

IDENTIFIKASI KONTAMINASI KULTUR JARINGAN PISANG CAVENDISH

IDENTIFICATION OF CAVENDISH BANANA TISSUE CULTURE CONTAMINATION

Ellok Dwi Sulichantini*, Alvera Prihatini Dewi Nazari dan Achmad Nuansyah

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Samarinda

* Corresponding Author. E-mail address: ellok_ds@faperta.unmul.ac.id

PERKEMBANGAN ARTIKEL:

Diterima: 15 Januari 2023

Direvisi: 28 Maret 2023

Disetujui: 17 Januari 2024

KEYWORDS:

Ascorbic acid, citric acid,
contamination, tissue culture,
cavendish banana.

KATA KUNCI:

Asam askorbat, asam sitrat,
kontaminasi, kultur jaringan,
pisang cavendish.

ABSTRACT

*Cavendish banana was a banana with high economic value. Tissue culture propagation was method plant propagation method that able to produce plants with the same quality as their parents in large numbers in a short time. One of the barriers to tissue culture propagation was contamination so knowledge of sterilization techniques and causes of contamination was necessary. The research was aimed at determining the cause of contamination in Cavendish banana tissue culture. The explant used was a banana bud. Sterilization of explant sources in the field was carried out with fungicides and bactericides. Sterilization outside the laminar uses detergent, while sterilization inside the laminar uses NaOCl, before inoculation the explant was treated with citric acid, ascorbic acid and combination of citric acid with ascorbic acid. The study was arranged in a Complete Randomized Design with five replications. The study consisted of seven treatments of explant soaking before inoculation, i.e. without immersion in citric acid or ascorbic acid, soaking in 2 g.L⁻¹ citric acid, 2 g.L⁻¹ ascorbic acid, 2 g.L⁻¹ citric acid + 2 g.L⁻¹ ascorbic acid, 4 g.L⁻¹ citric acid, 4 mg.L⁻¹ ascorbic acid, and 4 mg.L⁻¹ citric acid + 4 mg.L⁻¹ ascorbic acid. The results showed the contamination were caused by fungi and bacteria. The types of fungi that attack were *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp. and *Rhizopus* sp. Bacteria that attack all cultures belong to the class of gram-positive bacteria. The lowest contamination was found in 2 g.L⁻¹ citric acid treatment.*

ABSTRAK

Pisang Cavendish merupakan pisang yang bernilai ekonomi tinggi. Perbanyakan secara kultur jaringan merupakan metode perbanyakan tanaman yang mampu menghasilkan tanaman dengan kualitas yang sama dengan induknya dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat. Salah satu hambatan perbanyakan secara kultur jaringan adalah kontaminasi sehingga pengetahuan tentang teknik sterilisasi dan penyebab kontaminasi perlu dilakukan. Penelitian ditujukan untuk mengetahui penyebab kontaminasi pada kultur jaringan pisang Cavendish. Eksplan yang digunakan adalah bonggol pisang. Sterilisasi sumber eksplan di lapangan dilakukan dengan fungisida dan bakterisida. Sterilisasi di luar laminar menggunakan detergen, sedangkan sterilisasi didalam laminar menggunakan NaOCl, sebelum inokulasi eksplan diberi perlakuan asam sitrat, asam askorbat dan kombinasi asam sitrat dengan asam askorbat. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan ulangan lima kali. Penelitian terdiri dari tujuh perlakuan perendaman eksplan sebelum inokulasi, yaitu tanpa perendaman dalam asam sitrat atau asam askorbat, perendaman dalam larutan 2 mg.L⁻¹ asam sitrat, 2 mg.L⁻¹ asam askorbat, 2 mg.L⁻¹ asam sitrat + 2 mg.L⁻¹ asam askorbat, 4 mg.L⁻¹ asam sitrat, 4 mg.L⁻¹ asam askorbat, dan 4 mg.L⁻¹ asam sitrat + 4 mg.L⁻¹ asam askorbat. Hasil penelitian menunjukkan kontaminasi disebabkan oleh jamur dan bakteri. Jenis jamur yang menyerang adalah *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp. dan *Rhizopus* sp. Bakteri yang menyerang kultur semua termasuk dalam golongan bakteri gram positif. Kontaminasi terendah dijumpai pada perlakuan asam sitrat 2 mg.L⁻¹.

1. PENDAHULUAN

Pisang Cavendish merupakan jenis pisang yang banyak digemari masyarakat. Perbanyak pisang dalam jumlah besar secara konvensional terkendala dengan penyediaan bibit pisang berkualitas. Perbanyak pisang berkualitas tinggi dalam jumlah besar dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan. Perbanyak secara kultur jaringan dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai sumber eksplan seperti kotiledon (Zimik & Arumugam, 2017), hipokotil, daun (Lukmana and Rahmawati, 2018) tunas (Sulichantini et al., 2021), pucuk (Sulichantini et al., 2021), batang (Dzikrana et al., 2018).

Keberhasilan perbanyak secara kultur jaringan tergantung dari pemilihan jenis eksplan, media dasar, dan zat pengatur tumbuh. Jenis-jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk perbanyak kultur jaringan antara lain BAP, 2,4-D (Hidayah & Dewanti, 2023; Sulichantini, et al., 2021; Sulichantini et al., 2023), BA (Sukartini et al., 2014; Apriani, 2016), Kinetin dan NAA (Nisa & Rodiah, 2005).

Perbanyak pisang Cavendish secara kultur jaringan umumnya menggunakan bonggol sebagai sumber eksplan, kendala yang dihadapi adalah browning pada eksplan yang menyebabkan kegagalan regenerasi bahkan kematian eksplan. Penanggulangan browning antara lain dilakukan dengan perlakuan asam askorbat dan asam sitrat (Sulichantini, et al., 2023). Asam sitrat juga memiliki kemampuan untuk menurunkan derajat keasaman sehingga mampu menghambat aktivitas mikroorganisme dan menghambat pertumbuhan bakteri (Sabahannur, 2020).

Kendala regenerasi pisang secara kultur jaringan, selain browning adalah kontaminasi. Pencegahan kontaminasi yang berasal dari eksplan dilakukan dengan sterilisasi beberapa tahap, dimulai dari sterilisasi tanaman sumber eksplan di lapangan, dilanjutkan dengan sterilisasi eksplan di luar *Laminar Air Flow Cabinet* dan selanjutnya sterilisasi di dalam *Laminar Air Flow Cabinet*.

Berbagai penelitian mengenai sterilisasi permukaan eksplan pada perbanyak in vitro menunjukkan perbedaan teknik pada setiap jenis eksplan. Menurut (Habibah et al., 2013), sterilisasi eksplan daun burahol paling optimal dengan fungisida selama 24 jam, dilanjutkan perendaman bakterisida dan fungisida 30 menit, alkohol 70% selama 1 menit, klorox 15% 10 menit, klorox 10% 10 menit berturut-turut. (Shofiyani & Hajoeningtjas, 2010), menunjukkan penggunaan bayclin (NaClO) 20% dan alkohol 70% mampu mengurangi kontaminasi jamur maupun bakteri pada eksplan daun kencur. Putri et al. (2017), menggunakan detergen, ditiokarbamat dengan bahan aktif mankozeb, senyawa berbahan aktif NaOCl 5,25 % direaksikan dengan sodium hipoklorit dan hydrogen oksida serta larutan Tween 20 (90 %) dan alkohol 70 % untuk sterilasi aksenik ramin. Andriani & Heriansyah (2021), melakukan sterilisasi eksplan anggrek dengan hipoklorit 70%, alkohol 95 % dan akuades.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui penyebab kontaminasi yang terjadi pada kultur pisang Cavendish yang telah diberi perlakuan sterilisasi dengan atau tanpa perlakuan asam askorbat, asam sitrat dan kombinasi asam askorbat dengan asam sitrat pada berbagai konsentrasi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama lima bulan, dari bulan Desember 2020 sampai April 2021 bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Samarinda.

2.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan untuk sumber eksplan dalam penelitian ini adalah bonggol pisang Cavendish yang berasal dari Kebun Percobaan Fakultas Pertanian di kebun Teluk Dalam, Samarinda.

Media dasar yang digunakan adalah media dasar *Murashige and Skoog* (MS). Sumber energi menggunakan gula pasir, dan sebagai bahan pematik digunakan agar-agar swallow. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media adalah Benzyl Amino Purine (BAP). Bahan sterilisasi eksplan yang digunakan adalah Dithane M-45, Agrept, detergen bubuk, detergen cair, Tween, NaOCl, alkohol 70%, dan alkohol 95%. Zat antioksidan yang digunakan adalah asam askorbat dan asam sitrat.

Alat yang digunakan terdiri atas parang, linggis, cangkul, pisau, talenan, autoklaf, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), timbangan analitik, kompor gas, panci, botol kultur, gelas piala, erlenmeyer, petridish, pipet, gelas ukur, pengaduk gelas, bunsen, *scalpel*, pinset, gunting, *hand spayer*, rak kultur, mikroskop, dan kamera.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Sterilisasi alat dan akuades

Alat-alat yang digunakan seperti botol kultur, Erlenmeyer, *beaker glass*, petridish, *scalpel*, pinset, dan gunting dicuci bersih dengan menggunakan detergen. Petridish, *scalpel*, pinset, gunting dibungkus dengan kertas. Selanjutnya botol kultur, erlenmeyer, *beaker glass* petridish, *scalpel*, pinset, dan gunting disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 60 menit.

2.2.2 Pembuatan media

Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige & Skoog, 1962). Gula pasir yang ditambahkan ke dalam media sebanyak 30 g, agar-agar sebanyak 8 g, dan 2 mg.L⁻¹ BAP. Derajat kemasaman diatur pada pH 5,8-6,0. Kemudian media di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 30 menit.

2.2.3 Sterilisasi eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan tiga tahap yaitu di lahan, di luar *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dan di dalam LAFC. Sterilisasi di lapangan dilakukan dengan penyemprotan sumber eksplan dengan 2 g Dithane M-45 L⁻¹ air + 2 g Agrept L⁻¹ air setiap tiga hari selama satu bulan.

Sterilisasi eksplan di luar LAFC dilakukan dengan cara mengupas pelepah dan bonggol pisang sampai diperoleh eksplan berukuran 8 cm x 4 cm, kemudian eksplan dibersihkan dengan aquadest, dilanjutkan eksplan dipotong sampai eksplan berukuran 4 cm x 2 cm, kemudian dibersihkan dengan detergen, dan dibilas dengan aquadest. Setelah itu eksplan kembali dipotong sampai berukuran 3 cm x 2 cm dan dicuci dengan detergen cair. Selanjutnya eksplan direndam dalam larutan 2 g Dithane M-45 L⁻¹ air selama 12 jam kemudian dibilas dengan akuades.

Sterilisasi eksplan di dalam LAFC dilakukan dengan cara merendam eksplan di dalam larutan 1,5 % NaOCl + 2 tetes Tween selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam 1,0 % NaOCl + 2 tetes Tween selama 5 menit, terakhir direndam dalam 0,5% + 2 tetes Tween selama 10 menit, kemudian dibilas dengan akuades sebanyak tiga kali.

2.2.4 Perlakuan eksplan

Setelah tahap sterilisasi eksplan di dalam LAFC, eksplan diberi perlakuan perendaman zat antioksidan selama 60 menit dengan perlakuan sebagai berikut: 0 AS/AA (control), 2AS (2 g asam sitrat L⁻¹), 2 AA (2 g asam askorbat L⁻¹), 2AS + 2 AA (2 g asam sitrat L⁻¹ + 2 g asam askorbat L⁻¹), 4 AS (4 g asam sitrat L⁻¹), 4 AA (4 g asam askorbat L⁻¹), 4AS + 4 AA (4 g asam sitrat L⁻¹ + 4 g asam askorbat L⁻¹).

2.2.5 Penanaman eksplan

Eksplan diinokulasi pada media MS + 2 mg.L⁻¹ BAP. Selanjutnya kultur diletakkan di ruang inkubasi.

2.2.6 Pemeliharaan

Temperatur di ruangan inkubasi diatur pada suhu 25-28°C. Sumber pencahayaan menggunakan lampu neon. Pemeliharaan ruang kultur dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70% di sekitar botol kultur.

2.3 Pengambilan Data

Variabel yang diamati terdiri atas persentase kontaminasi dan identifikasi kontaminan pada kultur umur 3, 5 dan 15 hari setelah inokulasi. Identifikasi kontaminasi yang terjadi pada kultur pisang cavendish dengan cara mengamati morfologi kontaminan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi jamur secara makroskopis yaitu mengamati ciri-ciri morfologi dari masing-masing koloni yang meliputi warna koloni permukaan atas, permukaan bawah, warna, dan zonasi, serta warna hifa, bentuk konidia dan spora untuk pengamatan mikroskopis. Identifikasi didasarkan pada kunci determinasi (Barnett & Hunter, 1972).

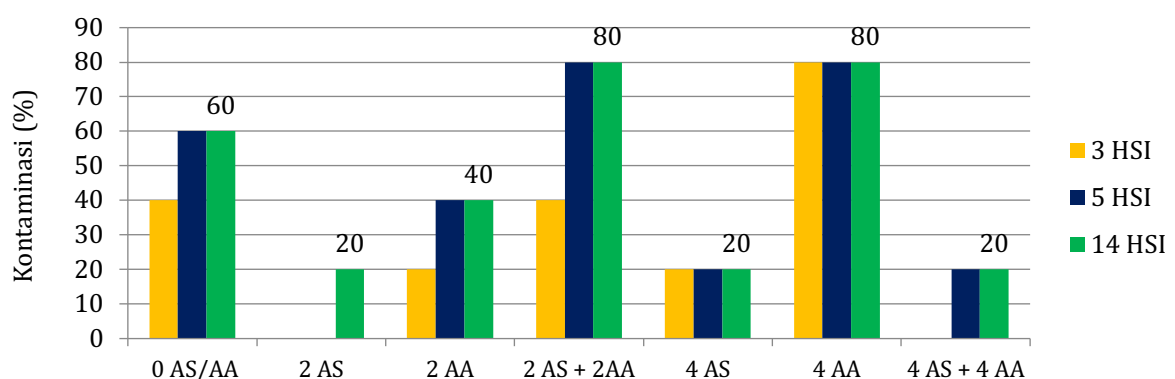
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Persentase Kontaminasi

Kontaminasi pada kultur pisang Cavendish dapat disebabkan oleh jamur, bakteri atau jamur dan bakteri. Kultur dapat terserang kontaminan lebih satu jenis terlihat pada Tabel 1, kontrol terserang dua jenis jamur dan bakteri. Hasil pengamatan pada kultur pisang Cavendish umur 3 hari setelah inokulasi (HSI) terdapat dua perlakuan yang tidak mengalami kontaminasi, yaitu perlakuan

Tabel 1. Jenis kontaminan eksplan

| Perlakuan | Jamur | Bakteri |
|-------------|--|----------------|
| Kontrol | <i>Aspergillus sp.</i> dan <i>Colletotrichum sp.</i> | Bakteri gram + |
| 2 AS | - | Bakteri gram + |
| 2 AA | <i>Rhizoctonia sp.</i> | Bakteri gram + |
| 2 AS + 2 AA | <i>Aspergillus sp.</i> | Bakteri gram + |
| 4 AS | <i>Aspergillus sp.</i> | - |
| 4 AA | <i>Rhizopus sp.</i> | Bakteri gram + |
| 4 AS + 4 AA | - | Bakteri gram + |



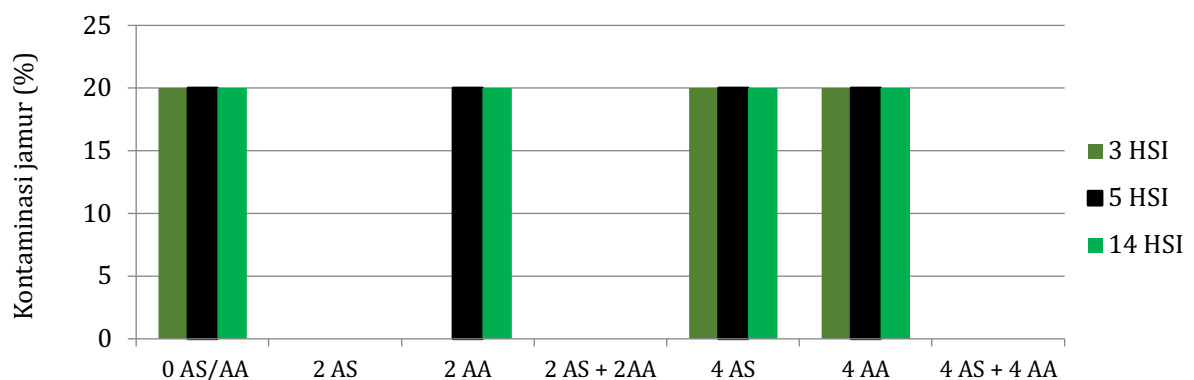
Gambar 1. Persentase kontaminasi pada kultur umur 3, 5 dan 14 hari setelah inokulasi

2 AS dan 4 AS + 4 AA. Kontaminasi sebesar 20% terjadi pada perlakuan 2 AA dan 4 AS. Kontaminasi sebesar 40% diperoleh pada perlakuan kontrol dan 2 AS + 2 AA. Kontaminasi tertinggi diperoleh pada perlakuan 4 AA (4 mg asam sitrat L⁻¹) (Gambar 1).

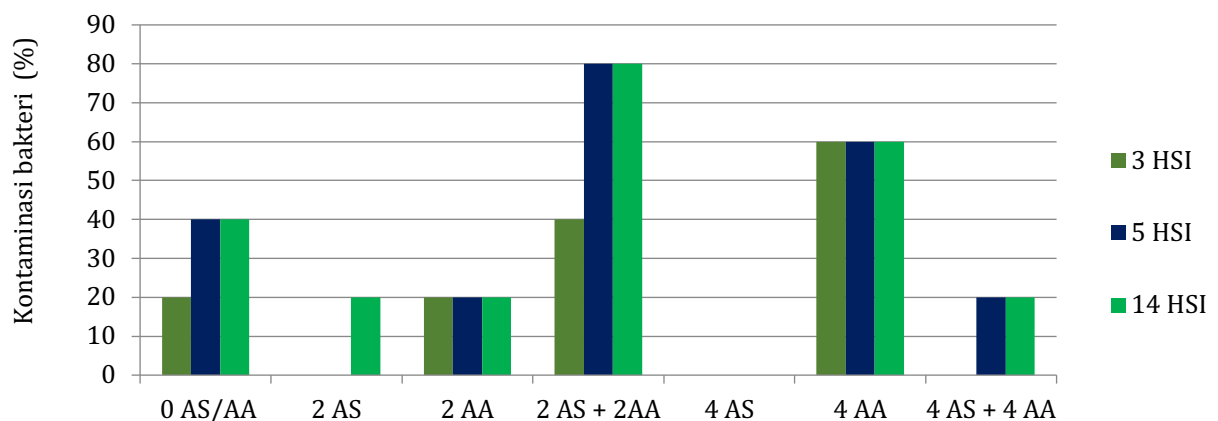
Peningkatan persentase kontaminasi terjadi pada kultur umur 5 HSI, pada perlakuan kontrol (60%), 2 AA (40%), 2 AS + 2AA (80%), 4 AA (80%) dan 4 AS + 4 AA (20%). Sedangkan perlakuan 2 AS belum mengalami kontaminasi (Gambar 1).

Semua perlakuan telah mengalami kontaminasi pada kultur umur 14 HSI. Kontaminasi terendah sebesar 20% terdapat pada perlakuan 2 AS, 4 AS dan 4 AS + 4AA, eksplant sehat sebesar 80%. Eksplan yang mendapat perlakuan 2 AS mengalami kontaminasi paling lambat, terjadi pada saat kultur umur 14 HSI (Gambar 1), perendaman eksplan dalam asam askorbat terutama ditujukan untuk mengurangi terjadinya browning.

Penyebab kontaminasi pada kultur pisang Cavendish adalah jamur dan bakteri. Kontaminasi jamur mulai terjadi pada kultur umur 3 HSI, ditemukan pada tiga perlakuan yaitu kontrol (20%), 4 AS (20%) dan 4 AA (20%). Kontaminasi jamur pada kultur umur 5 dan 14 HSI ditemukan pada 4 perlakuan yaitu kontrol (20%), 2 AA (20%), 4 AS (20%) dan 4 AA (20%) (Gambar 2). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Shofiyani dan Budi (2011), yang melakukan perbanyakan pisang mas secara kultur jaringan yang menunjukkan bahwa gejala yang ditimbulkan dari adanya serangan jamur adalah tumbuhnya hifa-hifa jamur pada permukaan media maupun eksplan setelah inokulasi selama rata-rata 4-14 hari setelah tanam.



Gambar 2. Persentase kontaminasi jamur pada kultur umur 3, 5 dan 14 hari setelah inokulasi



Gambar 3. Persentase kontaminasi bakteri pada kultur umur 3, 5 dan 14 hari setelah inokulasi

Kontaminasi yang disebabkan bakteri terjadi pada semua perlakuan pada kultur umur 3, 5 dan 14 hari setelah inokulasi. Pada kultur umur 3 hari kontaminasi terjadi pada perlakuan kontrol, 2 AA, 2 AS + 2 AA, 4 AS, 4 AA (Gambar 1). Hasil penelitian yang menarik adalah pada perlakuan eksplan yang direndam dengan asam askorbat 2 g L^{-1} ternyata tidak ditemukan adanya kontaminasi oleh jamur dan bakteri pada kultur umur 3 dan 5 hari setelah inokulasi. Ketika kultur berumur 14 hari setelah inokulasi baru terdapat serangan bakteri (Gambar 1, 2, 3) perlakuan perendaman asam askorbat terutama ditujukan untuk mengurangi terjadinya browning pada eksplan. Eksplan yang mengalami browning akan terhambat pertumbuhannya dan pengaruh lebih lanjut dapat mengakibatkan kematian eksplan. Selain untuk mengurangi browning pada penelitian ini ternyata asam askorbat juga dapat memperlambat terjadinya kontaminasi.

Persentase kontaminasi bakteri yang tinggi yaitu sebesar 80% ditemukan pada perlakuan 2 AS+2AA dan 4 AA pada kultur umur 5 hari setelah inokulasi. Kontaminasi bakteri yang tinggi dapat disebabkan karena alat, bahan dan pelaksana. Pada kultur pisang Cavendish ini penyebab kontaminasi kemungkinan besar berasal dari sumber eksplan yang digunakan. Eksplan berasal dari mata tunas pisang yang diisolasi bagian meristemnya, dimana mata tunas tersebut berada pada bagian bawah (bonggol) tanaman yang bersentuhan langsung dengan tanah, sehingga kontaminan yang terdapat pada sumber eksplan sangat tinggi. Kemungkinan kontaminasi terjadi karena teknik sterilisasi eksplan yang kurang sesuai dengan kontaminan yang terbawa di bonggol pisang. Menurut Shofiyani dan Budi (2011), kontaminasi jamur yang terjadi pada kultur pisang mas sudah terjadi pada kultur umur 2-7 hari setelah tanam yang dicirikan dengan munculnya lendir berwarna kuning kecoklatan di permukaan media dan eksplan.

Kontaminasi yang berasal dari eksplan dapat berasal dari faktor internal dan eksternal eksplan. Kontaminasi yang berasal dari faktor internal sumber eksplan dapat disebabkan adanya infeksi patogen ke dalam jaringan tanaman, kontaminasi jenis ini sangat sulit dihindari dengan menggunakan sterilisasi permukaan karena kontaminan berada di dalam jaringan sumber eksplan. Kontaminasi eksternal eksplan berasal dari lingkungan sekitar eksplan berada. Tingkat kontaminasi dipengaruhi beberapa faktor seperti musim saat pengambilan eksplan, morfologi eksplan, bagian tanaman yang diambil sebagai sumber eksplan, dan umur eksplan (Gunawan, 1992). Kontaminasi yang disebabkan faktor eksternal ini dapat dikurangi dengan melakukan teknik sanitasi di lapangan, sterilisasi di lapangan, sterilisasi sumber eksplan di luar LAFC dan sterilisasi di dalam LAFC. Pengetahuan tentang teknik sterilisasi ini sangat menentukan keberhasilan perbanyakan secara kultur jaringan. Hasil terbaik diperoleh apabila sumber eksplan tetap hidup dan tidak mengalami kontaminasi selama periode kultur.

Ketersediaan kultur yang steril selain ditentukan oleh metode sterilisasi eksplan juga dipengaruhi oleh kondisi ruang kultur. Kondisi ruang kultur yang kurang steril, kelembapan tinggi, temperatur yang tinggi juga menyebabkan kontaminan seperti jamur dan bakteri tumbuh dan berkembang sangat cepat hal ini dapat menyebabkan kontaminasi yang tinggi. Oleh karena itu kondisi ruang tanam harus dijaga selalu dalam kondisi steril sehingga saat pelaksanaan inokulasi kontaminasi dapat ditekan. Kondisi ruang inkubasi juga harus dijaga dalam kondisi steril agar selama pemeliharaan kultur kontaminasi dapat ditekan.

3.2 Jenis Kontaminan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontaminasi pada kultur jaringan pisang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Jamur penyebab kontaminasi ada empat jenis yaitu *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp. dan *Rhizopus* sp.

Aspergillus sp. merupakan fungi dari filum ascomycetes yang berflamen, mempunyai hifa bersepat. Pengamatan secara makroskopis koloni *Aspergillus* sp. dengan penampakan seperti beludru serta berkerut. Warna koloni yang dihasilkan yaitu putih. Pengamatan secara mikroskopis

Miselium *Aspergillus* memiliki sekat konidiospora yang tidak bercabang, bertekstur kasar atau halus, dengan sel kaki di dasar akan menopang dasarnya vesikel yang terletak di ujung. Vesikel yang terbentuk satu atau dua baris, kemudian akan menopang vialid yang berbentuk seperti labu, baris vesikel tersebut akan memproduksi rantai filalokonidia yang halus maupun kasar.

Karakteristik morfologi *Rhizoctonia* sp mempunyai struktur miselium yang halus, warna miselium berwarna putih, bertambahnya umur warna abu-abu kehitaman dan selanjutnya miseliumnya berubah menjadi hitam, benang-benang miselium lebar, percabangan membentuk sudut lancip, pada titik percabangan terdapat lekukan. Arah pertumbuhan miselium jamur ini mengarah ke samping dan keatas. Secara mikroskopis jamur tidak menghasilkan spora, hifa bersekat, dan warna hifa coklat.

Karakteristik *Rhizopus* sp. secara makroskopis koloni memiliki warna putih keabuan dengan tekstur koloni menyerupai kapas, tidak terdapat zonasi, dan tidak memiliki garis radial. Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa *Rhizopus* sp. memiliki sporangium berbentuk oval, hifa tidak bersekat, memiliki rhizoid dan stolon.

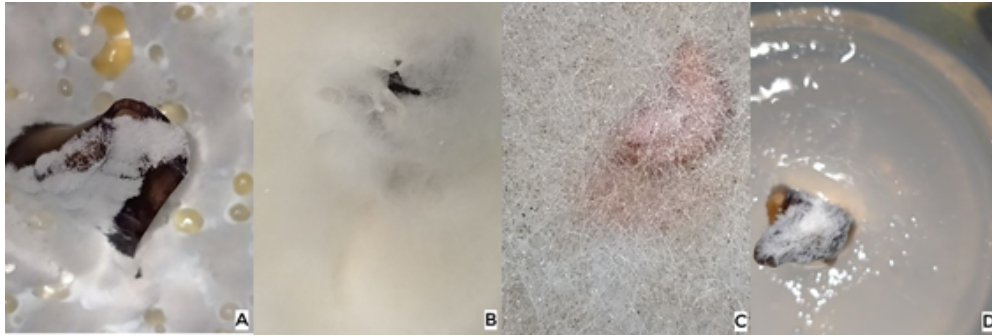
Kontaminasi paling banyak disebabkan oleh *Aspergillus* sp terjadi pada tiga perlakuan yaitu perlakuan kontrol, 2 AS + 2 AA, dan 4 AS. *Rhizopus* sp. ditemukan pada perlakuan 4 AA. *Rhizoctonia* sp. ditemukan pada satu perlakuan yaitu perlakuan 2 AA. Kontaminasi pada kontrol disebabkan oleh dua jenis jamur yaitu *Aspergillus* sp. dan *Colletotrichum* sp. (Tabel 1). Kontaminasi jamur pada eksplan dan media membentuk serabut-serabut berwarna putih seperti riha pada gambar 4. Kontaminasi yang disebabkan oleh *Aspergillus* sp. (Gambar 4A); *Rhizoctonia* sp. (Gambar 4B); *Rhizopus* sp. (Gambar 4C); dan *Colletotrichum* sp. (Gambar 4D). Karakterisasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopik jamur *Colletotrichum* sp. warna koloni pada permukaan atas dan bawah berwarna putih tidak memiliki zonasi. Pengamatan secara mikroskopik mempunyai konidia/spora bulat silindris, dengan hifa bersepta dan hialin. Menurut Dickman (1993), ciri-ciri umum jamur dari Genus *Colletotrichum* yaitu memiliki hifa bersekat dan bercabang serta menghasilkan konidia yang transparan dan memanjang dengan ujung membulat atau meruncing panjangnya antara 10-16 µm dan lebarnya 5-7 µm. Hasil pengamatan jamur kontaminan secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 5.

Menurut Susilowati dan Listyawati, (1970), jenis jamur yang mengkontaminasi pada kultur in vitro adalah *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Aspergillus* dan *Dictyoteliu*m, sedangkan khamir yang mengkontaminasi adalah *Saccharomyces*. Jenis mikroorganisme yang paling sering ditemukan adalah *Mucor* dan *Rhizopus* yang ditemukan pada hampir semua kultur in vitro yang terkontaminasi.

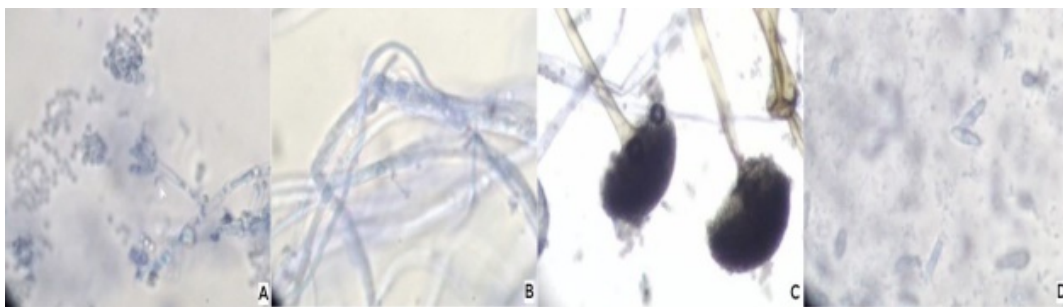
Hasil penelitian Andriani dan Heriansyah, (2021), pada kultur anggrek menunjukkan bahwa jamur kontaminan yang tumbuh didominasi jamur dengan warna putih dan abu-abu dengan bentuk permukaan kasar. Karakter mikroskopik sebagian besar memiliki hifa bersekat/bersepta dan tidak memproduksi spora. Jamur kontaminan yang ditemukan dari jenis *Rhizoctonia* sp. dan *Mucor* sp.

Jenis jamur yang banyak dijumpai menyerang bibit pisang, yaitu *Fusarium oxysporum* Schlecht.f.sp.cubense, penyebab layu *Fusarium*; *Mychosphaerella musicola* Mulder, penyebab bercak daun *Mycosphaerella* atau Sigatoka; *Cordana musae* (Zimm.) Hohn., penyebab bercak daun *Cordana*; *Curvularia lunata*, penyebab bercak daun; dan *Cladosporium musae* Mason, penyebab burik (Soesanto et al., 2012).

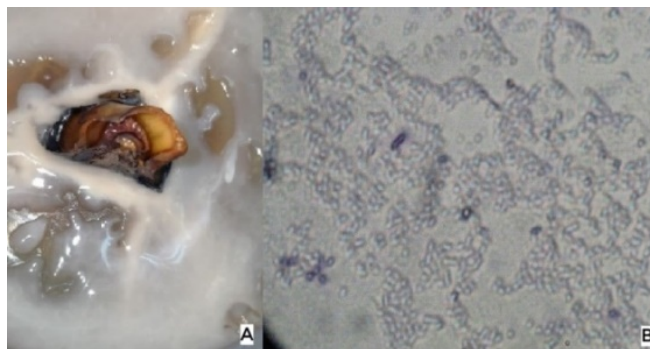
Hasil Pengamatan pewarnaan Gram menunjukkan bakteri bersifat Gram positif. Bakteri gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu akibat zat warna kristal violet-yodium tetap bertahan walaupun telah diberi larutan alkohol. Tidak ditemukan bakteri kelompok gram negatif. Bakteri gram negatif kondisi yang terjadi pada bakteri gram negatif akan berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol sehingga mengambil warna merah safranin. Hasil pengamatan menunjukkan semua bakteri penyebab kontaminasi pada semua perlakuan termasuk dalam kelompok bakteri gram positif (Tabel 1). Kontaminasi yang disebabkan bakteri pada kultur



Gambar 4. Pengamatan fungi secara makroskopis (A) *Aspergillus* sp.; (B) *Rhizoctonia* sp.; (C) *Rhizopus* sp.; (D) *Colletotrichum* sp.



Gambar 5. Pengamatan fungi secara mikroskopis, (A) *Aspergillus* sp.; (B) *Rhizoctonia* sp.; (C) *Rhizopus* sp.; (D) *Colletotrichum* sp.



Gambar 6. Pengamatan bakteri, (A) secara makroskopis; (B) secara mikroskopis

pisang Cavendish lebih banyak disebabkan oleh bakteri yang ditemukan pada enam perlakuan daripada yang disebabkan oleh jamur (lima perlakuan) (Tabel 1). Kontaminasi bakteri secara makroskopis dapat dilihat adanya lendir yang ditemukan pada bagian eksplan dan media tanam. Hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis bakteri penyebab kontaminasi pada kultur jaringan pisang dapat dilihat pada Gambar 6.

4. KESIMPULAN

Jenis kontaminasi yang menyerang kultur pisang cavendish dengan menggunakan eksplan bonggol pisang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Jenis bakteri yang menyerang adalah *Aspergillus* sp.,

Colletotrichum sp., *Rhizoctonia* sp. dan *Rhizopus* sp. Bakteri yang menyerang kultur semua termasuk dalam golongan bakteri gram positif.

Penambahan perlakuan asam sitrat dan asam askorbat atau kombinasi keduanya pada teknik sterilisasi permukaan mengakibatkan persentase kontaminasi yang beragam. Peningkatan konsentrasi asam sitrat dan asam askorbat tidak mengakibatkan penurunan tingkat kontaminasi. Kontaminasi terendah pada perlakuan asam sitrat 2 mg L⁻¹.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Kebun Percobaan Fakultas Pertanian, yang telah memberikan bahan tanam untuk sumber ekspan pada penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., C.W. Mims, & M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. Ed. ke-New York: John Wiley and Sons Inc.
- Apriani, R. T.M.R. Kurnianingsih, & Fitrahtunnisa. 2016. Penggunaan BA pada mikropropagasi pisang (*Musa paradisiaca* L.) kultivar Kusto. *Jurnal Biologi Tropis*. 16(1):33–40.
- Andriani, D. & P. Heriansyah. 2021. Identifikasi jamur kontaminan pada berbagai eksplan kultur jaringan anggrek alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali: Agricultural Journal*. 4(2):192–199.
- Barnett, H.L., & B.B. Hunter. 1972. *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company, Mineapolis. United States Of America.
- Nisa, C. & Rodinah. 2005. Kultur jaringan beberapa kultivar buah pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan pemberian campuran NAA dan kinetin. *Biocientiae*. 2 (2): 23–36.
- Dickman, M.W. 1993. *The Fungi*. Academic Press. New York
- Dzikrana, R., E.D. Sulichantini, & Eliyani. 2018. The effect of kinetin concentration on *Eucalyptus pellita* F. Muell micro cutting growth (in vitro). *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*. 1(1):34–37.
- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.
- Habibah, N. A., Sumadi, & S. Ambar. 2013. Optimasi sterilisasi permukaan daun dan eliminasi endofit pada Burahol. *Biosaintifika*. 5(2):95–98.
- Hidayah, V.N & P. Dewanti. 2023. Pengaruh BAP(6-Benzylaminopurine) dan 2.4-D (Dichlorophenoxy acetic acid) pada mikropropagasi tebu (*Saccharum officinarum* L.) melalui metode thin layer. *Jurnal Agrotek Tropika*. 11(1): 89–95.
- Lukmana, M. dan L. Rahmawati. 2018. Sterilization effectiveness of rubber leaf explant (*Hevea brasiliensis*) in in-vitro culture. *Bioprospek*. 13(1):19–25.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Murashige1962Revised.Pdf. *Physiologia Plantarum*. 15:474–497.
- Putri, I. A., T. Herawan, Prastyono, P., dan L. Haryjanto. 2017. Pengaruh teknik sterilisasi explen terhadap tingkat perolehan kultur jaringan aksenik ramin (*Gonystylus bancanus*). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 11(2): 131–138.
- Sabahannur, St. 2020. Penggunaan NaCl dan asam sitrat untuk memperpanjang umur simpan dan mutu cabai rawit (*Capsicumfrutescent* L.). *Jurnal Galung Tropika*. 9 (1): 31–40.
- Shofiyan, A. & O.D. Hajoeningtjas. 2010. Pengaruh sterilan dan waktu perendaman pada eksplan daun kencur (*Kaemferia galanga* L.) untuk meningkatkan keberhasilan kultur kalus. *Agritech*. 12(1):11–29.

- Shofiyani, A. & G.P. Budi. 2011. Upaya pengembangan tanaman pisang mas (*Musa paradisiaca* L.) bebas patogen melalui metode kultur meristem. *Agritech*. 13(1):46–66.
- Sukartini, S. Ramadiana, D. Hapsoro. 2014. Pengaruh vitamin B dan benziladenin terhadap pertumbuhan bibit anggrek *Phalaenopsis* hasil kultur jaringan. *Jurnal Agrotek Tropika*. 2(3):358–363.
- Soesanto, L., E. Mugiastuti, F. Ahmad, & W. Witjaksono. 2012. Diagnosis lima penyakit utama karena jamur pada 100 kultivar bibit pisang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 12(1):36–45.
- Sulichantini, E.D., Eliyani, A.P.D. Nazari, Susylowati, & A. Saputra. 2021. Pengaruh zat pengatur tumbuh dan bahan organik terhadap pertumbuhan anggrek tebu *Grammatophyllum speciosum* Blume secara kultur jaringan. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*. 4(1):13–19.
- Sulichantini, E.D., Eliyani, A.P.D. Nazari, Susylowati, & A. Saputra. 2021. Respon pertumbuhan anggrek tebu (*Grammatophyllum speciosum* Blume) Secara in vitro terhadap pemberian benzyl amino purin, kinetin, naphthalene acetic acid dan ekstrak ambon dalam media Murashige And Skoog. *Ziraa'ah*. 46(1):59–69.
- Sulichantini, E.D., A.P.D.N, Nazari, & A. Nuansyah. 2023. Aplikasi kombinasi jenis dan konsentrasi antioksidan yang berbeda sebagai penghambat *browning* pada perbanyakan pisang cavendish secara kultur jaringan. *Jurnal Agroekoteknologi tropika Lembab*. 5 (2): 78–83.
- Susilowati, A. & S. Listyawati. 1970. Source of contaminant microorganisms in vitro culture at Sub lab. Biology, Central Laboratory of Mathematics and Sciences, Sebelas Maret University. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 2(1):110–114.
- Zimik, M. & N. Arumugam. 2017. Induction of shoot regeneration in cotyledon explants of the oilseed crop *Sesamum indicum* L. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 15(2):303–308.