 1 Hasil uji Angka Lempeng Total minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

No.	Nama Kafe	Jenis Sampel	Jumlah Koloni (koloni/ml)	Standar Cemarannya* (koloni/ml)	Keterangan
1.	Kafe A	Minuman kopi	$2,1 \times 10^4$	$1 \times 10^3$	TMS
2.	Sumbersari	Es batu	$5,9 \times 10^2$	$1 \times 10^4$	MS
3.	Kafe B,	Minuman kopi	$5,3 \times 10^4$	$1 \times 10^3$	TMS
4.	Mojolangu	Es batu	$4,9 \times 10^2$	$1 \times 10^4$	MS
5.	Kafe C,	Minuman kopi	$8,4 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	TMS
6.	Mojolangu	Es batu	$3,3 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	MS
7.	Kafe D,	Minuman kopi	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	MS
8.	Mojolangu	Es batu	$6,9 \times 10^2$	$1 \times 10^4$	MS
9.	Kafe E,	Minuman kopi	$1,1 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	TMS
10.	Mojolangu	Es batu	$3,3 \times 10^2$	$1 \times 10^4$	MS
11.	Kafe F,	Minuman kopi	$8,9 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	MS
12.	Kendalsari	Es batu	$2,2 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	MS
13.	Kafe G,	Minuman kopi	$1,05 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	TMS
14.	Kendalsari	Es batu	$9,7 \times 10^2$	$1 \times 10^4$	MS

Keterangan:

\* : mengacu pada Peraturan BPOM Nomor 13 Tahun 2019 dan SNI 7388:2009

MS : Memenuhi Syarat

TMS : Tidak Memenuhi Syarat

Hasil uji Angka Lempeng Total sampel minuman kopi seduh dingin pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa terdapat 5 sampel minuman kopi seduh dingin yang tidak memenuhi syarat. Cemarannya tertinggi terdapat pada minuman kopi dari kafe B dengan nilai  $5,3 \times 10^4$  koloni/ml sedangkan cemarannya terendah terdapat pada sampel minuman kopi dari kafe D dengan nilai  $1 \times 10^2$  koloni/ml. Berdasarkan peraturan

Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 tentang Batas Maksimal Cemarkan Mikroba Dalam Olahan Pangan, batas maksimal cemarkan mikroba minuman kopi pada uji ALT adalah  $1 \times 10^3$  koloni/ml. Batas cemarkan mikroba untuk es batu pada uji ALT berdasarkan SNI 7388:2009 adalah  $1 \times 10^4$  koloni/ml.

Cemarkan mikroba yang terdapat pada minuman kopi tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti kondisi pada lingkungan sekitar kafe. Kondisi pada kafe C yang terbuka dan dekat dengan jalan raya memungkinkan untuk polusi mudah masuk ke dalam area kafe. Kafe E juga memiliki lokasi tepat di pinggir jalan raya dan semi terbuka, hal ini memungkinkan debu dari luar mudah masuk ke dalam kafe (lampiran 3). menurut Veniranda dkk. (2021) bahwa kontaminasi lebih mudah terjadi ketika makanan atau minuman disajikan di area terbuka atau semi terbuka. Selain itu, proses penyajian yang dilakukan di kafe A, kafe B, dan Kafe G kurang higienis, penyaji tidak menggunakan baju kerja seperti apron, sarung tangan, dan penutup kepala saat membuat minuman (lampiran 3). Hal ini sejalan dengan pendapat Romandah dkk. (2017) bahwa penjamah makanan harus menggunakan seragam kerja seperti apron, sarung tangan, dan penutup kepala saat penyajian makanan untuk menghindari terjadinya kontaminasi silang.

Hasil pada tabel 2.1 juga menunjukkan sebanyak 9 sampel meliputi minuman kopi dan es batu memenuhi syarat untuk dikonsumsi dan sesuai dengan standar cemarkan yang telah ditentukan. Nilai cemarkan terendah terdapat pada sampel minuman kopi seduh dingin dari kafe D yaitu  $1 \times 10^2$  koloni/ml. Nilai tersebut masih di bawah standar yang ditentukan sehingga aman untuk dikonsumsi. Cemarkan mikroba yang minim didukung oleh beberapa hal seperti kondisi

lingkungan kafe dan proses penyajian. Kafe D memiliki tempat yang tertutup dengan ruangan ber-AC memungkinkan untuk meminimalisir cemaran pada makanan dan minuman yang disajikan. Adapun kondisi Kafe F yang tidak terlalu dekat dengan jalan raya, kondisi kafe tertutup dinding kaca, ruangan ber-AC untuk konsumen, dan dapur yang tertutup (lampiran 3). Kondisi pada kafe D dan F tersebut mendukung untuk meminimalisir cemaran mikroba sebagaimana menurut Veniranda dkk. (2021) dapur atau ruang produksi yang tertutup akan mengurangi kontaminasi yang disebabkan oleh mikroba dan polusi.

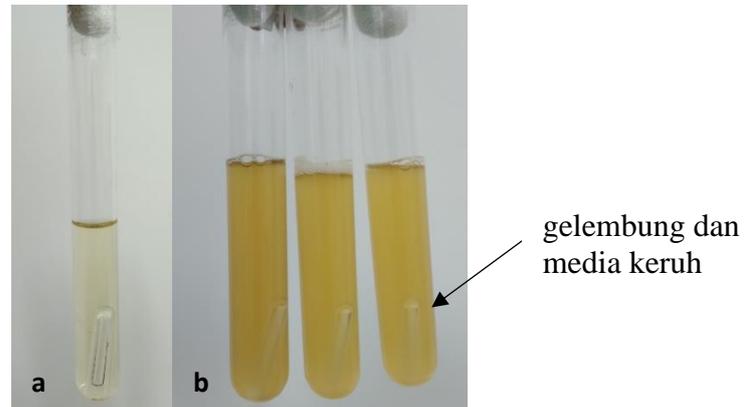
#### **4.2 Uji Cemaran *Escherichia coli* pada Minuman Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

##### **4.2.1 Uji Penduga (*Presumptive Test*)**

Uji penduga merupakan uji pertama yang dilakukan pada Angka Paling Mungkin. Hasil uji penduga dapat diamati dengan melihat ada atau tidaknya gelembung pada tabung durham dan perubahan warna media menjadi keruh. Jika tidak terdapat gelembung dan warna media tidak berubah maka hasilnya negatif atau tidak terkontaminasi bakteri Coliform. Namun, media yang keruh dan terdapat gelembung setelah diinkubasi selama 24 jam maka menunjukkan hasil positif atau terkontaminasi bakteri Coliform (Alifia & Aji, 2021). Hasil pengamatan uji penduga dapat dilihat pada gambar 4.2

Bakteri Coliform dapat memfermentasi laktosa yang terkandung dalam media *Lactose Broth* sehingga menghasilkan gas dan asam. Oleh karena itu, media yang terkontaminasi Coliform akan berubah menjadi keruh dan menghasilkan gelembung. Hal ini sejalan dengan pendapat Finiarti dkk. (2022) perubahan warna media dan adanya gelembung pada uji *Most Probable Number* menunjukkan adanya aktivitas bakteri Coliform yang memfermentasi laktosa. Adapun Hasil uji

penduga sampel es kopi seduh dingin yang diambil dari beberapa kafe yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang disajikan pada tabel 4.2



**Gambar 4. 2 Hasil uji penduga minuman kopi seduh dingin.** (a) media kontrol, (b) Sampel minuman kopi kafe E yang diduga terkontaminasi Coliform ditandai dengan kekeruhan media dan adanya gelembung pada tabung durham.

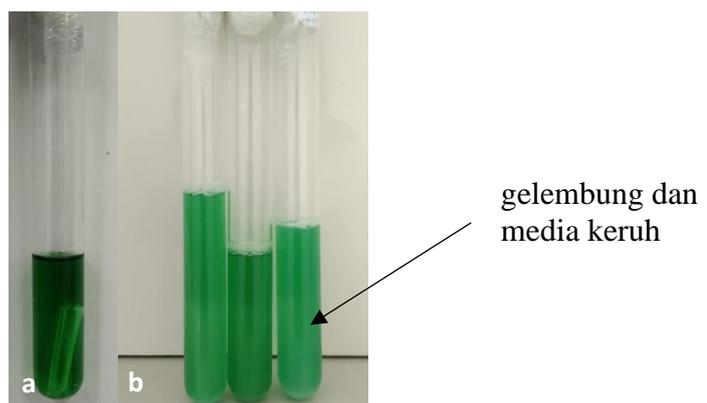
**Tabel 4. 2 Hasil uji penduga jumlah total Coliform minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

No.	Nama Kafe	Jenis Sampel	Hasil Uji Penduga			Ket.
			$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
1.	Kafe A	Minuman kopi	2	1	3	Positif
2.	Sumbersari	Es batu	3	3	3	Positif
3.	Kafe B,	Minuman kopi	3	3	3	Positif
4.	Mojolangu	Es batu	2	1	0	Positif
5.	Kafe C,	Minuman kopi	3	2	0	Positif
6.	Mojolangu	Es batu	3	1	0	Positif
7.	Kafe D,	Minuman kopi	3	3	0	Positif
8.	Mojolangu	Es batu	3	2	0	Positif
9.	Kafe E,	Minuman kopi	3	2	0	Positif
10.	Mojolangu	Es batu	3	1	0	Positif
11.	Kafe F,	Minuman kopi	3	3	0	Positif
12.	Kendalsari	Es batu	3	3	0	Positif
13.	Kafe G,	Minuman kopi	3	1	0	Positif
14.	Kendalsari	Es batu	0	2	0	Positif

Hasil uji penduga sampel es kopi seduh dingin menunjukkan bahwa seluruh sampel minuman kopi seduh dingin dan es batu yang diuji positif bakteri Coliform. Oleh karena itu, semua sampel diuji lanjutan yaitu uji penegasan. Hal ini sesuai prosedur yang diungkapkan oleh Alifia dan Aji (2021) bahwa hasil positif dari uji penduga yang ditandai dengan adanya gelembung di dalam tabung durham dan media yang keruh akan dilanjutkan dengan uji penegasan menggunakan media *Brilliant Green Lactose Broth*.

#### 4.2.2 Uji Penegasan (Confirmative test)

Uji penegasan merupakan uji lanjutan dari uji penduga yang mana suspensi sampel positif dari uji penduga diinokulasikan ke dalam media *Brilliant Green Lactose Broth* yang telah diisi tabung durham (Maghfiroh dkk., 2022). Hasil positif *Coliform* menunjukkan adanya gelembung pada tabung durham dan warna media yang berubah menjadi hijau keruh. Hasil negatif menunjukkan tidak adanya gelembung dan warna media tidak berubah (Alifia & Aji, 2021).



**Gambar 4. 3 Hasil uji penegasan minuman kopi seduh dingin.** (a) media kontrol, (b) sampel minuman kopi kafe F yang terkontaminasi Coliform ditandai dengan kekeruhan media dan adanya gelembung pada tabung durham.

Media *Brilliant Green Lactose Broth* yang digunakan pada uji penegasan ini merupakan media selektif sehingga akan meningkatkan pertumbuhan bakteri Coliform dan menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif selain Coliform. Oleh karena itu, gas dan asam yang dihasilkan pada uji penegasan dapat dipastikan karena adanya bakteri Coliform (Fathurahman *et al.*, 2020). Adapun hasil uji penegasan sampel minuman kopi seduh dingin yang diambil dari beberapa kafe yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru disajikan pada tabel 4.3

**Tabel 4. 3 Hasil uji penegasan jumlah total Coliform minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

No	Nama Kafe	Jenis Sampel	Hasil Uji Penegasan			APM* (koloni/ml)	Standar Cemaran (koloni/ml)	Ket.
			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>			
1.	Kafe A Sumbersari	Minuman kopi	2	2	2	35	< 2/100 ml	TMS
2.		Es batu	3	3	3	>1100	< 3/ml	TMS
3.	Kafe B, Mojolangu	Minuman kopi	3	3	3	>1100	< 2/100 ml	TMS
4.		Es batu	2	1	0	15	< 3/ml	TMS
5.	Kafe C, Mojolangu	Minuman kopi	0	3	0	9,4	< 2/100 ml	TMS
6.		Es batu	3	3	3	>1100	< 3/ml	TMS
7.	Kafe D, Mojolangu	Minuman kopi	3	3	3	>1100	< 2/100 ml	TMS
8.		Es batu	3	1	0	43	< 3/ml	TMS
9.	Kafe E, Mojolangu	Minuman kopi	3	2	2	210	< 2/100 ml	TMS
10.		Es batu	3	1	0	43	< 3/ml	TMS
11.	Kafe F, Kendalsari	Minuman kopi	3	3	3	>1100	< 2/100 ml	TMS
12.		Es batu	3	3	3	>1100	< 3/ml	TMS
13.	Kafe G, Kendalsari	Minuman kopi	3	1	0	43	< 2/100 ml	TMS
14.		Es batu	0	2	0	6,2	< 3/ml	TMS

Keterangan:

\* : mengacu pada SNI 7388:2009

MS : Memenuhi Syarat

TMS : Tidak Memenuhi Syarat

Hasil uji penegasan pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa seluruh sampel es batu dan minuman kopi seduh dingin yang telah diuji terkontaminasi oleh bakteri Coliform dan melebihi standar cemaran yang telah ditentukan. Berdasarkan SNI 7388:2009 batas cemaran Angka Paling Mungkin Coliform pada minuman kopi adalah  $< 2/100$  ml sedangkan batas cemaran Angka Paling Mungkin Coliform pada es batu adalah  $< 3/\text{gram}$ . Cemaran tertinggi pada uji Angka Paling Mungkin terdapat pada sampel minuman kopi dari Kafe B, D, dan F sedangkan untuk sampel es batu berasal dari kafe A, C, F yaitu  $>1100$  APM/ml. Cemaran terendah terdapat pada sampel es batu dari kafe G yaitu 6,2 APM/ml.

Cemaran bakteri Coliform yang terdapat pada minuman kopi seduh dingin dapat disebabkan oleh air yang digunakan saat penyajian. Seluruh kafe tersebut menggunakan air isi ulang yang diambil dari Depo Air Minum Isi Ulang (DAMIU) untuk membuat minuman. Berdasarkan hasil penelitian Kusmawati & Rahayu (2019) menyebutkan bahwa terdapat 18 dari 20 sampel yang diambil dari depo air minum isi ulang (DAMIU) Kota Malang tercemar *Coliform* dan 10 di antaranya mengandung *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan kontaminasi bakteri *E. coli* berasal dari air isi ulang yang digunakan di kafe tersebut.

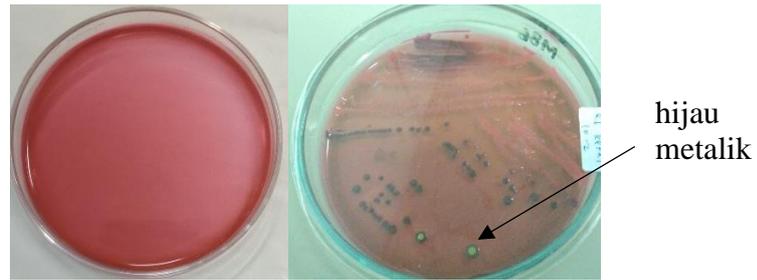
Cemaran juga dapat disebabkan oleh air bersuhu ruang yang digunakan saat penyajian kopi. Kopi seduh dingin disajikan dengan air bersuhu  $20-25^{\circ}\text{C}$  tanpa air panas. Hal ini memungkinkan air bersuhu ruang tersebut tidak dapat mematikan mikroba yang terdapat di dalam minuman kopi. Sebagaimana hasil penelitian Arivo dkk. (2017) bakteri *E. coli* mampu tumbuh pada rentan suhu  $27^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$  dan pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  pertumbuhannya mulai menurun. Hal ini menunjukkan bahwa suhu air

pada minuman kopi seduh dingin tidak dapat mengurangi pertumbuhan *E. coli* sehingga memungkinkan adanya kontaminasi.

*Personal hygiene* juga menjadi faktor tingginya kontaminasi coliform pada minuman kopi seduh dingin. Hampir seluruh penyaji di kafe tersebut tidak menggunakan sarung tangan dan penutup kepala saat penyajian minuman (lampiran 3). Hal ini memungkinkan terjadi kontaminasi melalui kulit atau tangan yang sering bersentuhan dengan barang lain selain bahan pangan yang digunakan. Menurut Romanda dkk. (2017) tenaga penjamah yang tidak memenuhi syarat mempunyai peluang terkontaminasi *E. coli* sebanyak 4,5 kali dibandingkan dengan tenaga penjamah yang memenuhi syarat. Memenuhi syarat yang dimaksud pada pernyataan tersebut adalah tenaga penjamah atau penyaji harus mencuci tangan dengan sabun sebelum memulai proses penyajian, menggunakan seragam kerja seperti apron, sarung tangan, dan penutup kepala saat proses penyajian.

#### **4.2.3 Uji Pelengkap (*Complete Test*)**

Uji pelengkap pada penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada sampel minuman kopi seduh dingin. Uji ini dilakukan dengan menggunakan media *Eosin Methylen Blue Agar*. Sampel yang mengandung bakteri *E. coli* akan menumbuhkan koloni berwarna hijau metalik di permukaan media sedangkan sampel yang mengandung bakteri Coliform selain *E. coli* akan menumbuhkan koloni berwarna merah. Hasil ini sejalan dengan pendapat Putri *et al.* (2023) apabila pada media *Eosin Methylen Blue Agar* terdapat koloni berwarna hijau metalik maka menunjukkan aktivitas pertumbuhan bakteri *E. coli*.



**Gambar 4. 4 Hasil uji pelengkap es kopi seduh dingin.** (a) media kontrol, (b) sampel minuman kopi kafe B yang terkontaminasi *E. coli* ditandai dengan adanya koloni berwarna hijau metalik.

Hasil uji pelengkap sampel minuman kopi seduh dingin yang diambil dari beberapa kafe yang terdapat di Kecamatan Lowokwaru disajikan pada tabel 4.4

**Tabel 4. 4 Hasil uji pelengkap keberadaan *Escherichia coli* pada minuman kopi seduh dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

No.	Nama kafe	Jenis sampel	Karakteristik warna koloni	Keberadaan <i>E. coli</i>
1.	Kafe A	Minuman kopi	hijau metalik	+
2.	Sumbersari	Es batu	hijau metalik	+
3.	Kafe B,	Minuman kopi	hijau metalik	+
4.	Mojolangu	Es batu	Merah	-
5.	Kafe C,	Minuman kopi	Merah	-
6.	Mojolangu	Es batu	hijau metalik	+
7.	Kafe D,	Minuman kopi	hijau metalik	+
8.	Mojolangu	Es batu	Merah	-
9.	Kafe E,	Minuman kopi	Merah	-
10.	Mojolangu	Es batu	hijau metalik	+
11.	Kafe F,	Minuman kopi	hijau metalik	+
12.	Kendalsari	Es batu	hijau metalik	+
13.	Kafe G,	Minuman kopi	Merah	-
14.	Kendalsari	Es batu	Merah	-

Keterangan:

+: terdapat *E. coli*

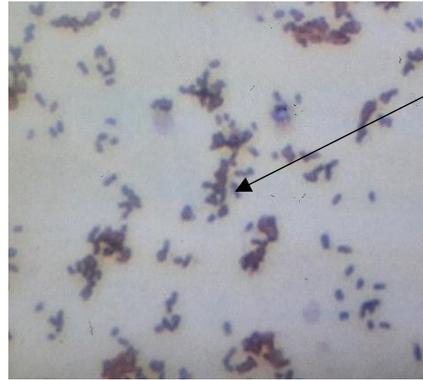
- : tidak ada *E. coli*

Hasil uji pelengkap yang bertujuan untuk mengidentifikasi adanya bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa sebanyak 8 sampel mengandung bakteri *E. coli* yang ditunjukkan dengan adanya warna hijau metalik pada permukaan media *Eosin Methylene Blue Agar*. Media yang ditumbuhi koloni berwarna merah tanpa hijau metalik menunjukkan bahwa media tersebut ditumbuhi bakteri Coliform selain *E. coli*. Hasil ini sesuai dengan pendapat Kartikasari dkk. (2019) bahwa koloni hijau metalik terbentuk karena terdapat reaksi antara bakteri *E. coli* dan *methylene blue*.

#### **4.2.4 Uji Mikroskopis**

Uji mikroskopis pada penelitian ini dilakukan dengan pewarnaan Gram bakteri terhadap sampel yang positif *E. coli* pada uji sebelumnya. Hasil pengamatan mikroskopis di bawah mikroskop menunjukkan bahwa bakteri memiliki bentuk basil dan berwarna merah. Hal ini sejalan dengan pendapat Marbun dkk. (2020) bahwa bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang berbentuk batang dan termasuk gram negatif berwarna merah dalam pewarnaan Gram. Hasil pengamatan karakteristik *E. coli* dapat dilihat pada gambar 4.5.

Bakteri *E. Coli* mampu mempertahankan warna merah yang terdapat pada safranin sehingga saat diamati bakteri tersebut berwarna merah. Sebagaimana pendapat Marbun dkk. (2020) Bakteri *E. coli* adalah bakteri Gram negatif dengan struktur dinding sel yang tipis dan berlapis tiga. Dinding sel tersebut memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi daripada bakteri gram positif. Selain itu, peptidoglikan dinding sel yang dimiliki bakteri gram negative lebih sedikit. Oleh karena itu, bakteri gram negative mampu mempertahankan warna merah saat proses pewarnaan gram (Katon dkk., 2020).



Bakteri gram negatif, basil

**Gambar 4. 5 Hasil pengamatan mikroskopis karakteristik *E. coli* pada sampel minuman kopi seduh dingin**

Firman Allah SWT dalam QS: Al-Baqarah [2]:26

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعْضُهُ مِمَّا بَعْضُهُ فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۗ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

*“Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik”*

Dalam Tafsir Al-Misbah, kata “فَمَا فَوْقَهَا” memiliki arti “berupa kutu atau lebih besar dari itu”. Ayat tersebut juga memiliki kata “يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا” yang memiliki arti “Dengan perumpamaan itu banyak (orang) yang disesatkan dengannya dan dengannya (pula) banyak orang yang diberi petunjuk”. Kalimat tersebut menunjukkan bahwa di dunia ini terdapat makhluk berukuran kecil yang dijadikan perumpamaan oleh Allah SWT. Namun, orang-orang fasik tidak mempercayai perumpamaan dengan makhluk yang kecil. Berbeda dengan orang-orang mukmin yang mempercayai hal tersebut. Oleh karena itu, adanya

perumpamaan ini banyak memberi petunjuk banyak pula menyesatkan sebagian orang.

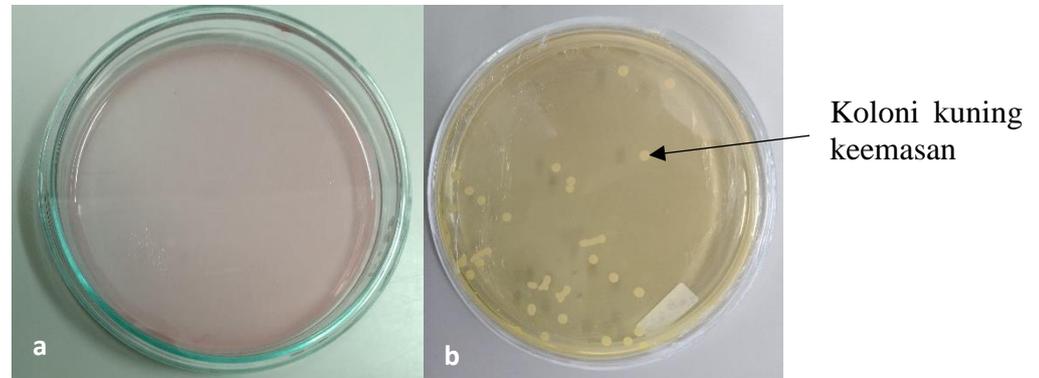
Al-Quran Surat Al-Baqarah ayat 26 ini menunjukkan bahwa di alam ini banyak terdapat makhluk yang lebih kecil dari kutu seperti mikroorganisme yang hanya bisa dilihat dengan alat pembesar seperti mikroskop. Keberadaan mikroorganisme seperti bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki dampak negatif seperti menyebabkan penyakit saluran pencernaan dan saluran pernapasan. Namun, keberadaan bakteri tersebut juga dapat menjadi petunjuk bagi orang-orang yang memahaminya. Orang yang mempelajari mikrobiologi akan memahami bahwa keberadaan bakteri tersebut dapat digunakan sebagai indikator cemaran lingkungan selain itu dapat juga digunakan untuk uji antibakteri sehingga akan ditemukan obat dari penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal inilah yang disebut bahwa suatu perumpamaan dapat memberi petunjuk dan dapat pula menyesatkan.

### **4.3 Uji Cemaran *Staphylococcus aureus* pada Minuman Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang**

#### **4.3.1 Uji Mannitol Salt Agar**

Uji cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* pada minuman kopi seduh dingin pada penelitian ini dilakukan dengan menumbuhkan koloni sampel es kopi seduh dingin pada permukaan media *Mannitol Salt Agar*. Sampel yang terkontaminasi bakteri *S. aureus* akan tumbuh koloni pada permukaan media dan media berubah warna dari merah menjadi kuning. Koloni yang tumbuh pada permukaan media *Mannitol Salt Agar* memiliki karakteristik bulat, halus, berwarna kuning. Sejalan dengan pendapat Budiyanto dkk. (2021) isolat yang positif *S.*

*aureus* akan berubah warna menjadi kuning dan sebaliknya apabila negatif maka isolat akan tetap berwarna merah.



**Gambar 4. 6 Hasil uji cemaran *Staphylococcus aureus* pada media Mannitol Salt Agar.** (a) media kontrol, (b) sampel minuman kopi seduh dingin diduga terkontaminasi *S. aureus* dengan koloni kuning keemasan dan perubahan media menjadi kuning.

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *S. aureus* pada permukaan media *Mannitol Salt Agar* disajikan pada tabel 4.5. Hasil uji *S. aureus* pada media *Mannitol Salt Agar* pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa sebanyak 13 sampel es batu dan minuman kopi seduh dingin terkontaminasi oleh *S. aureus* dan melebihi batas standar yang ditentukan. Batas cemaran *S. aureus* minuman kopi berdasarkan SNI 7388:2009 adalah  $1 \times 10^2$  koloni/ml. Nilai cemaran tertinggi terdapat pada sampel minuman kopi yang berasal dari kafe F dengan nilai  $6,3 \times 10^5$  koloni/ml. Nilai cemaran terendah terdapat pada sampel minuman kopi yang berasal dari kafe E yaitu  $6,0 \times 10^1$ .

**Tabel 4. 5 Hasil perhitungan koloni *S. aureus* sampel minuman kopi seduh dingin pada media *Mannitol Salt Agar***

No.	Nama Kafe	Jenis Sampel	Jumlah Koloni (koloni/ml)	Standar Cemar* (koloni/ml)	Keterangan
1.	Kafe A	Minuman kopi	$1,1 \times 10^5$	$1 \times 10^2$	TMS
2.	Sumpersari	Es batu	$3,5 \times 10^2$	$1 \times 10^2$	TMS
3.	Kafe B,	Minuman kopi	$1,3 \times 10^4$	$1 \times 10^2$	TMS
4.	Mojolangu	Es batu	$2,2 \times 10^4$	$1 \times 10^2$	TMS
5.	Kafe C,	Minuman kopi	$1,7 \times 10^3$	$1 \times 10^2$	TMS
6.	Mojolangu	Es batu	$1,6 \times 10^3$	$1 \times 10^2$	TMS
7.	Kafe D,	Minuman kopi	$1,1 \times 10^5$	$1 \times 10^2$	TMS
8.	Mojolangu	Es batu	$3,0 \times 10^3$	$1 \times 10^2$	TMS
9.	Kafe E,	Minuman kopi	$6,0 \times 10^1$	$1 \times 10^2$	MS
10.	Mojolangu	Es batu	$4,9 \times 10^3$	$1 \times 10^2$	TMS
11.	Kafe F,	Minuman kopi	$6,3 \times 10^5$	$1 \times 10^2$	TMS
12.	Kendalsari	Es batu	$5,1 \times 10^5$	$1 \times 10^2$	TMS
13.	Kafe G,	Minuman kopi	$1,2 \times 10^2$	$1 \times 10^2$	TMS
14.	Kendalsari	Es batu	$3,2 \times 10^2$	$1 \times 10^2$	TMS

Keterangan:

\* : SNI 7388:2009

MS : Memenuhi Syarat

TMS : Tidak Memenuhi Syarat

Cemaran *S. aureus* pada minuman kopi seduh dingin dan es batu dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti proses penyajian yang kurang higienis dan lokasi kafe. Semua penyaji di kafe tersebut tidak menggunakan sarung tangan dan penutup kepala saat membuat minuman (lampiran 3) sehingga memungkinkan terjadi kontaminasi melalui kulit dan tangan. Hal ini sejalan dengan pendapat Adzitey *et al* (2019) *S. aureus* mudah mencemari makanan dan minuman melalui tangan yang bersentuhan dengan mulut dan hidung sehingga ketika makanan tersebut dipegang dapat mengakibatkan kontaminasi. Sejalan dengan pendapat Veniranda dkk. (2021) faktor utama yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi bakteri adalah dengan mencuci tangan dengan sabun

sebelum memulai proses penyajian. Pendapat Kurniati dkk. (2019) juga mengatakan bahwa tangan dapat menjadi perantara bakteri yang menyebabkan infeksi saluran pencernaan dan pernapasan serta penyakit kulit. Oleh karena itu, mencuci tangan secara teratur dapat membantu mengurangi jumlah bakteri yang ada di tangan.

Cemaran *S. aureus* pada minuman kopi seduh dingin juga dapat disebabkan oleh kontaminasi saat perendaman kopi seduh dingin. Proses pembuatan kopi seduh dingin yang membutuhkan waktu perendaman selama 8-12 jam memungkinkan adanya kontaminasi jika wadah yang digunakan kurang bersih atau tidak tertutup rapat. Beberapa kafe merendam bubuk kopi di wadah jerigen berukuran besar atau sedang. Kontaminasi dapat terjadi ketika wadah jerigen tersebut dibuka dan dipindahkan ke gelas penyajian. Saat perpindahan ke gelas penyajian, minuman kopi terbuka dan terpapar udara dari luar sehingga memungkinkan adanya kontaminasi ketika minuman tersebut disimpan kembali. Sebagaimana menurut Bencardino *et al* (2021) juga mengatakan bahwa *S. aureus* dapat ditemukan di limbah, udara, tanah, air, permukaan tanaman, dan hewan, tetapi paling sering terkontaminasi oleh penjamah makanan.

Sampel minuman kopi yang memenuhi syarat terdapat pada kafe E yang terletak di daerah Mojolangu. Kontaminasi yang minim ini kemungkinan terjadi karena minuman kopi yang telah direndam selama 12 jam disimpan di dalam kulkas bukan di suhu ruang. Berbeda dengan beberapa kafe lain yang menyimpan minuman kopi seduh dingin pada suhu ruang atau rak penyimpanan bahan lainnya. Suhu di dalam kulkas kemungkinan akan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan patogen. Sebagaimana menurut Nurdiani dkk (2020)

penyimpanan pada suhu dingin akan menghambat pertumbuhan mikroba sehingga bahan pangan yang disimpan pada suhu dingin memiliki kualitas yang lebih baik daripada disimpan pada suhu ruang.

Firman Allan SWT. dalam QS: Al-Ma'idah [5]: 6

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِذَا قُمْتُمْ إِلَى الصَّلَاةِ فَاغْسِلُوا وُجُوهَكُمْ وَأَيْدِيَكُمْ إِلَى الْمَرَافِقِ وَامْسَحُوا بِرُءُوسِكُمْ وَأَرْجُلَكُمْ إِلَى الْكَعْبَيْنِ  
وَإِنْ كُنْتُمْ جُنُبًا فَاطَّهَّرُوا وَإِنْ كُنْتُمْ مَرْضَىٰ أَوْ عَلَىٰ سَفَرٍ أَوْ جَاءَ أَحَدٌ مِنْكُمْ مِنَ الْغَائِطِ أَوْ لَمَسْتُمُ النِّسَاءَ فَلَمْ يَجِدُوا مَاءً  
فَتَيَمَّمُوا صَعِيدًا طَيِّبًا فَامْسَحُوا بِوُجُوهِكُمْ وَأَيْدِيكُمْ مِنْهُ مَا يُرِيدُ اللَّهُ لِيَجْعَلَ عَلَيْكُمْ مِنْ حَرَجٍ وَلَكِنْ يُرِيدُ لِيُطَهِّرَكُمْ وَلِيَسِمَّ  
نِعْمَتَهُ ۗ عَلَيْكُمْ لَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

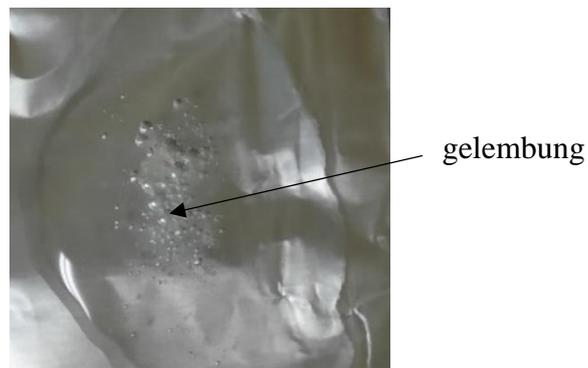
*“Wahai orang-orang yang beriman, apabila kamu berdiri hendak melaksanakan salat, maka basuhlah wajahmu dan tanganmu sampai ke siku serta usaplah kepalamu dan (basuh) kedua kakimu sampai kedua mata kaki. Jika kamu dalam keadaan junub, mandilah. Jika kamu sakit, dalam perjalanan, kembali dari tempat buang air (kakus), atau menyentuh perempuan, lalu tidak memperoleh air, bertayamumlah dengan debu yang baik (suci); usaplah wajahmu dan tanganmu dengan (debu) itu. Allah tidak ingin menjadikan bagimu sedikit pun kesulitan, tetapi Dia hendak membersihkan kamu dan menyempurnakan nikmat-Nya bagimu agar kamu bersyukur.”*

Menurut Tafsir Ilmi tentang Makanan dan Minuman Dalam Perspektif Al-Quran dan Sains, Surat Al-Ma'idah ayat 6 menjelaskan bahwa setiap individu harus menjaga lingkungan dan diri sendiri agar tetap bersih. Islam telah mengajarkan pentingnya kebersihan, seperti berwudhu sebelum beribadah. Wudhu memiliki filosofi menjaga kebersihan diri secara fisik dan spiritual. Kontaminasi mikroba yang menyebabkan keracunan makanan dapat dicegah dengan menjaga kebersihan karena mikroba patogen akan tumbuh subur di tempat yang kotor. Menjaga kebersihan seperti membasuh tangan, muka, membersihkan badan maka akan mengurangi risiko kontaminasi mikroba dalam makanan dan minuman.

#### 4.3.2 Uji Katalase

Uji katalase merupakan uji lanjutan setelah sampel diisolasi pada media *Mannitol Salt Agar*. Hasil uji katalase menunjukkan bahwa semua sampel positif

terkontaminasi *S. aureus*. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya gelembung yang terbentuk sebagai hasil reaksi dari *S. aureus* dan Hydrogen peroksida 3% (gambar 4.7).



**Gambar 4. 7 Hasil uji katalase minuman kopi seduh dingin.** Katalase positif yang ditandai dengan adanya gelembung pada isolate yang ditetesi larutan hydrogen peroksida 3%.

Hal ini sesuai dengan pendapat Afrila dkk. (2020) bahwa hasil positif uji katalase ditunjukkan dengan adanya gelembung yang dihasilkan dari isolat pada larutan hydrogen peroksida 3%. Sebaliknya, hasil negatif uji katalase ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung pada isolat yang terdapat di dalam larutan hydrogen peroksida. Menurut Cebeci & Kirmusaoglu (2020) *Staphylococcus* mampu menghasilkan katalase oleh karena itu isolat *Staphylococcus* yang diberi larutan hydrogen peroksida akan menghasilkan gelembung. Hasil uji katalase sampel minuman kopi seduh dingin yang diambil dari beberapa kafe yang diambil di Kecamatan Lowokwaru disajikan pada tabel 4.6

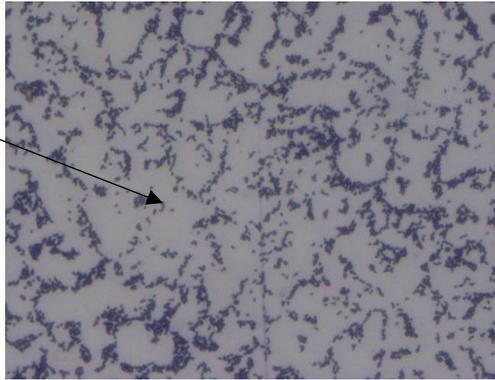
**Tabel 4. 6 Hasil uji katalase sampel minuman kopi seduh dingin dari beberapa kafe di Kecamatan Lowokwaru**

No.	Nama kafe	Jenis sampel	Katalase
1.	Kafe A	Minuman kopi	Positif
2.	Sumpersari	Es batu	Positif
3.	Kafe B,	Minuman kopi	Positif
4.	Mojolangu	Es batu	Positif
5.	Kafe C,	Minuman kopi	Positif
6.	Mojolangu	Es batu	Positif
7.	Kafe D,	Minuman kopi	Positif
8.	Mojolangu	Es batu	Positif
9.	Kafe E,	Minuman kopi	Positif
10.	Mojolangu	Es batu	Positif
11.	Kafe F,	Minuman kopi	Positif
12.	Kendalsari	Es batu	Positif
13.	Kafe G,	Minuman kopi	Positif
14.	Kendalsari	Es batu	Positif

#### 4.3.3 Uji Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis pada uji cemaran *Staphylococcus* bertujuan untuk mengetahui karakteristik mikroskopis dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengamatan mikroskopis pada penelitian ini adalah bakteri *S. aureus* yang terdapat di sampel minuman kopi seduh dingin dan es batu merupakan gram positif berwarna ungu dan berbentuk kokus (gambar 4.8). Hasil ini sesuai dengan pendapat Bano *et al.* (2020) bahwa *S. aureus* memiliki karakteristik gram positif dalam pewarnaan gram yang ditunjukkan dengan warna ungu.

Bakteri Gram  
positif, kokus



**Gambar 4. 8 Hasil pengamatan mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus*.**  
Karakteristik bakteri berbentuk kokus dan berwarna ungu

*S. aureus* mampu mempertahankan warna biru yang terdapat pada kristal violet. Sesuai dengan pendapat Thairu *et al* (2014) bakteri Gram positif mampu mempertahankan warna kristal violet karena memiliki dinding sel yang tebal tetapi sedikit lemak. Struktur lapisan peptidoglikan yang tebal pada bakteri Gram positif inilah yang dapat mengikat warna kristal violet sehingga saat pelunturan warna dengan alkohol warna dinding sel tersebut tidak rusak dan warna kristal violet tetap melekat pada bakteri tersebut (Zulfarina dkk., 2022).



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Hasil uji Angka Lempeng Total menunjukkan bahwa lima minuman kopi terkontaminasi mikroorganisme yang melebihi batas standar dengan nilai cemaran tertinggi  $1,1 \times 10^5$  koloni/ml.
2. 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  $6,3 \times 10^5$ .

#### **5.2 Saran**

1. Bagi penjual dan penyaji minuman kopi seduh dingin  
Sebaiknya penjual memperhatikan kualitas bahan yang digunakan seperti air dan es batu yang dipakai pastikan air yang sudah masak dan lulus uji mikroba. Proses pembuatan juga diperhatikan kebersihannya seperti wadah yang digunakan dan tempat penyimpanannya. Sebelum menyajikan minuman kopi seduh dingin sebaiknya mencuci tangan terlebih dahulu atau menggunakan handsanitizer, menggunakan sarung tangan dan masker untuk mengurangi kontaminasi mikroba pada minuman.
2. Bagi Peneliti Selanjutnya  
Uji identifikasi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebaiknya ditambah uji biokimia dan molekuler.

3. Bagi masyarakat

Sebaiknya masyarakat lebih berhati-hati ketika membeli minuman dengan memperhatikan kebersihan lingkungan di sekitar kafe.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adithia, S., & Jaya, M. P. P. (2021). Strategi Pemasaran Digital Produk Minuman Kopi di Masa Pandemi. *Journal of Research on Business and Tourism*, 1(1), 37-46.
- Adzitey, F., Ekli, R., & Abu, A. (2019). Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw and Grilled Beef in Nyankpala Community in the Northern Region of Ghana. *Cogent food & agriculture*, 5(1), 1671115.
- Afrila, D., Rahmiati, R., Khatimah, H., & Yuliana, I. (2020). Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Air Galon Bermerek dan Isi Ulang di Banjarmasin. *Homeostasis*, 3(2), 161-168.
- Agusanatery, A., & Fahira, S. (2022). Analisis Kualitas Sumber Air Minum (Air Sumur) Masyarakat di Kecamatan Kota Raja Kota Kupang Berdasarkan Jumlah Bakteri *Escherichia coli*. *Panthera: Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains dan Terapan*, 2(3): 172-181.
- Alifia, E. S., & Aji, O. R. (2021). Analisis Keberadaan *Coliform* dan *Escherichia coli* pada Es Batu dari Jajanan Minuman di Pasar Tengah Bandar Lampung. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 13(1): 74-81.
- Al-Qur'an, L. P. M. (2013). *Makanan dan Minuman dalam Perspektif al-Qur'an dan Sains*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf.
- Anggriawin. M., & Pakpahan, N. (2022). Uji Cemaran Mikroba pada Produk Makanan Ikan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 4(1), 29-33.
- Arivo, D., & Dwiningtyas, A. W. (2017). Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* Penyebab Infeksi Saluran Kemih. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(4).
- Aulya, W., Fadhliani, F., & Mardina, V. (2020). Analysis of *Coliform* and *Colifecal* Total Pollution Test on Various Types of Drinking Water Using the MPN (Most Probable Number) Method. *Serambi Journal of Agricultural technology*, 2(2).
- Badan Standardisasi Nasional. (2009). Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388.
- Bano, S. A., Hayat, M., Samreen, T., Asif, M., Habiba, U., & Uzair, B. (2020). Detection of Patogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. from Raw Milk Samples of Different Cities of Pakistan. *Natural Science*, 12(05), 295.
- Bencardino, D., Amagliani, G., & Brandi, G. (2021). Carriage of *Staphylococcus aureus* among Food Handlers: An Ongoing Challenge in Public Health. *Food Control*, 130, 108362.
- Budiyanto, R., Satriawan, N. E., & Suryani, A. (2021). Identifikasi dan Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik (Chloramphenicol dan Cefotaxime Sodium) dari Pus Infeksi Piogenik di Puskesmas Proppo. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2): 154-162.
- Cebeci, A., & Kırmusaoğlu, S. (2020). *Introductory Chapter: An Overview of the Genus Staphylococcus and Streptococcus*. *Staphylococcus and Streptococcus*. Intech Open.

- Chaugule, A., Patil, H., Pagariya, S., & Ingle, P. (2019). Extraction of Caffeine. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 6(9): 11–19.
- Chen H, Zhang J, He Y, Lv Z, Liang Z, Chen J, Li P, Liu J, Yang H, Tao A, Liu X. (2022). Exploring the Role of *Staphylococcus aureus* in Inflammatory Diseases. *Toxins (Basel)*,14(7):464.
- Cheung GYC, Bae JS, Otto M. (2021). Patogenicity and Virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1):547-569.
- Chu, B., Yu, K., Zhao, Y., & He, Y. (2018). Development of Noninvasive Classification Methods for Different Roasting Degrees of Coffee Beans Using Hyperspectral Imaging. *Sensors*, 18(4): 1259.
- Cordoba, N., Pataquiva, L., Osorio, C., Moreno, F. L. M., & Ruiz, R. Y. (2019). Effect of Grinding, Extraction Time and Type of Coffee on the Physicochemical and Flavour Characteristics of Cold Brew Coffee. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- DePaula, J., & Farah, A. (2019). Caffeine Consumption through Coffee: Content in The Beverage, Metabolism, Health Benefits and Risks. *Beverages*, 5(2): 37.
- Dewajanti, A. M. (2019). Peranan Asam Klorogenat Tanaman Kopi Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dan Beban Oksidatif. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(1): 46-51.
- Fatimah, S. F., Fitri, N., Yuwono, T., Edityaningrum, C. A., & Nurani, L. H. (2023). Stabilitas Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina (*Spirulina platensis*). In *Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan* (Vol. 1).
- Hadiutomo. (1990). *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Hariyanto, B., Fanani, F. N. U., & Nugroho, S. E. (2020). Rekayasa Kopi Kekinian Polije. *Pengabdian Masyarakat: Polije Proceedings Series*, 291-294.
- Harmileni, H., Saragih, G., Hidayani, T. R., & Mirnandaulia, M. (2023). Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Prima Medika Sains*, 5(1), 42-47.
- Haryono, R. (2021). Pengaruh Lama Penyeduhan Terhadap Kualitas dan Jumlah Padatan Minuman Kopi Seduh Dingin Kopi Arabika Flores Bajawa. *Jurnal Sains Boga*, 4(2), 40-46.
- Imamah, P. N., & Efendy, M. (2021). Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* Pada Daging Ikan Pelagis Kecil (Studi Kasus) di Perairan Laut Utara dan Selatan Kabupaten Sampang. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, 2(1): 17-24.
- Imritiyah, S. (2016). *Kajian hadits-hadits adab makan dan minum; Prespektif ilmu kesehatan*. Jakarta: Fakultas Ushuluddin Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Integrated Taxonomic Information System. 2023. Taxonomic Hierarchy: *Escherichia coli*.
- Jamilatun, & Aminah. (2016). Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* pada Air Wudhu di Masjid yang Berada di Kota Tangerang. *Jurnal Medikes*, 3(1), 81–90.

- Jumaah, N., Joshi, S.R., & Sandai, D. (2018). Prevalence of Bacterial Contamination when using a Diversion Pouch during Blood Collection: A Single Center Study in Malaysia. *Malays J Med Sci*, (3):47-53.
- Kartikasari, A.M., Hamid, I.S., Purnama, M.T., Damayanti, R., Fikri, F., Praja, R.N. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Kontaminan pada Daging Ayam Broiler di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1): 66-71.
- Kementrian Agama RI. (2019). *Tafsir Kemenag RI*. <https://quran.kemenag.go.id/>.
- Krisno, W., Nursahidin, R., Sitorus, R. Y., Ananda, F. R., & Guskarnali, G. (2021). Penentuan Kualitas Air Minum Dalam Kemasan Ditinjau Dari Parameter Nilai Ph Dan Tds. In *Proceedings Of National Colloquium Research And Community Service*, Vol. 5: 188-190.
- Kurniati, P. S., Heriyani, F., & Budiarti, L. Y. (2019). Gambar Jenis Bakteri Pada Tangan Siswa Sekolah Dasar di Sekitar Bantaran Sungai Lulut Banjarmasin. *Homeostatis*, Vol.2(1),99-106.
- Kurniawati, A., Listyorini, D., & Witjoro, A. (2022). Identifikasi dan Enumerasi *Escherichia coli* dengan Kombinasi Metode MPN-PCR. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(1): 49-55.
- Kusmawati, W., & Rahayu, L. (2019). Contamination of *Escherichia coli* Drinking Water Refills on Drinking Water Depots in Malang City. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 7(1), 9-13.
- Lamatokan, M. F. E., Sari, A. N., Nurhayati, N., & Pramondjati, F. P. F. (2023). Uji Cemar Bakteri *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Shigella* sp., dan *Staphylococcus aureus* Pada Jajanan Kue Tradisional di Pasar Kota Surakarta. *Avicenna: Journal of Health Research*, 6(1), 11-20.
- Mailoa, M. N., Lokollo, E., Nendissa, D. M., & Harsono, P. I. (2019). Karakteristik Mikrobiologi dan Kimiawi Ikan Tuna Asap. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(1), 89-99.
- Maksum, A., Wijonarko, G., mulyo Purbowati, I. S., & Anggriawan, R. (2021). Optimization of Phenolic Compounds in Robusta Green Beans Coffee Through The Wet Fermentation Process With The Response Surface Methodology. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(3): 816-823.
- Maksimowski, D., Pachura, N., Oziembłowski, M., Nawirska-Olszańska, A., & Szumny, A. (2022). Coffee Roasting and Extraction as a Factor in Cold Brew Coffee Quality. *Applied Sciences*, 12(5): 2582.
- Manalu, R. T., Bahri, S., Melisa, M., & Sarah, S. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 13(1), 55-59.
- Mangiwa, S., & Maryuni, A. E. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Sangrai Jenis Arabika (*Coffea arabica*) Asal Wamena dan Moanemani, Papua. *Jurnal Biologi Papua*, 11(2):103–109.
- Marbun, R. W. S., Mardanif, F. N., & Aini, U. F. (2020). Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* poiret) sebagai Zat Pewarna pada Pewarnaan Gram terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*, 8(2), 82-89.

- Muzykiewicz-Szymańska, A., Nowak, A., Wira, D., & Klimowicz, A. (2021). The Effect of Brewing Process Parameters on Antioxidant Activity and Caffeine Content in Infusions of Roasted and Unroasted Arabica Coffee Beans Originated from Different Countries. *Molecules*, 26(12): 3681.
- Nandatama, S. R., Rosidi, A., & Ulvie, Y. N. S. (2017). Minuman Kopi (Coffea) Terhadap Kekuatan Otot dan Ketahanan Otot Atlet Sepak Bola Usia Remaja Di SSB PERSISAC. *Jurnal Gizi*, 6(1).
- Napitupulu, S. H., Daulay, S. B., & Rindang, A. (2014). Rancang Bangun Alat Penggiling Biji Kopi Tipe Flat Burr Mill. *J. Rekayasa Pangan dan Pertanian*, 2(10): 114-119.
- Nilasari, V., Setiadi, Y., Subandriani, D. N., Larasati, M. D., & Rahayuni, A. (2019). Hubungan Antara Pendidikan, Pengetahuan dan Praktik Hygiene Sanitasi Penjamah Makanan Terhadap Keberadaan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Hidangan Hewani di Salah Satu Catering Kota Semarang. *Jurnal Riset Gizi*, 7(1), 34-40.
- Nizar, M., & Yunika, I. U. (2021). Uji Cemar Mikroba Pada Kosmetik Eye Liner dengan Metode ALT (Angka Lempeng Total). *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 3(1), 58-62.
- Novitasari, T. M., Rohmi, R., & Inayati, N. (2019). Potensi Ikan Teri Jengki (*Stolephorus indicus*) Sebagai Bahan Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(1), 1-15.
- Nurdiani, R., Jaziri, A. A., & Jatmiko, Y. D. (2020). Peningkatan keamanan pangan dan kualitas organoleptik ikan asap khas desa karangsari tuban melalui induksi pengemas vakum. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 4(1), 35-40.
- Octaviani, I., Kasasiah, A., & Sholih, M. G. (2022). Cemar Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada Masker Organik. *2-Trik: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 12(3), 267-273.
- Ogunware, A. E., Adedigba, P. A., Oyende, Y. E., Adekoya, A. A., & Daramola, A. R. (2020). Physicochemical, Bacteriological and Biochemical Assessment of Water Samples from Unprotected Wells in Lagos State Metropolis. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 3(4): 24-36.
- Patay, É. B., Bencsik, T., & Papp, N. (2016). Phytochemical Overview and Medicinal Importance of Coffea Species From The Past Until Now. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 9(12), 1127-1135.
- Peraturan Menteri Kesehatan R.I No: 416/MENKES/PER/IX/1990, Syarat-syarat Dan Pengawasan Kualitas Air, Menteri Kesehatan RI, Jakarta, 1990.
- Pidwill GR, Gibson JF, Cole J, Renshaw SA, Foster SJ. (2021). The Role of Macrophages in *Staphylococcus aureus* Infection. *Front Immunol*. 19;11:620339.
- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4): 6-4.
- Prasetyaningsih, Y., Nadifah, F., & Mualifah, M. (2022). Implementasi Teknik Pewarnaan Gram Untuk Deteksi Cepat Infeksi *Neisseria gonorrhoeae* Pada

- Pasien di Puskesmas Cangkringan, Sleman, DIY. *In Basic and Applied Medical Science Conference*, 1(1): 001-009.
- Purnama Sari D , Rahmawati, & Elvi Rusmiyanto P.W. (2019). Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya . *Jurnal Labora Medika*, 3(1).
- Puspitasari, A. W., Ruzuqi, R., Ernawati, E., Sukmawati, S., Badaruddin, M. I., Amri, I., Hetharia, C., Latifah, L., Manurung, M., Tabalessy, M., Kamaruddin, M., & Abadi, A. S. (2022). Analisis Angka Lempeng Total Mikroba Pada Ikan Asin di Kepulauan Ayau, Papua Barat. *Jurnal Lemuru*, 4(3), 192-198.
- Rachmawati, Y. D., Sari, N., & Setyono, D. A. (2022). Orientasi Masyarakat Terhadap Pemilihan Kafe di Kota Malang. *Planning for Urban Region and Environment Journal (PURE)*, 8(2): 67-74.
- Ramdhani, H. (2019). Perbandingan Metode Seduh Dingin (Coldbrew dan Cold drip) Kopi Terhadap Konsentrasi Senyawa Kafein dan Asam Sitrat yang Terekstrak Dalam Minuman Kopi (Doctoral dissertation, Universitas Islam Indonesia).
- Rao, N.Z., Fuller, M. (2018). Acidity and Antioxidant Activity of Cold Brew Coffee. *Sci Rep* 8, 16030
- Rasyid, B., Sandi, K. M., Sudarmanto, I. G., & Karta, I. W. (2021). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Blondo Virgin Coconut Oil Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1), 56-67.
- Romanda, F., Priyambodo, P., & Risanti, E. D. (2017). Hubungan Personal Hygiene Dengan Keberadaan *Escherichia coli* Pada Makanan Di Tempat Pengolahan Makanan (TPM) Buffer Area Bandara Adi Soemarmo Surakarta. *Biomedika*, 8(1).
- Rungelrath V, DeLeo FR. (2021). *Staphylococcus aureus*, Antibiotic Resistance, and the Interaction with Human Neutrophils. *Antioxid Redox Signal*, 34(6):452-470.
- Sari, V. M., Widyaswara, G., & Pramonodjati, F. (2021). Pengaruh Perbedaan Waktu dan Teknik Pemerahan Susu Sapi Terhadap Jumlah Bakteri *Escherichia coli*. *Avicenna: Journal of Health Research*, 4(2).
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence Factors, Prevalence and Potential Transmission of Extraintestinal Patogenic *Escherichia coli* Isolated From Different Sources: Recent Reports. *Gut pathogens*, 11, 1-16.
- Saroh, I., Laili, S., & Zayadi, H. (2016). Uji Kualitas Air Sumur Kelurahan Merjosari Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 2(1).
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., Nagasima, M., Kato, K., Okazumi, S., Katoh, R., Ishii, Y., & Tateda, K. (2019). Morphological and Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formed in The Presence of Plasma. *Microb. Drug. Resist*, 25, 668–676.
- Sayyid, A. (2012). *Ketika Rasulullah Tidak Pernah Sakit: Gaya Hidup Sehat Islami*. Solo: Tinta Medina.

- Shihab, M. Quraish. (2005). *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sutiknowati, L.I. (2018). Keragaman Bakteri pada Perairan Sabang, Provinsi Aceh. *Majalah Ilmiah Biologis Biosfera: A. Scientific Journal*, 35(2): 54-62
- Suzuki, Y., Ono, H. K., Shimojima, Y., Kubota, H., Kato, R., Kakuda, T., ... & Sadamasu, K. (2020). A Novel Staphylococcal Enterotoxin SE02 involved in a Staphylococcal Food Poisoning Outbreak that Occurred in Tokyo in 2004. *Food Microbiology*, 92, 103588.
- Tanah Boleng D. (2015). *Bakteriologi Konsep-konsep Dasar*. Malang : UMM Press
- Tanauma, H. A. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacon*, 5(4).
- Tayeb-Fligelman, E., Tabachnikov, O., Moshe, A., Goldshmidt-Tran, O., Sawaya, M. R., Coquelle, N., Colletier, J., & Landau, M. (2017). The Cytotoxic *Staphylococcus aureus* PSMalpha3 Reveals a Cross-alpha Amyloid-like fibril. *Science*, 355, 831–833.
- Thairu, Y., Usman, Y., & Nasir, I. (2014). Laboratory perspective of Gram Staining and its Significance in Investigations of Infectious Diseases. *Sub-Saharan African Journal of Medicine*, 1(4), 168.
- Trigunarso, S. I. (2020). Hygiene Sanitasi dan Perilaku Penjamah Makanan dengan Angka Kuman pada Makanan Jajanan di Lingkungan Sekolah. *Jurnal Kesehatan*, 11(1), 115-124.
- Utami, F. (2020). Metode *Most Probable Number* (MPN) sebagai Dasar Uji Kualitas Air Sungai Rengganis dan Pantai Timur Pangandaran dari Cemaran *Coliform* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 20(1): 21-30.
- Veniranda, Hermansyah, & Windusari, Y. 2021. Analisis Kejadian Gastroenteritis di Masa Pandemi Covid-19 dan Kualitas Hygiene Sanitasi Makanan Berdasarkan Uji Bakteriologis Pada Karyawan Pusat Perbelanjaan. *HEARTY: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9(1), 36-48.
- Verawati, N., Aida, N., & Aufa, R. (2019). Analisa Mikrobiologi Cemaran Bakteri Coliform dan *Salmonella* Sp. pada Tahu di Kecamatan Delta Pawan. *Jurnal Teknologi Agro-Industri*, 6(1), 61-71.
- WHO. (2017). *Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene: Update and SDG Baselines*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Widinugroho, D. A., & Asri, M. T. (2022). Pengaruh Fermentasi Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*) Terhadap Coliform dan *Escherichia coli* pada Selada (*Lactuca sativa*). *LenteraBio*, 11(1): 174–182
- Widyaningsih, W., Supriharyono, S., & Widyorini, N. (2016). Analisis Total Bakteri Coliform di Perairan Muara Kali Wisu Jepara, *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 5(3): 157-1.
- Widyastuti, D. A., & Rachmawati, R. C. (2022). Identifikasi Genera Bakteri Coliform Pada Air Sungai Desa Datar Kabupaten Jepara. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 14(2), 124-131.
- Winarso, R., & Qomaruddin, Q. (2022). Pengembangan Usaha Kedai Kopi Kekinian Melalui Penerapan Teknologi Brewing Sistem Dingin (*Cold Brew System*). *Jurnal Pengabdian Masyarakat IPTEKS*, 8(1): 8-16.

- Wulansari, N. T., Marjati, J., Yuliantika, L. A., & Strisanti, I. A. S. (2017). Analisis Bakteriologi Sampel Minuman Yang Diambil Dari Area Sekitar Kampus II Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bali. *Jurnal Metamorfosa*, 4(2): 224-230.
- Yugantara, P., Susilo, R. K. D., & Sulismadi, S. (2021). Gaya Hidup Ngopi Sebagai Perilaku Konsumsi. *Al-Mada: Jurnal Agama, Sosial, dan Budaya*, 4(1), 126-137.
- Zarnuji, Syeikh. 2009. *Terjemah Ta'lim Muta'alim*. Surabaya: Mutiara Ilmu.
- Ziefuß, A.R., Hupfeld, T., Meckelmann, S.W., Meyer, M., Schmitz, O., Cegla, W., Tintrop, L., Schmidt, T., Gokce, B., Barcikowski, S. (2022). Ultrafast Cold-Brewing of Coffee by Picosecond-Pulsed Laser Extraction. *npj Sci Food* 6, 19.
- Zulfarina, Z., Rosiana, Y., Ayudia, D., & Darmawati, D. (2022). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Laban (*Vitex pubescens* Vahl) sebagai Antibakteri. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 11(1).

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Angka Lempeng Total

No.	Nama Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	Perhitungan
1.	Kafe A	$10^{-1}$	107	$= \left(107 \times \frac{1}{10^{-1}}\right) + \left(76 \times \frac{1}{10^{-2}}\right) + \left(56 \times \frac{1}{10^{-3}}\right)$ $= \frac{(1070) + (7600) + (56000)}{3}$ $= \frac{(1070)+(7600)+(56000)}{3} = 21556,6 = 2,1 \times 10^4$
		$10^{-2}$	76	
		$10^{-3}$	56	
		$10^{-4}$	16	
		$10^{-5}$	23	
2.	Kafe A	$10^{-1}$	59	$= 59 \times \frac{1}{10^{-1}}$ $= 590$ $= 5,9 \times 10^2$
		$10^{-2}$	2	
		$10^{-3}$	0	
		$10^{-4}$	1	
		$10^{-5}$	1	
3.	Kafe B	$10^{-1}$	187	$= \left(187 \times \frac{1}{10^{-1}}\right) + \left(153 \times \frac{1}{10^{-2}}\right) + \left(142 \times \frac{1}{10^{-3}}\right)$ $= \frac{(1870) + (15300) + (142000)}{3}$ $= 53056,6 = 5,3 \times 10^4$
		$10^{-2}$	153	
		$10^{-3}$	142	
		$10^{-4}$	1	
		$10^{-5}$	10	
4.	Kafe B	$10^{-1}$	49	$= \left(49 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$ $= 490$ $= 4,9 \times 10^2$
		$10^{-2}$	3	
		$10^{-3}$	1	
		$10^{-4}$	1	
		$10^{-5}$	0	
5.	Kafe C	$10^{-1}$	96	$= \left(96 \times \frac{1}{10^{-1}}\right) + \left(75 \times \frac{1}{10^{-2}}\right)$ $= \frac{(960) + (7500)}{2}$ $= 8460 = 8,4 \times 10^3$
		$10^{-2}$	75	
		$10^{-3}$	24	
		$10^{-4}$	9	
		$10^{-5}$	5	
6.	Kafe C	$10^{-1}$	67	$= \left(67 \times \frac{1}{10^{-1}}\right) + \left(60 \times \frac{1}{10^{-2}}\right)$ $= \frac{(670) + (6000)}{2}$ $= 3335$ $= 3,3 \times 10^3$
		$10^{-2}$	60	
		$10^{-3}$	26	
		$10^{-4}$	8	
		$10^{-5}$	4	
7.	Kafe D	$10^{-1}$	10	$= \left(10 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$ $= 100$ $= 1 \times 10^2$ *di luar rentang
		$10^{-2}$	7	
		$10^{-3}$	6	
		$10^{-4}$	4	
		$10^{-5}$	4	
8.	Kafe D	$10^{-1}$	69	$= \left(69 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$ $= 690$ $= 6,9 \times 10^2$
		$10^{-2}$	7	
		$10^{-3}$	12	
		$10^{-4}$	7	
		$10^{-5}$	10	
9.	Kafe E	$10^{-1}$	157	$= \left(157 \times \frac{1}{10^{-1}}\right) + \left(130 \times \frac{1}{10^{-2}}\right) + \left(88 \times \frac{1}{10^{-3}}\right) + \left(34 \times \frac{1}{10^{-4}}\right)$ $= \frac{(1570) + (13000) + (88000) + (340000)}{4}$ $= 110642 = 1,1 \times 10^5$
		$10^{-2}$	130	
		$10^{-3}$	88	
		$10^{-4}$	34	
		$10^{-5}$	26	
10.	Kafe E	$10^{-1}$	33	$= \left(33 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$ $= 330$
		$10^{-2}$	25	
		$10^{-3}$	9	

		$10^{-4}$	2	$= 3,3 \times 10^2$
		$10^{-5}$	1	
11.	Kafe F	$10^{-1}$	89	$= \left(89 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$
		$10^{-2}$	20	$= 890$
		$10^{-3}$	1	$= 8,9 \times 10^2$
		$10^{-4}$	1	
		$10^{-5}$	0	
12.	Kafe F	$10^{-1}$	143	$= \left(\frac{143 \times \frac{1}{10^{-1}}}{2}\right) + \left(\frac{31 \times \frac{1}{10^{-2}}}{2}\right)$
		$10^{-2}$	31	
		$10^{-3}$	6	$= \frac{(1430) + (3100)}{2}$
		$10^{-4}$	6	$= 2265 = 2,2 \times 10^3$
		$10^{-5}$	1	
13.	Kafe G	$10^{-1}$	105	$= \left(105 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$
		$10^{-2}$	9	$= 1050$
		$10^{-3}$	1	$= 1,05 \times 10^3$
		$10^{-4}$	1	
		$10^{-5}$	1	
14.	Kafe G	$10^{-1}$	97	$= \left(97 \times \frac{1}{10^{-1}}\right)$
		$10^{-2}$	24	$= 970$
		$10^{-3}$	3	$= 9,7 \times 10^2$
		$10^{-4}$	1	
		$10^{-5}$	1	

## Lampiran 2. Dokumentasi Bahan

			
<i>Brilliant Green Lactose Broth</i>	<i>Eosin Methylen Blue Agar</i>	<i>Plate Count Agar</i>	<i>Mannitol Salt Agar</i>

## Lampiran 3. Dokumentasi Tempat Pengambilan Sampel

No.	Nama Kafe	Gambar
1.	Kafe A	 A photograph showing the interior of a cafe. In the foreground, there is a long wooden counter with several white high-top stools. Behind the counter, a person is visible working. The background features a large window with a view of greenery outside. On the wall, there are three circular decorative items and a coffee machine with the text 'beste kofie in de stad'.
2.	Kafe B	 A photograph of a kitchen area in a cafe. A person wearing a black shirt is standing behind a stainless steel counter, working. The counter has various items on it, including a blue container and a metal basket. In the background, there are shelves with supplies and a person in a black uniform.
3.	Kafe C	 A photograph of an outdoor or semi-outdoor cafe area. There are several wooden tables and chairs arranged on a gravel surface. A large potted plant with broad green leaves is placed on a brick pillar. The background shows a covered area with a corrugated metal roof and more tables.

4.	Kafe D	
5.	Kafe E	
6.	Kafe F	
7.	Kafe G	



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**FORMULIR CHECKLIST PLAGIASI**

Nama : Alifia Syahira Ramadhani  
 NIM : 19620043  
 Judul : Analisis Cemarkan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus* sp. pada Es Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	256	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533  
 Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: [info@uin-malang.ac.id](mailto:info@uin-malang.ac.id)

### JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

#### IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 19620043  
 Nama : ALIFIA SYAHIRA RAMADHANI  
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI  
 Jurusan : BIOLOGI  
 Pembimbing 1 : Ir. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.  
 Pembimbing 2 : OKY BAGAS PRASETYO, M.Pd  
 Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Analisis Cemaran Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus Pada Minuman Kopi Seduh Dingin di Kecamatan Lowokwaru Kota Malang

#### IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Periode	Status
1	19-Okt-2022	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi Judul	2022/2023 Ganjil	Sudah Dikoreksi
2	20-Okt-2022	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB I	2022/2023 Ganjil	Sudah Dikoreksi
3	28-Okt-2022	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB I	2022/2023 Ganjil	Sudah Dikoreksi
4	03-Nov-2022	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB I, II, III	2022/2023 Ganjil	Sudah Dikoreksi
5	04-Jan-2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB I, II, III	2022/2023 Ganjil	Sudah Dikoreksi
6	05-Jan-2023	OKY BAGAS PRASETYO, M.Pd	Konsultasi Integrasi Sains & Al-Quran	2022/2023 Genap	Sudah Dikoreksi
7	31-Mei-2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB IV	2022/2023 Genap	Sudah Dikoreksi
8	06-Jun-2023	Ir.Hj. LILIEK HARIANIE A.R., M.P.	Konsultasi BAB IV, V	2022/2023 Genap	Sudah Dikoreksi
9	06-Juni-2023	OKY BAGAS PRASETYO, M.Pd	Konsultasi Integrasi Sains & Al-Quran	2022/2023 Genap	Sudah Dikoreksi
10	07-Juni-2023	OKY BAGAS PRASETYO, M.Pd	Konsultasi Integrasi Sains & Al-Quran	2022/2023 Genap	Sudah Dikoreksi



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533  
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: [info@uin-malang.ac.id](mailto:info@uin-malang.ac.id)

Telah disetujui  
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Pembimbing I,

Ir. LILIEK HARIANIE A.R., MP  
NIP.19620901 199803 2 001

Malang,  
Pembimbing II,

OKY BAGAS PRASETYO, M.Pd  
NIP. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui  
Kema Program Studi Biologi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP.197410182003122002