

**PEMANFAATAN MEDIUM ALTERNATIF UNTUK PERTUMBUHAN ISOLAT
FUSARIUM SP. PENGINDUKSI PEMBENTUKAN GAHARU
PADA *GYRINOPS VERSTEEGII* (GILG) DOMKE**

Oleh :

I Gde Adi Suryawan Wangiyana

Dosen Tetap pada Fakultas Ilmu Kehutanan Universitas NTB

Abstrak

Gaharu terbentuk di dalam batang *Gyrinops versteegii* melalui bio-induksi oleh kapang *Fusarium* sp. Keberhasilan *Fusarium* menginduksi pelepasan resin sebagai bahan dasar gaharu sangat tergantung pada berbagai faktor. Medium pertumbuhan jamur menentukan kualitas gaharu yang diinduksi pada *G. versteegii*. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi isolat *Fusarium* yang mampu menginduksi pembentukan gaharu berdasarkan kemampuan tumbuh dan produksi konidia pada berbagai medium alternatif. Medium alternatif yang digunakan diantaranya: medium serbuk kayu, medium sebuk kayu *G. versteegii*, medium tauge serta medium kentang (PDA) yang digunakan sebagai kontrol. Sementara itu, isolat *Fusarium* yang digunakan diantaranya: LU, ALS, LT, LB dan BIMA. Berdasarkan data pertambahan diameter koloni, pertumbuhan tiap isolat pada medium tauge lebih baik dibandingkan PDA. Produksi konidia tiap isolat pada medium tauge juga lebih tinggi dibandingkan medium kontrol PDA. Rerata diameter koloni dan produksi spora tiap isolat pada medium kayu *pre-treatment* akuades paling mendekati PDA (kontrol). Isolat BIMA merupakan isolat yang memiliki pertumbuhan terbaik dan produksi konidia terbesar dibandingkan isolat lainnya. Data diameter koloni dan produksi konidia tiap medium berbeda secara signifikan berdasarkan ANOVA dan uji lanjut BNJ. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa media tauge dan kayu *pre-treatment* akuades merupakan medium alternatif terbaik dan sangat potensial digunakan sebagai media inokulan *Fusarium* penginduksi gaharu. Sementara itu, isolat BIMA merupakan isolat dengan pertumbuhan terbaik yang potensial untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agensia bio-induksi gaharu.

Kata kunci: *Medium Alternatif, Fusarium, Gyrinops versteegii*

PENDAHULUAN

Gaharu adalah hasil hutan bukan kayu dengan nilai ekonomis tinggi yang dihasilkan terutama oleh genus *Aquilaria* dan *Gyrinops* sebagai bentuk pertahanan terhadap adanya mikroorganisme (Fungi) ataupun senyawa kimia ataupun perlukaan fisik kepada tanaman tersebut. Komoditi ini banyak digunakan dalam industri parfum, kosmetik dan farmasi. Oleh karena itulah gaharu merupakan komoditi ekspor yang menjanjikan dengan harga mencapai 675 USD per kg (Barden, 2000).

Salah satu provinsi di Indonesia yang potensial menghasilkan gaharu adalah Nusa Tenggara Barat dengan tanaman penghasil gaharu endemik *Gyrinops versteegii* (Mulyaningsih and Yamada, 2007). Sebagai komoditi ekspor bernilai ekonomis tinggi, gaharu sangat potensial untuk dieksploitasi dalam rangka mengurangi angka kemiskinan di Provinsi Nusa Tenggara Barat yang tingkat kesejahteraan penduduknya tergolong cukup rendah (Siddik, 2010)

Dilain pihak, eksploitasi besar-besaran gaharu alam terutama yang dilakukan secara non-selektif menyebabkan terjadinya penurunan signifikan terhadap populasi *Gyrinops versteegii* sehingga masuk CITES appendix II sebagai spesies yang terancam punah (Schmidt, 2011). Oleh karena itu diperlukan upaya budidaya terhadap spesies ini sehingga ekspor komoditi gaharu tetap berjalan tanpa mengancam kelestarian populasi tanaman penghasil gaharu.

Menurut Santoso *et al.* (2011a), keberhasilan budidaya gaharu menghasilkan produk gubal gaharu berkualitas tinggi sangat ditentukan oleh fungi inokulan yang diinokulasikan pada pohon gaharu budidaya. Salah satu fungi yang cocok dan banyak digunakan untuk inokulasi gaharu budidaya di Indonesia adalah *Fusarium* sp. Dengan optimasi pertumbuhan yang tepat, maka *Fusarium* sp. dapat menginduksi pembentukan gaharu dengan kualitas tinggi.

Medium yang umum digunakan untuk menumbuhkan *Fusarium* sp. penginduksi gaharu adalah Potato Dextrose Broth (PDB)/Potato Dextrose Agar (PDA). Harga medium yang relatif mahal menyebabkan inokulan *Fusarium* penginduksi gaharu yang beredar dipasaran juga memiliki harga yang cukup mahal. Penggunaan medium alternatif pengganti medium PDB/PDA merupakan solusi yang tepat untuk mengatasi permasalahan tersebut. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi isolat *Fusarium* sebagai agensia bio-induksi berdasarkan kemampuan tumbuh dan produksi konidia pada berbagai medium alternatif.

METODE

a. Preparasi Serbuk Kayu dan Kayu *G. versteegii* serta perhitungan karbon total

Serbuk Kayu dan Serbuk kayu *G. versteegii* di ayak dengan ukuran pori 2 mm² dan 0,425 mm² sehingga menghasilkan serbuk kasar (ukuran partikel 0,5-2 mm²) dan serbuk halus (ukuran partikel < 0,5 mm²). Perhitungan karbon total dilakukan dengan metode hidrolisis hidrogen peroksida. Masing – masing 1 gr serbuk kasar dan halus direndam dalam 50 mL H₂O₂ 30% selama 24 jam. Selanjutnya serbuk kasar dan serbuk halus disaring dengan *Filter paper* Advantec No. 2. Residu dikeringkan dalam oven (memmert) temperatur 50° C hingga beratnya konstan. Perhitungan *Total Organic Carbon* (TOC) dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{TOC} = \frac{\text{berat sampel sebelum pemanasan} - \text{berat sampel setelah pemanasan}}{\text{berat sampel sebelum pemanasan}} \times 100\%$$

(Schumacher, 2002)

b. Pre-treatment Medium Serbuk Kayu dan Serbuk Kayu *G. Versteegii*

Pre-treatment serbuk kayu dilakukan dengan menggunakan metode Alkali *Pre-treatment* (NaOH) Reddy et al (2010) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 100 gr serbuk kayu dan serbuk kayu *G. versteegii* halus disaring direndam dalam 1,5 L larutan NaOH 1% (Serbuk : NaOH = 1 : 15 w/v) dalam Erlenmeyer 2 L. Suspensi serbuk + NaOH dipanaskan dengan hot plate stirrer selama 60-90 menit dan di autoklaf dengan temperatur 121°C, 2 atm selama 15 menit. Setelah di autoklaf, suspensi serbuk + NaOH dinetralkan dengan 1 L larutan H₂SO₄ 1% selama 10-15 menit (NaOH : H₂SO₄ = 1

: 1) kemudian dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali dan dikeringkan dalam oven temperatur 50°C selama 3 hari. Untuk *pre-treatment* dengan menggunakan akuades, digunakan metode yang sama dengan *pre-treatment* alkali, hanya saja akuades digunakan dalam volume yang sama untuk menggantikan NaOH dan H₂SO₄. Serbuk kayu dan serbuk kayu *G. versteegii* setelah *pre-treatment* disimpan pada suhu 4°C sampai saatnya digunakan.

c. Pembuatan Medium Serbuk Kayu dan Serbuk Kayu *G. versteegii*

Sebanyak 2% (w/v) Serbuk kayu dan serbuk kayu *G. versteegii* hasil pretreatment disuspensikan dengan Basic Mineral Medium yang terdiri dari: 2,5 gr NH₄NO₃, 1 gr Na₂HPO₄.2H₂O, 0,5 gr MgSO₄.7H₂O, 0,1 gr Fe(SO₄)3.5H₂O, 5 mg CO(NO₃)₂.6H₂O, 1 mg CaCl₂.2H₂O, 5 mg KH₂PO₄, 1 mg MnSO₄.2H₂O, 0,1 mg (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O yang dilarutkan dalam akuades hingga volumenya 1 L (Atlas, 2010). Medium diberi suplemen dekstrosa 15 gr dan agar teknis 20 gr kemudian disteril dengan autoklaf temperatur 121°C, 2 atm selama 15 menit.

d. Pembuatan Medium Tauge dan Kentang

Sebanyak 150 gr tauge direbus dengan 1 L akuades. Air rebusan disaring kemudian filtratnya (sari tauge) ditambahkan dengan 15 gr dekstrosa (difco) dan 20 gr agar teknis serta dihomogenasi dengan *hot-plate stirrer*. Untuk medium kentang, sebanyak 40 gr bubuk PDA (Difco) dilarutkan dalam 1 L akuades dengan menggunakan *hot-plate sitirer*. Medium tauge dan kentang disteril dengan autoklaf temperature 121°C, 2 atm selama 15 menit.

e. Pengamatan Morfologi Isolat *Fusarium*

Morfologi kapang yang diamati meliputi morfologi koloni dan morfologi sel. morfologi koloni diantaranya: diameter koloni setelah inkubasi 1 minggu, pengamatan pigmentasi koloni serta ada tidaknya pembentukan aerial hifa pada hari ke-7. Pengamatan morfologi sel kapang dilakukan dengan menggunakan metode *fungus slide culture* (Harris, 1986). Metode ini menggunakan medium PDA bentuk kubus dengan ukuran 5 cm x 5cm x 5 cm dengan bagian atas dan bawah dilindungi oleh cover glass mikroskop. setelah hifa kapang diinokulasikan, kubus PDA diletakkan diatas water agar 1,5% untuk selanjutnya diinkubasi suhu kamar sampai terlihat pertumbuhan jamur pada cover glass mikroskop. pengamatan

dilakukan dibawah mikroskop dengan pewarnaan *Lactoglisierol Tripam Blue*

Untuk pengamatan makrokonidia dan mikrokonidia, isolat kapang dikultur pada medium *Banana Leaf Agar* selama 7-10 hari. Makrokonidia dan mikrokonidia dari tiap isolat dikarakterisasi dengan parameter: ukuran, bentuk, *apical*, *foot* dan *septa*. (makrokonidia) serta bentuk, ukuran dan phialid (untuk mikrokonidia)

f. Kultur Isolat Fusarium pada Medium Alternatif

Sebelum dikultur pada medium alternatif, isolat LU, ALS, LT, LB dan BIMA dikultur terlebih dahulu pada medium PDA selama 7 hari. Tiga kelompok medium digunakan dalam percobaan, yaitu: 1) medium berbasis limbah: medium kayu *pre-treatment* NaOH (K NaOH), medium kayu *pre-treatment* akuades (K aq), medium kayu *G. versteegii pre-treatment* NaOH (G NaOH), medium kayu *G. versteegii pre-treatment* akuades (G aq); 2) medium alternatif pengganti PDA: Medium Tauge (Tauge); 3) medium PDA sebagai kontrol. Tiap isolat dikultur pada semua medium kemudian diinkubasi selama 7 hari pada temperatur ruang serta dibuat minimal 3 kali ulangan. Setiap hari selama 7 hari dilakukan pengukuran diameter koloni isolat *Fusarium* secara vertikal, horizontal dan diagonal. Selain itu, pada hari ke-7 dilakukan perhitungan jumlah konidia dari tiap kultur dengan menggunakan seperangkat haemositometer.

g. Analisis Data

Percobaan seleksi isolat *Fusarium* pada medium alternatif menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan percobaan faktorial yang terdiri dari faktor pertama: jenis medium alternatif dan faktor kedua: isolat *Fusarium*. Data dianalisis dengan ANOVA pada taraf 0,05 dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (taraf 0,05) untuk melihat signifikansi perlakuan pada tiap Faktor. Sementara itu produksi konidia tiap isolat pada medium alternatif dianalisis dengan dengan standart error pada taraf 0,05. Semua analisis data menggunakan program Co-Stat Cohort 6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

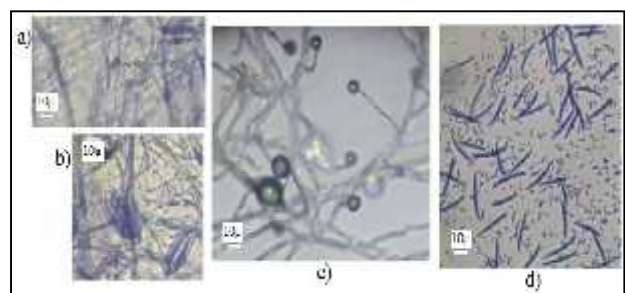
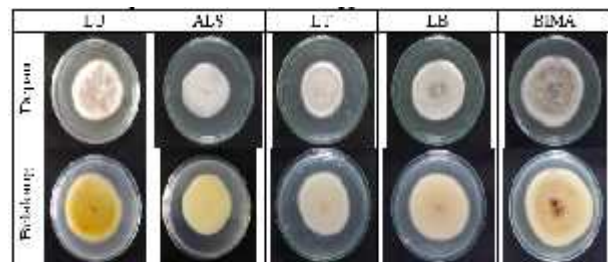
a. Hasil

Lima isolat kapang telah berhasil diisolasi dari pohon *G. versteegii* di beberapa daerah di Provinsi Nusa Tenggara barat yang positif menunjukkan produksi *resin* gaharu (Yosephin et al., 2012).

Kelima isolat tersebut memiliki variasi dalam hal morfologi koloni terutama pigmentasi yang ditunjukkan oleh Tabel 1 dan juga morfologi sel umum untuk genus *Fusarium* yang ditunjukkan oleh gambar 1.

Pertumbuhan kelima isolat Kapang pada berbagai medium alternatif didasarkan pada parameter berupa diameter maksimal tiap isolat pada tiap medium alternatif (gambar 2) dan juga produksi konidia total isolat pada tiap medium alternatif (gambar 3)

Tabel 1. Morfologi koloni isolat *Fusarium* Litbang pada medium PDA

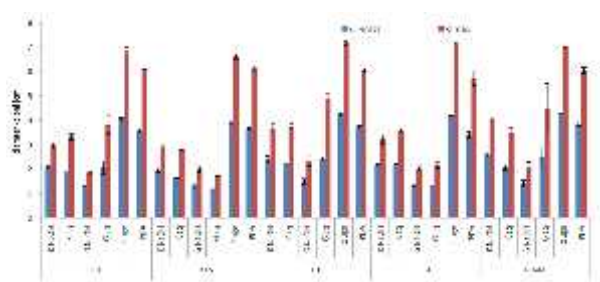


Gambar 1. Berbagai Ciri Morfologi sel Isolat *Fusarium*. a) Contoh Klamidospora Tunggal Berpasangan dan bergerombol, b) contoh Sporodokia, c) konidiofor minophialid, d) makrokonidia dan mikrokonidia (perbesaran 100x)

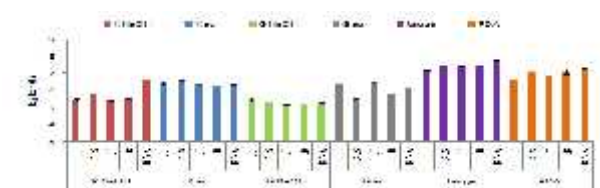
Berdasarkan perhitungan Total Organic Carbon (TOC), diperoleh hasil bahwa kayu yang sudah dihaluskan memiliki persentase lebih tinggi dibandingkan kayu kasar (tabel 2).

Tabel 2. Perhitungan *Total Organic Carbon* (TOC) medium kayu

Jenis kayu	Kayu kasar	Kayu halus	<i>G.versteegii</i> kasar	<i>G.versteegii</i> halus
%TOC	12%	25%	16%	20%



Gambar 2. Diameter Rerata dan Diameter Maksimal tiap Isolat Pada Berbagai Medium



Gambar 3. Perbandingan Produksi konidia isolat Fusarium pada berbagai medium alternatif (error bar dengan standar error 5%)

Berdasarkan hasil ANOVA dan analisis standar error menunjukkan bahwa tiap isolat mempunyai pertumbuhan miselium dan produksi konidia yang berbeda nyata pada tiap medium pertumbuhan. Uji lanjut berupa BNJ dilakukan untuk menentukan isolat dengan pertumbuhan terbaik dan medium alternatif terbaik untuk tiap isolat (tabel3).

Tabel 3. Perbandingan uji BNJ terhadap Faktor Jenis Isolat dan Jenis Medium Alternatif

Jenis Isolat	Rerata diameter koloni	Rerata Log Konidia	Jenis Medium	Rerata diameter koloni isolat	Rerata log konidia
BIMA	2,7835 (a)	6,5397 (a)	Gauge	4,1462 (a)	7,4751 (a)
LI	2,7575 (a)	6,2778 (b)	PDA	3,6161 (b)	6,9623 (b)
LB	2,4466 (bc)	6,2166 (b)	G Ag	1,9019 (d)	6,0408 (d)
LU	2,5024 (b)	6,2680 (b)	K Ag	2,0221 (cd)	6,3991 (c)
ALS	2,2807 (c)	6,2832 (b)	K NaOH	2,2340 (c)	6,0407 (c)
			G NaOH	1,3743 (e)	5,2774 (f)

Keterangan: angka berbeda diikuti dengan huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%

b. Pembahasan

Lima isolat *Fusarium* yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu: LU, ALS, LT, LB dan BIMA merupakan isolat dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Teknologi Hasil Hutan Bukan Kayu yang diisolasi langsung dari Pohon *G.*

versteegii yang telah menunjukkan gejala positif menghasilkan *resin* (Yosephin *et al.*, 2012). Pengamatan morfologi koloni digunakan untuk mengkonfirmasi bahwa kelima merupakan isolat berbeda karena memiliki morfologi koloni serta pigmentasi yang berbeda-beda ketika ditumbuhkan pada medium PDA. Pengamatan morfologi sel isolat digunakan untuk mengkonfirmasi bahwa isolat merupakan anggota genus *Fusarium*, diantaranya: keberadaan sporodokia, *phialide*/konidiofor (dominan *monophialide*), makrokonidia berbentuk bulan sabit yang berasal dari sporodokia serta mikrokonidia yang berasal dari *phialide* (Budi dkk., 2010). Variasi bentuk, *apical* dan *foot* makrokonidia dominan antar isolat juga dapat mengkonfirmasi bahwa kelima isolat merupakan isolat yang berbeda.

Pertumbuhan isolat *Fusarium* pada medium *In-vitro* merupakan faktor penting untuk dikaji. Semakin baik pertumbuhan isolat pada medium *In-vitro* maka akan semakin besar potensinya untuk menginduksi pembentukan *resin* ketika diinokulasikan pada pohon gaharu. Santoso *et al.* (2011b) membagi isolat *Fusarium* penginduksi gaharu menjadi 3 kelompok besar berdasarkan diameter koloni pada medium PDA, diantaranya: kelompok pertama (diameter < 4 cm), kelompok 2 (diameter koloni 4-5 cm) dan kelompok ketiga (diameter koloni > 5 cm. Setelah inokulasi pada *A. microcarpa* diperoleh hasil isolat *Fusarium* kelompok 3 memiliki kemampuan menginduksi pembentukan gaharu paling bagus diantara kelompok lainnya. sementara itu produksi konidia merupakan parameter penting dalam seleksi isolat penginduksi *resin* gaharu terutama jika metode inokulasi yang digunakan berbasis konidia, bukan berbasis miselium yang selama ini umum dilakukan.

Berdasarkan kemampuan tumbuh pada medium alternatif berbeda, isolat BIMA merupakan isolat dengan pertumbuhan terbaik dibandingkan dengan isolat lainnya. Hal ini terlihat dari gambar 2 yang merepresentasikan diameter maksimal isolat BIMA yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya. Selain itu berdasarkan kemampuan memproduksi konidia, Isolat BIMA juga merupakan isolat yang memproduksi konidia terbanyak pada tiap medium alternatif yang digunakan. Hal ini ditunjukkan oleh gambar 3 yang menggambarkan bahwa produksi konidia isolat BIMA lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya dan berbeda dengan isolat lainnya secara statistik berdasarkan *error bar* hasil analisis standar error ($\alpha = 0,05$). Hal ini

mengindikasikan bahwa isolat ini merupakan isolat potensial yang layak dikembangkan sebagai inokulan gaharu.

Pertumbuhan semua isolat pada medium tauge lebih baik dibandingkan pertumbuhan pada medium PDA (gambar 3). Menurut Rohmah (2002), medium pertumbuhan jamur berbahan baku tauge (Tauge Broth Extract) merupakan medium yang murah dan kaya nutrisi serta mampu mendukung pertumbuhan miselium jamur dengan baik. Sementara itu menurut Miao et al. (2006), pertumbuhan miselium jamur sangat ditentukan oleh kandungan nutrisi dalam media pertumbuhan, terutama sumber nitrogen yang lebih berpengaruh dalam mendukung pertambahan berat kering miselium jamur. Dalam hal ini dapat dikatakan bahwa medium tauge memiliki kandungan yang berperan sebagai sumber nitrogen yang lebih baik dibandingkan dengan medium PDA. Tauge sendiri diketahui memiliki kadar protein total rata-rata lebih tinggi dibandingkan dengan kentang.

Produksi konidia isolat *Fusarium* pada medium tauge juga lebih besar dibandingkan dengan PDA. secara statistik dapat dikatakan bahwa produksi konidia pada medium tauge adalah yang terbesar berdasarkan error bar dari standar error ($\alpha = 0,05$) dan signifikan berdasarkan uji BNJ ($\alpha = 0,05$) pada tabel 3. Menurut Mei et al. (2013), jamur memerlukan medium kaya nutrisi terutama sumber karbon yang baik untuk dapat memproduksi konidia dengan konsentrasi tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa medium tauge memiliki substansi sebagai sumber karbon yang lebih baik dibandingkan PDA dan medium lainnya.

Medium kentang selama ini merupakan medium yang secara luas digunakan untuk medium pertumbuhan *Fusarium* penginduksi gaharu (santoso et al., 2011a). Kemampuan medium tauge untuk mendukung pertumbuhan semua isolat *Fusarium* dan juga produksi konidia lebih baik dibandingkan dengan medium PDA mengindikasikan kandungan nutrisi medium tauge yang lebih kaya dibandingkan dengan PDA. Selain itu harga bahan baku/bahan dasar medium tauge juga secara ekonomis lebih murah dibandingkan dengan bahan dasar medium PDA (kentang). Oleh karena itu, medium tauge merupakan medium alternatif potensial yang digunakan sebagai medium tumbuh isolat *Fusarium* penginduksi gaharu menggantikan medium PDA.

Meskipun pertumbuhan kelima isolat pada medium kayu dan kayu *G. versteegii* lebih rendah dibandingkan dengan kontrol PDA. Namun kemampuan kelima isolat untuk tetap dapat tumbuh

pada kedua medium tersebut mengindikasikan bahwa semua isolat memiliki kemampuan untuk menggunakan bahan baku lignoselulosa yang merupakan konstituen utama dalam kayu. Menurut Putri (2013), kemampuan lignoselulolitik isolat *Fusarium* memiliki peran yang cukup esensial terutama saat isolat *Fusarium* diinokulasi pada pohon gaharu. Oleh karena itu, medium kayu dan kayu *G. versteegii* tetap merupakan medium alternatif yang layak untuk dikembangkan. Pengembangan tersebut sebaiknya difokuskan pada teknologi Pre-treatment yang digunakan. Hal ini didarkan pada hasil bahwa tiap isolat yang dikultur pada medium dengan pretreatment akuades (K aq dan G aq) memiliki pertumbuhan lebih baik dibandingkan dengan isolat yang dikultur pada medium dengan pre-treatment NaOH (K NaOH dan G NaOH). Menurut Reddy et al. (2010) *Pre-treatment* terhadap bahan baku lignoselulosa merupakan tahap terpenting dalam pengolahan medium kayu untuk menghasilkan gula reduksi sebagai sumber nutrisi untuk mendukung pertumbuhan optimal bagi mikroorganisme dalam medium tersebut. Pemilihan metode *pre-treatment* yang lebih bagus diharapkan dapat meningkatkan daya dukung medium serbuk kayu dan serbuk kayu *G. versteegii* sebagai medium alternatif berbasis limbah yang lebih menjanjikan.

SIMPULAN

Medium Tauge potensial digunakan untuk menggantikan PDA sementara itu medium kayu pre-treatment akuades merupakan medium berbasis limbah yang potensial dikembangkan sebagai medium kultur *Fusarium* penginduksi gaharu. Sementara itu isolat BIMA merupakan isolat yang layak dikembangkan lebih lanjut sebagai inokulan penginduksi gaharu.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R. M. 2010. Handbook of Microbiological Media Fourth Edition. CRC press Taylor & Francis Group. Boca Raton
- Barden, A. N. A. Anak, T. Mulliken, M. Song. 2000. *Heart of The Matter: Agarwood use and trade and CITES implementation for Aquilaria malaccensis*. http://trafficinternational.squarespace.com/forestryreports/traffic_pub_forestry7.pdf. (akses: 29 maret 2014)

- Harris, J. L., 1986. Modified Method for Fungal Slide Culture. *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 1986, p. 460-461. Vol. 24, No. 3.
- Mei, C., Y. Zhang, X. Mao, K. Jiang, L. Cao, X. Yan and R. Han. 2013. The effects of culture parameters on the conidial germination and yields of *Ophiocordyceps sinensis*. *Journal of Yeast and Fungal Research*. Volume 4(4), pp. 44 – 55
- Miao, L., T. F. N. Kwong, P. Y. Qian. 2006. Effect of culture conditions on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium* c.f. *saccharicola*. *Applied Microbiol Biotechnol* (2006) 72: 1063–1073
- Mulyaningsih T, Isamu Y. 2007. *Notes on Some Species of Agarwood in Nusa Tenggara, Celebes and West Papua*. http://sulawesi.cseas.kyotou.ac.jp/final_reports2007/article/43-tri.pdf. (akses: 30 Maret 2014)
- Putri, A. L. 2011. Studi Interaksi *Fusarium* Sp. dengan Pohon Gaharu (*Aquilaria* Sp.) Menggunakan Pendekatan Sitologi. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2011
- Reddy, H. K. Y., M. Srijana, M. Reddy and G. Reddy. 2010. Co-culture Fermentation of Banana Agro-waste to Ethanol by Cellulolytic Thermophilic *Clostridium thermocellum* CT2. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9 (13), pp. 1926-1934, 29 March, 2010.
- Rohmah, L. 2002. Pertumbuhan Miselium Jamur Tiram Abu-abu (*Pleurotus sajor-ca/u*) Pada Medium TEB ("Tauge Extract Broth") Yang Dirnodifikasi Dengan Berbagai Konsentrasi Sukrosa. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro. Semarang. 2002.
- Santoso, E. R. S. B. Irianto, M. Turjaman, I. R. Sitepu, S. Santosa, Najmulah, A. Yani, Aryanto. 2011b. Gaharu-producing tree induction technology. In: Proceeding of gaharu workshop development of gaharu production technology. M. Turjaman (editor). R & D centre for forest conservation and rehabilitation forestry research and development agency (forda) ministry of forestry indonesia. ITTO PD425/06 Rev. 1 (I)
- Santoso, E., Pratiwi, E. Purnomo, R. S. B. Irianto, B. Wiyono, E. Novrianti, M. Turjaman. 2011a. *Selection Pathogens For Eaglewood (Gaharu) Inoculation. Production and Utilization Technology for Sustainable Development of Eaglewood (Gaharu) in Indonesia*. Technical Report No. 3. ITTO PD425/06 Rev. 1 (I)
- Schmidt, M. S., 2011. *Introduction To CITES And Agarwood Overview*. PC20 Inf. 7 Annex 9. <http://www.cites.org/common/com/pc/20/inf%20docs/E20-07i-A09.pdf>. (akses: 29 Maret 2014)
- Schumacher, B. A. 2002. Methods for the Determination of Total Organic Carbon (Toc) In Soils and Sediments. Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/esd/cmb/research/papers/bs116.pdf>. Diakses: 30 Maret 2014.
- Siddik, M. 2010. Pengembangan Rantai Nilai Komoditas Gaharu sebagai Alternatif Pengentasan Kemiskinan di Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Agroteksos Vol. 20 No.2-3, Desember 2010*
- Sri Wilarso, B. R., E. Santoso, A. Wahyudi. 2010. Identifikasi jenis-jenis fungi yang potensial terhadap pembentukan gaharu dari batang *Aquilaria* spp. *Jurnal Silvikultur Tropika*. Vol. 01 No. 01 Desember 2010, Hal. 1 – 5
- Yosephin, M. M A. N., S. Adisasmuko, M. M. Budi Utomo., 2012. Isolasi dan Karakterisasi Fungi Pembentuk Gaharu Hasil Eksplorasi yang Berasal dari Empat Lokasi Di Nusa Tenggara Barat. Seminar Nasional HHBK. Mataram