

**ISOLASI dan KARAKTERISASI MOLEKULER ISOLAT KAPANG  
TERDUGA *Amylomyces rouxii* HASIL PEMBUATAN RAGI TAPE DARI  
*Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*, dan *Rhizopus microsporus***

**Fiorentina Divany Eka Putri  
20/454743/BI/10438**

**Dosen Pembimbing: Dr. Miftahul Ilmi, S.Si., M.Si.**

**INTISARI**

Domestikasi merupakan sebuah proses campur tangan manusia melalui seleksi sehingga menyebabkan perubahan besar pada perilaku, fisiologis, hingga genotip organisme tersebut. Domestikasi yang dilakukan manusia terjadi melalui lingkungan buatan yang terkontrol sehingga organisme yang berada pada lingkungan tersebut akan beradaptasi dan menghasilkan sifat yang sama meskipun berasal dari garis keturunan berbeda. Hal ini disebut dengan evolusi konvergen. Salah satunya adalah spesies *Amylomyces rouxii* pada fermentasi tape. Kapang ini merupakan mikroorganisme dengan aktivitas amilolitik tinggi yang menghasilkan enzim glukoamilase sehingga dalam fermentasi tape dapat dihasilkan ethanol. Pada pembuatan ragi tape inokulum starter seperti *Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*, atau *Rhizopus microsporus*, akan terjadi proses seleksi dan adaptasi untuk menghasilkan ragi dengan spesifikasi yang diinginkan. Hal ini memicu terjadinya domestikasi yang menyebabkan evolusi konvergen sehingga mikrobia tersebut akan memiliki sifat yang sama dengan *A. rouxii* yaitu tidak berspora (abortif sporangium) dan memiliki kladiospora. Pada penelitian ini akan dilakukan uji secara molekuler dengan mengamati hubungan filogenetik pada strain awal *R. delemar*, *R. arrhizus*, atau *R. microsporus* serta *A. rouxii* sebagai isolat akhir pada pembuatan ragi berdasarkan gen *ITS1/ITS2* dan *D1/D2*. Dilakukan pula konstruksi domestikasi pembuatan ragi tape hingga diketahui berapa siklus yang diperoleh untuk mengetahui adanya potensi terjadinya evolusi konvergen. Analisa data dilakukan dengan DNA barcoding pada gen *ITS1/ITS2* dan *D1/D2* sehingga dapat diketahui hubungan kekerabatan isolat-isolat tersebut. Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh 18 siklus pembuatan ragi tape yang setelah dianalisis secara molekuler menunjukkan ketiga isolat *Rhizopus* tersebut berada dalam *clade* yang berbeda dengan *A. rouxii* sehingga memiliki hubungan kekerabatan yang jauh dengan jarak genetik >1 pada kedua gen. Gen *D1/D2* dapat lebih baik dalam memetakan spesies pada pohon filogenetik. Meskipun demikian, perlu dilakukan penambahan siklus pada pembuatan ragi tape dengan starter *R. delemar*, *R. arrhizus*, atau *R. microsporus* karena dari 18 siklus hasil BLAST dan konstruksi pohon filogenetik menunjukkan hasil yang kurang valid untuk dapat disimpulkan adanya similaritas dan hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Amylomyces rouxii*.

Kata Kunci: *Amylomyces rouxii*, DNA barcoding, Domestikasi, *D1/D2*, *ITS1/ITS2*, Ragi

**ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION of SUSPECTED ISOLATES  
*Amylomyces rouxii* in PRODUCTION of RAGI TAPAI FROM *Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*, and *Rhizopus microsporus***

**Fiorentina Divany Eka Putri  
20/454743/BI/10438**

**Supervisor : Dr. Miftahul Ilmi, S.Si., M.Si.**

**ABSTRACT**

Domestication is a process of human intervention through selection that causes major changes in the behavior, physiology, and genotype of the organism. Domestication carried out by humans occurs through a controlled artificial environment so that organisms in that environment will adapt and produce the same traits even though they come from different lineages. This is called convergent evolution. One of them is *Amylomyces rouxii* in tapai fermentation. This mold is a microorganism with high amylolytic activity that produces the enzyme glucoamylase so that ethanol can be produced in tapai fermentation. In the manufacture of ragi tapai starter inoculum such as *Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*, or *Rhizopus microsporus*, a selection and adaptation process will occur to produce ragi with the desired specifications. This triggers domestication which causes convergent evolution so that the microbe will have the same properties as *A. rouxii*, namely non-sporing (abortive sporangium) and having chlamydiospores. In this study, molecular testing will be carried out by observing the phylogenetic relationship of the initial strains of *R. delemar*, *R. arrhizus*, or *R. microsporus* and *A. rouxii* as the final isolate in the production of ragi based on the *ITS1/ITS2* and *D1/D2* genes. Domestication construction of ragi tapai production was also carried out until it was known how many cycles were obtained to determine the potential for convergent evolution. Data analysis was carried out by DNA barcoding on the *ITS1/ITS2*, and *D1/D2* genes so that the relationship of the isolates could be determined. From the research that has been conducted, 18 cycles of making ragi tapai were obtained which after molecular analysis showed that the three *Rhizopus* isolates were in a different *clade* from *A. rouxii* so that they had a distant relationship with a genetic distance of >1 in both genes.. The *D1/D2* gene can be better at mapping species on the phylogenetic tree. However, it is necessary to add cycles to the production of ragi tapai with the starter *R. delemar*, *R. arrhizus*, or *R. microsporus* because the 18 cycles of BLAST results and phylogenetic tree construction showed results that were less valid to conclude that there was similarity and a close relationship with *Amylomyces rouxii*.

**Keywords:** *Amylomyces rouxii*, DNA barcoding, Domestication, *D1/D2*, *ITS1/ITS2*, Ragi