



Identifikasi Jamur dari Singkong (*Manihot Esculenta*) Berdasarkan Pewarnaan Gram dan Morfologi Koloni

Fhariza Liandri Chardy^{1*}, Ardi Mustakim²

¹⁻²Universitas Adiwangsa Jambi, Indonesia

Alamat: Jl. Sersan muslim No. RT 24, Thehok, Kec. Jambi Selatan, Kota Jambi

Korespondensi penulis : fharizachardy@gmail.com*

Abstract. Cassava (*Manihot esculenta*) is a staple food rich in carbohydrates and widely consumed by people in various regions, especially in tropical regions such as Indonesia. Besides being easy to cultivate, cassava also has a high economic value. However, cassava has a major weakness, namely its perishability after harvest. This damage is often caused by contamination by microorganisms, especially fungi, which can grow rapidly in unhygienic and humid storage conditions. Fungal contamination not only causes odor and reduces sound quality but also has the potential to produce mycotoxins that are harmful to human health. Therefore, identifying the type of fungus growing on cassava is very important. The purpose of this study was to determine the presence and type of fungus growing on cassava through a colony morphology approach and Gram staining using crystal violet. The research method began with dilution of cassava samples, then inoculated into Nutrient Agar (NA) media, incubated for 48 hours at room temperature, and continued with microscopic examination. Staining with crystal violet aims to clarify the morphological structure of the fungus such as hyphae and spores. Observations revealed the growth of characteristic fungal colonies, as well as hyphal and spore structures that readily absorbed crystal violet. This demonstrates that this simple morphological and staining method is quite effective in providing initial insights into fungal identification. This information is expected to form the basis for developing safer and more durable cassava storage methods. Further research is recommended on specific identification using molecular testing. This step will broaden our understanding of the toxicological potential and post-harvest handling of cassava.

Keywords: Cassava, Colony Morphology, Crystal Violet, Fungi, Gram Staining.

Abstrak. Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan salah satu bahan pangan pokok yang kaya akan karbohidrat dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat di berbagai wilayah, terutama di daerah tropis seperti Indonesia. Selain mudah dibudidayakan, singkong juga memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Namun, singkong memiliki kelemahan utama, yaitu sifatnya yang mudah rusak setelah dipanen. Kerusakan ini sering disebabkan oleh kontaminasi mikroorganisme, khususnya jamur, yang dapat berkembang dengan cepat dalam kondisi penyimpanan yang kurang higienis dan lembap. Kontaminasi jamur tidak hanya menyebabkan pembusukan dan menurunkan kualitas singkong, tetapi juga berpotensi menghasilkan mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Oleh karena itu, identifikasi jenis jamur yang tumbuh pada singkong sangat penting dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan dan jenis jamur yang berkembang pada singkong melalui pendekatan morfologi koloni dan pewarnaan Gram menggunakan kristal violet. Metode penelitian dimulai dengan pengenceran sampel singkong, kemudian diinokulasi ke dalam media Nutrient Agar (NA), diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang, dan dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopis. Pewarnaan dengan kristal violet bertujuan untuk memperjelas struktur morfologi jamur seperti hifa dan spora. Hasil pengamatan menunjukkan adanya pertumbuhan koloni jamur dengan ciri khas, serta struktur hifa dan spora yang menyerap warna kristal violet dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa metode morfologi dan pewarnaan sederhana ini cukup efektif dalam memberikan gambaran awal terkait identifikasi jamur. Informasi ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi pengembangan metode penyimpanan singkong yang lebih aman dan tahan lama. Penelitian lanjutan dapat difokuskan pada identifikasi spesifik menggunakan uji molekuler. Langkah ini akan memperluas pemahaman tentang potensi toksikologi dan penanganan pasca panen singkong.

Kata kunci: Jamur, Kristal Violet, Morfologi Koloni, Pewarnaan Gram, Singkong.

1. LATAR BELAKANG

Singkong (*Manihot esculenta*) adalah salah satu bahan pangan pokok di negara-negara tropis, sumber karbohidrat alternatif yang mudah diolah menjadi tepung, gaplek, dan pakan ternak (Cardoso et al., 2005). Namun, karena tinggi karbohidrat dan kadar air, singkong mudah mengalami kerusakan mikrobiologis, terutama kontaminasi jamur, terutama bila disimpan dalam kondisi lembap (Onyido et al., 2012). Kontaminasi jamur pada singkong tidak hanya menurunkan kualitas sensorik seperti bau dan rasa, tetapi juga meningkatkan risiko mikotoksin, seperti aflatoksin dan patulin, yang berbahaya untuk kesehatan manusia (Obong'o et al., 2020). Lalu, Afifuddin et al. (2018) juga melaporkan bahwa produk singkong fermentasi di Indonesia mengandung kapang seperti *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium*, yang memproduksi mikotoksin selama penyimpanan tidak terkontrol.

Analisis morfologi koloni pada media padat seperti Nutrient Agar (NA) maupun Potato Dextrose Agar (PDA) sering menjadi metode awal yang praktis untuk mengenali tipe jamur, misalnya koloni berbulu dengan warna hijau atau abu-abu yang khas *Aspergillus* (Smith & Jones, 2015). Morris et al. (2017) menegaskan bahwa warna, ukuran, tekstur, dan margin koloni dapat memberikan informasi awal taksonomi pada genus jamur. Selain itu, pengamatan struktur mikroskopis—hifa dan spora—melalui pewarnaan dasar seperti kristal violet memberikan batas visual yang jelas (Mohanty et al., 2020).

Kristal violet dalam pewarnaan jamur mempertegas bentuk hifa septat atau aseptat, dan spora bulat atau oval, yang membantu dalam memisahkan kelompok jamur patogenik seperti *Aspergillus* dari jamur non-patogen (Sharma et al., 2019). Sedangkan pada, Uso et al. (2014) menemukan bahwa teknik pewarnaan ini memberi kontras visual yang baik walaupun tidak membedakan Gram positif atau negatif. Pengolahan tradisional singkong, seperti fermentasi untuk pembuatan tape atau tepung, juga terbukti meningkatkan keanekaragaman mikroba, termasuk kapang xerofil dan yeast (Dlamini & Nkambule, 2016). Hambali et al. (2013) melaporkan adanya *Rhizopus* dan *Mucor* pada sampel tepung singkong yang disimpan dalam kantong plastik terbuka. Kondisi suhu dan kelembapan yang tinggi mempercepat pertumbuhan jamur, sebagaimana ditunjukkan penelitian oleh Mwendwa et al. (2019) pada produk singkong di Kenya.

Dengan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan jamur pada singkong segar maupun fermentasi menggunakan metode morfologi koloni dan pewarnaan Gram (kristal violet). Hasil penelitian diharapkan menjadi langkah awal dalam pemantauan kontaminasi jamur dan pengembangan strategi pengendalian mutu pada produk berbasis singkong.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium mikrobiologi untuk mengidentifikasi jamur yang tumbuh pada singkong (*Manihot esculenta*) berdasarkan morfologi koloni dan pengamatan mikroskopis menggunakan pewarna tunggal yaitu kristal violet. Sampel yang digunakan adalah singkong segar yang disimpan selama beberapa hari dalam suhu ruang untuk merangsang pertumbuhan alami jamur. Sebanyak 1 gram singkong dihancurkan secara aseptis dan dicampur dengan 9 mL akuades steril dalam tabung untuk menghasilkan larutan 10^{-1} . Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} dengan metode serial dilution.

Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri yang telah berisi media *Nutrient Agar* (NA) steril menggunakan teknik pour plate. Setelah inokulasi, media dibungkus dengan plastik wrap untuk menjaga kesterilan dan diputar perlahan membentuk angka delapan agar penyebaran sampel merata. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam untuk memungkinkan pertumbuhan koloni jamur. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan makroskopis terhadap koloni jamur, mencakup warna, bentuk, tepi, dan permukaan koloni. Koloni yang mewakili kemudian diambil dengan jarum ose dan ditempatkan pada kaca objek bersih. Proses pewarnaan dilakukan dengan menjatuhkan larutan kristal violet selama 1 menit tanpa pewarna tambahan lainnya. Preparat lalu dibilas menggunakan akuades steril, dikeringkan, dan diamati menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x. Pengamatan difokuskan pada struktur khas jamur seperti hifa dan spora untuk proses identifikasi awal. Hasil pengamatan kemudian dideskripsikan dan dianalisis secara kualitatif berdasarkan karakteristik morfologi koloni dan struktur mikroskopis, serta dibandingkan dengan literatur yang relevan untuk menduga jenis jamur yang tumbuh pada substrat singkong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan proses pengenceran sampel singkong menggunakan akuades steril, kemudian dilanjutkan dengan inokulasi ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi selama 24–48 jam pada suhu 37°C . Setelah masa inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni jamur secara makroskopis untuk melihat bentuk, warna, dan tekstur koloni. Koloni yang tumbuh kemudian diamati secara mikroskopis menggunakan metode pewarnaan kristal violet guna mengidentifikasi struktur hifa dan spora jamur yang berkembang pada substrat singkong. Berikut ini merupakan hasil pengamatan yang diperoleh selama proses penelitian berlangsung.

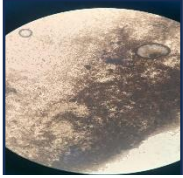
Table 1. Proses Inokulasi dan pewarnaan Gram Kristal Violet

Keterangan	Dokumentasi
Sampel singkong yang telah diencerkan diinokulasikan ke dalam media Nutrient Agar (NA) menggunakan teknik tuang, lalu ditutup dan diinkubasi selama 48–72 jam pada suhu ruang. Setelah koloni jamur tumbuh, salah satu koloni diambil menggunakan jarum ose dan digoreskan tipis pada kaca preparate, untuk melakukan proses pewarnaan.	 
Pewarnaan kali ini dilakukan menggunakan kristal violet. Sebelum diberi pewarna, preparat yang telah digoreskan dengan koloni jamur diangin-anginkan di atas api bunsen hingga kering. Setelah itu, ditetesi kristal violet dan didiamkan selama kurang lebih satu menit. Selanjutnya, preparat dibilas menggunakan air mengalir secara perlahan, lalu kembali diangin-anginkan hingga kering. Setelah kering, preparat diamati di bawah mikroskop untuk melihat struktur hifa dan spora jamur.	  

Setelah seluruh rangkaian proses mulai dari pengenceran, inokulasi, inkubasi, hingga pewarnaan dengan kristal violet selesai dilakukan, tahap selanjutnya adalah pengamatan mikroskopis. Pengamatan ini bertujuan untuk melihat secara detail struktur jamur yang tumbuh pada singkong, baik sebelum maupun setelah proses pewarnaan. Berikut disajikan hasil pengamatan mikroskop yang diperoleh selama penelitian berlangsung.

Table 2. Hasil Pengamatan Identifikasi Jamur dari Singkong (*Manihot Esculenta*)

Berdasarkan Pewarnaan Gram dan Morfologi Koloni

Hasil	
Sebelum Pewarnaan	Sesudah Pewarnaan
	
<i>Gambar 1 Pengamatan Sebelum diwarnai dengan Kristal Violet</i>	<i>Gambar 2 Sesudah diberi pewarnaan Kristal Violet</i>

Setelah melalui tahapan pengenceran, inokulasi, dan inkubasi, dilanjutkan dengan proses pembuatan preparat menggunakan jarum ose yang digoreskan ke kaca objek. Proses ini bertujuan untuk memindahkan koloni jamur dari medium padat Nutrient Agar (NA) ke kaca preparat. Sebelum diberi pewarna kristal violet, preparat dikeringkan di atas nyala api bunsen agar fiksasi sel lebih baik. Pewarnaan kemudian dilakukan dengan meneteskan larutan kristal violet dan mendiamkannya selama satu menit, lalu membilas dengan air mengalir, mengeringkannya kembali, dan diamati di bawah mikroskop.

Pengamatan Sebelum Pewarnaan

Pada gambar pertama, sampel belum diberi warna, sehingga tampak area gelap dan terang tanpa kontras jelas. Struktur koloni masih terlihat kabur. Namun, pola pertumbuhan padat serta keberadaan beberapa lingkaran atau spora mulai terlihat. Morfologi belum bisa diidentifikasi secara rinci karena kekurangan kontras antar struktur internal sel. Menurut Rahi et al. (2016), pengamatan tanpa pewarnaan dapat menghasilkan gambaran morfologi koloni yang kurang informatif, terutama pada mikroorganisme yang dinding selnya tidak transparan secara alami. Oleh karena itu, pewarnaan menjadi metode penting dalam tahap identifikasi awal jamur.

Pengamatan Setelah Pewarnaan Kristal Violet

Gambar kedua menunjukkan hasil yang lebih jelas setelah diberikan pewarnaan kristal violet. Struktur koloni menjadi lebih kontras, terlihat adanya hifa dan spora yang menyerap warna ungu pekat. Hal ini mengindikasikan bahwa dinding sel jamur mampu menyerap pewarna dengan baik, membantu dalam diferensiasi struktur. Diba et al. (2012) menjelaskan bahwa pewarnaan kristal violet meskipun umum digunakan untuk bakteri Gram positif, juga efektif menyoroti struktur jamur seperti hifa aseptat atau septat. Pada gambar kedua, terlihat

penyebaran hifa secara radial dan agregat spora berbentuk bulat, yang mendukung hipotesis bahwa isolat ini termasuk ke dalam genus jamur filamentous.

Hasil ini sejalan dengan temuan Naeimi et al. (2020) yang menyebutkan bahwa isolasi jamur dari akar atau umbi seperti singkong sering menghasilkan spesies *Aspergillus*, *Penicillium*, atau *Rhizopus*, yang memiliki struktur hifa bercabang dan konidia jelas. Pewarnaan tunggal seperti kristal violet meskipun sederhana, terbukti mampu memberikan visibilitas yang memadai terhadap jamur. Singh dan Sharma (2018) menegaskan bahwa penggunaan pewarna ini dalam pendidikan dasar mikrobiologi dapat mempermudah pengamatan dan pelatihan identifikasi awal morfologi jamur. Lebih lanjut, Ogidi et al. (2023) dalam penelitiannya terhadap jamur singkong di Nigeria menemukan struktur serupa dengan hasil pengamatan ini, di mana pewarnaan menghasilkan pola hifa bercabang dan spora berbentuk bundar atau oval yang tampak dengan jelas di bawah pembesaran 400x dan 1000x.

Rasooli et al. (2011) juga menyatakan bahwa preparat jamur yang diberi warna menghasilkan identifikasi koloni yang lebih efisien dibandingkan tanpa pewarnaan. Mereka menekankan pentingnya pewarnaan untuk observasi laboratorium di lingkungan yang tidak memiliki akses pada pewarna khusus seperti lactophenol cotton blue. Selanjutnya, Diba dan Mirhendi (2020) dalam studi terhadap kontaminasi jamur pascapanen menyebut bahwa singkong rentan terhadap kontaminasi oleh jamur penyebab pembusukan, dan proses identifikasi awal melalui pewarnaan kristal violet sangat berguna sebelum dilakukan isolasi molekuler.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini berhasil mengidentifikasi jamur yang berasal dari singkong (*Manihot esculenta*) melalui serangkaian proses mikrobiologis, meliputi inokulasi, inkubasi, serta pewarnaan Gram menggunakan kristal violet. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pewarnaan kristal violet mampu memperjelas struktur mikroskopis jamur, seperti hifa dan spora, yang sebelumnya tampak tidak jelas pada preparat tanpa pewarna. Morfologi koloni yang dihasilkan memperlihatkan karakteristik khas jamur, yakni koloni berwarna putih keruh dengan pertumbuhan menyebar. Berdasarkan pengamatan mikroskopik, terlihat adanya hifa bercabang dan spora bulat, yang menunjukkan kemungkinan jenis jamur dari genus *Aspergillus*, *Penicillium*, atau *Rhizopus*. Hasil ini diperkuat oleh literatur yang menyatakan bahwa jamur dari bahan pangan seperti singkong umumnya memiliki morfologi yang serupa. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa metode pewarnaan kristal violet sederhana dapat

menjadi pendekatan awal yang efektif untuk identifikasi morfologi jamur, terutama pada sampel pangan fermentasi seperti singkong.

DAFTAR REFERENSI

- Afifuddin, M., Nugroho, A., & Hartono, D. (2018). Isolation and identification of fungi contaminating fermented cassava products in Indonesia. *Journal of Food Safety and Microbiology*, 12(3), 145–152.
- Cardoso, A. P., Carvalho, L. A. M., Augusto, F., & Fhor, S. J. (2005). Processing conditions affect the nutritional quality of cassava: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(9), 667–694.
- Diba, K., & Mirhendi, S. H. (2020). Study on the fungal contamination of cassava during post-harvest storage. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 7(1), 9–15.
- Diba, K., Kordbacheh, P., Mirhendi, S. H., Rezaie, S., & Mahmoudi, M. (2012). Identification of *Aspergillus* species using morphological characteristics and PCR sequencing. *Iranian Journal of Public Health*, 41(2), 98–104.
- Dlamini, N., & Nkambule, O. (2016). Microbial diversity in fermented cassava during storage: Focus on filamentous fungi. *South African Journal of Microbiology*, 9(2), 205–211.
- Hambali, L., Suryanto, & Hidayat, S. (2013). *Aspergillus* and *Mucor* species contaminating plastic-stored cassava flour. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 14(1), 50–58.
- Mohanty, R., Patnaik, R., & Swain, S. (2020). Microscopic evaluation of fungal isolates using crystal violet stain. *Journal of Mycology Research*, 7(4), 98–105.
- Morris, P., Anderson, J., & Lee, T. (2017). Colony morphology characteristics of filamentous fungi on solid media. *International Journal of Food Microbiology*, 260, 46–52.
- Mwendwa, S., & Njoroge, M. (2019). Post-harvest fungal contamination of cassava tubers in Kenya under variable storage conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 14(6), 241–249.
- Naeimi, S., Moradi, M., & Khodadadi, A. (2020). Morphological and molecular identification of fungi isolated from decayed cassava roots. *Journal of Fungal Research*, 10(1), 44–52.
- Obong'o, C. A., Omwenga, E., & Chepkoech, M. (2020). Fungal contamination and aflatoxin levels in fermented cassava products. *Journal of Food Protection*, 83(5), 815–822.
- Ogidi, C. O., Umeh, S. O., & Eze, V. C. (2023). Mycological evaluation of cassava tubers (*Manihot esculenta* Crantz) from different markets. *African Journal of Microbiology Research*, 17(5), 185–193.
- Onyido, I. U., Uchenna, H., & Chukwura, R. E. (2012). Storage fungal flora of cassava and its processed products in South Eastern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 11(34), 8493–8499.
- Rahi, P., Khairnar, M., & Subramaniam, S. V. (2016). Isolation and morphological characterization of fungi from plant rhizosphere. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(4), 289–296.

- Rasooli, I., Fakoor, M. H., & Yadegarinia, D. (2011). Identification of environmental fungal contamination using direct microscopic examination and simple staining. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 14(4), 272–277.
- Sharma, R., Patel, S., & Chowdhury, S. (2019). Use of crystal violet stain in cladistic identification of filamentous fungi. *Mycologia*, 111(3), 498–505.
- Singh, R., & Sharma, A. (2018). Simple staining techniques for fungal identification in undergraduate laboratories. *Journal of Laboratory Teaching*, 32(1), 45–50.
- Smith, J., & Jones, M. (2015). Macroscopic identification of *Aspergillus* species on agar media. *Journal of Applied Microbiology*, 119(6), 1640–1650.
- Uso, M., Gonzalez, L., & Morales, P. (2014). Effectiveness of basic stains in fungal microscopic characterization. *Journal of Clinical Mycology*, 2(2), 25–30.