

Effect of *Ecoenzyme* Addition on Corn-Based *Trichoderma asperellum* Formula on Spore Count

Siti Nadiah Zahra Br Tarigan^{1*}, Azwir Anhar¹, Siska Alicia Farma¹, Violita¹

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University, Padang, Indonesia;

Article History

Received : February 06th, 2025

Revised : March 20th, 2025

Accepted : April 13th, 2025

*Corresponding Author: **Siti Nadiah Zahra Br Tarigan**, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University, West Sumatera, Indonesia;
Email: zahrnady22@gmail.com

Abstract: *Trichoderma asperellum* is recognized as an effective biocontrol agent and plant growth promoter, playing a vital role in sustainable agriculture. To enhance the efficacy of *Trichoderma* formulations, *ecoenzyme* supplementation has been proposed as a promising approach. This study investigated the effect of *ecoenzyme* supplementation on the spore count of corn-based *Trichoderma asperellum* formulations. A Completely Randomized Design (CRD) was employed with five treatments and five replicates, and spore counts were assessed under varying concentrations of *ecoenzyme* (0%, 20%, 40%, 60%, and 80%). The results indicated that a 60% *ecoenzyme* concentration significantly increased the spore count, reaching a maximum of 252.32×10^6 spores. However, higher concentrations (80%) resulted in a decreased spore count (174.88×10^6), which was similar to that of the control (172.6×10^6), likely due to toxic effects or nutrient imbalances. These findings highlight the importance of selecting the optimal *ecoenzyme* concentration to maximize the spore count of *Trichoderma asperellum*, thereby contributing to more effective biocontrol and biofertilizer applications in sustainable agricultural practices.

Keywords: Biocontrol, corn, *ecoenzyme*, spore count, sustainable agriculture, *Trichoderma asperellum*.

Pendahuluan

Penggunaan agen hayati seperti *Trichoderma asperellum* telah menjadi solusi berkelanjutan untuk meningkatkan produktivitas tanaman di lahan terdegradasi, termasuk tanah terkontaminasi logam berat. Studi menunjukkan bahwa aplikasi *T. asperellum* bersama biochar mampu meningkatkan parameter fisiologi jagung, seperti klorofil a (51%) dan aktivitas enzim antioksidan (SOD 3× lipat) di bawah tekanan tembaga (Cu) (Amanullah & Khan, 2023). Di sisi lain, teknologi ko-kultivasi *T. asperellum* dengan *Bacillus amyloliquefaciens* terbukti meningkatkan ekspresi gen terkait metabolisme sekunder dan pertumbuhan tanaman melalui medium berbasis gluten jagung (Saravanakumar *et al.*, 2019). *Ecoenzyme*, produk fermentasi limbah organik rumah tangga, juga dilaporkan mengandung nutrisi seperti nitrogen (0,15%) yang dapat

memperkaya media pertumbuhan mikroba (Ihtiar *et al.*, 2023). Kombinasi potensi ini mendorong eksplorasi formula berbasis jagung yang diperkaya *ecoenzyme* untuk optimasi produksi spora *Trichoderma*. Dalam konteks pertanian berkelanjutan, pemanfaatan *Trichoderma* spp. semakin meningkat karena kemampuannya dalam meningkatkan serapan nutrisi dan toleransi tanaman terhadap stres abiotik (Woo *et al.*, 2021).

T. asperellum memerlukan media kaya nutrisi seperti sumber karbon (molase) dan nitrogen (ekstrak ragi) untuk meningkatkan pertumbuhan dan sporulasi. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa medium dengan 2% gluten jagung, 2% molase, dan 2% ekstrak ragi menghasilkan kepadatan spora *T. asperellum* hingga $8,7 \times 10^9$ CFU/mL (Khan *et al.*, 2023). *Ecoenzyme*, yang mengandung enzim hidrolitik dan senyawa organik hasil fermentasi limbah buah, dapat berperan sebagai suplemen

katalitik dalam media pertumbuhan. Analisis *ecoenzyme* dari kulit pepaya menunjukkan kandungan nitrogen 0,15%, yang berpotensi meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi mikroba. Integrasi kedua komponen ini diduga mampu menciptakan sinergi antara substrat jagung dan senyawa bioaktif *ecoenzyme* untuk meningkatkan viabilitas spora. Penelitian oleh Chandra *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa penambahan ekstrak limbah pertanian ke dalam media *Trichoderma* dapat meningkatkan produksi spora dan aktivitas enzimnya.

Produksi spora *T. asperellum* secara masif masih terkendala oleh biaya media konvensional yang tinggi dan ketergantungan pada bahan kimia sintetik. Studi mengungkapkan bahwa variasi komposisi media (seperti kadar molase dan gluten jagung) memengaruhi kepadatan spora hingga 40% (Hyundai Motorstudio, 2024). Selain itu, aplikasi *ecoenzyme* sebagai pupuk cair masih terbatas pada tanaman, padahal kandungan asam organik dan enzimnya dapat berfungsi sebagai prekursor metabolisme mikroba. Tantangan utama adalah ketidakstabilan nutrisi *ecoenzyme* akibat variasi bahan baku limbah rumah tangga. Oleh karena itu, integrasi *ecoenzyme* terstandarisasi ke dalam media berbasis jagung diusulkan sebagai strategi inovatif untuk mengoptimasi produksi spora *Trichoderma* secara ramah lingkungan. Pemanfaatan limbah organik sebagai sumber nutrisi alternatif tidak hanya mengurangi biaya produksi tetapi juga mendukung prinsip ekonomi sirkular (Dhawi *et al.*, 2021).

Penelitian ini bertujuan menguji pengaruh penambahan *ecoenzyme* terhadap jumlah spora *T. asperellum* dalam media berbasis jagung, yang dapat menjadi alternatif media produksi spora berbiaya rendah. Urgensi studi ini didasarkan pada kebutuhan akan biofungisida alami untuk mendukung pertanian berkelanjutan, terutama di wilayah dengan tingkat pencemaran tanah tinggi. Hasil penelitian diharapkan memberikan data komprehensif tentang rasio optimal *ecoenzyme* dan substrat jagung, sekaligus mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia melalui pemanfaatan limbah organik. Pengembangan formulasi biofertilizer yang efektif dan terjangkau sangat penting untuk meningkatkan adopsi teknologi pertanian berkelanjutan oleh petani (Soni *et al.*, 2022).

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan metode eksperimen pada periode Juli sampai November 2024 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Alat dan bahan penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, batang pengaduk, timbangan digital, bunsen, erlenmeyer dengan kapasitas 500 mL dan 1000 mL, rak tabung reaksi, autoclave untuk sterilisasi, ose, hot plate, gelas beker berkapasitas 1000 mL, Laminar Air Flow (LAF), vortex mixer, pipet tetes, hemositometer untuk menghitung jumlah spora, serta mikroskop untuk pengamatan mikrobiologi. Bahan yang digunakan meliputi aquades sebagai pelarut utama, tepung jagung sebagai substrat media, bubuk *Potato Dextrose Agar* (PDA), alkohol 70% untuk sterilisasi alat, tisu, aluminium foil, kapas, kain kasa, plastik wrap untuk penutup wadah, kertas label untuk identifikasi sampel, isolat *Trichoderma asperellum* yang diperoleh dari koleksi Bapak Febri Doni, Ph.D., serta *ecoenzyme* sebagai sumber nutrisi tambahan.

Metode penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima kali ulangan untuk setiap perlakuan.

Prosedur Penelitian

Persiapan Penelitian

Medium berbasis jagung dibuat dengan menggiling 500 gram jagung hingga menjadi tepung, lalu mencampurkannya dengan aquades hingga mencapai total volume 900 mL. Campuran tersebut dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mendidih, kemudian didinginkan dan disaring untuk mendapatkan ekstrak. Sebanyak 10 mL ekstrak medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi, disterilisasi menggunakan autoclave, didinginkan, ditutup dengan plastik wrap, dan diinkubasi pada suhu ruang selama tiga hari sebelum digunakan

sebagai media inokulasi *T. asperellum*. Inokulasi dilakukan dengan memindahkan kultur *T. asperellum* yang telah diremajakan dari medium PDA ke dalam aquades steril untuk menghasilkan suspensi. Suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer, lalu sebanyak 1 mL suspensi ditambahkan ke medium jagung yang telah disiapkan, dan pertumbuhan diamati. Selain itu, larutan *ecoenzyme* dengan pH 3 disiapkan dari proyek mahasiswa dengan konsentrasi masing-masing 20 mL, 40 mL, 60 mL, dan 80 mL, yang kemudian diencerkan hingga total volume mencapai 100 mL menggunakan aquades.

Pelaksanaan Penelitian

Medium Medium untuk pertumbuhan *T. asperellum* disiapkan dengan merendam 500 g tepung jagung dalam 900 mL aquades, kemudian dipanaskan selama 30 menit. Setelah itu, campuran disaring dan disterilisasi menggunakan autoklaf, lalu diinkubasi selama tiga hari. Isolat *T. asperellum* diremajakan pada media PDA, kemudian dibuat suspensi yang dihomogenkan menggunakan *vortex*. Jumlah spora dihitung dan sebanyak 1 mL suspensi ditambahkan ke dalam medium jagung. Setelah enam hari, pertumbuhan *T. asperellum* diamati dan kerapatan sporanya dihitung menggunakan hemositometer dengan perbesaran 400x. *Ecoenzyme* yang diperoleh dari proyek mahasiswa di Departemen Biologi Universitas Negeri Padang diencerkan hingga mencapai volume total 100 mL dengan konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%, dan pH-nya diukur. Selanjutnya, 1 mL *ecoenzyme* dengan berbagai konsentrasi ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi *T. asperellum* yang telah tumbuh pada medium jagung, dan pertumbuhannya diamati selama 15 hari. Pengenceran serial dilakukan pada kultur *T. asperellum* dengan memindahkan 1 mL kultur ke dalam 9 mL aquades steril secara bertahap hingga mencapai konsentrasi 10^6 .

Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah spora *T. asperellum* yang tumbuh pada medium berbasis jagung. Penghitungan spora dilakukan setiap 15 hari menggunakan hemositometer. Untuk proses ini, suspensi spora dibuat dengan mencampurkan

spora *T. asperellum* ke dalam aquades steril. Suspensi tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* untuk memastikan distribusi spora yang merata. Setelah proses homogenisasi, suspensi spora diperiksa di bawah mikroskop dengan menggunakan hemositometer. Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk menghitung jumlah spora dalam suspensi secara tepat. Data yang diperoleh dari penghitungan spora digunakan untuk menganalisis potensi pertumbuhan dan efektivitas *T. asperellum* pada medium berbasis dasar jagung.

Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat signifikansi 5% (Gomez & Wiley, 1995).

Hasil dan Pembahasan jumlah spora

Hasil pengamatan jumlah spora

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi *ecoenzyme* sebesar 60% menghasilkan jumlah spora tertinggi, yaitu $252,32 \times 10^6$, sedangkan konsentrasi 80% menyebabkan penurunan jumlah spora mendekati kontrol. Penambahan *ecoenzyme* hingga konsentrasi tertentu mampu meningkatkan sporulasi *T. asperellum*, tetapi konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan. Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Fu *et al.* (2021), yang melaporkan bahwa *T. asperellum* dapat memodifikasi komposisi komunitas jamur di dalam tanah, sehingga meningkatkan efektivitas biokontrol terhadap patogen tanaman. Kajian oleh Reyes *et al.* (2023) menemukan bahwa *Trichoderma* spp. menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman secara in vitro dan in vivo.

Penurunan jumlah spora pada konsentrasi *ecoenzyme* sebesar 80% kemungkinan disebabkan oleh efek toksik atau ketidakseimbangan nutrisi akibat akumulasi senyawa tertentu. Penelitian oleh Zhang *et al.* (2022) menunjukkan bahwa penggunaan biofertilizer yang mengandung *Trichoderma*

dapat merangsang populasi jamur *Aspergillus* di rhizosfer tanaman, tetapi pada konsentrasi tinggi, senyawa bioaktif yang dihasilkan dapat bersifat toksik dan mengganggu metabolisme mikroba. Hal ini menunjukkan pentingnya penentuan konsentrasi optimal *ecoenzyme* untuk mendukung pertumbuhan dan sporulasi *T. asperellum*.

Penelitian oleh Xue *et al.* (2022) menegaskan bahwa penggunaan biofertilizer berbasis *Trichoderma harzianum* tidak hanya meningkatkan pertumbuhan tanaman tetapi juga kualitas hasil panen. Ini menunjukkan bahwa kombinasi antara media berbasis jagung dan *ecoenzyme* pada konsentrasi optimal dapat memberikan sinergi positif untuk meningkatkan produksi spora *T. asperellum* secara efisien dan ramah lingkungan. Penelitian oleh Martinez *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa aplikasi *Trichoderma* dapat meningkatkan kandungan nutrisi dan senyawa antioksidan pada tanaman hortikultura.

Media berbasis jagung telah dikenal sebagai substrat yang baik untuk pertumbuhan *Trichoderma* spp. karena kandungan karbohidrat dan protein yang mendukung metabolisme mikroba. Penelitian oleh Maharani *et al.* (2024) menunjukkan bahwa penggunaan *Trichoderma* sebagai biofertilizer dapat meningkatkan hasil tanaman bawang merah dengan kondisi nutrisi yang optimal, menegaskan potensi penggunaan media berbasis jagung dalam aplikasi pertanian.

Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemanfaatan *ecoenzyme* pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan sporulasi *T. asperellum*, yang pada gilirannya berpotensi untuk meningkatkan produktivitas tanaman melalui mekanisme bioproteksi dan peningkatan kualitas media pertumbuhan. Kajian oleh Singh *et al.* (2023) menemukan bahwa media berbasis limbah pertanian, seperti jerami padi, dapat menjadi alternatif yang efektif dan murah untuk produksi *Trichoderma*.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa penambahan *ecoenzyme* pada media berbasis jagung berpengaruh signifikan terhadap jumlah spora *T. asperellum*, dengan konsentrasi 60%

menghasilkan jumlah spora tertinggi (252,32 x10⁶). Namun, konsentrasi *ecoenzyme* yang lebih tinggi (80%) justru menurunkan produksi spora, mengindikasikan adanya efek toksik atau ketidakseimbangan nutrisi. Temuan ini menggarisbawahi pentingnya optimasi konsentrasi *ecoenzyme* dalam formulasi *T. asperellum* berbasis jagung untuk memaksimalkan potensi sporulasi dan meningkatkan efektivitasnya sebagai agen biokontrol dan biofertilizer dalam pertanian berkelanjutan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi potensi penggunaan kombinasi berbagai jenis limbah organik dalam media pertumbuhan *Trichoderma* untuk mencapai formulasi yang optimal dan berkelanjutan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing atas bimbingan masukan serta arahan, dalam penelitian dan penulisan artikel ini sampai selesai.

Referensi

- Amanullah, F., & Khan, W. U. D. (2023). *Trichoderma asperellum* L. coupled the effects of biochar to enhance the growth and physiology of contrasting maize cultivars under copper and nickel stresses. *Plants*, 12(4), 958.
- Chandra, K., *et al.* (2020). Enhancing growth and sporulation of *Trichoderma harzianum* using different agricultural wastes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101784. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101784>
- Dhawi, F., *et al.* (2021). Valorization of agricultural wastes for sustainable production of *Trichoderma*-based biofertilizers: A review. *Journal of Fungi*, 7(12), 1048. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7121048>
- Fu, J., Xiao, Y., Wang, Y. F., Liu, Z. H., Zhang, Y. F., & Yang, K. J. (2021). *Trichoderma asperellum* alters fungal community composition in saline-alkaline soil maize rhizospheres. *Soil Science Society of*

- America Journal, 85(4), 1091-1104. DOI: <https://doi.org/10.1002/saj2.20245>
- Hyundai Motorstudio (2024). 10 Benefits of Eco Enzyme for Agriculture and Health. <https://hyundai.motorstudio.co.id/senayan-park/newsrooms/benefits-of-eco-enzyme>
- Ihtiar, A., Vira, T., Faizsyahrani, L., Anggraini, N., Azuhro, V., Dewi, E., & Nurwahyunani, A. (2023). The Utilization of Household Waste Through Ecoenzymes. *International Journal of Humanities, Social Sciences and Business (Injoss)*, 2(2), 239-49. <https://pdfs.semanticscholar.org/5b07/33639dfcdd083af01aa757b4d4485d8e7fdc.pdf>
- Khan *et al.* (2023). *Trichoderma asperellum* Empowers Tomato Plants and Suppresses *Fusarium oxysporum* Through Priming Responses. *Frontiers in Microbiology*. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1140378/full>
- Kim, Y. H., *et al.* (2024). The role of *Trichoderma* in plant disease suppression and growth promotion. *Journal of Microbiology*, 62(2), 125-135. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12275-024-3417-2>
- Maharani, P., Suryanti, S., Joko, T., & Somowiyarjo, S. (2024). *Rhizophagus intraradices* dan *Trichoderma asperellum* sebagai bioprotektan dan biofertilizer pada bawang merah TSS. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 29(2), 287-297. DOI: <https://doi.org/10.18343/jipi.29.2.287>
- Martinez, E., *et al.* (2022). *Trichoderma* spp. application improves the nutritional quality of horticultural crops. *Agronomy*, 12(3), 654. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy12030654>
- Reyes, A., *et al.* (2023). Secondary metabolites produced by *Trichoderma* spp. and their role in plant disease control. *Microorganisms*, 11(5), 1187. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051187>
- Saravanakumar *et al.* (2019). Co-cultivation of *Trichoderma asperellum* and *Bacillus amyloliquefaciens* Improves Wheat Growth and Biocontrol Activity. *Frontiers in Microbiology*. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.01068/full>
- Soni, S. K., Manhas, R., Jakhar, Y., Sharma, A., & Soni, R. (2022). Biofertilizers for sustainable agriculture: current trends and future perspective. *Genomic, Proteomics, and Biotechnology*, 331-356. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1984683>
- Singh, V., *et al.* (2023). Low-cost substrates for *Trichoderma* production and its application in crop improvement. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 48, 102637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102637>
- Woo, P. C., *et al.* (2021). Multifaceted beneficial effects of *Trichoderma* on plant growth and health. *Journal of Applied Microbiology*, 131(4), 1645-1662. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.15147>
- Xue, L., *et al.* (2022). Effects of *Trichoderma harzianum* biofertilizer on growth, yield, and quality of *Bupleurum chinense*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1029834. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1029834>
- Zhang, C., *et al.* (2022). *Trichoderma*-amended biofertilizer stimulates soil resident *Aspergillus* population for joint plant growth promotion. *Microbiome*, 10(1), 116. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01310-2>