

Growth of *Trichoderma asperellum* with the Addition of Paraffin to Corn-Based Medium

Pertumbuhan *Trichoderma asperellum* dengan Penambahan Parafin pada Medium Berbahan Dasar Jagung

Mariyah Ulfa¹, Azwir Anhar^{1*}, Violita¹, Vauzia¹

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: azwiranhar@fmipa.unp.ac.id

Abstract

Biofertilisers are organic fertilisers that contain microorganisms, which can be single or a combination of several types called a consortium. Biofertilisers can come from the Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) groups. One of the PGPFs that has been reported so far is *Trichoderma*. *Trichoderma* can improve plant growth and development such as seed germination, height of rice seedlings. So far, the medium for *Trichoderma* growth in the laboratory is PDA. In addition, there are several other mediums that can be used and one of them is corn. Corn is an alternative medium that contains nutrients and supports the growth of *Trichoderma*, however the shelf life of corn medium is still limited. This study aims to determine the effect of paraffin on the number of spores and shelf life of *Trichoderma asperellum* in corn-based liquid medium. This research is an experimental research. The design of this study was a completely randomised design (CRD) with 6 treatments and 5 replicates. The treatments were the addition of 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% paraffin concentration. Data in the form of the number of spores of each concentration at a shelf life of 45 days were analysed using ANOVA at the 5% level and further test with DNMRT. The results showed that the average number of spores ranged from 2.16×10^6 /mL to 7.44×10^6 /mL. The highest average spore count was found at 40% concentration. Based on data analysis, paraffin concentration on corn-based media affects the number of *Trichoderma asperellum* spores and its shelf life.

Keywords: *Trichoderma*, Corn, Paraffin

Abstrak

Biofertilizer merupakan pupuk organik yang mengandung mikroorganisme yang keberadaannya bisa tunggal atau berupa gabungan beberapa jenis yang disebut dengan konsorsium. Biofertilizer dapat berasal dari kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dan *Plant Growth Promoting Fungi* (PGPF). Salah satu PGPF yang telah dilaporkan sejauh ini adalah *Trichoderma*. *Trichoderma* dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman seperti daya kecambah benih, tinggi bibit tanaman padi. Selama ini medium untuk pertumbuhan *Trichoderma* di Laboratorium adalah PDA. Di samping itu ada beberapa medium lainnya yang dapat digunakan dan salah satunya adalah Jagung. Jagung merupakan medium alternatif yang mengandung nutrisi dan mendukung pertumbuhan *Trichoderma*, meskipun demikian daya simpan pada medium jagung masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian parafin terhadap jumlah spora dan lama simpan *Trichoderma asperellum* pada medium cair berbahan dasar jagung. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah penambahan konsentrasi parafin 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Data berupa jumlah spora masing-masing konsentrasi pada umur simpan 45 hari yang dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf 5% dan uji lanjut dengan DNMRT. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah spora berkisar sekitar $2,16 \times 10^6$ /mL hingga $7,44 \times 10^6$ /mL. Rata-rata spora tertinggi terdapat pada konsentrasi 40%. Berdasarkan analisis data, pemberian konsentrasi parafin pada media berbahan dasar jagung mempengaruhi jumlah spora *Trichoderma asperellum* dan lama simpannya.

Kata Kunci : *Trichoderma*, Jagung, Parafin

Pendahuluan

Biofertilizer adalah pupuk yang mengandung mikroorganisme yang keberadaannya bisa tunggal atau berupa gabungan beberapa jenis yang disebut dengan konsorsium (Kumawat *et al.*, 2017). Biofertilizer dapat berasal dari kelompok PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dan PGPF (*Plant Growth Promoting Fungi*). PGPR terdiri atas genus *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Bacterium*, *Mycobacterium* dan *Pseudomonas* (Situngkir *et al.*, 2021). Beberapa PGPF yang telah dilaporkan sejauh ini berasal dari genus *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* dan *Trichoderma* (Habtuti, 2018).

Trichoderma spp. merupakan mikroorganisme tanah yang menguntungkan tanaman (Gusnawaty *et al.*, 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Trichoderma* sp mampu meningkatkan penyerapan hara pada tomat (Singh *et al.*, 2014), perkecambahan benih, indeks vigor, dan pertumbuhan bibit padi sawah (Anhar *et al.*, 2018). Pemberian *Trichoderma* sp menunjukkan pertumbuhan dan presentase benih padi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Atika & Anhar, 2021). Kumawat *et al.*, (2017) melaporkan *Trichoderma* dapat memacu pertumbuhan tanaman, menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan menghambat pertumbuhan penyakit tanaman.

Dalam perbanyakan *Trichoderma* di laboratorium, umumnya digunakan media sintetik PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Rizal *et al.*, 1984). Untuk aplikasi di lapangan dan dalam skala luas penggunaan PDA sebagai media perbanyakan *Trichoderma* dinilai kurang praktis karena biaya yang relatif mahal. Oleh karena itu diperlukan media alternatif yang relatif murah dan mudah didapat.

Berdasarkan penelitian Uruilal *et al.*, (2012), berbagai macam media alternatif seperti kacang hijau, serbuk gergaji, dedak dan jagung dapat digunakan sebagai media perbanyakan mikroorganisme. Advinda (2014) menggunakan tapioka dan tepung beras sebagai bahan pembawa untuk media penyimpanan mikroorganisme. Bahan-bahan tersebut mengandung nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Jagung mengandung nutrisi berupa karbohidrat, protein, vitamin, kalsium, potasium, sodium, magnesium, komponen minyak atsiri, dan beberapa mengandung komponen steroid seperti stigmasterol dan sitosterol. Jagung memiliki perbandingan karbon dan nitrogen yang cukup untuk pertumbuhan mikroorganisme, sehingga *Trichoderma* masih bisa berkembang biak dengan subur pada media tersebut (Hasanudin *et al.*, 2012; Zilic *et al.*, 2016). Unsur karbon berpengaruh dalam proses pertumbuhan dan perbanyakan sel, sedangkan nitrogen berpengaruh dalam proses sintesis protein. Apabila kandungan unsur nitrogen dan karbon yang didapatkan seimbang maka kemampuan sporulasi akan meningkat. (Chatri *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian Widagdo (2012), *Trichoderma* sp pada perlakuan media perbanyakan jagung memiliki umur simpan selama 42 hari. Semakin lama waktu penyimpanan dimungkinkan kemampuan perkecambahan konidia *Trichoderma* akan tetap atau mengalami penurunan. Karena umur simpan pada medium jagung masih terbatas, diperlukan suatu bahan yang dapat meningkatkan umur simpan dan mempertahankan spora *Trichoderma*.

Penyimpanan mikroorganisme dapat dilakukan dalam minyak mineral, parafin cair, tanah steril, akuades steril, manik-manik poreselin, lempengan gelatin, dan P205 dalam keadaan vakum (Skerman, 1973). Advinda *et al.*, (2014,) menggunakan gliserol karena gliserol memiliki sifat sebagai pelembab dan emulsifier yang baik. Berdasarkan penelitian Machmud (2001), penggunaan parafin cair pada penyimpanan mikroorganisme merupakan teknik penyimpanan untuk mempertahankan viabilitasnya dan mencegah pengeringan medium. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian parafin terhadap jumlah spora dan lama simpan *Trichoderma asperellum* pada medium cair berbahan dasar jagung. Maka dari itu dilakukan penelitian mengenai Pertumbuhan *Trichoderma asperellum* dengan Penambahan Parafin pada Medium Berbahan Dasar Jagung.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan bulan Juni sampai November 2023 di Laboratorium Penelitian dan Biologi Umum Departemen Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *petridish*, tabung reaksi, *autoclave*, *erlenmeyer*, *beaker glass*, batang pengaduk, *hot plate*, *magnetic stirrer*, ose, *haemocytometer*, mikroskop, *vortex*, kaca objek, kaca penutup, pipet tetes dan mikropipet. Bahan yang digunakan adalah bubuk PDA, isolat *Trichoderma asperellum* koleksi Bapak Febri Doni, Ph.D, tepung jagung, parafin cair, aseton, minyak tanah, alkohol 70%, bunsen dan spiritus, aquades steril, kapas, tisu, kasa, plastik wrap dan *aluminium foil*.

Pembuatan medium PDA

Sebanyak 29,25 gram bubuk PDA ditimbang dan dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 1000 mL. Selanjutnya tambahkan aquades hingga 750 mL dan panaskan di atas *hot plate* hingga mendidih sambil di aduk agar homogen. Setelah medium dingin selanjutnya sterilisasi medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Setelah sterilisasi selesai medium PDA dituang secara aseptik kedalam *petridish* kurang lebih 10 mL pada *Laminar Air Flow*. Medium di inkubasi pada suhu ruang di tempat yang telah steril dengan posisi terbalik selama 2-3 hari untuk melihat ada atau tidaknya kontaminasi.

Peremajaan Isolat

Peremajaan dilakukan dengan menggunakan medium PDA. Biakan isolat *Trichoderma asperellum* dipotong secara aseptik membentuk persegi kurang lebih 0,5 cm menggunakan ose. Selanjutnya potongan tersebut dipindahkan ke medium PDA. Isolat yang telah diremajakan diinkubasi di suhu ruang selama 4-7 hari.

Pembuatan Formulasi

Biji Jagung digiling untuk dijadikan tepung sebagai bahan dasar formulasi. Sebanyak 300 gr tepung jagung dimasukkan dalam *beaker glass* dan selanjutnya ditambahkan aquades hingga 900 mL. Tepung jagung dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih dan di homogenkan. Setelah dingin tepung jagung disaring untuk mendapatkan ekstraknya. Selanjutnya ekstrak tepung jagung dimasukkan sebanyak 10 mL ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi yang telah berisi ekstrak tepung jagung di sterilisasi dalam *autoclave* dan setelahnya diinkubasi pada suhu ruang selama 2-3 hari.

Penambahan Isolat

Setelah isolat tumbuh dengan baik yang ditandai dengan miselium berwarna hijau dan memadat, isolat di ambil sebanyak 30 ose dan dimasukkan ke dalam 150 mL aquades steril pada *erlenmeyer*. Isolat dihomogenkan di atas *hot plate* menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, jumlah kerapatan spora isolat dihitung menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop. Selanjutnya isolat dimasukkan ke dalam medium tepung jagung sebanyak 1 mL atau 1000 µL menggunakan mikropipet. Medium diinkubasi pada suhu ruang selama 3-7 hari untuk melihat perkembangan isolat dan melihat ada atau tidaknya kontaminasi.

Penambahan Konsentrasi

Selanjutnya penambahan konsentrasi pada medium tepung jagung sesuai perlakuan yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Konsentrasi pada masing-masing medium diberikan sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet. Selanjutnya medium diinkubasi pada suhu ruang selama 45 hari.

Pengamatan

Masing-masing formulasi *Trichoderma* diamati selama 45 hari kemudian dihitung jumlah kerapatan sporanya. Jumlah spora dihitung dengan cara sebanyak 1 ose *Trichoderma asperellum* pada formulasi disetiap perlakuan dilarutkan dalam 10 mL aquades steril kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Jumlah spora dihitung menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop.

Analisis Data

Data rata-rata jumlah spora dianalisis menggunakan aplikasi *SPSS (Statistical Package for the Social Sciences)* dengan *Analysis of Variance (ANOVA)* pada taraf 5%. Jika hasil yang didapatkan berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut menggunakan *DNMRT (Duncan's Multiple Range Test)*.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, jumlah spora berkisar $2,16 \times 10^6$ m/L hingga $7,44 \times 10^6$ m/L seperti yang dapat dilihat pada tabel 1. Hasil analisis menggunakan ANOVA membuktikan bahwa pemberian konsentrasi parafin berpengaruh terhadap jumlah spora *T. asperellum*.

Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi Parafin Terhadap Jumlah Spora *Trichoderma asperellum* pada umur 45 hari

No.	Perlakuan	Rata-Rata Jumlah Spora dalam 1 m/L
1.	0% (Kontrol)	$3,67 \times 10^6$ a
2.	20%	$3,13 \times 10^6$ a
3.	40%	$7,44 \times 10^6$ b
4.	60%	$4,09 \times 10^6$ a
5.	80%	$4,2 \times 10^6$ a
6.	100%	$2,16 \times 10^6$ a

Keterangan: Perlakuan yang diikuti notasi huruf kecil yang sama artinya tidak berbeda nyata berdasarkan DNMRT 5%.

Pada tabel 1. terlihat konsentrasi 40% memperlihatkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol, konsentrasi 100%, 20%, 60% dan 80%. Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B. Rata-rata spora *Trichoderma asperellum* pada media berbahan dasar jagung berkisar sekitar $2,16 \times 10^6$ /mL sampai $7,44 \times 10^6$ /mL pada umur 45 hari. Rata-rata jumlah spora tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi 40% yaitu $7,44 \times 10^6$ /mL. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi parafin 40 % berpengaruh terhadap pertumbuhan *Trichoderma asperellum* ditandai dengan jumlah spora yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dapat terjadi karena setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian parafin, dapat dilihat bahwa konsentrasi 40% adalah konsentrasi yang optimal untuk pertumbuhan *T. asperellum* pada medium berbahan dasar jagung.

Berdasarkan penelitian Widagdo (2012), *Trichoderma* sp pada perlakuan media perbanyak jagung memiliki umur simpan selama 42 hari, sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan setiap perlakuan memiliki umur simpan yang sama yaitu mencapai umur lebih dari 45 hari. Meskipun kontrol dan pemberian konsentrasi memiliki umur simpan yang sama, jumlah spora pada perlakuan yang diberikan konsentrasi lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol. Kondisi spora pada medium yang diberikan penambahan parafin lebih baik dibandingkan kontrol, ditandai dengan medium dengan perlakuan kontrol tampak kering dan medium dengan penambahan konsentrasi dalam keadaan lembab seperti yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Biakan *Trichoderma*

asperellum pada medium berbahan
dasar jagung

Kandungan nutrisi jagung tiap 100 gram terdiri dari energi 90 kkal (360 kJ), karbohidrat (19g), gula (3,2 g), lemak (1,2g), protein (3,2g), asam folat (12%), besi 0,5 mg (4%), magnesium 37 mg (10%), kalium 270 mg (6%) (Syukur & Rifianto 2013), vitamin B1 0,15 mg, vitamin A 400 UI, vitamin C 12 mg (Auliah *et al.*, 2012). Jagung banyak menyediakan nutrisi berupa makroelemen, mikroelemen, dan *assesory nutrient*. Makroelemen yang terdapat pada jagung manis adalah seperti unsur karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, fosfor, kalium, magnesium, dan besi digunakan oleh mikroorganisme untuk pembentukan karbohidrat, lemak, protein, dan asam nukleat. Kalium digunakan oleh sejumlah enzim yang dihasilkan mikroorganisme untuk mensintesis protein. Mikroelemen sendiri kadang merupakan bagian dari suatu enzim atau kofaktor yang membentuk katalis dan protein, sedangkan *assesory nutrient* (termasuk vitamin dan asam amino) merupakan bagian yang diperlukan oleh sel mikroorganisme namun tidak dapat disintesis oleh sel tersebut (Yulianto *et al.* 2021).

Meskipun jagung memiliki kandungan nutrisi yang banyak, nutrisi yang terdapat pada jagung masih terbatas untuk pertumbuhan *Trichoderma*. Kandungan nutrisi pada jagung diduga masih belum cukup untuk meningkatkan dan mempertahankan jumlah spora *Trichoderma* agar umur simpannya lebih lama. Hal ini dapat terjadi karena medium yang mulai mengering dan nutrisi yang disumbangkan mulai menurun. Berdasarkan penelitian Muljowati & Purnomowati (2010), karena penurunan nutrisi dimungkinkan semua sel mikroorganisme akan mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan. Maka dari itu dibutuhkan suatu bahan yang dapat menjaga viabilitas spora *Trichoderma* agar sporanya dapat dipertahankan dan umur simpannya lebih lama. Salah satu dari bahan yang dapat menjaga viabilitas spora dan medium adalah parafin karena dapat memberi kelembaban pada medium (Machmud, 2001).

Parafin merupakan hidrokarbon yang memiliki rumus C_nH_{2n+2} yang dapat berbentuk gas dan tidak berwarna, berbentuk cairan putih sampai ke bentuk padat dengan titik cair rendah. Minyak mineral ini berfungsi sebagai bahan penutup dalam biakan mikroba yang dikulturkan dalam media. Fungsi dari minyak mineral adalah untuk menjaga kelembaban dari medium agar tidak mengering sehingga viabilitas mikroba dapat tetap terjaga dan proses peremajaan kultur mikroba dapat diperpanjang (Asril *et al.*, 2023). Berdasarkan penelitian Maya *et al.*, (2018) penambahan minyak parafin dilaporkan mampu mempertahankan viabilitas spora maksimal menjadi $31,2 \times 10^5$ CFU/mL, sehingga mampu meningkatkan umur simpan *Trichoderma viridae*. Pada penelitian Reddy *et al.*, (2017), minyak parafin menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi pada *Trichoderma harzianum* dengan 20×10^7 CFU/mL pada hari ke-56.

Parafin cair juga merupakan salah satu sumber karbon bagi mikroba. *T. asperellum* merupakan salah satu mikroba yang memegang peranan penting dalam pendegradasian hidrokarbon. Mikroba yang mampu mendegradasi senyawa yang terdapat di dalam minyak bumi disebut mikroba hidrokarbonoklastik (Lasari, 2010). Mikroba ini mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dengan memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber karbon dan energi yang diperlukan bagi pertumbuhannya.

Selain karena semakin lama waktu penyimpanan, jumlah spora dapat mengalami penurunan diduga karena keadaan medium dan tempat penyimpanannya. Pada penelitian ini, penyimpanan dilakukan pada suhu ruang. Berdasarkan penelitian Machmud (2001), mikroorganisme yang disimpan menggunakan parafin cair dapat bertahan sampai 20 tahun apabila disimpan pada suhu 4°C.

Daftar Pustaka

- Advinda, L. 2014. *B -08 Pseudomonad Fluorescent Preservation Using Tapioca and Rice Flour Carrier and the Addition of. May*, 18–20.
- Advinda, L., Fifendy, M., Rahmadeni, Y. 2014. Potensi Pseudomonad Isolat CAS3 pada beberapa Formula dengan Penambahan Stabilizer Gliserol dalam Mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara Invitro. *Jurnal Saintek*, 6(2) : 102-109.
- Anhar, A., Advinda, L., Irdawati, & Syahputra, M. H. 2018. Germination responses of local lowland rice variety Sirandah Kuning to application of some *Trichoderma* strain. *Journal of Physics: Conference Series*,

1116(5). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1116/5/052006>

- Atika, V., & Anhar, A. 2021. The Respond of Local's Paddy (*Oryza sativa* L.) Batang Sungkai to The Germination Percentage by Vary of *Trichoderma* spp. *Prosding Seminar Nasional Biologi*, 1547–1551.
- Auliah, A. (2012). Formulasi Kombinasi Tepung Sagu dan Jagung pada Pembuatan Mie. *Jurnal Chemica*, 13(2), 33–38.
- Asril, M., Lestari, W., Basuki, B., Fahyu, M. S., Firgiyanto, R., Manguntungi, B., Sudewi, S., Kharisma, M. S., Paulina, M., & Rewini, W. K. 2023. Mikroorganisme Pelarut Fosfat pada Pertanian Berkelanjutan.
- Chatri, M., Handayani D., & Septiani, J.A. 2018. Influence of Media (Mixture of Rice and Sugar Cane) on *Trichoderma harzianum* Grow and its Resistence to *Fusarium oxysporum* by In Vitro. *Bioscience*, 2 (1) :50–60.
- Gusnawaty, H., Taufik, M., Triana, L., & Asniah. 2014. Karakterisasi Morfologis *Trichoderma* spp. Indigenus Sulawesi Tenggara. *Jurnal Agroteknos*, 4(2), 88–94.
- Habtuti, N. 2018. Potensi Jamur Endofit Sebagai Planth Growth Promoting Fungi (Pgpf) Terhadap Pertumbuhan Bibit Single Bud Set Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) (*Doctoral dissertation*, Universitas Brawijaya).
- Hasanudin, K., Hashim, P., & Mustafa, S. 2012. Corn silk (*Stigma Maydis*) in healthcare: A phytochemical and pharmacologica lreview. *Molecules*, 17(8), 9697–9715. <https://doi.org/10.3390/molecules17089697>
- Kumawat, Narendra. 2017. Role of Biofertilizers in Agriculture. *Popular kheti*. 5. 63–66.
- Machmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikrobiologi. *Jurnal Tinjauan Ilmiah Riset Biologi Dan Bioteknologi Pertanian*, 4(2), 24–32.
- Maya, N., Guldekar, D. D., Potdukhe, S. R., & Parbat, J. M. 2018. *Assessment of Shelf Life of Trichoderma viride on Different Liquid Formulations*. 6, 2575–2579.
- Muljowati S., J., & Purnomowati. 2010. Pengaruh kombinasi jenis bahan pembawa dan lama simpan yang berbeda terhadap produksi palet biofungisida *Trichoderma harzianum*. *Biosfera J.*, 27(1), 22–29.
- Reddy, D. S., Haritha, N., & Latha, M. P. 2017. Antagonistic Activity and Shelf Life Study of *Trichoderma harzianum* (Rifai). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(7), 2611–2615. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.308>
- Rizal, S., & Dewi Novianti, M. S. 1984. Pengaruh Jamur *Trichoderma* Sp Terhadap Pertumbuhan Tanaman Tomat. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 67(6), 1044–1052.
- Singh, S. P., Singh, H. B., Singh, D. K., & Rakshit, A. 2014. *Trichoderma*-mediated enhancement of nutrient uptake and reduction in incidence of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Egyptian Journal of Biology*, 16(1), 29. <https://doi.org/10.4314/ejb.v16i1.4>
- Situngkir, N. C., Sudana, I. M., & Singarsa, I. D. P. 2021. Pengaruh Jenis Bakteri PGPR dalam Beberapa Jenis Media Pembawa untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Ketahanan Tanaman Padi Beras Merah Lokal Jatiluwih terhadap Penyakit. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 10(2), 233. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/JAT>.
- Skerman, V.B.D. 1973. The Organization of a Small General Culture Collection. In Pestana de Castro, A.F., E.J. Da Silva, V.B.D. Skerman, and W.W. Leveritt (Eds.). *Proceedings of the Second International Conference on Culture Collections*. Brisbane: Unesco/UNEP/ICRO/WFCC/Word Data Center for Microorganisms.
- Urulal, C., Kalay, A. M., Kaya, E., & Siregar, A. 2018. Pemanfaatan Kompos Ela Sagu, Sekam Dan Dedak Sebagai Media Perbanyak Agens Hayati *Trichoderma harzianum* Rifai. *Agrologia*, 1(1). <https://doi.org/10.30598/a.v1i1.295>.
- Widagdo, C. (2012). Pengujian Efektivitas *Trichoderma* Sp Pada Berbagai Media Perbanyak dan Lama Penyimpanan Terhadap Penyakit Lanas Tembakau. *Skripsi*.
- Yulianto Ade, P. 2021. Formulasi Jagung Manis Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Meditori Jurnal Laboratorium Medis*, 9 (2), 103–109.