

VIABILITAS *TRICHODERMA HARZIANUM* PADA BEBERAPA BAHAN PEMBAWA DAN LAMA WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA

Terry Ayu Adriany¹, Aris Mumpuni², Uki Dwi Putranto³, Nurrobifahmi⁴

¹ Balai Penelitian Lingkungan Pertanian
Kementerian Pertanian, Pati, Jawa tengah

²⁻³ Universitas Jenderal Soedirman 53122 Purwokerto

⁴ Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiaai-BATAN

ABSTRAK

VIABILITAS *TRICHODERMA HARZIANUM* PADA BEBERAPA BAHAN PEMBAWA DAN LAMA WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA. Penelitian ini bertujuan untuk menguji perbedaan viabilitas trichoderma harzianum, serta mengetahui jenis bahan pembawa dan waktu penyimpanan berapa lama yang menghasilkan konidia tertinggi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama adalah jenis bahan pembawa yaitu tepung tapioka, tepung ketan putih, dan tepung jagung yang masing-masing jenis bahan tersebut diinokulasikan 10^8 konidia/ml trichoderma harzianum. Faktor kedua adalah lama waktu penyimpanan pelet trichoderma harzianum dengan lima taraf yaitu 0 minggu, 3 minggu, 6 minggu, 9 minggu dan 12 minggu. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan. Hasil analisis menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara jenis bahan pembawa dengan lama waktu penyimpanan pelet yang memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap viabilitas trichoderma harzianum. Jenis bahan pembawa tepung ketan putih dengan lama waktu penyimpanan pelet selama 12 minggu menghasilkan rata-rata persentase perkecambahan konidia (viabilitas) *T. harzianum* tertinggi yaitu sebesar 73,861%.

Kata kunci : Viabilitas, pelet *Trichoderma harzianum*, bahan pembawa, lama waktu penyimpanan

ABSTRACT

TRICHODERMA HARZIANUM VIABILITY ON SOME CARRIER MATERIAL AND DIFFERENT STORAGE PERIOD. The aim of this research was to find out the difference of *Trichoderma harzianum* viability as well as to know the kind of carrier material and the period of storage to produce the highest konidia. The experiment was designed with a Completely Randomized Design (CRD). The first factor was the type of carrier materials which consist of tapioca, glutinous rice flour, cornstarch, white that each kind of material inoculated by 10^8 conidia/ml of trichoderma harzianum. The second factor was the storage period of trichoderma harzianum pellets in five stages namely 0 weeks, 3 weeks, 6 weeks, 9 weeks and 12 weeks of them is repeated 3 times. Results of the analysis showed that there is an interaction between the carrier material types with storage period of pellets that gave a very real influence on *t. harzianum* viability. Types carrier materials of white glutinous flour with the carrier for storage period of pellets for 12 weeks produced the highest average percentage of germination konidia (viability) trichoderma harzianum namely 73,861%.

Keywords: *Trichoderma harzianum* Viability, pellets, carriers, storage period

PENDAHULUAN

Jamur *Trichoderma* merupakan salah satu jamur antagonis yang digunakan sebagai agen biokontrol karena memiliki kemampuan untuk menekan perkecambahan atau pertumbuhan patogen melalui kompetisi, antibiosis dan mikoparasitisme jamur patogen tular tanah. Salah satu spesies *Trichoderma* yang sudah banyak dikembangkan yaitu *Trichoderma harzianum*. Jamur ini banyak diproduksi secara komersial dalam berbagai bentuk dan kemasan untuk mengendalikan perkembangan jamur patogen tular tanah (Perez dan Roco, 2001) dan digunakan dalam pengendalian beberapa patogen tular tanah seperti *Fusarium oxysporum* f.sp. *zingiberi* (Prabowo *et al.*, 2006), *Phytophthora capsici* (Quimio dan Noveriza, 2004; Helseond, 2012), *Pythium aphanidermatum* (Jayarad *et al.*, 2006), *Rhizoctonia solani* (Almeida *et al.*, 2006), *Aspergillus flavus* (Dharmaputra *et al.*, 2003).

Kemampuan hidup atau viabilitas jamur *T. harzianum* dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu antara lain kondisi lingkungan tempat hidupnya. Kondisi lingkungan ini terdiri dari faktor biotik yaitu organisme kompetitor lain dan faktor abiotik yaitu nutrisi, suhu, kelembaban, pH (derajat keasaman) dan adanya senyawa-senyawa yang mempengaruhi pertumbuhan. Jamur *Trichoderma* dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan dapat bertahan hidup dengan membentuk struktur bertahan yaitu kladospora (Gandjar, 1999).

Formulasi dan produksi massal jamur *Trichoderma* diperlukan untuk mengetahui media yang sesuai, harga relatif murah, stabil dan mudah tersedia dengan dalam waktu singkat (Simon dan Anamika, 2011). Salah satu contoh bahan tersebut dapat berupa tepung. Tepung merupakan bahan yang memiliki butiran yang halus sehingga konidia dan miselium jamur dapat memperoleh nutrisi dan tumbuh dengan baik. Jenis tepung yang mengandung pati tinggi yaitu tepung tapoika, ketan putih dan jagung. Selain jenis bahan pembawa yang sesuai untuk pertumbuhan jamur *Trichoderma*, harus diperhatikan pula formulasi atau bentuk pengemasan agen biokontrol. Beberapa formulasi jamur dengan menggunakan berbagai bentuk dan bahan pembawa serta teknologi penginkulasian terbukti mampu mempertahankan kemampuan hidup atau viabilitasnya dalam masa penyimpanan yang cukup lama.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Mikologi dan Fitopatologi Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman pada bulan Juni sampai September 2008. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung tapioka, tepung ketan putih, tepung jagung, isolat *T. harzianum*, tepung bawang putih, media PDA (Potato Dextrose Agar), spiritus, akuades, dan alkohol 70%, cawan petri, tabung reaksi, pipet ukur, termohigrometer, pH-meter, gelas ukur, erlenmeyer, pinset, jarum ose, bor gabus, haemocytometer, cover glass, beaker glass, pipet tetes, mortar, pestle, membran selofan, mikroskop binokuler, kertas tissue, kapas, kantong plastik, saringan berseri 150 μm , spatula, aluminium foil, magnetic stirrer, Laminar Air Flow (LAF), autoklaf, lampu spiritus, desikator bersilika gel, timbangan analitik dan oven.

Penelitian ini menggunakan metode percobaan rancangan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor pertama adalah jenis bahan pembawa (T) yaitu tepung tapioka (TT), tepung ketan putih (TK), dan tepung jagung (TM). Faktor kedua adalah lama waktu penyimpanan pelet (S) dengan lima taraf yaitu 0 minggu (S0), 3 minggu (S3), 6 minggu (S6), 9 minggu (S9), 12 minggu (S12). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan, sehingga diperoleh 45 unit percobaan. Adapun perlakuan dari masing-masing faktor sebagai berikut :

Tabel 1. Kode dan Keterangan Perlakuan

NO	Kode	Keterangan
1	TTS0	Tepung tapioka waktu penyimpanan 0 minggu.
2	TTS3	Tepung tapioka waktu penyimpanan 3 minggu.
3	TTS6	Tepung tapioka waktu penyimpanan 6 minggu.
4	TTS9	Tepung tapioka waktu penyimpanan 6 minggu.
5	TTS12	Tepung tapioka waktu penyimpanan 12 minggu.
6	TKS0	Tepung ketan waktu penyimpanan 0 minggu.
7	TKS3	Tepung ketan waktu penyimpanan 3 minggu.
8	TKS6	Tepung ketan waktu penyimpanan 6 minggu.
9	TKS9	Tepung tapioka waktu penyimpanan 9 minggu.
10	TKS12	Tepung ketan waktu penyimpanan 12 minggu.
11	TMS0	Tepung Jagung waktu penyimpanan 0 minggu.
12	TMS3	Tepung jagung waktu penyimpanan 3 minggu.
13	TMS6	Tepung jagung waktu penyimpanan 6 minggu.
14	TMS9	Tepung jagung waktu penyimpanan 9 minggu.
15	TMS12	Tepung jagung waktu penyimpanan 12 minggu.

Persiapan penelitian yang dilakukan meliputi:

1. Pembuatan media PDA.

Pembuatan media PDA dengan pH 6, pengayakan tepung sebagai bahan pembawa dan sterilisasi alat yang digunakan.

2. Pembuatan Inokulum.

Satu plug *T. harzianum* berdiameter 1 cm diinokulasikan ke dalam media PDA yang berlapiskan membran selofan di atasnya, kemudian diinkubasi selama 3-5 hari atau dihentikan apabila koloni jamur telah memenuhi cawan petri.

3. Pemanenan konidia.

Pemanenan konidia dengan cara memindahkan membran selofan ke dalam cawan petri baru. Pengenceran dilakukan sebanyak 6 kali pengenceran. Jumlah konidia pada pengenceran terakhir dihitung menggunakan *haemocytometer* dengan bantuan mikroskop binokuler dengan rata-rata hasil penghitungan 10^8 konidia/ml.

4. Pembuatan dan Penyimpanan Pelet (Salamiah *et al.*, 2003).

Tepung tapioka, tepung ketan putih dan tepung jagung ditimbang sebanyak 100 g. Tepung masing-masing dimasukkan 5 g tepung bawang putih (sebagai antibiotik) dan tepung dibungkus dengan *aluminium foil*, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Setelah suhu turun, 100 g dimasukkan dalam cawan petri besar berdiameter 14 cm kemudian ditambahkan 60 ml akuades steril untuk tepung ketan putih dan 40 ml akuades steril masing-masing untuk tepung tapioka dan tepung jagung, sampai terbentuk adonan tepung yang tidak lengket di tangan. Suspensi *T. harzianum* dengan konsentrasi 10^8 konidia/ml sebanyak 20 ml dimasukkan ke dalam masing-masing tepung, kemudian dihomogenkan agar konidia tersebar merata dalam media. Masing-masing tepung dipadatkan sampai ketebalan 1 cm dan dibor (dibentuk) dengan bor gabus hingga membentuk pelet berdiameter 1 cm. Butiran pelet kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 40°C selama 24 jam. Pelet *T. harzianum* yang telah kering dibungkus menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi dalam desikator yang diberi silika gel dengan suhu ruang $\pm 28^{\circ}\text{C}$. Lama penyimpanan sesuai dengan perlakuan yaitu 0, 3, 6, 9 dan 12 minggu.

5. Uji Viabilitas Pelet.

Persiapan medium PDA dengan membran selofan yang diletakkan di atasnya. Satu butir pelet *T. harzianum* dari bahan pembawa dan lama penyimpanan yang diuji

dihaluskan dengan menggunakan mortar dan pestle secara perlahan. Satu gram pelet yang telah dihaluskan kemudian diencerkan dengan akuades steril 9 ml sampai 2 atau 3 kali dengan menggunakan prinsip pengenceran. Pengenceran terakhir dihitung jumlah konidia per ml suspensi dengan menggunakan *haemocytometer* dan bantuan mikroskop cahaya.

6. Penghitungan jumlah konidia.

Setiap penghitungan jumlah konidia diulang sebanyak 3 kali ulangan kemudian data yang diperoleh dirata-rata. Setelah diketahui jumlah konidia per ml suspensi (jumlah konidia awal) kemudian diinokulasikan 1 ml suspensi konidia ke dalam media PDA bermembran selofan. Inkubasi dilakukan di ruang terbuka pada suhu $\pm 28^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari atau dihentikan apabila salah satu koloni jamur telah memenuhi cawan petri.

7. Pemanenan Konidia dan Penghitungan konidia Akhir.

Cawan petri yang berisi media PDA dan membran selofan yang telah ditumbuhi *T. harzianum* kemudian dipanen konidianya. Pemanenan konidia dilakukan dengan cara membran selofan diangkat dan dipindahkan ke dalam cawan petri baru dengan pinset steril kemudian ditambahkan akuades steril sebanyak 9 ml. Cawan petri tersebut kemudian digoyang-goyangkan hingga konidia terlepas dan tercampur ke dalam akuades. Setelah konidia tercampur dalam akuades kemudian diambil 1 ml suspensi konidia dengan menggunakan pipet ukur untuk dilakukan pengenceran ke dalam 9 ml akuades steril. Pengenceran dilakukan sampai 2 atau 3 kali dengan menggunakan prinsip pengenceran. Penghitungan Jumlah Konidia Akhir dengan menggunakan *haemocytometer*.

8. Penghitungan Persentase Perkecambahan Konidia.

Penghitungan persentase perkecambahan konidia jamur *T. harzianum* dilakukan dengan menghitung dengan rumus berikut :

$$\text{Perkecambahan konidia} = \frac{\sum \text{konidia akhir} - \sum \text{konidia awal}}{\sum \text{konidia akhir}} \times 100\%$$

9. Analisa Kandungan Tepung

Pengujian Analisis Kadar Karbohidrat dan Protein, Kadar Lemak, Air, dan Abu terlampir dan Pengujian Analisis Karbon (C) dan Nitrogen (N)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data pada tabel 1 berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan terjadi interaksi antara viabilitas *t. harzianum* pada beberapa jenis bahan pembawa dan lama waktu penyimpanan. Interaksi terjadi karena di dalam masing-masing bahan pembawa memiliki kandungan kandungan yang sesuai dibutuhkan bagi pertumbuhan jamur *T. harzianum*. Viabilitas *Trichoderma harzianum* yang disajikan dalam persentase perkecambahan konidia (%) dari beberapa jenis bahan pembawa dan lama waktu penyimpanan pelet yang berbeda menunjukkan viabilitas rata-rata tertinggi adalah perlakuan TKS12. Perlakuan TKS12 yaitu pada jenis bahan pembawa tepung ketan putih dengan lama waktu penyimpanan pelet selama 12 minggu menghasilkan viabilitas tertinggi yaitu sebesar 73,861%. Viabilitas rata-rata terendah adalah perlakuan TMS0 yaitu pada jenis bahan pembawa tepung jagung (maizena) dengan lama waktu penyimpanan pelet selama 0 minggu sebesar 51,499%.

Tabel 2. Viabilitas *T. harzianum* pada Beberapa Jenis Bahan Pembawa dan Lama Waktu Penyimpanan yang Berbeda

Perlakuan	Rata-rata Persentase Perkecambahan Konidia (Viabilitas) <i>T. harzianum</i> (%)
TTS0	55,659 k
TTS3	58,839 i
TTS6	63,737 g
TTS9	68,310 d
TTS12	70,705 c
TKS0	58,940 i
TKS3	62,314 h
TKS6	66,552 e
TKS9	72,366 b
TKS12	73,861 a
TMS0	51,499 l
TMS3	57,529 j
TMS6	63,033 gh
TMS9	65,184 f
TMS12	69,004 d

Data pada tabel 1 berdasarkan statistik menunjukkan bahwa jenis bahan pembawa berupa tepung ketan putih (TK) menghasilkan viabilitas tertinggi dibandingkan dengan tepung tapioka (TT) dan jagung (TM). Hal ini dikarenakan kandungan nutrisi yang terdapat di dalam tepung ketan putih mengandung unsur yang sesuai dibutuhkan bagi pertumbuhan jamur *T. harzianum* dibandingkan kedua jenis bahan pembawa lainnya.

Menurut Tjokrokusumo *et al.* (2004), sebagian besar unsur karbon yang dibutuhkan oleh jamur yaitu sebagai sumber energi yang digunakan dalam pertumbuhan dan perbanyakan sel, sedangkan nitrogen diperlukan untuk pertumbuhan melalui proses sintesis protein. Moerdiati *et al.* (1999) menyatakan bahwa salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kualitas media pertumbuhan jamur adalah rasio C/N. Menurut Musnamar (2004), rasio C/N yang terlalu tinggi dalam substrat hidup suatu mikroorganisme dapat menjadi faktor penghambat pertumbuhan. Lopez (2002) menyatakan bahwa kondisi substrat dengan C berlebih dan sumber N yang berkurang akan menjadi faktor penghambat pertumbuhan miselium jamur. Rasio C/N berkisar antara 10 – 20 dapat memacu pertumbuhan miselium jamur dan meningkatkan produksi konidia, sedangkan rasio C/N yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan miselium dan menurunkan produksi konidia.

Selain kandungan nutrisi yang terdapat di dalam masing-masing jenis bahan pembawa, lama waktu penyimpanan pelet memberikan pengaruh terhadap viabilitas jamur *T. harzianum*. Lama waktu penyimpanan pelet selama 0 minggu sampai 12 minggu menunjukkan viabilitas yang terus meningkat disetiap jenis bahan pembawa. Hal ini didukung dengan semakin bertambahnya jumlah konidia awal di dalam pelet dan meningkatnya jumlah konidia yang berkecambah (jumlah konidia akhir) selama waktu penyimpanan sehingga viabilitas *T. harzianum* semakin meningkat seiring lama waktu penyimpanan disetiap jenis bahan pembawa. Lama waktu penyimpanan pelet selama 12 minggu merupakan waktu yang menghasilkan viabilitas tertinggi untuk setiap jenis bahan pembawa. Hal ini dikarenakan kandungan nutrisi yang terkandung di dalam masing-masing jenis bahan pembawa memberikan kebutuhan nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan *T. harzianum* selama waktu penyimpanan pelet 12 minggu.

Salamiah *et al.* (2003) menyatakan bahwa viabilitas *T. harzianum* yang diformulasikan dalam bentuk pelet dengan bahan pembawa berupa tepung ketan putih, beras IR66 dan jagung manis yang disimpan selama 8 minggu menghasilkan viabilitas

yang terus meningkat. Viabilitas *T. harzianum* tertinggi yaitu pada tepung ketan putih dengan lama waktu penyimpanan 8 minggu. Namun demikian, semakin lama waktu penyimpanan pelet yang dilakukan maka dimungkinkan viabilitas *T. harzianum* akan semakin menurun seiring ketersediaan nutrisi dan kondisi lingkungan yang tidak mendukung bagi pertumbuhannya.

Ketersediaan nutrisi yang baik terkandung di dalam bahan pembawa dapat memacu laju pertumbuhan sehingga viabilitas konidia *T. harzianum* akan terus meningkat. Menurut Gandjar, I. 2006 keadaan Setiap mikroorganisme mempunyai kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan fungi mempunyai beberapa fase, antara lain : (1) fase lag, (2) fase akselerasi, (3) fase eksponensial, (4) fase deselerasi, (5) fase stasioner, (6) fase kematian. Faktor lingkungan yang perlu diperhatikan selain ketersediaan nutrisi yang sesuai dalam media atau substrat tumbuhnya yaitu antara lain temperatur (suhu), kelembaban, dan pH (derajat keasaman). Apabila kondisi lingkungan tidak mendukung bagi pertumbuhan, maka jamur *Trichoderma* akan membentuk struktur khusus untuk beradaptasi dengan lingkungan hidupnya. Menurut Gandjar (1999), *Trichoderma* dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan dapat bertahan hidup dengan membentuk struktur bertahan yaitu klamidospora. *T. harzianum* merupakan jamur antagonis yang digunakan sebagai agen biokontrol dan dapat diformulasikan ke dalam berbagai bentuk aplikasi. Formulasi *T. harzianum* dalam bentuk pelet dengan menggunakan beberapa jenis bahan pembawa berupa tepung ketan putih (TK), tepung tapioka (TT) dan tepung jagung (TM) dengan lama waktu penyimpanan pelet dapat meningkatkan viabilitasnya. Ketersediaan nutrisi di dalam bahan pembawa yang cukup dan lama waktu penyimpanan pelet serta faktor lingkungan seperti temperatur, pH, kelembaban dan intensitas cahaya dapat mempengaruhi sporulasi, pigmentasi dan daya antagonisme yang dapat mempengaruhi viabilitas *T. harzianum*.

KESIMPULAN

1. Terdapat interaksi antara jenis bahan pembawa dengan lama waktu penyimpanan pelet berpengaruh terhadap viabilitas *Trichoderma harzianum*.
2. Jenis bahan pembawa dan lama waktu penyimpanan yang menghasilkan viabilitas *T. harzianum* tertinggi yaitu pada bahan pembawa tepung ketan putih dengan lama waktu penyimpanan pelet selama 12 minggu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih ini terutama saya tujukan kepada dosen pembimbing saya di Universitas Jenderal Soedirman Drs. Aris Mumpuni, M.Phil, Drs. Uki Dwi Putranto, Grad. Dip.Sc., M.Sc dan teman-teman asisten mikologi fakultas Biologi yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, F.B.D.R., F.M Cerqueira, R.D.N. Silva, C.J. Ulhoa, & A.L. Lima. 2007. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evolution of coiling and hydrolytic enzyme production. *Biotechnology*. 29: 1189-1193.
- Cavalcante, R.S., H.L.S. Lima, G.A.S. Pinto, C.A.T. Gava & S. Rodrigue. 2008. Effect of Moisture on *Trichoderma* Conidia Production on Corn and Wheat Bran by Solid Fermentation. *Food Bioprocess Technol*, 1: 100-104.
- Dharmaputra, O.S., A.S.R. Putri, I. Retnowati, dan S. Saraswati. 2003. Penggunaan *Trichoderma harzianum* untuk mengendalikan *Aspergillus flavus* penghasil aflatoksin pada kacang tanah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 7(1): 28-37.
- Gandjar, I. 1999. Pengenalan Kapang Tropik Umum. Yatasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Gandjar, I. 2006. Mikologi dasar dan terapan. Yatasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Helsond. 2012. Kajian Formulasi dan Masa Simpan *Trichoderma harzianum* Rifai dalam Menghambat *Phytophthora capsici* Leon. Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang Lada Secara *In Vitro*. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Jayaraj, J., N.V. Radhakrishnan & R. Velazhahan. 2006. Development of *Trichoderma harzianum* strain M1 for Control of Damping-off of Tomato Caused by *Pythium aphanidermatum*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 39: 1-8.
- Lopez, J.L.C.S. 2002. Production of lovastatin by *Aspergillus terreus*. Elsevier Inc. AS.
- Moerdiati, E., R.B. Ainurrasyid dan S. Endah. 1999. Pengaruh berat media dan berat bibit terhadap pertumbuhan dan hasil jamur tiram putih (*Pleurotus florida*). *Habitat* 10 (105): 44-47.

- Musnamar, E.F. 2004. Pupuk Organik: Cair dan Padat, Pembuatan, Aplikasi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Noveriza, R. and T.H. Quimio. 2004. Soil mycoflora of black pepper rhizosphere in the Philippines and their *in vitro* antagonism against *Phytophthora capsici* L. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 5(1): 1-10.
- Prabowo, A.K.E., N. Prihatiningsih dan L. Soesanto. 2006. Potensi *Trichoderma harzianum* dalam mengendalikan sembilan isolat *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *zingiberi* Trujillo pada kencur. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 8(2): 76-84.
- Roco, A. and L.M. Perez. 2001. In vitro biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. *Electronic Journal of Biotechnology*, 4(2): 1-10.
- Salamiah, E., N. Fikri, dan Asmarabia. 2003. Viabilitas *Trichoderma harzianum* yang disimpan pada beberapa bahan pembawa dan lama penyimpanan yang berbeda. *Jurnal Penelitian Pertanian Hama Penyakit Tanaman*, 1-12.
- Simon, S. & Anamika. 2011. Agro-based Waste Products as a Substrate for Mass Production of *Trichoderma* spp. *Journal of Agricultural Science*. Vol. 3, No. 4, 168-171.
- Tjokrokusumo, D., H.I. Hendritomo dan N. Widyastuti. 2004. Pengaruh penambahan dedak dan molasses pada substrat pertumbuhan jamur tiram coklat (*Pleurotus cystidiosus*). *Jurnal Biotika*, 3 (2): 8-12.