

## Identifikasi Morfologi *Rhizopus* pada Oncom Hitam dari Berbagai Daerah di Indonesia

### *Morphology Identification of Rhizopus in Black Oncom from Various Areas in Indonesia*

Hartanti AT, Honggopertiwi A, Gunawan AW

Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jalan Cisauk, BSD City, Tangerang, Banten, 15345

Hartanti AT, Hanggopertiwi A, Gunawan AW. 2019– Identifikasi *Rhizopus* pada Oncom Hitam dari Berbagai Daerah di Indonesia. Jurnal Mikologi Indonesia 3 (2): 75-83.

#### Abstrak

Oncom hitam merupakan produk fermentasi asli Indonesia yang dibuat dari bungkil kacang tanah sebagai substrat dan kapang *Rhizopus* spp. Sebagai agen fermentasi. *Rhizopus* yang berperan pada proses pembuatan oncom hitam perlu diketahui identitasnya serta dikonservasi sehingga dapat berguna untuk pengembangan fermentasi makanan yang aman untuk dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi *Rhizopus* pada oncom hitam. Sampel diambil dari beberapa pasar tradisional di DKI Jakarta, Jawa Barat, dan Jawa Timur. Identifikasi *Rhizopus* dilakukan dengan pendekatan morfologi bentuk spora, kolumela, dan rizoid serta panjang sporangiofor, dan dengan pendekatan fisiologi pada suhu pertumbuhan 33, 42, 46, 48, dan 5°C pada medium agar-agar dekstrosa kentang. Identifikasi dilakukan mengikuti "A Monograph of *Rhizopus*". *Rhizopus* yang berhasil diisolasi dari sampel oncom hitam ialah sebanyak 13 galur yang terdiri atas *R. arrhizus* var. *delemar* (*R. delemar*), *R. arrhizus* var. *tonkinensis* (*R. oryzae*), dan *R. microsporus* var. *chinensis*. Ketiganya merupakan varietas *Rhizopus* yang pertama kali dilaporkan ada pada oncom hitam.

**Kata kunci** – morfologi – suhu pertumbuhan maksimum – *Rhizopus arrhizus* var. *delemar* – *R. arrhizus* var. *tonkinensis*–*R. microsporus* var. *chinensis*

#### Abstract

*Oncom hitam is an authentic Indonesian fermented product made from peanut meal as a substrate and Rhizopus spp. as a fermentation agent. Rhizopus, which plays a role in the process of making black oncom, needs to be identified and conserved for further development of fermented foods that are safe for consumption. This study was aimed to isolate and identify Rhizopus on black oncom. Samples were taken from several traditional markets in DKI Jakarta, West Java, and East Java. Identification of Rhizopus was carried out based on a morphological examination such as spores, columella and rhizoid, and sporangiophore length; in combination with a physiological approach at different growth temperatures (33, 42, 46, 48, and 51°C) on potato dextrose agar medium. Identification was carried out following the "A Monograph of Rhizopus". A total three species of Rhizopus was determined from black oncom, namely, R. arrhizus var. delemar (R. delemar), R. arrhizus var. Tonkinensis (R. oryzae), and R. microsporus var. chinensis. All of them are new reports associated with black oncom in Indonesia.*

**Key words** – growth maximum temperature– morphology– *Rhizopus arrhizus* var. *delemar*– *R. arrhizus* var. *tonkinensis*– *R. microsporus* var. *chinensis*

## **Pendahuluan**

Oncom merupakan salah satu makanan hasil fermentasi kapang asli Indonesia khas Jawa Barat. Oncom yang beredar di masyarakat ada dua jenis, yaitu oncom merah dan oncom hitam. Oncom merah dibuat dari ampas tahu dengan kapang *Neurospora*, sedangkan oncom hitam dibuat dari kacang tanah dengan kapang *Rhizopus*.

Kandungan gizi, kadar besi, dan protein pada oncom hitam lebih tinggi daripada oncom merah (Slamet & Tarwotjo 1971). Saono *et al.* (1974) melaporkan kapang yang berperan pada oncom hitam asal Bogor, Jawa Barat ialah *R. oryzae* dan pada oncom hitam asal Sukabumi, Jawa Barat ialah *R. oligosporus*. *Rhizopus* memiliki banyak spesies dan varietas yang telah dipelajari melalui berbagai pendekatan. Berdasarkan morfologi dan fisiologinya terdapat tiga grup besar *Rhizopus*, yaitu grup *R. microsporus*, *R. oryzae*, dan *R. stolonifer* (Schipper & Stalpers 1984). Abe *et al.* (2006) melaporkan *Rhizopus* berdasarkan pada sekuens rDNA. Zheng *et al.* (2007) menyusun monograf *Rhizopus* berdasarkan pada morfologi, fisiologi, sistem kawin, dan pendekatan molekul dan mengemukakan ada 10 spesies dan 9 varietas *Rhizopus*. Taksonomi *Rhizopus* berdasarkan pada filogeni molekul mereduksi jumlah spesies karena *R. niveus* sinonim dengan *R. delemar* serta *R. sexualis* dan *R. americanus* sinonim dengan *R. stolonifer* (Abe *et al.* 2010).

Perkembangan taksonomi dari *Rhizopus* cukup pesat. Oleh karena itu, *Rhizopus* pada oncom hitam perlu diisolasi dan identifikasi. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat membantu standarisasi mutu pangan dan hasil konservasi *Rhizopus* asal Indonesia dapat digunakan untuk mengembangkan produk fermentasi asli Indonesia. Penelitian ini bertujuan mengisolasi, mengidentifikasi, dan mempreservasi spesies *Rhizopus* dari oncom hitam asal berbagai daerah di Pulau Jawa, Indonesia.

## **Metode Penelitian**

### **Isolasi *Rhizopus***

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini ialah oncom hitam dari berbagai daerah di DKI Jakarta, Jawa Barat, dan Jawa Timur. Penelitian ini terdiri atas pengambilan sampel, isolasi dan pemurnian, uji suhu pertumbuhan maksimum, serta pengamatan morfologi. Sampel diambil dari beberapa pasar tradisional di beberapa daerah di Pulau Jawa, Indonesia. Sampel oncom hitam disimpan pada suhu 4 °C, untuk mencegah pembusukan.

Isolasi *Rhizopus* menggunakan medium agar-agar dekstrosa kentang (ADK) pada cawan yang mengandung kloramfenikol 100 ppm. Oncom hitam dibelah dengan tangan, hifa yang diduga *Rhizopus* diambil dengan jarum jara, diinokulasikan pada agar-agar cawan, dan diinkubasi pada suhu 30 °C dalam inkubator (Zheng *et al.* 2007). Koloni *Rhizopus* umur 3–4 hari diamati strukturnya menggunakan mikroskop. Koloni tersebut selanjutnya dimurnikan menggunakan medium agar-agar air 2% (b/v). Biakan *Rhizopus* yang tumbuh diambil ujung hifanya dan diinokulasi pada medium ADK cawan, selanjutnya diinkubasi pada suhu 30 °C selama 1–2 hari. Biakan *Rhizopus* yang telah murni diremajakan pada 5 medium ADK miring dan diinkubasi selama 2–3 hari: 1 tabung sebagai biakan kerja dan 4 tabung sebagai biakan koleksi di simpan di dalam kulkas suhu 4 °C.

### **Uji Pertumbuhan Maksimum *Rhizopus***

Uji suhu pertumbuhan maksimum semua galur *Rhizopus* dilakukan pada cawan ADK dengan diameter 9 cm. Koloni galur *Rhizopus* berumur 3 hari, berdiameter 5 mm ditumbuhkan di bagian tengah cawan ADK, lalu diinkubasi pada beberapa suhu pertumbuhan: 33, 42, 46, 48, dan 51 °C. Setiap perlakuan diulang dua kali.

### **Pengamatan Morfologi *Rhizopus***

Pengamatan morfologi galur *Rhizopus* menggunakan preparat yang dibuat mengikuti metode Riddle (Riddle 1950). Setiap galur diamati bentuk dan ukuran spora, bentuk kolumela dan rizoid, serta panjang sporangiofor. Morfologi tersebut diamati menggunakan mikroskop yang dilengkapi alat Dino-Eye AM7025X untuk pengukurannya. Hasil pengamatan diidentifikasi mengikuti buku “A Monograph of *Rhizopus*” (Zheng *et al.* 2007).

### **Preservasi *Rhizopus***

Preservasi *Rhizopus* menggunakan medium trehalosa gliserol yaitu campuran 5 g trehalosa ditambahkan 10 mL gliserol selanjutnya ditambahkan akuades sampai volume total menjadi 100 mL diaduk supaya homogen. Sebanyak 3 mL medium trehalosa gliserol dituang ke dalam vial berukuran 5 mL dan disterilisasi. Preservasi dilakukan dengan cara membuat biakan murni *Rhizopus* yang berumur 5 hari pada medium PDA agar cawan, kemudian dibuat cetakan menggunakan sedotan steril berdiameter 4 mm, cetakan biakan selanjutnya dimasukkan dalam medium trehalosa gliserol sebanyak 5 cetakan pada masing masing vial. Vial yang telah diisi biakan selanjutnya disimpan di lemari pendingin bersuhu 4 °C selama 24 jam, dan selanjutnya diletakkan di freezer -80 °C.

### **Hasil**

*Rhizopus* dari sampel oncom hitam asal beberapa pasar tradisional di DKI Jakarta, Jawa Barat, dan Jawa Timur yang berhasil diisolasi dan dimurnikan sebanyak 13 galur. Ketiga belas galur tersebut memiliki suhu pertumbuhan bervariasi: *Rhizopus* galur AH5, AH8, dan AH12 dengan suhu maksimum 42°C; *Rhizopus* galur AH3 dengan suhu maksimum 46 °C; dan 9 galur *Rhizopus* lainnya (AH, AH1A, AH1B, AH4, AH6, AH10, AH16, AH17, dan AH18) dengan suhu maksimum 48 °C (Tabel 1).

**Tabel 1** Suhu pertumbuhan maksimum galur *Rhizopus* dari oncom hitam asal beberapa pasar di Pulau Jawa

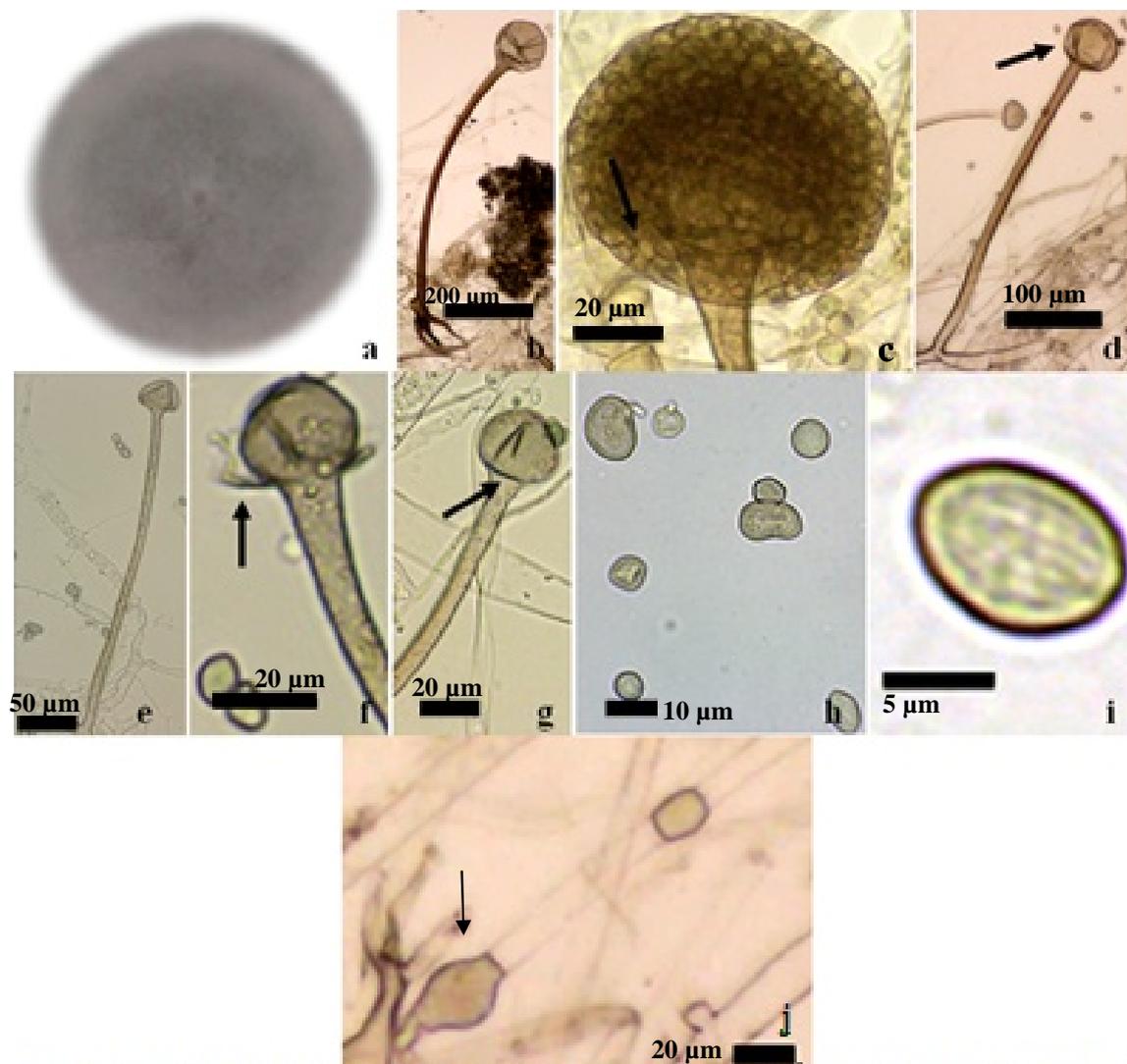
No.	Kode Galur	Asal Oncom Hitam	Suhu pertumbuhan maksimum(°C)
1	AH5	Bogor, Jawa Barat	42
2	AH8	Bogor, Jawa Barat	42
3	AH12	Curug, Jawa Barat	42
4	AH3	Jakarta Barat, DKI Jakarta	46
5	AH	Jakarta Pusat, DKI Jakarta	48
6	AH1A	Bogor, Jawa Barat	48
7	AH1B	Bogor, Jawa Barat	48
8	AH4	Bogor, Jawa Barat	48
9	AH6	Bogor, Jawa Barat	48
10	AH10	Padalarang, Jawa Barat	48
11	AH16	Malang, Jawa Timur	48
12	AH17	Malang, Jawa Timur	48
13	AH18	Malang, Jawa Timur	48

Berdasarkan pada suhu maksimum pertumbuhan *Rhizopus* dan ciri-ciri morfologi *Rhizopus* mengikuti kunci identifikasi dalam buku “A Monograph of *Rhizopus*” maka galur AH5 dan AH8 diidentifikasi sebagai *R. arrhizus* var. *delemar*, galur AH12 sebagai *R. arrhizus* var. *tonkinensis*, dan galur AH, AH1A, AH1B, AH4, AH6, AH10, AH16, AH17, dan AH18 sebagai *R. microsporus* var. *chinensis*.

***Rhizopus arrhizus* var. *delemar*** (Wehmer & Hanzawa) J. J. Ellis, *Mycologia* 77: 247. 1985.  
 = *Rhizopus delemar* Wehmer & Hanzawain Hanzawa, *Mycol. Zentrbl.* 1:86  
 = *Mucor delemar* Boidin. (nom.nud)

Warna koloni galur ini putih yang kemudian menjadi abu-abu dengan tinggi 3–5 mm pada medium ADK pada suhu 33 °C setelah 3 hari (Gambar 1a). Bentuk rizoid seperti jari, sederhana, dengan pertumbuhan kurang baik. Sporangiofor tumbuh berlawanan dengan rizoid (Gambar 1b) dengan panjang 225.2–980.4 µm (Tabel 2). Bentuk sporangium membulat (Gambar 1c). Bentuk kolumela membulat (Gambar 1d), bulat mengerucut (Gambar 1e) dan tampak adanya kerah (Gambar 1f) serta apofisis (Gambar 1g). Bentuk sporangiospora beragam (Gambar 1h) dan bergoresan (Gambar 1i) dengan panjang 5.9–16.8 µm (Tabel 3). Kapang ini membentuk klamidospora (Gambar 1j). Suhu pertumbuhan maksimum ialah 42 C.

Bahan yang diperiksa: oncom hitam, A Honggopertiwi. Provinsi Jawa Barat: Bogor, 11 September 2017, AH5 dan 12 September 2017, AH8.

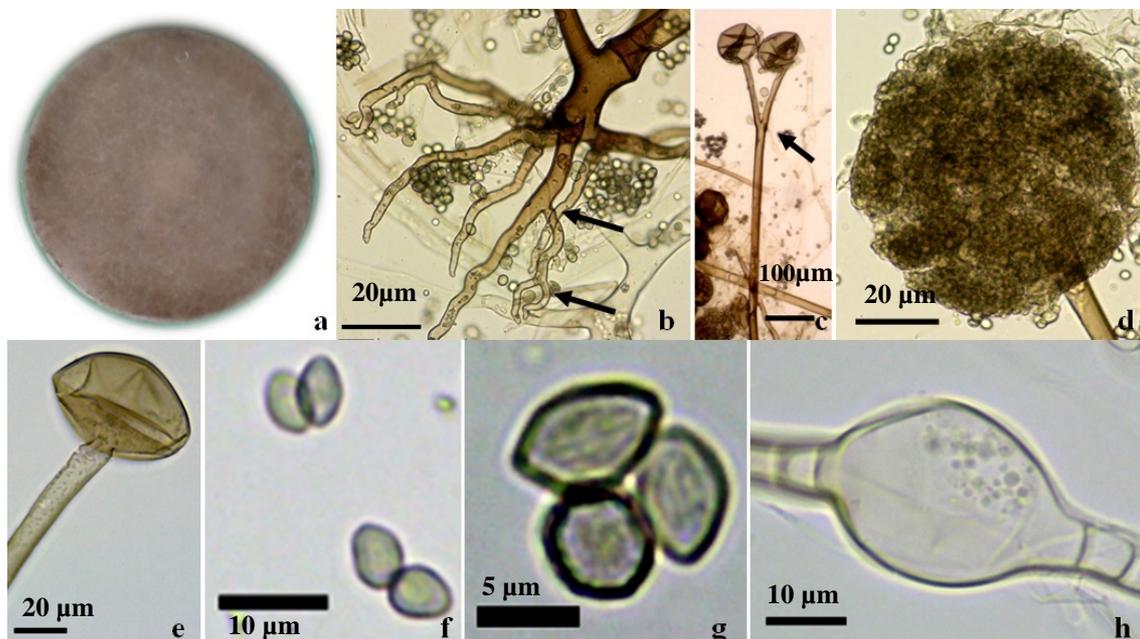


**Gambar 1** *Rhizopus arrhizus* var. *delemar*: (a) Koloni berumur 3 hari pada 33 °C, (b) Struktur reproduksi aseksual dan rizoid, (c) Sporangium agak bulat, (d) Sporangiofor tumbuh dari stolon dengan kolumela agak bulat (panah), (e) Kolumela bulat mengerucut, (f) Kerah (panah), (g) Apofisis (panah), (h) Sporangiospora beragam, (i) Sporangiospora bergoresan, dan (j) Klamidospora (panah).

***Rhizopus arrhizus* var. *tonkinensis*** (Vuill.) R. Y. Zheng & X. Y. Liu. stat. & Comb. nov.  
 = *Rhizopus tonkinensis* Vuill. Rev. Mycol 24:53.1902 (Basionim)  
 = *Rhizopus boreas* Yosh. Yamam. J. Soc. Agric. Forest. Sapporo 17:493.1925

Warna koloni galur ini putih yang kemudian menjadi abu-abu dengan tinggi 3–5 mm pada medium ADK setelah 3 hari pada suhu 33 °C (Gambar 2a). Bentuk rizoidnya seperti jari dan sederhana serta bercabang (Gambar 2b). Sporangiofor tumbuh berlawanan dengan rizoid dan terkadang bercabang (Gambar 2c) dengan panjang 250.0–1271.0 µm (Tabel 2). Bentuk sporangium membulat (Gambar 2d). Bentuk kolumela bulat mengerucut (Gambar 2e). Bentuk sporangiospora seragam (Gambar 2f) dan bergoresan (Gambar 2g) dengan panjang antara 5.5–8.2 µm (Tabel 3), serta dijumpai ada klamidospora (Gambar 2h). Suhu partumbuhan maksimum ialah 42 °C.

Bahan yang diperiksa: oncom hitam, A Honggopertiwi. Provinsi Jawa Barat, Curug, 14 September 2017, AH12.



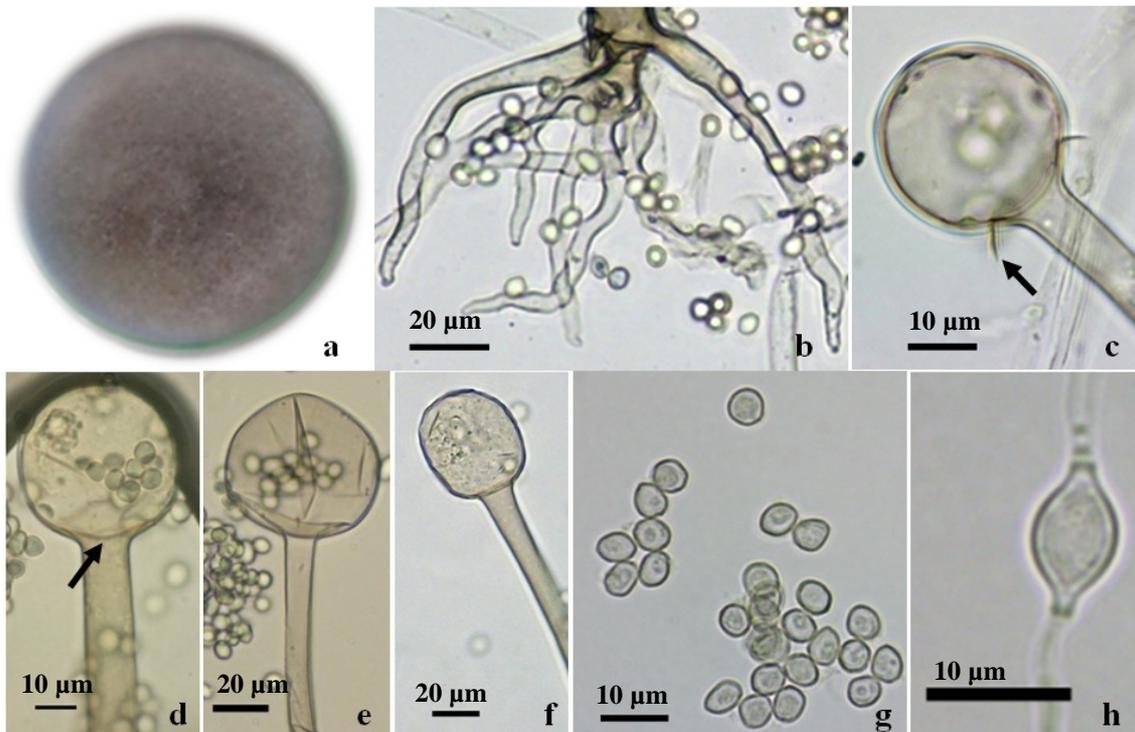
**Gambar 2** *Rhizopus arrhizus* var. *tonkinensis*: (a) Koloni berumur 3 hari pada 33 °C, (b) Rizoid bercabang (panah), (c) Sporangiofor bercabang (panah), (d) Sporangium membulat, (e) Kolumela bulat mengerucut, (f) Sporangiospora seragam, (g) Sporangiospora bergoresan, dan (h) Klamidospora.

***Rhizopus microsporus* var. *chinensis*** (Saito). Schipper-Stalpers. Stud. Mycol 25:31.1984.  
 = *Rhizopus chinensis* Saito. Zentbl. Bakt. ParasitKde, Abt.2,13:156.1904.  
 = *Rhizopus bovinus* F.J.II.Beyma, Verh. K. Ned. Akad. Wet., Scr. C, 29:38.1931

Warna koloni galur kapang ini putih yang kemudian menjadi abu-abu dan tinggi 3–5 mm pada medium ADK berumur 3 hari pada suhu 33 °C (Gambar 3a). Bentuk rizoid seperti jari dan sederhana (Gambar 3b). Sporangiofor tumbuh berlawanan dengan rizoid dengan panjang 123.8–951.5 µm (Tabel 2). Bentuk kolumela beragam, yaitu membulat dengan kerah (Gambar 3c), membulat dan tampak adanya apofisis (Gambar 3d), bulat mengerucut (Gambar 3e), atau bulat telur melonjong (Gambar 3f). Bentuk sporangiospora seragam dan tidak bergoresan (Gambar 3g) dengan panjang 4.5–7 µm (Tabel 3), serta terdapat klamidospora

(Gambar 3h). Suhu pertumbuhan maksimum galur AH3 ialah 46 °C dan 9 galur lainnya ialah 48°C.

Sampel yang diperiksa: oncom hitam, A Honggopertiwi. Provinsi DKI Jakarta: Jakarta Pusat, 21 Agustus 2017, AH; Jakarta Barat, 7 September 2017, AH3. Provinsi Jawa Barat: Bogor, 21 November 2017, AH1A, 21 November 2017, AH1B, 11 September 2017, AH4, dan 11 September 2017, AH6; Padalarang, 14 September 2017, AH10. Provinsi Jawa Timur: Malang, 25 Desember 2017, AH16, 25 Desember 2017, AH17, dan 25 Desember 2017, AH18.



**Gambar 3** *Rhizopus microsporus* var. *chinensis*: (a) Koloni berumur 3 hari pada suhu 33 °C, (b) Rizoid, (c) Kolumela membulat dengan kolar (panah), (d) Kolumela agak bulat dengan apofisis (panah), (e) Kolumela bulat mengerucut, (f) Kolumela bulat telur melonjong, (g) Sporangiospora seragam bentuknya, (h) Klamidospora.

### Pembahasan

Oncom berbahan dasar kacang tanah yang diperiksa berwarna abu-abu kehitaman dan terkadang abu-abu putih karena dipengaruhi oleh kapang yang tumbuh. Dalam penelitian ini *Rhizopus* pada oncom hitam diidentifikasi sebagai *R. arrhizus* var. *delemar*, *R. arrhizus* var. *tonkinensis*, dan *R. microsporus* var. *chinensis*. Saono *et al.*(1974) melaporkan *R. oryzae* terdapat pada oncom hitam asal Sukabumi, Jawa Barat, dan *R. oligosporus* pada oncom hitam asal Bogor, Jawa Barat.

Perlakuan suhu sangat penting dalam mengidentifikasi *Rhizopus* secara morfologi. Mengacu pada Zheng *et al.*(2007), *Rhizopus* dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok berdasarkan suhu pertumbuhan maksimum. Kelompok pertama yaitu *Rhizopus* yang memiliki suhu maksimum pertumbuhan 33 °C yaitu *R. americanus*, *R. sexualis*, *R. stolonifer* dan *R. reflexus*. Kelompok 2 yaitu *Rhizopus* yang memiliki pertumbuhan maksimum 42°C, meliputi *R. arrhizus* var. *arrhizus*, var. *delemar* dan var. *tonkinensis*. Kelompok ketiga yaitu *Rhizopus* yang memiliki pertumbuhan maksimum 51 °C, ialah *R. niveus*, *R. homotallicus*, *R. microsporus*, *R. caespitosus* dan *R. schipperae*. Oleh karena itu, perlakuan suhu penting dilakukan di awal identifikasi secara morfologi.

*Rhizopus arrhizus* var. *delemar* yang ditemukan pada oncom hitam asal Bogor, Jawa Barat ada dua galur. Zheng *et al.* (2007) menggunakan biakan koleksi *Rhizopus* galur CBS 385.34 yang diisolasi dari tempe Indonesia dan *Rhizopus* galur CBS 402.51 dari ragi Jepang. Keduanya diidentifikasi sebagai *R. arrhizus* var. *delemar*. Abe *et al.* (2007) menggunakan biakan yang sama dengan yang digunakan oleh Zheng *et al.* (2007) mengidentifikasi dengan pendekatan molekul rDNA-ITS, *ldhB*, EF-1 $\alpha$ , dan *act1*, dan menentukannya sebagai *R. delemar* karena menghasilkan asam malat-fumarat. Asam yang dihasilkan ini membuat oncom hitam memiliki rasa asam dan aroma yang khas. Oleh karena itu, *R. arrhizus* var. *delemar* merupakan sinonim dari *R. delemar*. Hartanti *et al.* (2015) melaporkan keberadaan *R. delemar* pada tempe Indonesia hanya terdapat di Palu, Sulawesi Tengah. Kapang *R. delemar* telah banyak dikonsumsi oleh orang Asia sebagai makanan fermentasi dan tidak ada efek samping pada hewan dan tanaman (Saito *et al.* 2004).

**Tabel 2** Morfologi galur *Rhizopus* dari oncom hitam

No	Kode Galur	Bentuk Rizoid	Sporangiospora		Panjang Sporangiofor ( $\mu\text{m}$ )	Bentuk Kolumela
			Bentuk	Panjang ( $\mu\text{m}$ )		
1	AH5	Seperti jari, sederhana	beragam	6.1–14.0	184.8–615.5	agak bulat
2	AH8	Seperti jari, sederhana	beragam	5.9–16.8	225.2–980.4	agak bulat
3	AH12	Seperti jari, sederhana	seragam	5.5–8.2	250.0–1271.0	bulat mengerucut
4	AH3	Seperti jari, sederhana	seragam	4.8–6.1	225.6–714.0	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
5	AH	seperti jari, sederhana	seragam	4.5–6.0	215.5–688.0	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
6	AH1A	seperti jari, sederhana	seragam	5.3–6.8	204.0–745.5	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
7	AH1B	seperti jari, sederhana	seragam	5.3–6.1	130.4–534.8	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
8	AH4	seperti jari, sederhana	seragam	4.5–6.0	134.4–841.2	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
9	AH6	seperti jari, sederhana	seragam	4.6–7.1	255.0–951.5	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
10	AH10	seperti jari, sederhana	seragam	5.1–7.0	125.4–485.0	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
11	AH16	seperti jari, sederhana	seragam	4.6–6.3	123.8–981.2	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
12	AH17	seperti jari, sederhana	seragam	4.5–6.2	173.7–666.6	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong
13	AH18	seperti jari, sederhana	seragam	4.5–6.6	166.0–355.0	membulat, agak bulat, bulat telur melonjong

Satu biakan yang diisolasi dari oncom hitam asal Curug, Jawa Barat merupakan *R. arrhizus* var. *tonkinensis*. Galur CBS 257.28 yang diisolasi dari Formosan China dan galur CBS 330.53 dari tanah Jepang dilaporkan sebagai *R. arrhizus* var. *tonkinensis* (Zheng *et al.* 2007). Abe *et al.* (2007) menggunakan biakan yang sama, yaitu galur CBS 257.28 dan galur CBS 330.53, dan mengidentifikasinya sebagai *R. oryzae* karena kedua galur tersebut menghasilkan asam laktat. Jadi, *R. arrhizus* var. *tonkinensis* merupakan sinonim dari *R. oryzae*.

Galur-galur yang ditemukan pada penelitian ini pernah ditemukan pada makanan fermentasi di Indonesia pada kurun waktu yang sudah cukup lama. Hal ini penting diteliti kembali, karena adanya komersialisasi ragi yang mendominasi dalam pembuatan tempe, sehingga perlu dikaji kembali biodiversitas *Rhizopus* yang digunakan dalam fermentasi makanan di Indonesia, dan dipreservasi. Galur-galur tersebut dapat digunakan sebagai alternatif untuk pengembangan makanan fermentasi Indonesia, dan jangan sampai punah karena adanya ragi komersial. Galur-galur tersebut juga pernah ditemukan di substrat lain

selain di bungkil kacang, yaitu di substrat tanah, daun yang telah gugur, di urin dari pasien yang kena mucormikosis, ataupun di udara (Zheng *et al.* 2007), namun belum ada yang melaporkan ada pada oncom hitam.

*Rhizopus delemar* dan *R. oryzae* dinyatakan sebagai satu grup yang sama, yaitu *R. oryzae* oleh Schipper & Stalpers (1984). Oda *et al.* (2002) mengelompokkan grup *R. oryzae* menjadi dua kelompok berdasarkan pada senyawa metabolit yang dihasilkan, yaitu asam laktat dan asam fumarat. Abe *et al.* (2003) menggunakan 69 biakan *R. oryzae* dengan pendekatan molekul rDNA ITS dan menyatakan terdapat dua kelompok *R. oryzae*, yaitu *R. oryzae* penghasil asam laktat dan *R. oryzae* penghasil asam malat-fumarat. Pada tahun 2007 Abe *et al.* mengusulkan *R. oryzae* yang menghasilkan asam malat-fumarat sebagai *R. delemar*, sesuai dengan nama pertama yang diberikan untuk galur penghasil asam malat-fumarat, yaitu *R. delemar* (Boidin) Wehmer & Hanzawa.

Selain ditinjau dari suhu pertumbuhan maksimum, *R. delemar* dan *R. oryzae* dapat dibedakan melalui pengamatan morfologi, *R. delemar* memiliki sporangiospora yang bervariasi dalam bentuk dan ukuran, serta memiliki pembengkakan pada sporangiofornya di bagian atas. Sedangkan *R. oryzae* memiliki sporangiospora yang seragam dalam bentuk dan ukurannya.

Sepuluh galur dari oncom hitam merupakan *R. microsporus* var. *chinensis*. Penyebaran spesies ini juga cukup luas di Pulau Jawa, mulai dari DKI Jakarta, Jawa Barat, dan Jawa Timur. Zheng *et al.* (2007) mengidentifikasi galur CBS 294.31 yang diisolasi dari janin sapi di Perancis dan galur CBS 631.82 dari koji Cina dan keduanya merupakan *R. microsporus* var. *chinensis*. Abe *et al.* (2010) dengan menggunakan pendekatan molekul dengan marka rDNA-ITS, *act1*, dan EF-1 $\alpha$ , menyatakan bahwa *R. microspores* belum dapat dikelompokkan dalam intra spesies. *R. microsporus* var. *chinensis* dapat menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase, glukamilase A, dan glukamilase B yang mampu memecah pati mentah (Li *et al.* 2010).

Dalam penelitian ini tidak diperoleh *R. microsporus* var. *oligosporus* yang selama ini lebih dikenal sebagai *R. oligosporus* pada tempe. Padahal *Rhizopus* tersebut sering terdapat pada tempe di berbagai daerah di Indonesia (Hartanti *et al.* 2015). Kemungkinan besar, inokulum yang dipakai sebagai starter dalam pembuatan oncom hitam tidak menggunakan laru tempe komersial yang banyak beredar di pasar, akan tetapi memakai laru turunan dari oncom hitam itu sendiri. Oncom dibuat tidak terlalu steril sehingga kemungkinan *Rhizopus* yang berperan dapat berasal dari lingkungan sekitarnya.

Pada penelitian ini belum dilakukan identifikasi secara molekuler, untuk itu selanjutnya perlu dilakukan identifikasi secara molekuler. Identifikasi berdasarkan morfologi dan suhu pertumbuhan ini masih dapat dikembangkan dengan menggunakan pendekatan lain, seperti pendekatan molekul dan identifikasi senyawa yang dihasilkan. Dolatabadi *et al.* (2014) menyatakan sering terjadi kegagalan dalam identifikasi varietas *R. microspores* dengan pendekatan molekul, seperti yang dilaporkan oleh Abe *et al.* (2006). Oleh karena itu, pendekatan morfologi, fisiologi, sistem kawin, MALDI-TOF, ITS, ACT, dan TEF, masih diperlukan.

Kapang oncom hitam berdasarkan pada pendekatan morfologi diidentifikasi sebagai *R. arrhizus* var. *delemar* (*R. delemar*), *R. arrhizus* var. *tonkinensis* (*R. oryzae*) dan *R. microsporus* var. *chinensis*. Ketiganya merupakan varietas *Rhizopus* yang belum pernah dilaporkan ada pada oncom hitam.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai melalui Hibah Fakultas Teknobiologi-Unika Atma Jaya atas nama Anastasia Tatik Hartanti dan Agustin Wydia Gunawan.

**Pustaka**

- Abe A, Sone T, Sujaya IN, Saito K, Oda Y, Asano K, Tomita F. 2003– rDNA ITS sequence of *Rhizopus oryzae*: its application to classification and identification of lactic acid producers. *Biosci Biotechnol Biochem.* 67(8), 1725–1731.
- Abe A, Oda Y, Asano K, Sone T. 2006– The molecular phylogenic of the genus *Rhizopus* base on rDNA sequences. *Biosci Biotechnol Biochem.* 70(10),2387–2393. doi: 10.1271/bbb.60101
- Abe A, Oda Y, Asano K, Sone T. 2007–*Rhizopus delemar* is the proper name for fumaric malic acid producers. *Mycologia.* 99, 714–722.
- Abe A, Asano K, Sone T. 2010–A molecular phylogeny-based taxonomy of the genus *Rhizopus*. *BiosciBiotechnolBiochem.* 74(7), 1325–1331. doi.org/10.1 271/bbb.90718
- Dolatabadi S, Walther G, Gerrits van den Ende AHG, de Hoog GS. 2014–Diversity and delimitation of *Rhizopus microsporus*. *Fungal Divers* 64, 145–163. doi: 10.1007/s13225-013-0229-6
- Hartanti AT, Rahayu G, Hidayat I. 2015–*Rhizopus* species from fresh tempeh collected from several regions in Indonesia. *Hayati J Biosci.* 22, 136–142.
- Li YN, Shi GY, Wang W, Wang ZX. 2010–A newly isolated *Rhizopus microsporus* var. *chinensis* capable of secreting amyolytic enzymes with raw-starch-degesting activity. *Microbiol Biotechnol.* 20(2),383–390. doi: 10.4014/jmb.0 907.07025
- Oda Y, Saito K, Yamauchi H, Mori M. 2002–Lactic acid fermentation of potato pulp by the fungus *Rhizopus oryzae*. *Curr Microbiol.* 45, 1–4. doi: 10.1007/s00284-001-0048-y
- Riddle RW. 1950–Permanent strained mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia.*42, 265–270.
- Saito K, Abe A, Sujaya IN, Sone T, Oda Y. 2004–Comparison of *Amylomyces rouxii* and *Rhizopus oryzae* in lactic acid fermentation of potato pulp. *Food Sci Technol Res.* 10 (2), 224–226.
- Saono S, Gandjar I, Basuki T, Karsono H. 1974–Mycoflora of “ragi” and some other traditional fermented foods of Indonesia. *Ann Bogor.* 5 (4),187–196.
- Schipper MAA, Stalpers JA. 1984–A revision of the genus *Rhizopus*. 2. the *Rhizopus microsporus* group. *Stud Mycol.* 25, 20–34.
- Slamet DS, Tarwotjo I. 1971–Kadar zat gizi dalam ontjom. *Nutr Food Res.*1, 49–52.
- Zheng RY, Chen GQ, Huang H, Liu XY. 2007–A monograph of *Rhizopus*. *Sydowia.* 59 (2), 273–372.