

Keanekaragaman Kapang Patogen dan Non Patogen pada Imago, Kokon, dan Larva Instar Keenam Ulat Sutera Liar *Attacus atlas* (Lepidoptera: Saturniidae)

Biodiversity of Pathogenic and Non Pathogenic Mould in Imago, Cocoon, and Sixth Instar Larvae From Wild Silkworm Attacus Atlas (Lepidoptera: Saturniidae)

Agustin Indrawati^{1*}, Damiana Rita Ekastuti², Erdina Pangestika³, Reinilda Alwina³

¹Divisi Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Divisi Fisiologi Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

³Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis Dramaga Bogor

* Email: titin.seta@gmail.com

Naskah diterima: 23 Juli 2019, direvisi: 20 Agustus 2019, disetujui: 30 November 2019

Abstract

Attacus atlas is one of several mould species in Indonesia known as kupu-kupu gajah. Information about variety of mould is rarely known. The purpose of this research was to obtain data about variety of pathogenic or non pathogenic mould at imago, cocoon, and sixth larvae phase of wild silkworm *Attacus atlas*. Mould was isolated from cocoon, integument, alimentary duct and reproduction duct of imago, trachea, midgut and hindgut, also haemolymph of larvae. Isolated mould was cultured on potato dextrose agar. Isolated mould from cocoon and imago was identified by macroscopic and microscopic observation. The results showed that there were two kind of moulds from cocoon which were *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus flavus*. There were four kind of moulds from imago *Attacus atlas* which were *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium dimerum*, and *Aspergillus sp.* There were three kind of moulds from sixth larvae which were *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, and *Fusarium dimerum*. The mould which has opportunistic pathogenic for *Attacus atlas* were *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* and *Fusarium dimerum*.

Key words : *Attacus atlas*; imago; cocoon; larvae; mould

Abstrak

Attacus atlas adalah salah satu jenis ngengat di Indonesia yang dikenal dengan nama kupu-kupu gajah. Informasi mengenai keanekaragaman kapang yang terdapat dalam ngengat ini belum banyak diketahui. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh data keanekaragaman kapang patogen dan non patogen pada fase hidup imago, kokon, dan larva instar keenam ulat sutera liar *Attacus atlas*. Kapang diisolasi dari kokon bagian dalam, dari imago pada bagian integumen dan saluran reproduksi, sedangkan dari larva pada bagian trakea, saluran pencernaan tengah dan belakang, serta hemolimfe. Kapang hasil isolasi dikultur pada media *potato dextrose agar*. Identifikasi kapang hasil isolasi dilakukan dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat dua jenis kapang dari kokon *Attacus atlas* yaitu *Fusariumoxy sporum* dan *Aspergillus flavus*. Terdapat empat jenis kapang dari imago *Attacus atlas* yaitu *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium dimerum*, dan *Aspergillus sp.* Terdapat tiga jenis kapang dari larva instar keenam yaitu, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, dan *Fusarium dimerum*. Kapang yang bersifat patogen oportunistik bagi *Attacus atlas* adalah *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* dan *Fusarium dimerum*.

Kata kunci : *Attacus atlas*; imago; kapang; kokon; larva

Pendahuluan

Keanekaragaman hayati menjadi salah satu keuntungan yang dimiliki Indonesia karena memiliki iklim tropis dengan sinar matahari dan hujan yang cukup sepanjang tahun. Berbagai jenis flora dan fauna mampu tumbuh dan berkembang di seluruh kepulauan Indonesia dengan jenis yang beragam. Serangga merupakan salah satu fauna yang paling banyak tingkat keanekaragamannya dan salah satu serangga asli Indonesia adalah ulat sutera liar *Attacus atlas* (*A. atlas*).

A. atlas juga dikenal sebagai ulat sutera karena kemampuannya dalam menghasilkan benang sutera yang menjadi bahan utama pembuatan kain sutera. Benang sutera dari kokon *A. atlas* memiliki karakteristik dan kualitas yang lebih bagus dari benang sutera pada umumnya yang berasal dari kokon *Bombyx mori* sehingga hasil olahan pakaian atau kerajinan memiliki nilai jual yang lebih tinggi. Selain itu kokon dari *A. atlas* juga berpotensi sebagai antimikroba, dan dimanfaatkan sebagai pengawet (Faatih, 2005). Menurut Istiqomah (2014) bahwa kandungan protein dari imago yang berkisar 75% dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein pakan bagi ternak.

Kondisi Indonesia yang memiliki kelembaban cukup tinggi juga menjadi keuntungan bagi mikroorganisme untuk berkembang biak dan bertahan hidup. Keberadaan mikroorganisme tersebut dapat menimbulkan keuntungan maupun kerugian seperti menimbulkan penyakit pada serangga (entomopatogen), bahkan dapat bersifat zoonosis. Telah ditemukan bakteri pada jaringan lemak, saluran reproduksi, dan kloaka imago betina dewasa *A. atlas* (Esnawan, 2014; Arsy, 2014; Fajar, 2014), sehingga ada kemungkinan mikroorganisme lain seperti kapang dan khamir juga terdapat dalam tubuh serangga tersebut.

Keberadaan kapang pada ulat sutera liar dapat bersifat menguntungkan maupun merugikan sehingga menimbulkan terjadinya penyakit. Menurut Guntoro (1994) bahwa kapang juga dapat menyerang pada seluruh fase hidup ulat sutera seperti *Aspergillus sp.* Penyakit yang banyak menyerang ulat sutera antara lain disebabkan oleh virus, bakteri, jamur ataupun protozoa diantaranya *nuclear polyhedrosis virus* (NPV), *cytoplasmic polyhedrosis virus* (CPV), protozoa *Nozema bombycis*, kapang *Beauveria bassiana*, dan *Aspergillus spp.* (Guntoro, 1994). Menurut Hee (2008), lebih dari 60% ulat sutera *Bombyx mori* terserang oleh

kapang *Aspergillus* di Sulawesi Selatan, sedangkan di India kegagalan panen kokon akibat penyakit mencapai 30–40%. Menurut Novitasari (2013), kapang patogen jenis *Scopulariosis sp.* dari filum *Ascomycota* dapat menyerang kokon ulat sutera *Cricula trifenestrata* yang menunjukkan perubahan warna dari warna normal keemasan menjadi kehitaman. Hal ini menunjukkan bahwa kapang dapat menurunkan kualitas sutera. Informasi mengenai keberadaan keanekaragaman kapang pada ulat sutera liar *A. atlas* belum banyak diketahui. Oleh sebab itu diperlukan upaya identifikasi keanekaragaman kapang yang terdapat pada berbagai fase hidup ulat sutera liar *A. atlas*.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data keanekaragaman kapang patogen dan non patogen pada fase hidup imago, larva instar keenam, dan kokon ulat sutera liar *A. atlas*.

Materi dan Metode

Bahan yang digunakan untuk diidentifikasi dalam penelitian ini adalah 10 ekor imago, 10 kokon, dan 5 ekor larva instar keenam ulat sutera liar *A. atlas*. Pengambilan bahan dilakukan di perkebunan teh PTPN VIII di Desa Cipto Gumati, Kecamatan Cikalong Wetan, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat. Larva sehat dan imago yang diperoleh kemudian dipreservasi pada suhu 4 °C selama 3–4 hari.

Isolasi kapang diawali dengan melakukan sayatan imago secara vertikal menggunakan *scalpel* kemudian diisolasi bagian integumen, saluran pencernaan, dan saluran telur dengan memotong menjadi ukuran yang kecil. Isolasi pada kokon dilakukan dengan memotong kokon bagian dalam dengan ukuran 0.5 cm × 0.5 cm. Isolasi pada bagian larva dilakukan dengan menyayat larva dan menguakkan kemudian diisolasi bagian trakea, saluran pencernaan tengah (*midgut*) dan belakang (*hindgut*) serta hemolimfe larva. Setiap bagian tersebut direndam dalam larutan NaCl fisiologis kemudian dilakukan pemeriksaan cepat menggunakan KOH 10 % selama 15–20 menit. Bagian-bagian dari kokon dan imago yang sudah direndam ke dalam NaCl fisiologis diinokulasi di atas media *potato dextrose agar* (PDA) lalu diinkubasi selama lima hari pada suhu kamar 25 °C. Kapang yang tumbuh dipindahkan pada media PDA yang baru sehingga didapatkan kapang yang murni (Novitasari, 2013).

Kapang diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dila-

kukan dengan pengamatan terhadap pigmen, tekstur, dan topografi serta kecepatan pertumbuhan koloni pada media (Fisher dan Cook, 1989). Jenis tekstur yang diamati antara lain *glabrous*, *velvet*, *yeastlike*, *cottony*, atau *granular*, sedangkan jenis topografi yang diamati antara lain *flat*, *rugose*, *folded*, *crateriform*, *verruose*, atau *cerebriform*. Pengamatan terhadap kecepatan pertumbuhan koloni kapang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu pertumbuhan cepat bila kapang tumbuh kurang dari 5 hari, pertumbuhan sedang bila kapang tumbuh 6 sampai dengan 10 hari dan pertumbuhan lambat bila kapang tumbuh lebih dari 11 hari pada media

Kapang diidentifikasi secara mikroskopis dengan pemeriksaan natif menggunakan pewarna *lactophenol cotton blue* (lpcb) dan metode selapan, selanjutnya dilakukan peneguhan identifikasi mikroskopis menggunakan metode *slide culture* menurut Riddle (Li 2013; Heritage et al., 1996).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan identifikasi kapang berdasar pada pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik dari koloni yang tumbuh pada media biakan. Pada penelitian ini ditemukan adanya dua koloni kapang yang terisolasi dari sampel kokon, lima koloni kapang dari imago, dan tiga koloni kapang dari larva instar keenam *A. atlas* yang masing-masing berasal dari Perkebunan Teh PTPN VIII Desa Cipto Gumati, Kecamatan Cicalong Wetan, Bandung Barat. Pemeriksaan makroskopis koloni berdasar pada warna koloni, tekstur, dan topografi serta kecepatan pertumbuhan koloni. Dengan melihat secara makroskopik dapat dilihat bagaimana pertumbuhan kapang tersebut apakah bersifat cepat atau lambat yang dikaitkan dengan waktu hari dalam pertumbuhannya. Dalam penelitian ini semua koloni tumbuh dengan waktu cepat.

Isolasi kapang pada *A. atlas* dilakukan pada bagian kokon dan imago karena bagian ini merupakan bagian penting pada serangga ini. Kokon memiliki fungsi sebagai pelindung pada stadium pupa dari agen yang dapat mengganggu siklus hidup serangga ini. Menurut Awan (2007), stadium pupa merupakan stadium yang paling penting dalam perkembangan larva menjadi imago di mana terjadi organogenesis organ-organ imago. Larva instar keenam merupakan fase larva terakhir yang sangat penting, karena menghasilkan serat sutera sebagai bahan utama kokon pembungkus

pupa. Mulyani (2008) menyatakan bahwa konsumsi pakan terbanyak adalah saat larva instar keenam, sehingga larva memiliki ukuran tubuh terpanjang dan bobot terberat diantara instar lainnya. Berdasar jumlah hemosit yang dihasilkan dapat menentukan sifat kekebalan dari fase pertumbuhan, dan stadium instar akhir memiliki hematosit yang tinggi (Chapman, 1998) sehingga berpengaruh terhadap kemampuan menyeleksi kapang yang mampu bertahan dalam tubuh larva.

Terdapat dua koloni kapang yang diisolasi dari kokon *A. atlas*. Koloni kapang pertama tumbuh dengan cepat selama 5 hari. Permukaan koloni berwarna putih dengan bagian belakang putih kekuningan pada media PDA (Gambar 1A). Tekstur dari kapang ini *velvety* yaitu koloni tampak halus dan seperti beludru. Bentuk topografi atau permukaan koloni kapang mempunyai alur yang berlipat dan memanjang. Secara mikroskopis, kapang ini memiliki makrokonidia dan hifa yang berseptata. Makrokonidia yang ditemukan yaitu memiliki 3 sampai 4 septa, sedangkan mikrokonidia memiliki 2 septa (Gambar 1A). Bentuk makrokonidia sedikit membengkok dengan ujung yang meruncing. Pada hifa kapang ini ditemukan klamidiospora yang sedang terbentuk (Gambar 1A).

Klamidiospora merupakan spora aseksual bersel satu yang terbentuk dari hifa somatik. Berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, kapang yang diidentifikasi dari kokon ini yaitu *Fusarium oxysporum*. Hal ini sesuai dengan Gandjar et al. (1999) koloni *F. oxysporum* memiliki miselium aerial seperti kapas kemudian menjadi seperti beludru berwarna putih. Makrokonidia terbentuk pada fialid yang terdapat pada konidiofor, berbentuk fusiform, sedikit membengkok, meruncing pada kedua ujungnya. Mikrokonidia berseptata 0 hingga 2, terbentuk lateral pada fialid yang sederhana, atau terbentuk pada fialid yang terdapat pada konidiofor bercabang pendek, umumnya terdapat dalam jumlah yang banyak. Klamidiospora terdapat dalam hifa atau dalam konidia, berwarna hialin berbentuk semi-bulat secara berpasangan atau tunggal.

Keberadaan *F. oxysporum* yang diidentifikasi dari *A. atlas* pada penelitian ini diduga berasal dari lingkungan sekitar dan tidak menyebabkan gangguan pada keberlangsungan hidup *A. atlas*. Hal ini dapat didukung dengan pupa yang berasal dari kokon tersebut tidak mengalami gangguan perubahan fase menjadi imago. Pada hewan lain *F. oxysporum* dapat

menyebabkan infeksi. Menurut Sun dan Liu (2008) *F. oxysporum* dapat menginfeksi serangga *Galleria mellonella* dengan mortalitas yang tinggi. Selain itu, *F. oxysporum* juga dapat menginfeksi mencit dan menimbulkan kerusakan paru-paru. Pada kasus ini ditemukan konidia yang menyebabkan obstruksi di interstisial kapiler mencit tersebut (Nucci dan Anaissie, 2007). Adanya beberapa kasus infeksi pada hewan lain terutama serangga, tidak menutup kemungkinan bahwa *A. atlas* dapat terinfeksi ketika sistem pertahanannya menurun. Hal ini dapat terjadi karena *F. oxysporum* merupakan kapang oportunistik. Spesies *Fusarium* lain yang dapat menyerang serangga yaitu *F. solani* (Sun dan Liu, 2008) dan *F. verticillioides* (Pelizza *et al.*, 2011).

Secara makroskopis, koloni kedua bertekstur *cottony* yaitu seperti kapas dengan topografi *flat*. Pigmen pada permukaan berwarna putih (Gambar 1B) sedangkan pada belakang berwarna jingga pucat. Koloni mengalami pertumbuhan yang cepat di media karena mulai terlihat pertumbuhan pada hari ketiga. Struktur yang ditemukan melalui pengamatan secara mikroskopis, antara lain makrokonidia dengan 1 sampai 2 septa mikrokonidia (hifa berseptata, dan klamidiospora (Gambar 1B). Kapang ini merupakan isolat yang diambil dari sampel organ *hindgut* larva dan imago *A. Atlas*. Berdasarkan gambaran secara makroskopis dan mikroskopis, maka koloni kapang diidentifikasi sebagai *Fusarium dimerum*. Menurut Campbell *et al.*, (1996), koloni *F. Dimerum* memiliki miselium aerial putih sehingga tampak *floccose*, bagian belakang berwarna jingga pucat, dalam waktu 1 minggu berukuran 30 mm, memiliki klamidiospora serta makrokonidia berbentuk sabit. Selain itu, dominasi makrokonidia berseptata satu di bagian tengah dan keberadaan klamidiospora yang tidak berkelompok menjadi pembeda *F. dimerum* dengan spesies *Fusarium* yang lain (Schoers *et al.*, 2009).

Kapang *F. dimerum* dikenal sebagai kapang yang bersifat saprotrof dan kosmopolitan di tanah dan tumbuhan (Schoers *et al.*, 2009). Kapang ini bersimbiosis parasitisme maupun mutualisme terhadap beberapa serangga, salah satunya dengan ordo *Lepidoptera*. *F. dimerum* merupakan salah satu spesies yang tidak menghasilkan fumonisin yaitu mikotoksin yang umum dihasilkan oleh kapang genus *Fusarium* (Rheeder *et al.*, 2002). Meski menurut O'Donnell *et al.*, (2012) tidak ada *F. dimerum* yang ditemukan pada serangga, namun kapang ini mampu berasosiasi

dengan inang yang mengalami *immunocompromised* (Schoers *et al.*, 2009). Hal ini menunjukkan bahwa *F. dimerum* berpotensi sebagai patogen oportunistik pada serangga, seperti *A. flavus* dan *A. fumigatus*. Selain itu, *F. dimerum* juga telah dilaporkan dapat menyebabkan infeksi kornea mata pada manusia (Vismer *et al.*, 2002). Kapang ini hanya ditemukan pada saluran *hindgut*. Keberadaan kapang ini diduga dapat mencegah terjadinya infeksi mikroorganisme lain karena *F. dimerum* mampu menghasilkan komponen enniatin. Menurut Firáková *et al.*, (2008) enniatin efektif dalam mencegah pertumbuhan beberapa mikroorganisme seperti *Bacillus subtilis*, *Candidaalbicans*, *Trychosporum cutaneum*, dan *Cryptococcus neoformans*.

Keberadaan *F. dimerum* dalam penelitian ini diduga berasal dari lingkungan sekitar, khususnya tanah. Hal ini dapat menjadi faktor predisposisi infeksi pada imago yang dapat bergerak bebas dan terjadi kontak langsung dengan tanah maupun tanaman. Menurut Domsch *et al.*, (2007), *F. dimerum* dianggap sebagai kapang saprotropik kosmopolit di tanah maupun tanaman. Keberadaan kapang ini dapat berpotensi menimbulkan infeksi berupa keratomikosis pada kutikula imago *A. atlas*. Hal ini juga berpotensi menjadi zoonosis pada manusia, khususnya peternak ulat sutera liar *A. atlas*.

Secara makroskopis koloni kapang yang berasal dari trakea, *midgut*, *hindgut*, dan hemolimfe memiliki warna hijau kebiruan pada bagian permukaan atas sedangkan tidak berwarna pada bagian permukaan bawah (Gambar 1C). Bentuk topografinya datar, dan tidak memiliki garis radial pada koloninya. Pertumbuhan kapang ini cepat yaitu 3–4 hari pada media PDA. Secara mikroskopis terdapat struktur vesikel, fialid, hifa, konidiofor dan konidia. Hifa yang terbentuk memiliki septa dan konidiofor, serta memiliki vesikel berbentuk vesikel bulat. Fialid yang terbentuk sedikit lonjong dan terdiri dari satu jenis fialid (primer). Konidia yang terbentuk dari fialid berbentuk bulat memanjang dengan konidia berbentuk bulat membentuk rantai yang kompak. Berdasarkan gambaran secara makroskopis dan mikroskopis, maka koloni kapang diidentifikasi sebagai *Aspergillus fumigatus*. Selain itu juga ditemukan pada sampel larva instar keenam *A. atlas* serta saluran reproduksi dan integumen sampel imago *A. atlas*.

Koloni *A.fumigatus* berwarna hijau kebiruan hingga abu-abu, memiliki vesikel *flaskshaped*, fialid

yang tersusun secara uniseriat, konidia dengan diameter 2,5–3 µm diproduksi secara berantai dengan pada fialid, serta memiliki *foot cell* (Fisher dan Cook, 1998, Latgé, 1999). Keberadaan *A. fumigatus* pada imago *A. atlas* pada penelitian ini sebagai patogen oportunistik karena tidak menimbulkan kematian. Menurut Latgé (1999) dan Leger *et al.*, (2000), *A. fumigatus* melakukan respon pertahanan berupa melanisasi pada integumen inang yang ditandai dengan munculnya bintik kehitaman pada tubuh larva agar tidak difagosit oleh sistem pertahanan inang. Keberadaan *A. fumigatus* pada trakea dapat menimbulkan gangguan seperti pada paru-paru karena enzim protease yang dihasilkan kapang tersebut mampu mendegradasi kolagen dan elastin pada matrik paru-paru (Abad *et al.*, 2010). Namun, keberadaan konidia *A. fumigatus* dalam hemolimfe tidak menimbulkan kematian pada larva (Leger *et al.*, 2000). Konidia yang berada dalam hemolimfe berhasil difagositosis oleh hemosit sebagai respon pertahanan seluler oleh serangga, sehingga tidak ditemukan pertumbuhan hifa pada hemolimfe. Selain itu, keberadaan enzim protease inhibitor di hemolimfe (Chapman, 1998) mampu menekan perkembangan konidia *A. fumigatus* yang mampu menghasilkan enzim protease. Enzim protease dihasilkan oleh *A. fumigatus* untuk memperoleh nutrisi dengan cara mendegradasi jaringan. Keberadaan kapang di *midgut* dan *hindgut* menunjukkan bahwa konidia kapang berhasil menembus epitel saluran pencernaan. Keberadaan kapang ini juga berpotensi membantu proses pencernaan dalam *midgut* karena enzim protease yang dihasilkan *A. fumigatus*. Pada *hindgut* terdapat muara saluran malphigi yang berperan dalam sistem ekskresi. Amonia dan asam urat yang diekskresikan menjadi salah satu sumber nutrisi nitrogen bagi *A. fumigatus* (Abad *et al.*, 2010), sehingga perlu diwaspadai terjadinya pertumbuhan dari kapang yang dapat menimbulkan gangguan bagi larva.

Kapang lain yang ditemukan pada kokon dan larva instar keenam (pada trakea, *midgut*, *hindgut*, hemolimfe) *A. atlas* memiliki warna hijau kekuningan (Gambar 1D). Warna koloni pada bagian permukaan bawah yaitu putih kekuningan. Koloni kapang yang ditemukan pada penelitian ini memiliki pertumbuhan cepat pada media PDA yaitu sekitar 5 hari. Menurut Fisher dan Cook (1998), pertumbuhan koloni dikatakan cepat jika koloni matang (miselium dan spora sudah terbentuk) kurang dari 5 hari. Pertumbuhan sedang jika koloni tumbuh antara 6 sampai dengan 10 hari.

Pertumbuhan lambat jika koloni tumbuh lebih dari 11 hari. Tekstur koloni kapang granular yang memiliki banyak konidia. Topografi dari kapang ini *rugose* yaitu memiliki alur radial yang berpusat di tengah dan alurnya menyerupai jeruji pada ban sepeda. Secara mikroskopis, pada kapang ini ditemukan konidia berbentuk bulat dengan konidiofor yang berbentuk memanjang dan vesikelnya berbentuk bulat. Hifa yang terbentuk memiliki septa dan sel kaki (Gambar 1D). Berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, kapang yang diidentifikasi adalah *Aspergillus flavus*. Gandjar *et al.*, (1999) menyatakan bahwa *A. flavus* memiliki koloni berwarna hijau kekuningan. Kepala konidia khas berbentuk bulat berwarna hijau kekuningan hingga hijau tua kekuningan. Vesikel berbentuk bulat hingga semi-bulat

Keberadaan *A. flavus* pada kokon *A. atlas* diduga berasal dari lingkungan. Sifat dari *A. flavus* pada kokon *A. atlas* adalah sebagai patogen oportunistik, yang berarti kapang ini dapat menjadi patogen ketika sistem pertahanan serangga ini menurun. Hal ini dapat didukung oleh Gupta dan Gopal (2002) yang menyatakan bahwa *A. flavus* adalah patogen oportunistik dari ulat sutera, belalang, lalat rumah, dan kumbang, namun dalam keadaan normal *A. flavus* dapat bertahan tanpa menginfeksi. Sifat *A. flavus* sebagai patogen oportunistik yang dapat tumbuh subur secara saprofit pada inang yang beraneka ragam, termasuk manusia, serangga dan mamalia, meski memiliki virulensi yang rendah (Scully dan Bidochka, 2006). Hal ini ditunjukkan dengan imago dapat keluar dari kokon tanpa terinfeksi oleh kapang tersebut. Keberadaan *A. flavus* di trakea diduga berasal dari udara habitat *A. atlas*. Hal ini dapat terjadi karena *A. Flavus* juga dapat masuk ke dalam tubuh inang melalui proses inhalasi dan ingesti (Markey *et al.*, 2013). Keberadaan *A. flavus* yang mampu menghasilkan enzim proteinase dan protease (Legeret *et al.*, 2000) diduga dapat menyebabkan kerusakan pada trakea. Kapang *A. flavus* yang ditemukan di *midgut* dan *hindgut* berpotensi sebagai flora normal dari larva *A. atlas*, karena enzim ekstraseluler lain yang dihasilkan adalah enzim selulase (Pandit *et al.*, 2014) dan lipase (Azlina *et al.*, 2004). Konidia *A. flavus* yang terfagositosis hemosit mampu berkembang dan menginvasi hemolimfe sehingga dalam waktu 24–34 jam larva dapat mati dengan seluruh tubuh tertutup lapisan hifa *A. flavus* yang berwarna putih (Legeret *et al.*, 2000).

Konidia akan cepat berkolonisasi pada daun, biji dan serangga yang terluka, namun hal tersebut tidak terjadi pada tumbuhan atau serangga yang tidak terluka (Legeret *et al.*, 2000). Serangga yang terluka akan menyebabkan mudahnya *A. flavus* untuk berkolonisasi dan mempermudah untuk melakukan invasi sehingga menyebabkan terjadinya aspergilosis selain akibat dari *A. fumigatus*.

Hasil penelitian dari 5 ekor larva instar keenam *A. atlas*, 3 ekor diantaranya ditemukan *A. flavus* pada trakea, *midgut* dan *hindgut*, serta hemolimfe. Keberadaan *A. flavus* di trakea diduga berasal dari udara habitat *A. atlas*. Hal ini dapat terjadi karena *A. Flavus* juga dapat masuk ke dalam tubuh inang melalui proses inhalasi dan ingesti (Markey *et al.*, 2013). Keberadaan *A. flavus* yang mampu menghasilkan enzim proteinase dan protease (Legeret *et al.*, 2000) diduga dapat menyebabkan kerusakan pada trakea. Kapang *A. flavus* yang ditemukan di *midgut* dan *hindgut* berpotensi sebagai flora normal dari larva *A. atlas*, karena enzim ekstraseluler lain yang dihasilkan adalah enzim selulase (Pandit *et al.*, 2014) dan lipase (Azlina *et al.*, 2004). Keberadaan *A. flavus* di hemolimfe pada larva perlu diwaspadai karena kemampuan kapang menghasilkan aflatoxin berpotensi menurunkan respon pertahanan (imunopresor) tubuh larva. Konidia *A. flavus* yang terfagositosis hemosit mampu berkembang dan menginvasi hemolimfe sehingga dalam waktu 24–34 jam larva dapat mati dengan seluruh tubuh tertutup lapisan hifa *A. flavus* yang berwarna putih (Legeret *et al.*, 2000).

Aspergillus versicolor merupakan kapang lain yang juga ditemukan pada imago *A. atlas*, secara makroskopis koloni berwarna hijau kebiruan dan krem dengan warna tepi koloni putih. Warna permukaan bawah koloni kapang ini kuning kecoklatan. Kapang ini memiliki tekstur halus seperti beludru, sedangkan permukaan atas terlihat koloni mempunyai alur radial di tengah seperti jeruji ban sepeda. Koloni tumbuh cepat pada media PDA pada suhu ruang (Gambar 1E). Secara mikroskopis kapang ini memiliki hifa yang bersepta, konidiofor yang *monoverticillate* dan *biverticillate*. Terdapat metula dan fialid yang diikuti dengan konidia yang membentuk rantai (Gambar 1E). Pada koloni yang muda terdapat struktur kapang dengan konidiofor, metula, fialid, dan konidia. Pada koloni tua yaitu lebih dari 7 hari terdapat fialid dan metula yang tumbuh dari vesikel yang berukuran kecil. Adanya struktur metula dan fialid pada gambaran

mikroskopis ini hampir memiliki kesamaan dengan kapang *Penicillium*, namun konidia kapang ini kasar dan bergerigi (Gambar 1E). Struktur konidia yang khas ini menunjukkan bahwa kapang yang diidentifikasi ini adalah *Aspergillus versicolor*. Struktur gerigi dari konidia terlihat pada gambaran mikroskopis, namun kurang begitu jelas. Hal ini sesuai dengan Hong *et al.*, (2007) dan Huh *et al.*, (2013), bahwa koloni *A. versicolor* tumbuh dengan cepat dan memiliki diameter 21–23 mm dalam seminggu. Menurut Hong *et al.*, (2007) diperlukan *scanning electron microscope* (SEM) untuk melihat struktur dan morfologi dari konidia yang bergerigi dari *A. versicolor* dengan lebih jelas.

Kapang *A. versicolor* pada penelitian ini berasal dari integumen imago *A. atlas*. Keberadaan kapang ini pada imago kemungkinan berasal dari lingkungan sekitar imago ketika serangga ini terbang maupun hinggap. Menurut Engelhart *et al.*, (2002), *A. versicolor* dapat ditemukan dalam ruangan yang lembab dan dapat memproduksi *sterigmatocystin*. *Sterigmatocystin* merupakan prekursor biosintesis aflatoxin dan memiliki toksisitas rendah. Belum ada kasus pada manusia, namun pada mencit, tikus, dan monyet dapat bersifat karsinogen. *Sterigmatocystin* diklasifikasikan pada kelas 2B yaitu dapat bersifat karsinogen pada manusia (IARC, 2015). Keberadaan kapang ini dapat berpotensi patogen pada *A. atlas* maupun peternak *A. atlas* karena adanya toksin tersebut.

Kapang lain yang ditemukan pada imago *A. atlas* menyerupai kapang genus *Aspergillus*. Kapang ini memiliki gambaran makroskopis dengan warna koloni ungu kecoklatan dan hijau dengan tepi berwarna putih (Gambar 1F). Bentuk topografinya datar dan memiliki koloni dengan tekstur yang radial dan granular. Warna permukaan bagian bawah kuning pucat hingga coklat muda. Berdasarkan gambaran makroskopis kapang ini memiliki kemiripan dengan *Aspergillus minisclerotium*. Gambaran mikroskopis dari kapang ini yaitu konidiofor berbentuk memanjang. Vesikel dari kapang ini berbentuk bulat, tidak memiliki metula maupun fialid. Konidia yang terbentuk tumbuh langsung dari vesikel

Kesimpulan

Kapang yang teridentifikasi dari larva instar keenam, kokon dan imago *A. atlas* adalah *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp (*unknown*), *A. versicolor*,

F.dimerum, dan *F. oxysporum*. Kapang yang bersifat patogen oportunistik adalah *F. oxysporum*, *A. flavus*, *A. fumigatus* dan *F.dimerum*, sehinggaberpotensi menginvasi dan menimbulkan penyakit pada imago dan larva *A. atlas* bila kondisi tubuh melemah, serta menurunkan kualitas dari kokon.

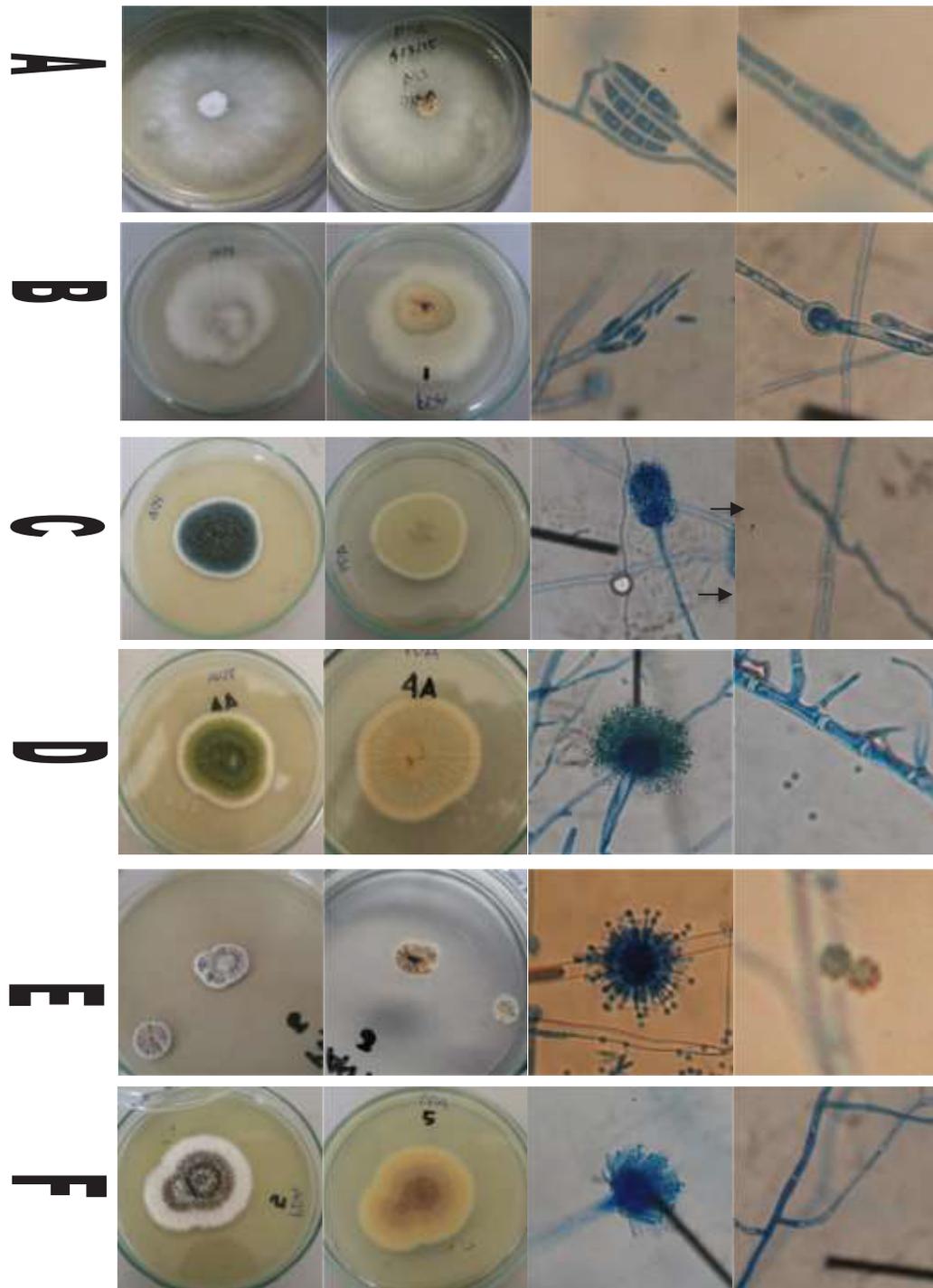
Ucapan Terima Kasih

Terima kasih diucapkan kepada Perkebunan Teh PTPN VIII Desa Cipto Gumati, Kecamatan Cikalong Wetan, Bandung Barat yang telah memperbolehkan untuk pengambilan sampel penelitian ini

Daftar Pustaka

- Abad, A., Fernández-Molina, J.V., Bikandi, J., Ramírez, A., Margareto, J., Sendino, J., Hernando, F.L., Pontón, J., Garaizar, J., and Rementeria, A. (2010). What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen: Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Rev Iberoam Micol.* 27(4):155-182.
- Arsy, R. (2014). Isolasi dan identifikasi bakteri pada jaringan lemak imago betina ulat sutera liar *Attacus atlas* L. (Lepidoptera: Saturniidae) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Awan, A. (2007). Domestikasi Ulat Sutera Liar *Attacus atlas* (Lepidoptera : Saturniidae) dalam usaha meningkatkan persuteraan nasional [disertasi]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Azlina, M.D., Long, K., and Ghazali, H.M. (2004). Improvement of the specific activity of the extracted mycelium-bound lipase of *Aspergillus flavus*. *J Trop Agric Fd Sc.* 32(2):187-195.
- Campbell, C.K., Johnson, E.M., Philpot, C.M., and Warnock, D.W. (1996). *Identification of pathogenic fungi*. London (GB): Public Health Lab Service.
- Chapman, R.F. (1998). *The Insects: Structure and Function*. 4th ed. Cambridge (GB): Cambridge Univ Pr.
- Domsch, K.H., Gams, W., and Anderson, T. (2007). *Compendium of soil fungi*. 2nd ed. Eching (DE): IHW-Verlag.
- Engelhart, S., Loock, A., Skutlarek, D., Sagueski, H., Lommel, A., Farber, H., and Exner, M. (2002). Occurrence of toxigenic *Aspergillus versicolor* isolates and Sterigmatocystin in carpet dust from damp indoor environments. *App Environ Microbiol.* 68(8):3886-3890
- Esnawan, A.A. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri saluran reproduksi imago betina ulat sutera liar *Attacus atlas* L. (Lepidoptera: Saturniidae) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Faatih, M. (2005). Aktivitas antimikroba *Attacus atlas* L. *J penelitian sain dan teknologi* 6(1):35-48.
- Fajar, M. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri kloaka imago betina ulat sutera liar *Attacus atlas* L. (Lepidoptera: Saturniidae) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Firáková, S., Šturdíková, M., Liptaj, T., Prónayová, N., Bezáková, L., and Proksa, B. (2008). Enniatins produced by *Fusarium dimerum*, an endophytic fungal strain. *Pharmazie.* 63:539-541.
- Fisher, F., and Cook, N.B. (1998). *Fundamentals of Diagnostic Mycology*. Pennsylvania (US): WB Saunders.
- Gandjar, I., Samson, R.A., Vermerulen, K.V.D.T., Oetari, A., dan Santoso, I. (1999). *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta (ID): Yayasan Obor Indonesia.
- Guntoro, S. (1994). *Budidaya Ulat Sutera*. Yogyakarta (ID): Kanisius
- Gupta, A., and Gopal, M. (2002). Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* isolates pathogenic to coconut insect pests. *J Microbial Biotechnol.* 18:325-331.
- Hee, R.C. 1998. *Panduan Teknis Persuteraan Alam Indonesia*. Surabaya (ID): PT Indojado Sutera Pratama, Silk Industri.
- Heritage, J., Evans, G.V., and Killington, R.A. (1996). *Introductory Microbiology*. Cambridge (GB): Cambridge Univ. Pr.
- Hong, G., Li, Y., Jun, G., Ma, X., Wang, H., and You, S. (2007). Morphological and molecular identification of *Aspergillus versicolor* D-1 with selective reduction ability. *J. Tradi Med.* 2(1):39-44.
- Huh, H.J., Lee, J.H., Park, K.S., Jun, T.G., Kang, I., Kim, Y., Ki, C., and Lee, N.Y. (2013). A Case of Misidentification of *Aspergillus versicolor* Complex as a Scopulariopsis

- Species Isolated from a Homograft. *Ann Clin Microbiol.* 16(2):105-109.
- [IARC] International Agent Research Cancer. (2015). *Agents Classified by the IARC Monographs Volume 1-112*.
- Istiqomah H. (2014). Eksplorasi potensi limbah imago ulat sutera liar *Attacus atlas* (Lepidoptera: Saturniidae) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Latgé, J.P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 12(2):310–350.
- Leger, R.J., Screen, S.E., and Shams-pirzadeh, B. (2000). Lack of host specialization in *Aspergillus flavus*. *Appl Environ Microbiol.* 66(1):320-324.
- Li, D.W. (2013). *Laboratory Protocols in Fungal*. Gupta VK, Tuohy MG, Ayyachamy M, Turner KM, O'Donovan A, editor. New York (US): Springer-Verlag.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, C.A., Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology*. 2nd ed. Britania (GB): Mosby Elsevier.
- Mulyani, N. (2008). Biologi *Attacus atlas* L. (Lepidoptera: Saturniidae) dengan pakan daun kaliki (*Ricinus communis* L.) dan jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) di laboratorium [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Novitasari, P. (2013). Isolasi dan identifikasi bakteri kinolitik penghambat pertumbuhan kapang patogen asal kokon *Cricula trifenestrata* [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Nucci, M., and Anaissie, E. (2007). *Fusarium Infections in Immunocompromised Patients*. *Clin Microbiol Rev.* 20(4):695-704.
- O'Donnel, K., Humber, R.A., Geiser, D.M., Kang, S.C., Park, B.S., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Johnston, P.R., Aoki, T., and Rooney, A.P. (2012). Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. *Mycologia.* 104(2):427–445.
- Pandit, S., Lawrence, K., Singh, A., and Singh, S. (2014). Saccharification of Baggase, Paper, waste by cellulase produced from *Aspergillus flavus*. *Int J Pure App Biosci.* 2(3):16-22.
- Pelizza, S.A., Stenglein, S.A., Cabello, M.N., Dinolfo, M.I., and Lange, C.E. (2011). First Record of *Fusarium verticillioides* as an entomopathogenic fungus on Grasshoppers. *J Insect Sci.* 11(70):1-8.
- Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., and Vismer, H.F. (2002). Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol.* 68(5):2101–2105.
- Schroers, H.J., O'Donnell, K., Lamprecht, S.C., Kammeyer, P.L., Johnson, S., Sutton, D.A., Rinaldi, M.G., Geiser, D.M., and Summerbell, R.C. 2009. Taxonomy and phylogeny of the *Fusarium dimerum* species group. *Mycologistia.* 101(1):44-70..
- Scully, L.R., and Bidochka, M.J. (2006). A cysteine/methionine auxotroph of the opportunistic fungus *Aspergillus flavus* is associated with host-range restriction: a model for emerging diseases. *Microbiol.* 152:223-232
- Sun, B., and Liu, X. (2008). Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *App Soil Ecology.* 39:100-108.
- Vismer, H.F., Marasas, W.F., Rheeder, J.P., and Joubert, J.J. (2002). *Fusarium dimerum* as a cause of human eye infections. *Med Mycol.* 40:399–406.



Gambar 1. Koloni kapang secara makroskopis pada media PDA yang diinkubasi 25 °C berumur 5 hari dan secara mikroskopis menggunakan pewarnaan LPCB lalu diamati dengan mikroskop perbesaran 40 ×: *F. oxysporum* (A), *F. dimerum* (B), *A. fumigatus* (C), *A. flavus* (D), *A. versicolor* (E), *Aspergillus*