



LETTER OF ACCEPTANCE

Educator Development Journal

p-ISSN: - | e-ISSN: 2985-718X

Website: <https://publication.ar-raniry.ac.id/index.php/edj>

| Email: edj.uin@ar-raniry.ac.id

Number: 29/LoA/EDJ.Accepted.425/08/2026

The Editorial Board of **Educator Development Journal** hereby certifies that the manuscript described below has successfully passed the peer-review and editorial evaluation process and has been **ACCEPTED** for publication.

Manuscript Information:

Title	<i>Identifikasi Kontaminasi Mikroorganisme Pada Eksplan Pisang Barangan (Musa Acuminata Linn.) Sebagai Referensi Praktikum Mikrobiologi</i>
Author(s)	Anggia Putri Nuryama¹⁾, Zuraidah²⁾, Riri Rahmadani Putri³⁾, Lina Rahmawati⁴⁾, Kurnia Sari⁵⁾
Affiliation	¹⁻⁵⁾ Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh
Manuscript ID	EDJ-2026-425
Received	19 August 2026
Revised	22 August 2026
Accepted	21 August 2026
Publication Schedule	Vol. 4 No. 2 September 2026

This acceptance is granted based on reviewers' recommendations and the Editor-in-Chief's decision. Minor editorial revisions may still be undertaken before publication. This Letter of Acceptance is issued for official purposes.

Banda Aceh, 23 August 2026

Editor in Chief

(Prof. Habiburrahim, S.Ag.M.Com., Ph.D)

Scopus ID: 57205559106





Anggia Putri Nuryama¹, Zuraidah², Riri Rahmadani Putri³, Lina Rahmawati⁴, Kurnia Sari⁵ Dinas Pertanian Aceh, Laboraturium Kultut Jaringan Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Tarbiyah Dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh
Email:
220207013@student.ar-raniry.ac.id

UJI KELAYAKAN BUKU AJAR MIKROBIOLOGI PADA IDENTIFIKASI KONTAMINASI MIKROORGANISME DI EKSPAN PISANG BARANGAN (*Musa acuminata* Linn.)

Article Info

Article Information

Received :

Revised :

Accepted :

Kata Kunci: kultur jaringan, pisang Barangan, kontaminasi mikroorganisme, bakteri, jamur, buku ajar mikrobiologi.

Abstrak :

Kontaminasi mikroorganisme merupakan kendala utama dalam kultur jaringan tanaman karena dapat menghambat pertumbuhan eksplan hingga menyebabkan kematian dan sumber kontaminasi kompleks. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi mikroorganisme kontaminan pada eksplan pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.), untuk menganalisis uji kelayakan materi dan media buku ajar mikrobiologi. Penelitian menggunakan metode kualitatif untuk mengidentifikasi mikroorganisme dan morfologinya, sedangkan metode kuantitatif menggunakan persentase untuk uji kelayakan materi dan media dari buku ajar mikrobiologi. Penelitian ini dilakukan di laboraturium kultur jaringan dinas pertanian Aceh dan laboraturium mikrobiologi prodi pendidikan biologi, dilakukan di bulan Juli 202. Sampel berupa eksplan pisang barangan (*Musa acuminata* Linn.) pada tahap multiplikasi, sebanyak 4 botol eksplan dari laboraturium kultur jaringan dinas pertanian aceh. Isolasi dan identifikasi dilakukan di laboraturium mikrobiologi UIN Ar-raniry dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA). Identifikasi dilakukan berdasarkan karakter makroskopis dan mikroskopis meliputi bentuk, warna, tekstur, tepian, elevasi koloni, pewarnaan Gram, serta

struktur hifa dan spora. Hasil penelitian praktikum identifikasi bakteri kontaminan berasal dari genus *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., dan kelompok *Enterobacteriaceae*. Jamur yang ditemukan Dalam kelompok *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Rhizopus* sp. Hasil uji kelayakan materi dan media buku ajar mikrobiologi 73,01%

Abstract

Keywords: tissue culture, Barangan banana, microorganism contamination, bacteria, fungi, microbiology textbook.

*Microbial contamination is a major challenge in plant tissue culture, as it can inhibit explant growth, lead to tissue death, and stem from complex sources. This study aimed to identify contaminating microorganisms on Barangan banana (*Musa acuminata* Linn.) explants and to assess the content and media suitability of a microbiology textbook. A qualitative method was employed to identify the microorganisms and their morphology, while a quantitative method – using percentage scores – was used to evaluate the textbook's content and media suitability. The research was conducted in July 2021 at the Aceh Agriculture Agency's tissue culture laboratory and the Biology Education study program's microbiology laboratory. The samples consisted of Barangan banana (*Musa acuminata* Linn.) explants at the multiplication stage, comprising four culture vessels obtained from the Aceh Agriculture Agency's tissue culture laboratory. Isolation and identification were performed at the UIN Ar-Raniry microbiology laboratory using Nutrient Agar (NA) and Potato Dextrose Agar (PDA) media. Identification was based on macroscopic and microscopic characteristics, including colony shape, color, texture, margin, and elevation, as well as Gram staining results and hyphal and spore structures. The identified bacterial contaminants belonged to the genera *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp., and *Micrococcus* sp., as well as the *Enterobacteriaceae* family. Fungi identified included members of the genera *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., and *Rhizopus* sp. The suitability assessment of the microbiology textbook's content and media yielded a score of 73.01%.*

PENDAHULUAN

Pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.) merupakan salah satu komoditas hortikultura unggulan yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan banyak dibudidayakan di Indonesia, khususnya di wilayah Sumatera Utara dan Aceh. Varietas ini dikenal memiliki cita rasa yang manis, tekstur buah yang baik, serta tingkat penerimaan pasar yang tinggi sehingga permintaan bibit berkualitas terus meningkat dari tahun ke tahun (Hassen et al., 2022). Namun, metode perbanyakan konvensional melalui

anakan memiliki beberapa keterbatasan, seperti jumlah bibit yang relatif sedikit, pertumbuhan yang lambat, serta risiko penularan penyakit dari tanaman induk. Oleh karena itu, teknik kultur jaringan menjadi alternatif yang efektif untuk menghasilkan bibit pisang Barangan secara massal dalam waktu yang lebih singkat dengan kualitas yang lebih seragam dan sehat (Permadi et al., 2023).

Kultur jaringan telah digunakan secara luas dalam bidang pertanian dan hortikultura karena mampu menghasilkan bibit unggul dalam jumlah besar, seragam secara genetik, bebas patogen, serta tidak bergantung pada musim tanam. Selain itu, teknik ini berperan penting dalam konservasi plasma nutfah, pemuliaan tanaman, dan penyediaan bahan tanam berkualitas tinggi untuk mendukung produktivitas pertanian berkelanjutan (Azizi et al., 2025).

Keberhasilan kultur jaringan tidak hanya dipengaruhi oleh komposisi media atau penggunaan zat pengatur tumbuh, tetapi juga sangat bergantung pada ketelitian peneliti dalam menjaga kondisi steril selama proses pengerjaan. Menurut (El-Banna, 2021) Meskipun memiliki banyak keunggulan, keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh kondisi steril selama seluruh tahapan kultur berlangsung. Salah satu kendala utama yang sering menyebabkan kegagalan kultur jaringan adalah terjadinya kontaminasi mikroorganisme.

Media kultur yang kaya nutrisi, mengandung gula, vitamin, dan zat pengatur tumbuh merupakan lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan bakteri maupun jamur. Ketika mikroorganisme berhasil mengontaminasi media, mereka akan berkembang lebih cepat dibandingkan jaringan tanaman sehingga menyebabkan kompetisi nutrisi, perubahan komposisi media, penurunan pertumbuhan eksplan, pencoklatan jaringan (*browning*), hingga kematian kultur secara keseluruhan (El-Banna et al., 2021).

Kontaminasi pada kultur jaringan dapat berasal dari berbagai sumber, baik internal maupun eksternal. Kontaminasi internal umumnya disebabkan oleh mikroorganisme endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman dan mampu bertahan meskipun eksplan telah melalui proses sterilisasi permukaan. Mikroorganisme tersebut sering kali tidak langsung terlihat pada awal kultur, tetapi mulai muncul setelah beberapa hari inkubasi. Sebaliknya, kontaminasi eksternal berasal dari lingkungan laboratorium, udara, alat kultur, media tanam, bahan kimia, maupun operator yang melakukan proses inokulasi.

Berbagai jenis mikroorganisme telah dilaporkan sebagai kontaminan dominan pada kultur jaringan pisang. Penelitian Hassen et al. (2022) berhasil mengidentifikasi bakteri Gram negatif dari kelompok *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, dan *Klebsiella variicola* pada kultur jaringan pisang yang terkontaminasi. Selain itu, ditemukan pula jamur *Aspergillus flavus* dan *Colletotrichum gloeosporioides* yang tumbuh pada media kultur dan menyebabkan penurunan viabilitas eksplan. Sementara itu, Fernandez et al. (2021) melaporkan bahwa kontaminan yang umum ditemukan pada kultur jaringan pisang Lakatan terdiri atas bakteri Gram negatif, *Rhizopus* sp., dan beberapa jamur kontaminan lainnya yang mampu berkembang dengan cepat pada tahap inisiasi kultur (Permadi et al., 2023).

Pada kultur jaringan pisang Barangan, beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa kontaminasi umumnya disebabkan oleh jamur *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., serta bakteri Gram positif yang berasal dari eksplan maupun lingkungan kultur. Kehadiran mikroorganisme tersebut dapat menyebabkan perubahan warna media, pembentukan lendir, pertumbuhan miselium, serta kerusakan jaringan tanaman yang pada akhirnya menurunkan tingkat keberhasilan kultur jaringan (Citra et al., 2024).

Buku ajar ini disusun sebagai panduan praktis untuk mahasiswa dalam memahami, mengisolasi, dan mengidentifikasi mikroorganisme kontaminan pada kultur jaringan pisang barangan. Melalui pendekatan pengamatan makroskopis dan mikroskopis, buku ini menyajikan identifikasi jamur seperti *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., dan *Rhizopus* sp., serta bakteri kontaminan yang umum ditemukan. Diharapkan buku ajar ini dapat menjadi referensi praktikum Mikrobiologi dan membantu meningkatkan pemahaman mahasiswa tentang teknik sterilisasi, pengendalian kontaminasi, serta pentingnya aseptik dalam kultur jaringan tanaman.

Selain memiliki manfaat dalam bidang kultur jaringan tanaman, kegiatan identifikasi mikroorganisme kontaminan juga memiliki nilai edukatif yang tinggi dalam pembelajaran mikrobiologi terutama pada praktikum. Melalui kegiatan isolasi, pemurnian, pewarnaan Gram, dan pengamatan mikroskopis, dapat memahami teknik dasar identifikasi mikroorganisme serta hubungan antara prinsip aseptik dan keberhasilan kultur jaringan.

Oleh karena itu, penelitian mengenai identifikasi kontaminasi mikroorganisme pada eksplan pisang Barangan tidak hanya berkontribusi terhadap peningkatan keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro*, tetapi juga dapat menjadi buku ajar mikrobiologi yang aplikatif dan berbasis penelitian laboratorium.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis mikroorganisme yang mengontaminasi eksplan pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.), mendeskripsikan karakteristik morfologinya, serta menganalisis faktor-faktor penyebab kontaminasi sebagai referensi pembelajaran dan praktikum mikrobiologi. Hasil analisis kelayakan *output* yang dihasilkan sebagai buku ajar mikrobiologi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif proses identifikasi mikroorganisme kontaminan, sedangkan kuantitatif untuk uji kelayakan buku ajar mikrobiologi. dengan pendekatan laboratorium untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang mengontaminasi eksplan pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.) pada kultur jaringan. Metode ini dipilih karena mampu menggambarkan karakteristik mikroorganisme berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis tanpa memberikan perlakuan eksperimental tertentu (Hassen et al., 2022; El-Banna et al., 2021).

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Kultur Jaringan Dinas Pertanian Aceh pada bulan Juli 2026. Sampel penelitian berupa eksplan pisang Barangan yang menunjukkan gejala kontaminasi, seperti media yang keruh, muncul lendir, pertumbuhan koloni mikroba, dan miselium jamur pada media kultur, sampel yang diambil pada tahap inokulasi.

Alat yang digunakan meliputi *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, inkubator, mikroskop cahaya, cawan petri, jarum ose, pinset, skalpel, dan alat gelas laboratorium. Bahan yang digunakan terdiri atas eksplan pisang terkontaminasi, media *Nutrient Agar* (NA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), alkohol 70%, akuades steril, natrium hipoklorit (NaOCl), dan bahan pewarnaan Gram.

Prosedur penelitian diawali dengan sterilisasi alat dan media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15–20 menit. Sampel kontaminan kemudian diambil secara aseptik dari botol kultur jaringan yang terkontaminasi. Sampel bakteri

diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA), sedangkan sampel jamur ditanam pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) menggunakan metode gores (*streak plate*). Media diinkubasi pada suhu 28–32°C selama 24–72 jam untuk bakteri dan 3–7 hari untuk jamur hingga terbentuk koloni yang dapat diamati (Permadi et al., 2023).

Koloni yang tumbuh selanjutnya dimurnikan pada media baru untuk memperoleh kultur murni. Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan bentuk, warna, tepian, elevasi koloni, serta hasil pewarnaan Gram. Identifikasi jamur dilakukan melalui pengamatan warna miselium, tekstur koloni, bentuk spora, dan struktur hifa menggunakan mikroskop. Hasil pengamatan dibandingkan dengan literatur identifikasi mikroorganisme yang relevan untuk menentukan kelompok mikroorganisme kontaminan yang ditemukan (Citra et al., 2024).

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel serta uraian naratif untuk menggambarkan karakteristik mikroorganisme kontaminan pada eksplan pisang Barangan.

Perbedaan ciri-ciri kontaminasi pada jamur dan bakteri :

1. Kontaminasi Jamur

Kontaminasi jamur umumnya lebih mudah dikenali karena membentuk miselium atau benang-benang halus (hifa) yang tumbuh di permukaan media maupun pada eksplan. Pada awal pertumbuhan, jamur tampak sebagai titik-titik kecil berwarna putih seperti kapas. Seiring waktu, miselium akan berkembang menjadi koloni yang semakin tebal dan menyebar ke seluruh permukaan media.

Warna koloni jamur sangat bervariasi tergantung spesiesnya, antara lain putih, abu-abu, hijau, hijau tua, hitam, kuning, atau bahkan merah muda. Misalnya, jamur dari genus *Aspergillus* sering berwarna hijau hingga hitam, sedangkan *Penicillium* umumnya berwarna hijau kebiruan. Tekstur koloni terlihat berbulu, seperti kapas, beludru, atau bertepung karena adanya pembentukan spora.

Kontaminasi jamur umumnya lebih mudah dikenali karena membentuk miselium atau benang-benang halus (hifa) yang tumbuh di permukaan media maupun pada eksplan. Pada awal pertumbuhan, jamur tampak sebagai titik-titik kecil berwarna putih seperti kapas. Seiring waktu, miselium akan berkembang menjadi koloni yang semakin tebal dan menyebar ke seluruh permukaan media.

Warna koloni jamur sangat bervariasi tergantung spesiesnya, antara lain putih, abu-abu, hijau, hijau tua, hitam, kuning, atau bahkan merah muda. Misalnya, jamur dari genus *Aspergillus* sering berwarna hijau hingga hitam, sedangkan *Penicillium* umumnya berwarna hijau kebiruan. Tekstur koloni terlihat berbulu, seperti kapas, beludru, atau bertepung karena adanya pembentukan spora.

2. Kontaminasi Bakteri

Kontaminasi bakteri memiliki penampilan yang berbeda karena bakteri tidak membentuk benang-benang seperti jamur. Koloni bakteri biasanya tampak sebagai lendir atau lapisan tipis yang berwarna putih susu, krem, kekuningan, atau transparan. Permukaan koloni terlihat mengkilap, licin, dan berlendir akibat produksi polisakarida ekstraseluler.

Pada media kultur, bakteri sering menyebabkan media menjadi keruh, terutama pada media cair. Pada media padat, koloni terlihat seperti bercak basah yang mengelilingi eksplan atau muncul sebagai lendir di permukaan media. Dalam beberapa kasus, bakteri menghasilkan gelembung gas atau bau yang tidak sedap akibat aktivitas metabolisme.

Pertumbuhan bakteri umumnya lebih cepat daripada jamur. Gejala kontaminasi dapat muncul dalam waktu 24–72 jam setelah penanaman eksplan. Hal ini disebabkan bakteri memiliki waktu pembelahan sel yang sangat singkat sehingga populasinya meningkat dengan cepat.

Eksplan yang terkontaminasi bakteri biasanya mengalami pembusukan, jaringan menjadi lunak, berair, berubah warna menjadi coklat kehitaman, dan akhirnya mati. Pada beberapa kasus, bakteri juga dapat bersifat endofit sehingga tidak langsung terlihat pada awal kultur, tetapi baru muncul setelah beberapa minggu ketika kondisi media mendukung pertumbuhannya.

Tabel 1. Perbedaan Kontaminasi Jamur dan Bakteri

Aspek Pengamatan	Kontaminasi Jamur	Kontaminasi Bakteri
Bentuk Koloni	Berupa benang-benang halus (miselium/hifa)	Berlendir, licin, tanpa benang
Tekstur	Berbulu, seperti kapas atau beludru	Basah, licin, berlendir

Warna	Putih, abu-abu, hijau, hitam, kuning, merah muda	Putih susu, krem, kuning, transparan
Kecepatan Tumbuh	Relatif lambat (3-7 hari)	Cepat (1-3 hari)
Pola Penyebaran	Menyebar radial membentuk lingkaran	Menyebar di sekitar eksplan atau permukaan media
Kondisi Media	Ditumbuhi meselium dan spora	Media tampak berlendir atau keruh
Bau	Biasanya tidak terlalu menyengat atau sedikit bau apek	Sering menimbulkan bau busuk/asam
Dampak Pada Eksplan	Lyu, browning, mongering, kemudian mati	Membusuk, lunak, berair, lalu mati

TEKNIK ANALISIS DATA

Teknik analisis data cara yang digunakan untuk mengolah dan menafsirkan data yang telah diperoleh selama penelitian sehingga dapat menjawab tujuan penelitian yang telah ditetapkan.

1. Analisis Data Karakteristik Bakteri dan Jamur Kontaminan

Data hasil identifikasi bakteri dan jamur kontaminan pada media kultur jaringan pisang Barangan dianalisis menggunakan analisis deskriptif kualitatif. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan morfologi koloni dan pengamatan mikroskopis disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dijelaskan secara naratif untuk menggambarkan karakteristik masing-masing mikroorganisme yang ditemukan.

Penyajian data meliputi karakteristik makroskopis, seperti warna, bentuk, ukuran, tepi koloni, dan tekstur koloni, serta karakteristik mikroskopis, seperti bentuk sel bakteri, sifat Gram, bentuk hifa, konidia, dan spora jamur. Selanjutnya, hasil pengamatan dibandingkan dengan literatur yang relevan untuk menentukan jenis atau genus mikroorganisme kontaminan yang ditemukan.

2. Analisis Data Uji Kelayakan Output, Materi, dan Media

Data hasil validasi ahli output, ahli materi, dan ahli media dianalisis menggunakan rumus persentase kelayakan untuk mengetahui tingkat validitas produk yang dikembangkan. Penilaian diberikan oleh masing-masing validator berdasarkan instrumen yang telah disusun.

Rumus persentase kelayakan yang digunakan adalah sebagai berikut:
(Sumber: diadaptasi dari Sugiyono, 2019)

$$P = \frac{\sum X}{\sum Xi} \times 100\%$$

Keterangan:

- P = Persentase kelayakan
- $\sum x$ = Jumlah skor yang diperoleh
- $\sum xi$ = Jumlah skor maksimum
- 100% = Konstanta

Tabel 2. Kriteria Kelayakan

Persentase	Kategori
81%–100%	Sangat Layak
61%–80%	Layak
41%–60%	Cukup Layak
21%–40%	Kurang Layak
0%–20%	Sangat Tidak Layak

Sumber: Adaptasi dari (Diana & Mulyadi, 2024)

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang mengkontaminasi eksplan pisang barangan (*Musa acuminata* Linn.) pada media kultur jaringan. Pengamatan dilakukan terhadap eksplan yang menunjukkan gejala kontaminasi selama masa inkubasi. Berdasarkan hasil observasi makrokopis, gejala kontaminasi mulai terlihat pada hari ke-60 hingga hari ke-65 setelah inokulasi. Gejala yang diamati meliputi media yang berubah menjadi keruh, munculnya lendir pada permukaan media, terbentuknya koloni mikroorganisme di sekitar eksplan, timbulnya bau tidak sedap, serta pertumbuhan miselium jamur yang menyebar pada permukaan media kultur. Hasil ini sejalan dengan Hassen et al. (2022) yang melaporkan kontaminasi kultur pisang oleh bakteri dan jamur endofit pada minggu ke-8 hingga ke-10 setelah penanaman. El-Banna et al. (2021) juga menyatakan bahwa mikroorganisme endofit pada pisang baru terdeteksi setelah 8-10 minggu karena mereka memiliki fase dorman di dalam jaringan tanaman.

Subkultur menggunakan 5 botol kultur awal yang kemudian diperbanyak menjadi 25 botol kultur baru. Selama masa inkubasi selama 60 hari, dilakukan pengamatan secara berkala terhadap seluruh botol kultur untuk mengetahui adanya kontaminasi. Berdasarkan hasil pengamatan, sebanyak 4 botol kultur mengalami kontaminasi (16%), sedangkan 21 botol kultur lainnya tetap steril (84%) hingga akhir masa pengamatan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar kultur berhasil dipertahankan dalam kondisi steril, meskipun masih ditemukan beberapa botol yang mengalami kontaminasi.

Kontaminasi yang ditemukan menunjukkan karakteristik yang berbeda-beda. Beberapa botol memperlihatkan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang ditandai dengan media menjadi keruh dan muncul lendir di sekitar eksplan, sedangkan botol

lainnya menunjukkan pertumbuhan jamur yang ditandai dengan munculnya benang-benang halus (miselium) berwarna putih yang kemudian menyebar pada permukaan media. Kontaminasi menyebabkan pertumbuhan eksplan terhambat bahkan berpotensi menyebabkan kematian eksplan apabila tidak segera dipisahkan dari kultur yang masih steril.

Secara umum, tingkat kontaminasi sebesar 16% menunjukkan bahwa teknik sterilisasi dan prosedur aseptik yang diterapkan selama penelitian telah berjalan dengan cukup baik, namun masih terdapat kemungkinan masuknya mikroorganisme baik dari eksplan, media kultur, alat, maupun lingkungan kerja. Oleh karena itu,



Gambar 1. B1 Jamur



Gambar 2. B2 Jamur



Gambar 3. B3 Bakteri



Gambar 4. B4 Bakteri

Gambar Botol Kultur Yang Terkontaminasi

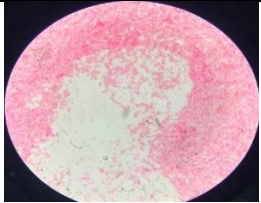
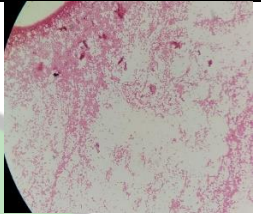
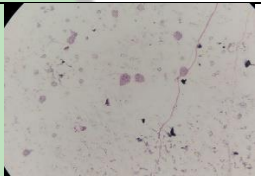
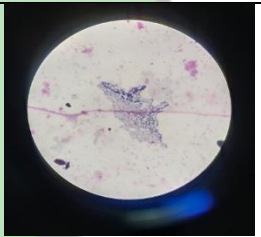
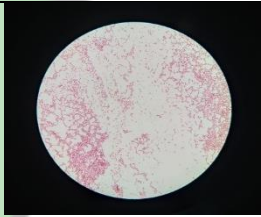
peningkatan ketelitian selama proses sterilisasi dan penanaman masih diperlukan untuk meminimalkan risiko kontaminasi pada penelitian selanjutnya.

Tabel 3. Tingkat Kontaminasi Eksplan Pisang Barangan

Kondisi Kultur	Jumlah (Botol)	Persentase (%)
Tidak Terkontaminasi	21	84%
Terkontaminasi Bakteri	2	8%
Terkontaminasi Jamur	1	4%
Kontaminasi Campuran	1	4%
Total	25	100%

Hasil isolasi pada media *Nutrien Agar* (NA) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA) menunjukan adanya beberapa koloni bakteri dengan karakteristik morfologi yang berbeda pada setiap botol dan pengulangan, Pengamatan dilakukan terhadap bentuk koloni, tekstur permukaan, tepian koloni, elevasi, dan hasil pewarnaan.

Tabel 4. Karakteristik Morfologi Bakteri Kontaminan

Spesies Bakteri	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Ciri Khas	Gambar
<i>Pseudomonas</i> sp.	Bulat, tidak beraturan	Putih tulang - Hijau kekuningan	Permukaan mengkilap, berlendir	
<i>Enterobacter</i> sp.	Bulat, kecil	Putih susu	Koloni licin, mucoid	
<i>Staphylococcus</i> sp.	Bulat, kecil	Putih susu - krem	Permukaan halus, mengkilap	
<i>Micrococcus</i> sp.	Bulat, kecil	Putih susu	Koloni padat, raised	
<i>Acetobacter</i> sp.	Bulat	Putih susu-krem	Koloni kecil, cembung	

Keterangan parameter bakteri :

BK = Bentuk Koloni
 WK = Warna Koloni
 Tep K = Tepian Koloni
 EK = Elevasi Koloni
 PK = Permukaan Koloni
 KK = Konsistensi
 RG = Reaksi Gram

Keteranga parmeter jamur :

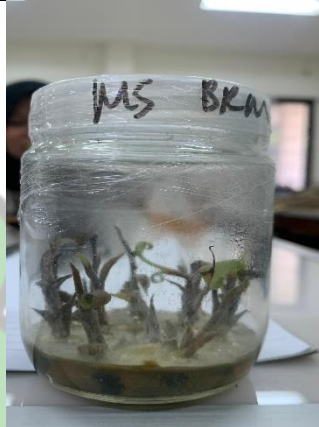
WM = Warna Miselium
 Tek K = Tekstur Koloni
 BK = Bentu Koloni
 SH = Struktur Hifa
 Per = Pertumbuhan
 Spo = Spora

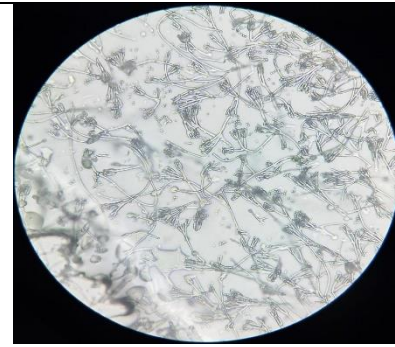
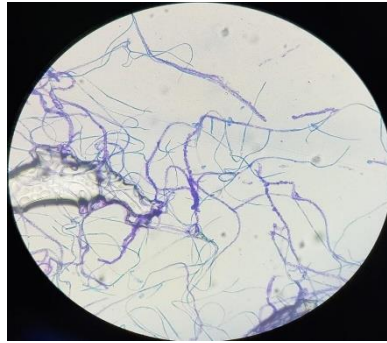
B3 dan B4 adalah botol yang terkontaminasi bakteri. Koloni bakteri mulai terlihat setelah 24-28 jam inkubasi. Sebagian besar koloni berwarna putih hingga krem dengan permukaan licin atau halus dan mengkilap. Pada pengamatan mikroskopis,

Karakteristik Jamur Kontaminan

Hasil isolasi pada media *Murashige dan Skoog* (MS) menunjukkan adanya beberapa jenis jamur yang memiliki karakteristik koloni berbeda.

Tabel 5. Karakteristik Makrokopis dan Mikrokopis Jamur Kontaminan

Parameter	Botol 1	Botol 2
A.KARAKTER MAKROKOPIS (Diamati dengan mata langsung)		
Warna Miselium (WM)	Abu-abu, putih, putih kehijauan	Abu-abu, putih, putih kekuningan
Tekstur Koloni (Tek K)	Berbulu seperti kapas, kering, bertepung	Berbulu seperti kapas, basah, dan gelembung air, bertepung
Bentuk Koloni (BK)	Menyebar, radial, bulat-bulat terpisah	Menyebar radial, menyatu, menutupi semua media + eksplan
Pertumbuhan (Per)	Cepat menutupi media, stadium sporulasi awal	Cepat menutupi media, stadium sporulasi lanjut + pembusukan. Eksplan sudah coklat semua
B.KARAKTER MIKROKOPIS (Diamati dengan mikroskop)		



Struktur Hifa (SH)	Bercabang, hifa, septat, aerial pendek	Bercabang, coenocytic, aerial Menjulung Panjang
Spora	Banyak dan mudah menyebar	Banyak dan mudah menyebar
Spesies Dugaan	<i>Penicillium</i> sp. Dan <i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. Dan <i>Rhizopus</i> sp.

B1 dan B2 adalah botol yang terkontaminasi jamur. Koloni jamur pada botol 1 dan 2 mulai terlihat pada hari ke-60 hingga hari ke-65 setelah inokulasi. Beberapa koloni menunjukkan warna putih pada fase awal pertumbuhan kemudian berubah menjadi putih, abu-abu dan krem setelah menghasilkan spora. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya konidiofor bercabang dan struktur spora yang menyerupai genus *Aspergillus* Sp. Dan *Penicillium* Sp.

Tabel 6. Identitas Mikroorganisme Kontaminan

Kelompok Mikroorganisme	Genus
Bakteri Gram Positif	<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp.
Bakteri Gram Negatif	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i> Sp.
Jamur	<i>Aspergillus</i> Sp. Dan <i>Penicillium</i> Sp.

Tabel 7. Saran-saran Perbaikan Buku Ajar Mikrobiologi oleh Validator

Validator	Saran yang dikemukakan
Ahli Materi	1. Rapika penulisan dan naikan spasinya 2. Lengkapi data, table, keterangan dan gambar 3. Beberapa gambar kurang dilengkapi dengan keterangan. 4. Penulisan bahasa asing dan bahasa latin masih banyak yang belum tercetak miring 5. Keterangan jangan terpisah dari gambar/table.
Ahli Media	1. Revisi design cover

2. Rapikan penulisan klasifikasi
3. Tambahkan daftar pustaka

Hasil validasi dari ahli materi dan ahli media menunjukkan bahwa bahan ajar yang dikembangkan masih memerlukan beberapa perbaikan sebelum digunakan secara optimal. Ahli materi memberikan masukan berupa perapian penulisan dan peningkatan spasi, pelengkapan data, tabel, keterangan, dan gambar, serta penambahan keterangan pada beberapa gambar yang masih kurang lengkap. Selain itu, penulisan istilah asing dan bahasa Latin perlu disesuaikan dengan kaidah penulisan ilmiah, yaitu dicetak miring (*italic*). Keterangan pada gambar dan tabel juga perlu ditempatkan secara berdekatan agar memudahkan pembaca dalam memahami informasi yang disajikan.

Sementara itu, ahli media memberikan masukan terkait perbaikan desain sampul, perapian penulisan klasifikasi, serta penambahan daftar pustaka. Masukan tersebut menjadi dasar untuk melakukan revisi terhadap aspek visual dan penyajian bahan ajar agar lebih sistematis, menarik, dan mudah digunakan oleh pembaca.

Tabel 8. Hasil Uji Kelayakan Buku Ajar

Uji kelayakan dilakukan oleh 4 validator untuk menilai aspek materi dan media.

Hasil rekapitulasi skor validasi disajikan pada Tabel 8

Validator	Skor	Skor Maksimal	Persentase %	Kategori
Ahli Materi 1	98	125	78,40%	Layak
Ahli Materi 2	79	135	58,52%	Cukup layak
Ahli Media 1	47	55	85,45%	Sangat layak
Ahli Media 2	79	100	79,00%	Layak
Rata-rata	303	415	73,01%	Layak

Berdasarkan hasil uji validasi buku ajar Mikrobiologi pada Identifikasi Kontaminasi Mikroorganisme di Eksplan Pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.), diperoleh hasil penilaian dari ahli materi dan ahli media. Hasil validasi Ahli Materi 1 memperoleh persentase sebesar 78,40% dengan kategori layak, sedangkan Ahli Materi 2 memperoleh persentase sebesar 58,52% dengan kategori cukup layak. Selanjutnya, hasil validasi Ahli Media 1 memperoleh persentase sebesar 85,45% dengan kategori sangat layak, sedangkan Ahli Media 2 memperoleh persentase sebesar 79,00% dengan kategori layak. Secara keseluruhan, jumlah skor yang diperoleh adalah 303 dari skor maksimal 415, sehingga diperoleh persentase validasi sebesar 73,01%. Berdasarkan kriteria kelayakan, persentase tersebut termasuk dalam kategori layak. Dengan demikian, buku ajar yang dikembangkan dinyatakan layak digunakan dengan memperhatikan saran dan perbaikan dari para validator.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, dari 25 botol kultur jaringan pisang barangan yang diamati selama 60 hari setelah subkultur, sebanyak 4 botol mengalami kontaminasi atau sebesar 16%, sedangkan 21 botol lainnya tetap steril atau sebesar 84%. Persentase keberhasilan sebesar 84% menunjukkan bahwa prosedur sterilisasi

dan teknik aseptik yang diterapkan sudah cukup efektif. Hasil ini sejalan dengan penelitian Permadi et al. (2023) yang menyatakan bahwa tingkat keberhasilan kultur jaringan pisang yang baik berada pada kisaran 80-90% apabila sterilisasi eksplan dan ruang kerja dilakukan secara optimal.

Kontaminasi mulai terlihat pada hari ke-60 hingga hari ke-65 setelah penanaman. Kemunculan kontaminasi pada waktu yang relatif lama mengindikasikan bahwa mikroorganisme penyebab kemungkinan berasal dari kontaminan endofit yang berada di dalam jaringan tanaman. Hal ini didukung oleh El-Banna et al. (2021) yang menjelaskan bahwa jaringan vaskular pisang mengandung banyak bakteri dan jamur endofit yang bersifat laten dan tidak dapat dieliminasi sepenuhnya melalui sterilisasi permukaan. Mikroorganisme endofit baru akan tumbuh setelah mendapatkan nutrisi dari media kultur dalam waktu yang cukup lama. Selain itu, kemungkinan kontaminasi juga dapat berasal dari proses subkultur, kondisi ruang kerja, maupun alat yang digunakan apabila prosedur aseptik belum dilakukan secara optimal. Menurut Hassen et al. (2022), kegagalan pada saat pemindahan eksplan di *Laminar Air Flow* (LAF) merupakan salah satu sumber kontaminasi terbesar kedua setelah kontaminan endofit.

Selama pengamatan, botol yang mengalami kontaminasi menunjukkan gejala berupa media menjadi keruh, muncul lendir di sekitar eksplan, timbul bau tidak sedap, serta pertumbuhan miselium jamur pada permukaan media. Gejala tersebut sesuai dengan ciri kontaminasi bakteri dan jamur yang dilaporkan oleh Citra et al. (2024), yaitu pertumbuhan *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., bakteri Gram positif dan Gram negatif yang memanfaatkan nutrisi pada media *Murashige dan Skoog* (MS). Akibatnya, eksplan mengalami persaingan dalam memperoleh nutrisi sehingga pertumbuhannya menjadi terhambat bahkan berpotensi mati. Hal ini sejalan dengan pernyataan George et al. (2018) bahwa mikroorganisme kontaminan akan mendegradasi komponen media dan menghasilkan metabolit toksik yang menghambat pertumbuhan eksplan.

Apabila dibandingkan dengan jumlah keseluruhan kultur, tingkat kontaminasi sebesar 16% dapat dikategorikan sebagai tingkat kontaminasi sedang. Nilai tersebut menunjukkan bahwa teknik kultur jaringan yang diterapkan sudah cukup baik. Namun demikian, hasil ini juga menunjukkan masih perlunya peningkatan ketelitian dalam proses sterilisasi eksplan, penggunaan alat yang steril, serta penerapan teknik aseptik selama proses inokulasi dan subkultur agar persentase kontaminasi dapat ditekan hingga di bawah 10%. Sebagaimana disarankan oleh Rout et al. (2020), optimalisasi konsentrasi NaOCl, waktu perendaman, dan penggunaan antibiotik pada media dapat menurunkan kontaminasi endofit hingga <5%. Dengan demikian, keberhasilan kultur jaringan pisang barangan pada penelitian ini dapat dikatakan cukup baik, namun masih memerlukan penyempurnaan pada prosedur kerja laboratorium untuk meningkatkan keberhasilan kultur pada penelitian berikutnya.

Tabel 9 Faktor Penyebab Kontaminasi pada Kultur Jaringan Pisang Barangan.

Tabel 9. Faktor Penyebab Kontaminasi Pada Kultur Jaringan Pisang Barangan

Faktor	Pengaruh terhadap Kontaminasi
Sterilisasi eksplan kurang optimal	Mikroorganisme tetap hidup pada jaringan
Mikroba endofit	Menyebabkan kontaminasi internal
Alat kurang steril	Menjadi sumber kontaminasi silang
Ruang kultur kurang bersih	Meningkatkan jumlah spora di udara
Kesalahan prosedur aseptik	Memudahkan masuk nya mikroba
Lamanya inokulasi	Meningkatkan paparan udara luar
Kelembapan ruang tinggi	Mempercepat pertumbuhan jamur

Berdasarkan data pada Tabel 9, dapat dilihat bahwa penyebab utama terjadinya kontaminasi pada kultur jaringan pisang barangan adalah kegagalan dalam proses sterilisasi eksplan dan adanya mikroorganisme endofit yang terdapat di dalam jaringan tanaman. Hal ini sesuai dengan kondisi pisang yang merupakan tanaman dengan sistem vaskular yang kompleks sehingga banyak mikroorganisme laten yang sulit dihilangkan meskipun telah dilakukan sterilisasi permukaan (El-Banna et al., 2021).wq

Hasil penelitian saya juga sejalan dengan penelitian Hassen et al. (2022) dan Citra et al. (2024) yang menyebutkan bahwa kontaminan yang paling dominan pada kultur jaringan pisang berasal dari bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, serta jamur dari genus *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. Mikroorganisme tersebut umumnya berasal dari udara, alat, maupun dari dalam jaringan eksplan itu sendiri. Oleh karena itu, untuk meningkatkan persentase keberhasilan kultur, beberapa upaya yang dapat dilakukan adalah dengan mengoptimalkan konsentrasi dan lama perendaman natrium hipoklorit, menggunakan alkohol 70% pada tahap awal sterilisasi, menjaga kebersihan *laminar air flow*, serta menerapkan teknik aseptik secara disiplin saat pemindahan eksplan ke media baru (Permadi et al., 2023).

Secara akademik, penelitian ini tidak hanya bermanfaat untuk mengetahui tingkat keberhasilan kultur jaringan, tetapi juga dapat dijadikan sebagai bahan ajar praktikum. Melalui penelitian ini, mahasiswa dapat secara langsung belajar mengenai teknik isolasi dan identifikasi mikroorganisme kontaminan, melakukan pewarnaan Gram untuk membedakan jenis bakteri, serta memahami pentingnya prinsip steril dalam bioteknologi tanaman. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat menjembatani antara teori mikrobiologi dengan penerapan di laboratorium kultur jaringan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kontaminasi pada eksplan pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.) sebesar 16% dari 25 botol kultur. Hasil identifikasi menunjukkan adanya bakteri kontaminan dari genus *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp., dan *Micrococcus* sp., serta kelompok Enterobacteriaceae, sedangkan jamur yang ditemukan meliputi *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Rhizopus* sp. Identifikasi dilakukan berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis mikroorganisme.

Hasil uji kelayakan buku ajar dari ahli materi dan ahli media memperoleh skor total 303 dari skor maksimal 415, dengan persentase 73,01% dan termasuk kategori layak. Dengan demikian, buku ajar mikrobiologi yang dikembangkan layak digunakan sebagai referensi praktikum Mikrobiologi dengan memperhatikan saran dan perbaikan dari validator.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, N., H. El-Ramady, M. K. Seliem, M. E. El-Mahrouk, N. Taha, Y. Bayoumi, T. A. Shalaby, & J. Dobránszki. (2022). An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. *Horticulturae*, 8(8), 677. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080677>
- Azizi, M., M. Ebrahimi, S. Hosseini, & A. Rahmani. (2025). Recent advances in contamination management of plant tissue culture systems. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 161(2), 215–231. <https://doi.org/10.1007/s11240-025-03180-6>
- Cappuccino, J. G., & C. T. Welsh. (2021). *Microbiology: A Laboratory Manual* (12th ed.). Pearson Education.
- Citra, R., N. Indriani, & S. Haniyah. (2024). Identifikasi mikroorganisme kontaminan pada kultur jaringan pisang Barangan (*Musa acuminata* Linn.). *Jurnal BioGenerasi*, 9(2), 145–154. [DOI perlu diverifikasi]
- El-Banna, A. N., M. M. Hassan, & S. S. Abdel-Rahman. (2021). Endophytic and epiphytic microbial contamination in banana tissue culture and its management strategies. *Horticulturae*, 7(12), 526–539. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120526>
- Gunawan, L. W. (2021). *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. IPB Press.
- Hassen, N. I., N. A. Badaluddin, Z. Mustapha, & D. D. Zawawi. (2022). Identification and prevention of microbial contaminants in *Musa paradisiaca* tissue culture. *Malaysian Applied Biology*, 51(5), 129–143. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i5.2374>
- Hussein, S. S., A. A. Matrood, & M. H. Abass. (2023). The efficiency of fungicides on fungal growth inhibition in cultured tissues of banana (*Musa acuminata*) and their effect on tissue traits. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1262(3), 032005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1262/3/032005>
- Madigan, M. T., K. S. Bender, D. H. Buckley, W. M. Sattley, & D. A. Stahl. (2022). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.). Pearson.
- Ngan, H. T. M., H. T. Tung, B. V. Le, & D. T. Nhut. (2020). Abnormal symptoms in micropropagation and strategies to overcome. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 18(1). <https://doi.org/10.15625/1811-4989/18/1/15258>
- Oliya, B. K., M. Y. Kim, & S. H. Lee. (2022). In vitro propagation, lactucin quantification, and antibacterial activity of Indian lettuce (*Lactuca indica* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 58, 361–371. <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10234-9>
- Pelczar, M. J., E. C. S. Chan, & N. R. Krieg. (2021). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Edisi Revisi). UI Press.
- Permadi, A., L. H. Nugroho, & S. M. Widyastuti. (2023). Managing lethal browning and microbial contamination in *Musa* spp. tissue culture: Synthesis and perspectives. *Horticulturae*, 9(4), 453. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040453>

- Pratiwi, D. A., S. Rahayu, & A. Setiawan. (2023). Analisis kontaminasi mikroba pada kultur jaringan tanaman hortikultura di laboratorium kultur *in vitro*. *Jurnal Bioteknologi Indonesia*, 18(1), 45–54. [DOI perlu diverifikasi]
- Rahmawati, F., D. P. Sari, & T. Hidayat. (2024). Karakterisasi bakteri dan jamur kontaminan pada media kultur jaringan tanaman. *Jurnal Mikrobiologi Tropis*, 5(1), 23–31. [DOI perlu diverifikasi]
- Sari, R., N. Yuliana, & A. Kurniawan. (2022). Evaluasi tingkat kontaminasi pada kultur jaringan pisang dan upaya pengendaliannya. *Jurnal Agrobioteknologi*, 14(2), 87–96. [DOI perlu diverifikasi]
- Sirohi, S., & N. Vats. (2021). Identification, characterization and antibiotic control of bacterial contamination during *in-vitro* propagation of banana. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(71–72), 676–682.
- Utami, N. W., I. N. G. Putra, & D. P. Lestari. (2021). Teknik aseptik dalam kultur jaringan tanaman dan pengaruhnya terhadap keberhasilan kultur *in vitro*. *Jurnal Biologi Udayana*, 25(2), 101–109. [DOI perlu diverifikasi]
- Waluyo, L. (2022). *Mikrobiologi Umum*. UMM Press.
- Widyastuti, S., & L. H. Nugroho. (2023). *Kultur Jaringan Tanaman: Teori dan Aplikasi*. Gadjah Mada University Press.
- Wulandari, E., R. Syafitri, & D. S. Hanafiah. (2024). Isolasi dan identifikasi jamur kontaminan pada kultur jaringan tanaman pisang. *Jurnal Proteksi Tanaman Indonesia*, 28(1), 66–75. [DOI perlu diverifikasi]
- Yanniar, H., I. Setiawan Zalukhu, & Armaniar. (2024). Contamination factors in tissue culture media. *International Conference Epicentrum of Economic Global Framework*, 523–527.

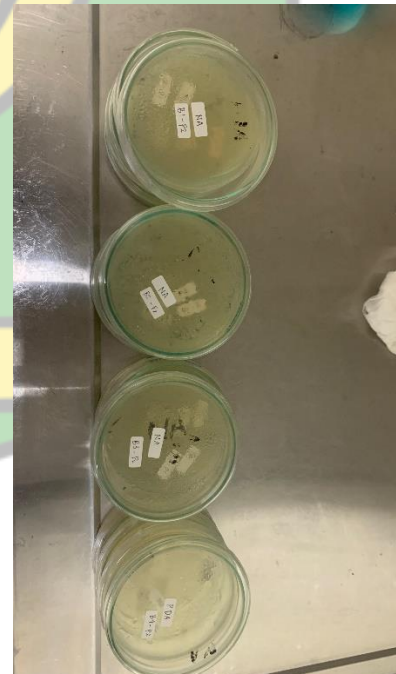
LAMPIRAN



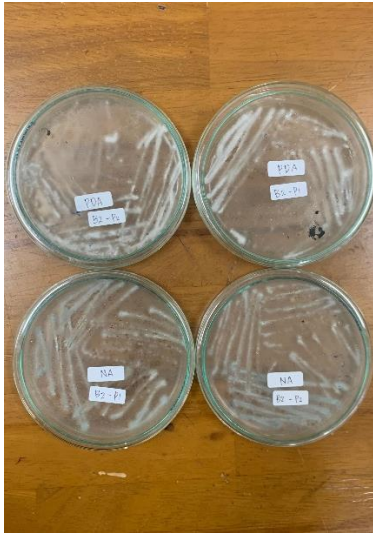
Gambar 1. Sterilisasi



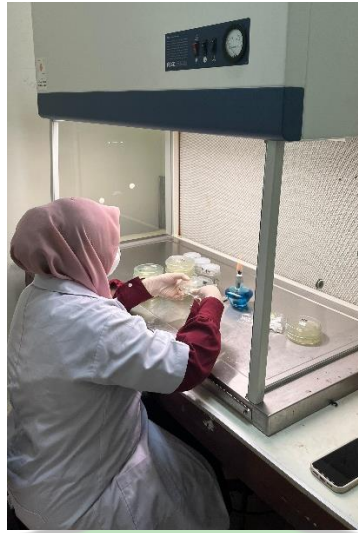
Gambar 2. Pembuatan media



Gambar 3. Isolasi bakteri dan jamur



Gambar 4. Isolasi bakteri dan jamur



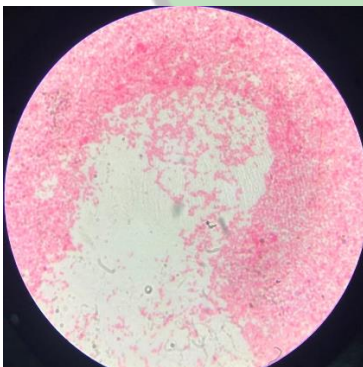
Gambar 5. Tahap penggoresan



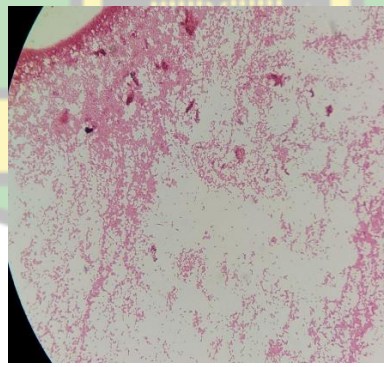
Gambar 6. Pewarnaan gram



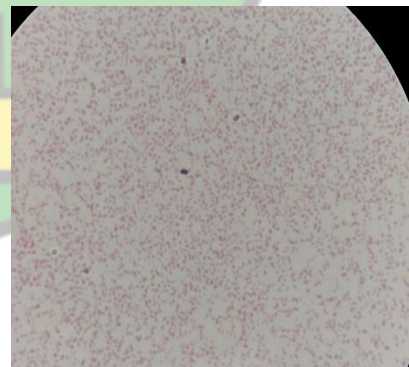
Gambar 7. Identifikasi



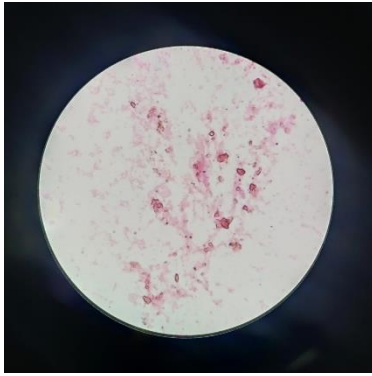
Gambar 8. B3- P1 NA



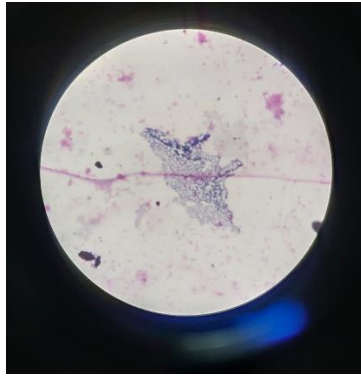
Gambar 9. B3- P2 NA



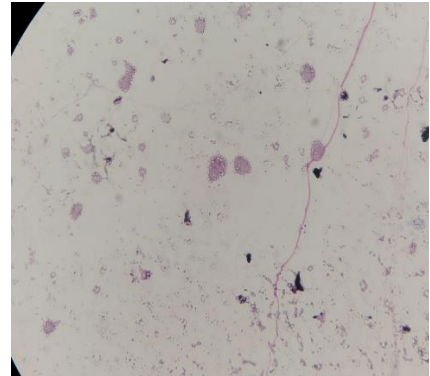
Gambar 10. B3- P1 PDA



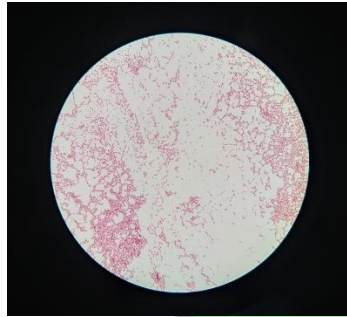
Gambar 11. B3- P2 PDA



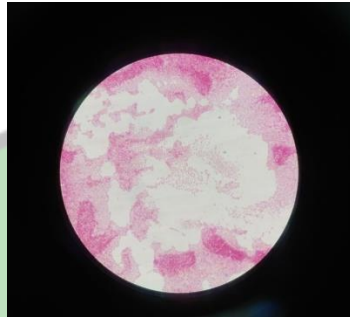
Gambar 12. B4- P1 NA



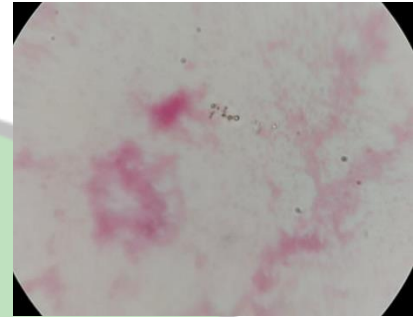
Gambar 13. B4- P1 NA



Gambar 14. B4 P2 NA



Gambar 15. B4- P1 PDA



Gambar 16. B4 P2 PDA



Gambar 17. Dokumentasi
jamur B1 dan B2

