



SKRINING KAPANG *Aspergillus* spp. PENGHASIL AFLATOKSIN PADA JAGUNG PIPILAN DI DAERAH BEKASI, JAWA BARAT

SCREENING OF AFLATOXIN-PRODUCING *Aspergillus* spp. IN STRIPPED CORN AROUND BEKASI AREA, WEST JAVA

Dalia Sukmawati^{1*}, Priyo Wahyudi², Sri Rahayu¹, Moersilah¹, Tri handayani¹, K. Yoswita Rustam¹, Sherly Indah Puspitasari¹

¹Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta

²Mikrobiologi, BPPT, Serpong

*Corresponding author: sukmawatidalia@gmail.com

Naskah Diterima: 20 Januari 2018; Direvisi: 20 Maret 2018; Disetujui: 23 Mret 2018

Abstrak

Aflatoksin merupakan senyawa metabolit sekunder dari kapang *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* yang dapat mengontaminasi bahan pangan atau pakan sehingga berbahaya bagi kesehatan hewan dan manusia. Kontaminasi kapang penghasil aflatoksin banyak ditemukan pada bahan pangan dan pakan yang berasal dari produk pertanian. Jagung merupakan salah satu produk pertanian yang mudah terkontaminasi oleh kapang penghasil aflatoksin. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat kapang *Aspergillus* spp. penghasil aflatoksin pada jagung pipilan yang dijual di sekitar Bekasi, Jawa Barat. Isolasi kapang dilakukan menggunakan metode *dilution plating* pada medium *Dichloran-Glycerol*. Hasil penelitian memperoleh 12 isolat kapang, dengan warna koloni hijau (J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7, J9, J10, J12), hitam (J11), dan jingga (J8). Identifikasi dilakukan dengan cara mengamati morfologi kapang secara makroskopik dan mikroskopik pada medium *Malt Extract Agar*. Isolat kapang yang diduga memiliki kemiripan dengan *A. flavus* berjumlah 6 isolat, yaitu J1, J2, J4, J6, J10, dan J12. Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi menggunakan medium selektif *Aspergillus flavus dan parasiticus Agar*. Terdapat 2 isolat kapang, yaitu J1 dan J4, yang menunjukkan pigmentasi sebalik koloni berwarna pada medium selektif AFPA. Isolat kapang yang ditemukan pada jagung pipilan diharapkan dapat memberikan informasi kepada petani dan peternak mengenai jenis kapang yang dapat menyebabkan kontaminasi pada jagung, sehingga mereka dapat menjaga dan meningkatkan kualitas jagung untuk mengurangi kerugian dalam bidang ekonomi dan kesehatan.

Kata kunci: Aflatoksin; *Aspergillus flavus* dan *parasiticus* agar; Jagung; Kontaminasi

Abstract

Aflatoxin is a secondary metabolite secreted by the mold *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* that may contaminate food or feed so harmful to human and animal health. Contamination of aflatoxin-producing mold is commonly found in food and feed which derived from agricultural products. Corn is one of the agricultural products that are easily contaminated by aflatoxin-producing mold. The study aims to isolate the aflatoxin-producing mold *Aspergillus* spp. in stripped corn vend around Bekasi, West Java. The isolation was conducted by using the method of *dilution plating* on *Dichloran-Glycerol* medium. The study obtained 12 isolates of mold, with green colony color (J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7, J9, J10, J12), black (J11), and jingga (J8). Identification was conducted by observing the morphology of mold on *Malt Extract Agar* macroscopically and microscopically. The isolates that allegedly have similarities to *A. flavus* are J1, J2, J4, J6, J10, and J12. Furthermore, a confirmatory test was preceed by using a selective medium of *Aspergillus flavus* and *parasiticus* agar. There are 2 isolates of molds, J1 and J4, which showed yellowish jingga pigmentation like the positive control of *A. flavus*. The isolates of mold found in the stripped corn may provide information to farmers and breeders about the type of mold that can cause contamination in corn, so that they can anticipate in advance and improve the quality of the corn to reduce losses in economic and health perspectives.

Keywords: Aflatoxin; *Aspergillus flavus* and *parasiticus* agar; Corn; Contamination

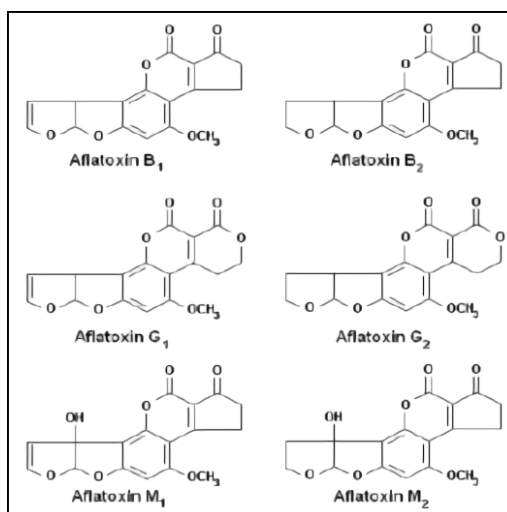
Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v11i2.6961>

PENDAHULUAN

Kapang *Aspergillus* spp. dapat ditemukan pada berbagai macam substrat, antara lain tanah, daun buah, dan biji-bijian, yang merupakan bahan utama dalam pembuatan produk pakan ternak dari hasil komoditi pertanian (Sukmawati *et al.*, 2015; Sukmawati *et al.*, 2016; Sukmawati & Miarsyah, 2017). Salah satu bahaya dari kapang tersebut yang terdapat pada produk pakan ternak adalah aflatoksin.

Aflatoksin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat membahayakan kesehatan hewan dan manusia. Bahaya metabolit sekunder yang ditimbulkan bersifat karsinogenik, mutagenik, teratogenik (Erami *et al.*, 2007; Ghiasian & Maghsood, 2011), hepatotoksik dan immunosupresif (Mehrzaad *et al.*, 2011). Metabolit sekunder tersebut dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* dan

A. parasiticus yang tumbuh pada berbagai macam produk makanan. Kapang genus *Aspergillus* dapat menghasilkan racun aflatoksin tipe AFB₁, AFB₂, AFG₁ dan AFG₂ (Gambar 1). Kapang *A. flavus* memproduksi aflatoksin B, yaitu AFB₁ dan AFB₂, sedangkan *A. parasiticus* memproduksi aflatoksin G, yaitu AFG₁ dan AFG₂ (Yogendrarajah *et al.*, 2015) (Gambar 1). Jenis aflatoksin yang paling toksik adalah AFB₁, sedangkan AFB₂, AFG₁ dan AFG₂ mempunyai daya toksik yang lebih rendah dibandingkan dengan AFB₁ (Safika & Faisal, 2014). Toksin ini banyak ditemukan pada berbagai komoditas hasil pertanian, seperti kacang-kacangan, beras, gandum, biji kapas, dan biji-bijian lainnya (Utami *et al.*, 2012). Salah satu hasil komoditi pertanian yang mudah terkontaminasi oleh kapang *Aspergillus* adalah jagung.



Gambar 1. Struktur kimia jenis-jenis aflatoksin (Bennett & Klich, 2003)

Jagung merupakan salah satu komponen penting dalam pakan ternak (Bahri & Maryam, 2004). Kandungan aflatoksin yang tinggi pada jagung sebagai bahan baku pakan ternak akan menyebabkan kontaminasi aflatoksin yang tinggi pada produk pakan yang dihasilkan (Rachmawati, 2004). Ahmad (2009) melaporkan bahwa kandungan aflatoksin pada biji jagung di Indonesia berkisar 10–300 ppb. Ahmad (2009) melaporkan bahwa pada salah satu kasus yang terjadi di daerah Jakarta dan Bogor, sekitar 91% dari 34 sampel jagung terkontaminasi aflatoksin yang berasal dari industri pakan ternak. Total konsentrasi aflatoksin yang diperoleh cukup tinggi, yaitu 22–6171 ppb. Kontaminasi aflatoksin yang

cukup tinggi pada jagung sebagai bahan baku makanan dapat mengganggu kesehatan hewan dan manusia.

Gangguan kesehatan pada hewan ternak yang mengkonsumsi pakan terkontaminasi kapang penghasil aflatoksin adalah menurunnya kualitas dan kuantitas produksi telur (Davari *et al.*, 2015; Lai *et al.*, 2015). Aflatoksin juga menyebabkan perubahan bobot organ bagian dalam pada hewan, seperti pembesaran hati, ginjal, dan *fatty liver syndrome* (Ginting *et al.*, 2005). Gangguan kesehatan pada manusia akibat mengonsumsi makanan terkontaminasi aflatoksin adalah kanker pada jaringan dalam tubuh manusia, terutama

kanker hati (Dharmaputra *et al.*, 2001; Yenny, 2016).

Melihat bahaya dan kerugian yang ditimbulkan akibat kontaminasi kapang *Aspergillus* spp. penghasil aflatoksin, suatu penelitian mengenai jenis kapang penghasil aflatoksin yang dapat mengontaminasi jagung perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dengan mengisolasi dan mengidentifikasi kapang *Aspergillus* spp. penghasil aflatoksin pada jagung yang dijual di sekitar Bekasi. Isolasi kapang dilakukan menggunakan metode *dilution plating* pada medium *Dichloran-Glycerol* (Frandsberg *et al.*, 2003). Identifikasi kapang dilakukan secara konvensional dengan mengamati morfologi secara makroskopik dan mikroskopik pada medium *Malt Extract Agar* (Samson *et al.*, 2011), serta melakukan uji konfirmasi pada medium selektif *A. flavus dan parasiticus Agar* untuk menyeleksi kapang *Aspergillus* spp. penghasil aflatoksin (Okoth *et al.*, 2012). Penelitian bertujuan isolasi dan karakterisasi kapang penghasil aflatoksin dengan uji konfirmasi menggunakan medium selektif AFPA. Isolat kapang yang ditemukan pada jagung pipilan diharapkan dapat memberikan informasi kepada petani dan peternak mengenai jenis kapang yang dapat menyebabkan kontaminasi pada jagung, sehingga dapat menjaga dan meningkatkan kualitas jagung untuk mengurangi kerugian dalam bidang ekonomi dan kesehatan.

MATERIAL DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah *Aspergillus flavus dan parasiticus Agar* (AFPA), *Dichloran-Glycerol (DG18)* dan isolat kapang *Aspergillus flavus* sebagai kontrol positif yang diperoleh dari SEAMEO BIOTROP. Sampel jagung pipilan diperoleh dengan secara acak, mengikuti Dharmaputra *et al.* (2013). Sampel diperoleh dari jagung pipilan untuk pakan ternak di daerah Bekasi. Pengambilan sampel dilakukan 5 kali ulangan, yang setiap ulangan adalah 5 g jagung pipilan.

Isolasi dan Pemurnian Kapang

Isolasi kapang *Aspergillus* spp. dari jagung pipilan dilakukan dengan metode *dilution plating* pada medium *DG18*. Isolasi dilakukan dengan memasukkan 5 g jagung ke dalam *Erlenmeyer* berisi 45 mL medium PDB

dan dihomogenkan selama 24 jam. Pengenceran dilakukan secara bertingkat, yaitu 10^{-1} dan 10^{-2} . Sebanyak 0,1 mL sampel larutan pengenceran diinokulasikan ke dalam plat agar *DG18* secara duplo dengan metode *spread plate*. Sampel larutan diratakan dengan menggunakan spatel *Drygalski* dan diinkubasi selama 5–7 hari pada suhu 28 °C. Hasil isolasi kapang kemudian dipurifikasi untuk mendapatkan biakan murni. Purifikasi dilakukan pada medium PDA dengan metode *hyphal tips*, yang diinkubasi selama 2–3 hari suhu 28 °C; dan dilakukan 2–3 kali transfer sampai diperoleh koloni tunggal.

Karakterisasi Morfologi Kapang

Karakterisasi makroskopik dan mikroskopik dilakukan pada koloni yang ditumbuhkan pada medium *Malt Ekstract Agar* (MEA) setelah diinkubasi selama 5–7 hari pada suhu 28 °C. Pengamatan makroskopik kapang meliputi warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin), tekstur, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial dan konsentris, dan warna balik koloni. Pengamatan mikroskopik kapang meliputi bentuk dan jenis spora atau konidia, jenis hifa, ukuran hifa, sekat pada hifa, serta ada atau tidaknya metula dan vesikel (Klich, 2002).

Uji Konfirmasi pada Medium Selektif AFPA

Koloni yang menunjukkan ciri kapang *A. flavus* ditumbuhkan pada medium selektif AFPA, yang kemudian dibandingkan dengan kontrol positif *A. flavus*. Ciri positif yang menunjukkan *A. flavus* adalah adanya pigmentasi jingga kekuningan pada bagian belakang koloni (Okoth *et al.*, 2012).

HASIL

Isolat Kapang dari Jagung Pipilan

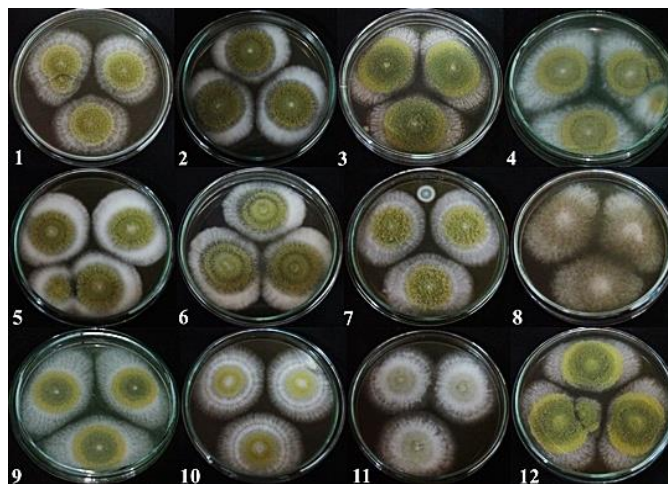
Sampel jagung pipilan yang diperoleh pada umumnya terlihat baik secara fisik. Pertumbuhan kapang tidak terlihat secara fisik karena sampel yang diperoleh sudah dikemas rapi di dalam karung. Sampel jagung pipilan diambil secara acak dari tempat penyimpanan di gudang penjual pakan ternak di daerah Bekasi. Hasil isolasi diperoleh 12 isolat kapang terpilih. Kapang diperoleh kemudian ditumbuhkan pada medium MEA inkubasi 5–7

hari suhu 28 °C. Karakteristik morfologi kapang hasil isolasi memperlihatkan warna koloni yang berbeda berupa warna koloni hijau ganula, coklat bergranula dan hitam bergranula (Gambar 2 dan Tabel 1). Ahmad (2009) melaporkan bahwa kontaminasi beberapa jenis kapang, seperti *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., dan *Mucor* spp. dapat

ditemui pada pakan dan bahan-bahan penyusunnya terutama jagung. Kapang genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. memiliki karakteristik berwarna hitam dan kehijauan berdasarkan Sukmawati & Miarsyah, (2017) kapang genus *Fusarium* memiliki ciri morfologi kehitaman dengan koloni kasar.

Tabel 1. Data makroskopik 12 isolat kapang hasil isolasi asal jagung pipilan menggunakan medium *Malt Ekstrakt Agar* (MEA) inkubasi 5 hari suhu 28 °C

No.	Ciri isolat	Jumlah isolat	Kode isolat
1.	Sporulasi hijau granul	10	J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7, J9, J10, J12
2.	Miselium kecoklatan	1	J8
3.	Sporulasi hitam granul	1	J11



Gambar 2. Isolat kapang murni hasil isolasi setelah diinkubasi pada medium *Malt Ekstrakt Agar* (MEA) selama 7 hari pada suhu 28 °C

Karakteristik Morfologi Kapang

Karakterisasi isolat kapang pada jagung dilakukan dengan mengamati morfologi secara makroskopik dan mikroskopik. Morfologi makroskopik terdiri dari warna koloni dan tekstur, warna di balik koloni, formasi sklerotia adanya *exudate drops*, *radial furrow*, adanya zonasi dan *growing zone* dan pigmentasi. Karakteristik morfologi mikroskopik yang telah digunakan untuk mengidentifikasi spesies *Aspergillus* meliputi bentuk kepala konidia, bentuk vesikel dan diameter, stipe; panjang, lebar, tekstur dan warna, ukuran konidia, bentuk, tekstur dan warna (Nyongesa *et al.*, 2015). Kapang hasil isolasi menunjukkan karakteristik yang berbeda-beda (Tabel 2).

Isolat kapang J11 dan J8 memiliki karakter warna koloni kehitaman dan kecoklatan pada medium pertumbuhan MEA setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28 °C. Isolat kapang J11 secara makroskopik

memiliki warna sporulasi coklat kehitaman, dengan miselium yang tebal berwarna putih, tekstur koloni seperti bergranular, adanya zona pertumbuhan, tidak memiliki *exudate drop*, dan memiliki *radial furrow* (Gambar 3). Morfologi mikroskopiknya antara lain kepala konidia berbentuk *radiate*, hifa memiliki tekstur halus dan memiliki warna coklat, serta konidia bervariasi dalam ukuran 4–6 µm, tekstur kasar, bulat dan coklat. Morfologi makroskopik dan mikroskopik koloni isolat kapang J11 ini sesuai dengan deskripsi Klich dan Pitt (1988), yaitu kapang *A. niger* memiliki sporulasi berwarna hitam, miselium berwarna putih, tidak memiliki butir-butir cairan eksudat, dan tekstur koloni *granular-flucrose*. Morfologi mikroskopik adalah memiliki kepala konidia *radiate*, vesikel *globose*, termasuk *Aspergillus* tipe *biseriate*, metula menutupi seluruh permukaan vesikel, dan konidia berbentuk *globose*.

Isolat kapang J8 yang ditumbuhkan pada medium MEA selama 7 hari pada suhu 28 °C memiliki ciri makroskopik warna *jingga*, dengan miselium yang tebal berwarna putih, tekstur koloni seperti seperti kapas, tidak

memiliki zona pertumbuhan, *exudate drop*, dan *radial furrow*. Morfologi mikroskopiknya antara lain tidak terdapat kepala konidia, *stipe* terlihat halus dan kasar; konidia berbentuk *ovoid* dan halus (Gambar 4).

Tabel 2. Karakteristik morfologi makroskopik isolat kapang pada jagung pipilan yang ditumbuhkan pada medium *Malt Ekstrakt Agar* (MEA) inkubasi 7 hari suhu 28 °C

No.	Kode isolat	Warna koloni	Tekstur koloni	Zonasi	Growing zone	Exudate drop	Radial furrow
1.	J1	<i>Sap green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
2.	J2	<i>Mass green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
3.	J3	<i>Sap green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
4.	J4	<i>Apple green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
5.	J5	<i>Apple green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Ada
6.	J6	<i>Mass green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
7.	J7	<i>Cedar green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
8.	J8	<i>Orange</i>	Seperti kapas	Tidak ada	Tidak Ada	Tidak ada	Tidak ada
9.	J9	<i>Zinc Yellow</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
10.	J10	<i>Olive green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada
11.	J11	<i>Black</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Ada
12.	J12	<i>Apple green</i>	Granular	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada

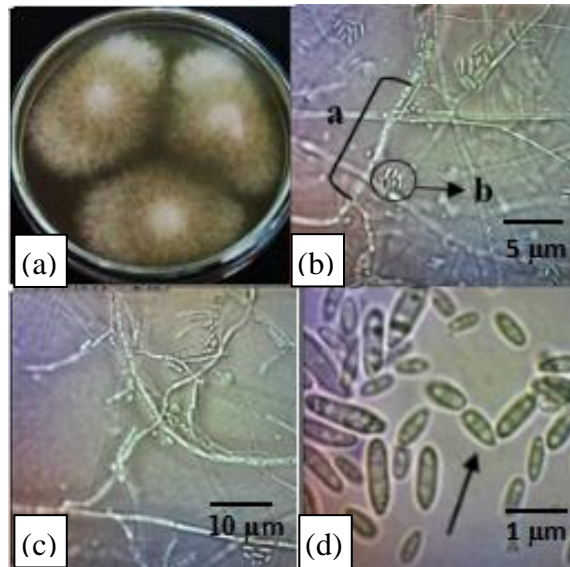


Gambar 3. Morfologi kapang secara makroskopik dan mikroskopik isolat J11 inkubasi pada medium *Malt Ekstrakt Agar* (MEA) selama 7 hari pada suhu 28 °C. (a) Koloni kapang tampak atas; (b) Konidiofor; (c) Vesikel; (d) Konidia

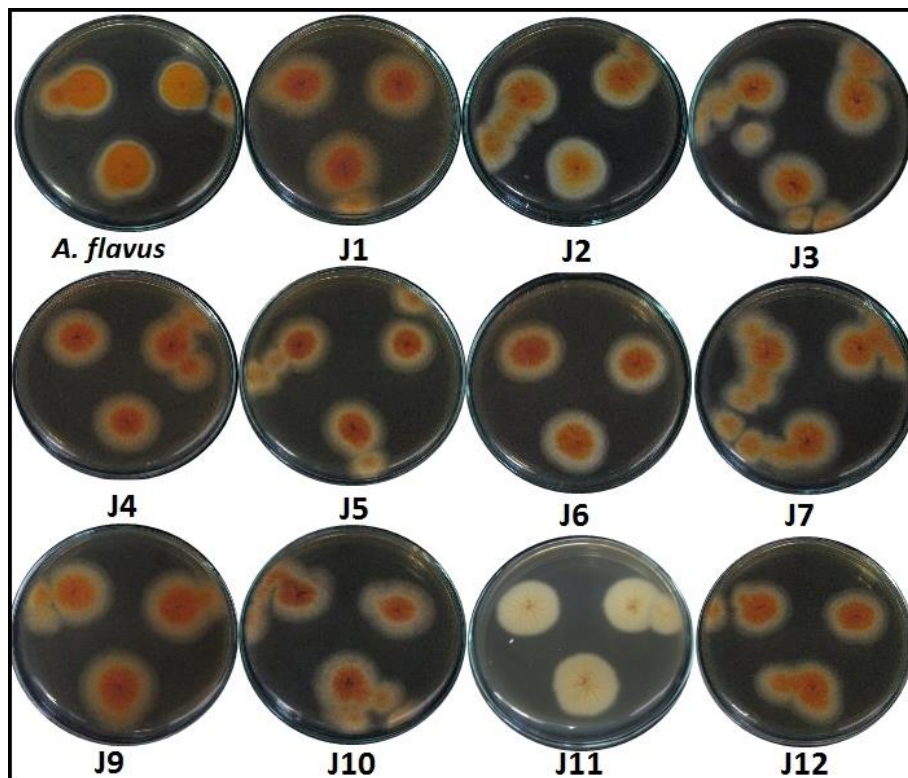
Hasil Konfirmasi Menggunakan Medium AFPA

Hasil karakterisasi morfologi secara makroskopik dan mikroskopik isolat kapang *Aspergillus* spp. pada jagung dilanjutkan dengan uji konfirmasi menggunakan medium AFPA. Sebanyak 10 isolat kapang yang memiliki sporulasi berwarna hijau dan satu isolat kapang berwarna hitam ditumbuhkan pada medium AFPA selama 3 hari pada suhu

28 °C. Sebelas isolat kapang yang telah ditumbuhkan pada medium AFPA dibandingkan dengan kontrol positif *A. flavus*. Hasil uji konfirmasi pada medium AFPA diperoleh 2 isolat kapang, yaitu isolat kapang J1 dan J4, yang memiliki karakteristik seperti *A. flavus*. Kedua isolat tersebut menghasilkan pigmentasi jingga kekuningan apabila dibandingkan dengan kontrol positif kapang *A. flavus* (Gambar 5).



Gambar 4. Morfologi kapang secara makroskopik dan mikroskopik isolat J8 inkubasi pada medium *Malt Ekstrakt Agar* (MEA) selama 7 hari pada suhu 28 °C. (a) Koloni kapang J8; (b) Morfologi mikroskopik; a. Hifa dan b. konidia; (c) Hifa; (d) Konidia



Gambar 5. Pigmentasi jingga kekuningan pada isolat kapang diduga *Aspergillus flavus* pada medium *Aspergillus flavus and parasiticus Agar* (AFPA) inkubasi 3 hari pada suhu 28 °C

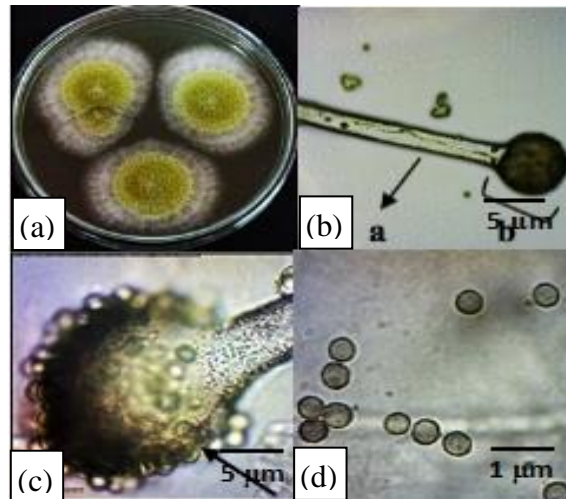
Isolat kapang J1 dan J4 yang ditumbuhkan pada medium MEA selama 5–7 hari pada suhu 28 °C memiliki ciri morfologi makroskopik berwarna hijau kuning dengan miselium putih di tepinya; membentuk cincin sporulasi; konidia bergranular; tidak menghasilkan eksudat dan pigmen larut; dan warna sebalik koloni adalah *gold*. Sebagian

besar spesiesnya *uniseriate*, namun ada yang *biseriate*; kepala konidia berbentuk radial dan kolumnar dan terdapat *fialid*; diameter dan bentuk vesikel; 18–36 µm; *radiate*. Kepala konidia berbentuk *uniseriate* dan terdapat fialid yang menutupi vesikel; ukuran konidia antara 3,5–5 µm; bulat; dan halus berwarna hijau kekuningan (Gambar 6 dan 7).

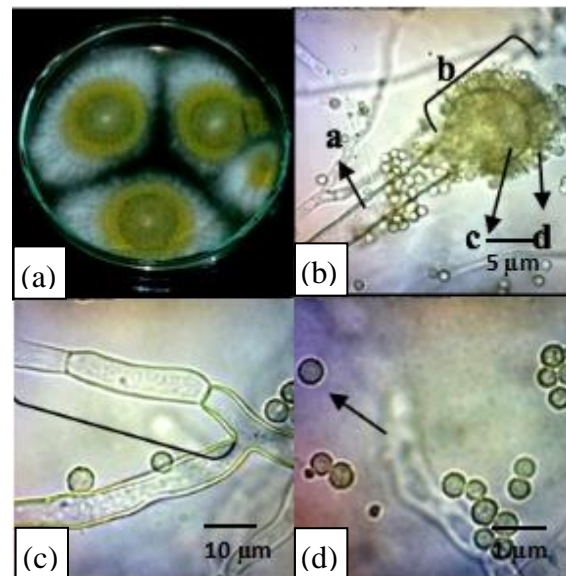
PEMBAHASAN

Jagung merupakan salah satu komoditas yang mempunyai masalah pada saat penanganan pascapanen, yang ditandai dengan tingginya kontaminasi kapang yang menghasilkan toksin (Rahayu *et al.*, 2003). Hal itu disebabkan jagung merupakan sumber nutrisi bagi mikroorganisme, terutama kapang. Kandungan gizi utama jagung adalah pati (72–73%), dengan nisbah amilosa dan amilopektin 25–30%:70–75%, namun pada jagung pulut (*waxy maize*) 0–7%: 93–100%. Kadar gula

sederhana jagung (glukosa, fruktosa, dan sukrosa) berkisar antara 1–3%. Selain sebagai sumber karbohidrat, jagung merupakan sumber protein. Protein jagung (8–11%) terdiri atas lima fraksi, yaitu albumin, globulin, prolamin, glutelin, dan nitrogen nonprotein (Suarni & Widowati, 2007). Jagung dan bahan pangan lainnya sangat mudah ditumbuhi oleh kapang selama penyimpanannya. Iklim tropis yang dimiliki Indonesia dengan curah hujan, suhu, dan kelembaban yang tinggi sangat mendukung pertumbuhan kapang.



Gambar 6. Morfologi kapang secara makroskopik dan mikroskopik isolat J1 inkubasi pada medium *Malt Ekstract Agar* (MEA) selama 7 hari pada suhu 28 °C. (a) Koloni kapang J1; (b) konidiofor dan kepala konidia; (c) Vesikel; (d) konidia



Gambar 7. Morfologi kapang secara makroskopik dan mikroskopik isolat J4 inkubasi pada medium *Malt Ekstract Agar* (MEA) selama 7 hari pada suhu 28 °C. (a) Koloni kapang J4; (b) konidiofor dan kepala konidia; (c) Hifa bersepta; (d) konidia

Isolasi kapang *Aspergillus* spp. pada jagung pipilan dilakukan menggunakan medium DG18 dengan metode *dilution plating*.

Sebanyak 12 isolat kapang diperoleh dengan menggunakan medium DG18 memperkuat bahwa medium ini merupakan medium yang

tepat untuk melakukan isolasi dari bahan yang memiliki kadar air yang rendah. Jagung pipilan merupakan bahan yang memiliki nilai aktivitas air yang rendah karena dalam produksinya jagung pipilan mengalami proses pengeringan. Menurut Pitt *et al.* (1992) dan Frandberg *et al.* (2003) menyatakan bahwa medium DG18 merupakan medium standar untuk melakukan isolasi kapang pada sampel dengan aktivitas air yang rendah sebesar $0,95 a_w$. Samson *et al.* (2011) melaporkan bahwa medium DG18 merupakan medium khusus yang mendukung pertumbuhan kapang seperti *Penicillium*, *Aspergillus*, dan beberapa genus kapang lainnya. Komponen dalam medium DG18 terdiri dari glukosa, *bacteriological peptone*, gliserol, *dichloran (2,6-dikloro-4-nitroaniline)*, KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, dan agar. Pitt dan Hocking (1977) melaporkan bahwa gliserol adalah zat terlarut yang cocok untuk pertumbuhan jenis kapang xerofilik, dan *dichloran (2,6-dikloro-4-nitroaniline)* yang dikombinasikan dengan *rose bengal*, telah terbukti dapat menghambat kontaminasi jenis kapang lain.

Hasil ke 12 isolat kapang kemudian dilakukan karakterisasi makroskopik dan mikroskopik menggunakan medium MEA. Karakteristik makroskopik warna koloni sporulasi hijau granul (10 isolat); miselium berwarna kecoklatan (1 isolat) dan sporulasi hitam granula (1 isolat). Karakteristik morfologi makroskopik dan mikroskopik isolat kapang diduga *A. flavus* (J1 dan J4) dilakukan dengan menggunakan medium MEA pada suhu $28\text{ }^\circ\text{C}$ selama 7 hari. Genus *Aspergillus* sp. merupakan kapang yang memiliki sebaran yang paling luas di dunia, dengan kondisi pertumbuhan yang memiliki range temperatur $6\text{--}55\text{ }^\circ\text{C}$ dengan tingkat kelembaban yang rendah (Hawksworth, 2011). *Aspergillus* termasuk spesies yang dapat ditemukan diberbagai substrat seperti pada pakan, feces manusia dan hewan dan pada umumnya merupakan kapang perusak (Bennett, 2010). Penyebaran genus *Aspergillus* sangat cepat dengan dominasi spora berupa konidia yang penyebarannya sangat cepat (Williams & Hallsworth, 2009). Selain itu *Aspergillus* juga menghasilkan mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan manusia dan hewan. Salah satu toksin yang dihasilkan adalah aflatoksin yang

bersifat karsinogenik (Varga *et al.*, 2011; Leong *et al.*, 2007). Racun aflatoksin terdapat pada produk makanan yang terkontaminasi oleh kapang *A. flavus* antara lain pada jagung, kacang-kacangan, makanan dan buah kering, susu dan beberapa produk daging (Iqbal *et al.*, 2015; Perrone *et al.*, 2014). Pakan ternak merupakan sumber tercemarnya kapang penghasil aflatoksin antara lain *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. parvisclerotegenus*, *A. minisclerotigenes* (Pleadin *et al.*, 2014), dan beberapa termasuk ke dalam *A. nomius*.

Hasil konfirmasi menunjukkan isolat J1 dan J4 ditumbuhkan pada medium MEA 7 hari inkubasi suhu $28\text{ }^\circ\text{C}$ memiliki warna koloni berwarna *sap green* dengan miselium berwarna putih ditepi. Tekstur koloni bergranular dan pada bagian tengah tekstur koloni *floccose*, memiliki *growing zone*, tidak memiliki *exudate drops* dan warna sebalik koloni *gold*. Dengan ciri mikroskopik kapang J1 menunjukkan kepala konidia berbentuk kolumnar, konidiofor terlihat tegak, pada ujung konidiofor terdapat vesikel dengan bentuk kolumnar dan termasuk kedalam tipe *uniseriate* (satu baris), vesikel hanya terlihat konidia berbentuk *globose* dan memiliki tepi yang halus, konidia berukuran $3\text{--}3,4\text{ }\mu\text{m}$. Isolat kapang J4 memiliki kepala konidia berbentuk radial, konidiofor terlihat tegak, kasar dan memiliki septa, terdapat vesikel dengan bentuk radial dan termasuk kedalam tipe *uniseriate* (satu baris), vesikel hanya terlihat fialid dan konidia berbentuk *globose* dengan tepi yang halus, konidia berukuran $3,4\text{--}3,5\text{ }\mu\text{m}$. Karakteristik morfologi mikroskopik yang telah digunakan untuk mengidentifikasi spesies *Aspergillus* meliputi, bentuk kepala konidia, bentuk vesikel dan diameter, stipe; panjang, lebar, tekstur dan warna, ukuran konidia, bentuk, tekstur dan warna (Nyongesa *et al.*, 2015).

Pengelompokan genus dapat dilihat berdasarkan bentuk uniseriate, biseriate atau keduanya, bentuk kepala konidia; *globose*, *radial*, *columnar* atau *clavate* (Bennett & Christensen, 1983; Warris, *et al.*, 2001; Samson *et al.*, 2004). *Aspergillus* menunjukkan morfologi yang berbeda sesuai pada berbagai macam medium pertumbuhannya. Berdasarkan Samson *et al.* (2011) ciri morfologi makroskopik dan mikroskopik *A. flavus* yang ditumbuhkan pada medium MEA selama 5–7

hari pada suhu 28 °C memiliki warna koloni hijau kekuningan dengan miselium putih di tepinya; memiliki zonasi; tidak menghasilkan butir-butir cairan (*exudate drops*); warna sebalik koloni adalah *gold*. Sebagian besar spesiesnya *uniseriate*, namun ada yang *biseriate*; kepala konidia berbentuk radial-kolumnar dan terdapat fialid; diameter dan bentuk vesikel (12–36 µm, radial); ukuran konidia antara 3,5–5 µm; berbentuk bulat dan halus berwarna hijau kekuningan.

Berdasarkan pengamatan makroskopik dan mikroskopik isolat J1 dan J4 teridentifikasi sebagai *A. flavus*. Hasil identifikasi diperkuat dengan konfirmasi positif pada medium AFPA. Medium AFPA merupakan medium yang digunakan untuk uji konfirmasi khusus spesies *Aspergillus section Flavi* dengan mengamati pigmentasi pada warna bagian belakang koloni. Indikator positif yang terjadi pada uji konfirmasi pada medium AFPA adalah isolat kapang menghasilkan pigmentasi warna jingga kekuningan pada bagian belakang koloni. Muthomi *et al.* (2009) menyatakan bahwa medium AFPA merupakan medium selektif untuk memperoleh kapang *A. flavus* dan *A. parasiticus* yang akan menghasilkan pigmentasi jingga kekuningan pada bagian belakang koloni.

Komposisi pada medium AFPA terdiri dari *peptone*, *yeast extract*, *ferric ammonium citrate*, *dichloran*, dan Agar. Salah satu komposisi bahan yang terdapat pada medium AFPA adalah *ferric ammonium citrate* yang merupakan salah satu penyebab adanya pigmentasi jingga kekuningan pada bagian belakang koloni. Kapang *A. flavus* diketahui memiliki kemampuan menghasilkan beberapa jenis mikotoksin, yaitu *sterigmatocystin*, *aflatoxins*, *aspergillilic acid*, *kojic acid*, dan *aspartoxin*. Salah satu jenis toksin yang dihasilkan oleh *A. flavus* akan bereaksi dengan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada medium AFPA sehingga menghasilkan pigmentasi jingga kekuningan. Isolat kapang J11 yang diduga merupakan *A. niger* memiliki kemampuan menghasilkan mikotoksin, yaitu *oxalic acid* yang dapat menghasilkan warna koloni putih. Shier *et al.* (2005) melaporkan bahwa ada beberapa senyawa yang dapat menyebabkan pigmentasi warna pada koloni kapang. Pigmentasi warna jingga kekuningan

pada sebalik koloni isolat kapang J1 dan J4 yang tumbuh pada medium AFPA merupakan hasil reaksi ion feritik dari *ferric ammonium citrate* dengan molekul *aspergillilic acid* yang terdapat pada jalur biosintesis aflatoxin yang dihasilkan *A. flavus* (Assante *et al.*, 1981; Afsah-Hejri *et al.*, 2013).

SIMPULAN

Skrining kapang dari jagung pipilan yang dijual di sekitar Bekasi, Jawa Barat, mendapatkan 12 isolat kapang dengan warna koloni yang berbeda-beda, yaitu hijau, hitam, dan jingga. Berdasarkan ciri morfologi secara makroskopik dan mikroskopik serta uji konfirmasi pada medium selektif AFPA, terdapat 2 isolat kapang, yaitu J1 dan J4, yang teridentifikasi sebagai kapang *A. flavus*, yang berpotensi sebagai penghasil aflatoxin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Grand Riset DIKTI tahun pelaksanaan 2018 atas nama Dalia Sukmawati atas dukungan finansial. Terima kasih kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) UNJ, Prodi Biologi UNJ, Laboratorium Mikrobiologi Prodi Biologi dan Prodi Pendidikan Biologi UNJ, dan UNJCC (*Universitas Negeri Jakarta Culture Collection*) atas semua fasilitas yang telah diberikan.

REFERENSI

- Afsah-Hejri, L., Jinap, S., & Radu, S. (2013). Occurrence of aflatoxins and aflatoxigenic *Aspergillus* in peanuts. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(3,4), 228-234.
- Ahmad, R. Z. (2009). Cemaran kapang pada pakan dan pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(1), 15-22.
- Assante, G., Camrada, L., Locci, R. R., Merlini, L., Nasini, G., & Popadopoulos, E. (1981). Isolation and structure of red pigments from *Aspergillus flavus* and related species, grown on a differential medium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(4), 785-787.
- Bennett, J. W., & Christensen, S. B. (1983). New perspectives on aflatoxin biosynthesis. *Advanced in Applied Microbiology*, 29(6), 53-92.

- Bennett, J. W. (2010). An overview of the genus *Aspergillus*. In M. Machida, K. Gomi (Eds). *Aspergillus: Molecular Biology and Genomics* (pp. 1-17). Portland, United States: Caizer Academic Press.
- Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Review*, 16(3), 497-516.
- Bahri, S., & Maryam, R. (2004). Mikotoksin berbahaya dan pengaruhnya terhadap kesehatan hewan dan manusia. *Jurnal Mikologi Kedokteran Indonesia*, 4-5(1-2), 31-34.
- Davari, E., Mohsenzadeh, M., Mohammadi, G. H., & Rezaeian-Doloei, R. (2015). Characterization of aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* strain isolates from animal feedstuffs in northeastern Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 16(2), 150-155.
- Dharmaputra, O. S., Putri, A. S. R., Retnowati, I., & Ambarwati, S. (2001). Soil mycobiota of peanut fields in Wonogiri regency, Central Java : their effect on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* in vitro. *Biotropia: The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*, 17(6), 30-58.
- Dharmaputra, O. S., Ambarwati, S., Retnowati, I., & Windyarani, A. (2013). Kualitas fisik, populasi *Aspergillus flavus*, dan kandungan aflatoxin B1 pada biji kacang tanah mentah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 9(4), 99-106.
- Erami, M., Hashemi, S., Pourbakhsh, S., Shahsavandi, S., Mohammadi, S., Shoostari, A., & Jahanshiri, Z. (2007). Application of PCR on detection of aflatoxinogenic fungi. *Archives of Razi Institute*, 62(2), 95-100.
- Frandsberg, E., Olsen, M., & Pitt, J. (2003). Quality control of *A. flavus* and *A. parasiticus* agar and comparison with dichloran 18% glycerol agar: a collaborative study. *International Journal of Food Microbiology*, 89(1), 99-102.
- Ghiasian, S. A., & Maghsood, A. H. (2011). Occurrence of aflatoxigenic fungi in cow feeds during the summer and winter season in Hamadan, Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 5(5), 516-521.
- Ginting, E., Rahmiana, A. A., & Yusnawan, E. (2005). Pengendalian kontaminasi aflatoxin pada produk kacang tanah melalui penanganan pra dan pasca panen. (18 Oktober 2016). Retrieved from <http://www.bptp.jatimdeptan.go.id>.
- Hawksworth, D. L. (2011). Naming *Aspergillus* species: progress towards one name for each species. *Medical Mycology*, 49(4), 570-576.
- Iqbal, S. Z., Jinap, S., Pirouz, A. A., & Ahmad Faizal, A. R. (2015). Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 110119.
- Klich, M. A. & Pitt, J. I. (1988). *A laboratory guide to common Aspergillus species and their teleomorphs*. North Ryde, Australia: CSIRO Division of Food Processing.
- Klich, M. A. (2000) *Identification of common Aspergillus species*. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelauteurs.
- Lai, X., Zhang, H., Liu, R., & Liu, C. (2015). Potential for aflatoxin B1 and B2 production by *Aspergillus flavus* strains isolated from rice samples. *Saudi Journal of Biology Sciences*, 22(2), 176-180.
- Leong, S. L., Hien, L. T., An, T. V., Trang, N. T., Hocking, A. D., & Scott, E. S. (2007). Ochratoxin a-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans. *Letters in Applied Microbiology*, 45(3), 301-306.
- Mehrzad, J., Klein, G., Kamphues, J., Wolf, P., Grabowski, N., & Schuberth, H. J. (2011). In vitro effects of very low levels of aflatoxin B1 on free radicals production and bactericidal activity of bovine blood neutrophils. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 141(5), 16-25.
- Muthomi, J. W., Njenga, L. N., Gathumbi, J. K., & Cheminingwa, N. (2009). The occurrence of aflatoxins in maize and distribution of mycotoxin-producing

- fungi in Eastern Kenya. *Plant Pathology Journal*, 8(3), 113-119.
- Nyongesa, B. W., Okoth, S., & Ayugi, V. (2015). Identification key for *Aspergillus* species isolated from maize and soil of Nandi County, Kenya. *Scientific Research Publishing*, 5(5), 205-229.
- Okoth, S. A., Nyongesa, B., Joutsjoki, V., Korhonen, H., Ayugi, V., & Kang, E. K. (2012). Toxigenic potential of *Aspergillus* species occurring on maize kernels from two agro-ecological zones in Kenya. *Toxins*, 4(11), 991-1007.
- Perrone, G., Haidukowski, M., Stea, G., Epifani, F., Bandyopadhyay, R., & Leslie, J. F. (2014). Population structure and aflatoxin production by *Aspergillus* sect. *Flavi* from maize in Nigeria and Ghana. *Food Microbiology*, 41(1), 52-59.
- Pitt, J. I., Hocking, A. D., Samson, R. A., & King, A. D. (1992). Recommended methods for mycological examination of foods, 1992. In R. A. Samson, A. D. Hocking, J. I. Pitt, A. D. King (Eds.), *Modern Methods in Food Mycology* (pp. 365-368). Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1977). Influence of solute and hydrogen ion concentration on the water relations of some xerophilic fungi. *Journal of General Microbiology*, 101(4), 35-40.
- Pleadin, J., Vuli C, A., Persi, N., Skrivanko, M., Capek, B., & Cvetni C, Z. (2014). Aflatoxin B1 occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during 2013. *Food Control*, 40(4), 286-291.
- Rachmawati, S., Lee, A., Murdiati, T. B., & Kennedy, I. (2004). Pengembangan enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) teknik untuk analisis aflatoksin B1 pada pakan ternak. *Prosiding Seminar Parasitologi dan Toksikologi Veteriner*, 133-148.
- Rahayu, E. S., Raharjo, S., & Rahmianna, A. A. (2003). Cemaran aflatoksin pada produksi jagung di daerah Jawa Timur. *Agricultural Technology*, 23(4), 174-183.
- Safika, & Faisal, J. (2014). Deteksi aflatoksin B1 pada jenis makanan olahan jagung menggunakan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(1), 23-25.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., & Frisvad, J. C. (2004). *Introduction to food and airborne fungi 7th Eds*. Utrecht: Central bureau voor Schimmelcultures.
- Samson, R. A., Varga, J., & Frisvad, J. C. (2011). *Taxonomic studies on the genus Aspergillus*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Shier, W. T., Lao, Y., Steele, T. W. J., & Abbas, H. K. (2005). Yellow pigments used in rapid identification of aflatoxin-producing *Aspergillus* strains are anthraquinones associated with the aflatoxin biosynthetic pathway. *Bioorganic Chemistry*, 33(6), 426-438.
- Suarni., & Widowati, S. (2007). Struktur, komposisi, dan nutrisi jagung. Pusat Penelitian Tanaman Pangan, Bogor pp. 410-426. (2017, October 12). Retrieved from <http://balitsereal.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/11/tiganol.pdf>
- Sukmawati, D., Oetari, A., Hendrayanti, D., Atria, M., & Wellyzar, S. (2015). Identification of phylloplane yeast from *paper mulberry* (*Broussonetia papyrifera* L.) in Java, Indonesia. *Malaysian Journal of Microbiology*, 11(4), 324-340.
- Sukmawati, D., & Miarsyah, M. (2017). Pathogenic activity of *Fusarium equisetii* from plantation of citrus plants (*Citrus nobilis*) in the village Tegal Wangi, Jember Umbul Wangi, East Java, Indonesian. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 5(4), 47-50.
- Varga, J., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2011). Two new a toxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Studies in Mycology*, 69(1), 57-80.
- Utami, T., Hartanta, F. X., Nugroho, A., Usmiati, S., Marwati, S., & Rahayu, E. S. (2012). Penurunan kadar aflatoksin B1 pada sari kedelai oleh sel hidup dan sel mati *Lactobacillus Acidophilus* Snp-2. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 23(1), 58-63.

- Warris, A., Voss, A., & Verweij, P. E. (2001). Hospital sources of *Aspergillus*: new routes of transmission. *Nature Review Microbiology*, 18(1), 156-162.
- Williams, J. P., & Hallsworth, J. E. (2009). Limits of life in hostile environments: no barriers to biosphere function?. *Environmental Microbiology*, 11(12), 3292-3308.
- Yenny. (2016). Aflatoksin dan aflatoksikosis pada manusia. *Universa Medicina*, 25(1), 41-52.
- Yogendrarajah, P., Devlieghere, F., Ediage, E. N., Jacxsens, L., De-Meulenaer, B., & De-Saeger, S. (2015). Toxigenic potentiality of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains isolated from black pepper assessed by an LC-MS/MS based multi-mycotoxin method. *Food Microbiology*, 52, 185-196.