

Perbandingan Teknik Penyimpanan Menggunakan Medium Yang Berbeda Terhadap Viabilitas Kapang *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae*

Rasyidah^a, Rini Fariani^b

^aLaboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan

^bLaboratorium Anatomi dan Fisiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan
Corresponding Author : rasyidah@ulm.ac.id

Received: 18th February 2021; Revised: 4th April 2021; Accepted: 23rd June 2021;

Available online: 27th July 2021; Published regularly: July 2021

Abstract

Laboratory of Microbiology which is part of Basic Laboratory System in Faculty of Mathematics and Natural Sciences University of Lambung Mangkurat have commonly used as a place of various activities both science academic practice and research. This laboratory also provides analysis for samples and production. Microbial culture plays important rule in practical science of microorganism. Thus, continuous culture and preservation are highly required. Preservation and re-culture of microbes in the laboratory recently using short-term preservation and periodic re-culture to a new medium, so it is necessary to conduct research on microbial preservation, especially molds with certain preservation techniques using different media. *Colletotrichum capsici* and *Prycularia oryzae* isolates were used in this study. The two molds were stored using different mediums: tapioca, 50% PDB + glycerol, and 50% PDB + liquid paraffin with a preservation period up to 1-3 months. The preserved mold was then cultured onto PDA medium to see its viability. The results of preservation of *Colletotrichum capsici* for 1-3 months using 3 different types of medium showed that 50% of liquid PDB-paraffin medium had the best viability compared to tapioca medium and 50% PDB-glycerol. *Prycularia oryzae* preserved for 1-3 months using tapioca medium, 50% PDB-glycerol, and 50% liquid PDB-paraffin cannot grow back.

Key Words: Reculture, Preservation, Viability

Abstrak

Laboratorium Mikrobiologi merupakan bagian dari Laboratorium Dasar FMIPA ULM yang digunakan untuk kegiatan praktikum, penelitian, jasa analisis sampel, dan layanan jasa produksi. Kegiatan ini menggunakan berbagai jenis kultur mikroba, antara lain adalah kapang. Kultur mikroba merupakan kunci penting dalam bidang mikrobiologi, sehingga diperlukan rekultur dan preservasi secara kontinyu. Preservasi dan rekultur mikroba di Laboratorium Mikrobiologi yaitu dengan menggunakan preservasi jangka pendek dan rekultur secara berkala ke medium yang baru, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang preservasi mikroba khususnya kapang dengan teknik preservasi menggunakan medium yang berbeda. Preservasi kapang yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan isolat *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae*, dimana kedua kapang ini disimpan menggunakan medium yang berbeda yaitu tapioka, PDB + gliserol 50%, dan PDB + parafin cair 50% dengan jangka waktu preservasi yaitu 1-3 bulan. Kapang yang dipreservasi kemudian direkultur ke medium PDA untuk melihat viabilitasnya. Hasil preservasi *Colletotrichum capsici* selama 1-3 bulan menggunakan 3 jenis medium yang berbeda menunjukkan bahwa pada medium PDB-parafin cair 50% viabilitasnya paling baik dibandingkan medium

tapioka dan PDB-gliserol 50%. *Prycularia oryzae* yg dipreservasi selama 1-3 bulan menggunakan medium tapioka, PDB-gliserol 50%, dan PDB-parafin cair 50% tidak dapat tumbuh kembali.

Kata kunci: *Rekultur, Preservasi, Viabilitas*

PENDAHULUAN

Pemeliharaan mikroba merupakan kunci penting dalam bidang mikrobiologi (Kusmiati & Priadi, 2003) sehingga perlu pengetahuan tentang sifat biokimiawi dan aktivitas metabolik mikroba tersebut (Susilawati & Purnomo, 2016) agar dapat dieksplorasi manfaatnya (Canovas & Iborra, 2003). Sifat biokimiawi mempunyai keterkaitan dengan koleksi kultur (*culture collection*). Keberadaan *culture collection* dapat membantu dalam kegiatan praktikum dan penelitian, sehingga proses kegiatan belajar lancar. Koleksi kultur yang digunakan dalam kegiatan tersebut, perlu pemeliharaan menggunakan teknik penyimpanan yang sesuai dengan sarana dan prasarana yang tersedia di laboratorium (Susilawati & Purnomo, 2016).

Pemeliharaan mikroba untuk keperluan tahap jangka pendek maupun panjang merupakan tahapan penting untuk mempelajari bidang mikrobiologi dalam rangka menjaga aktiitas metaboliknya tidak berubah (Susilawati & Purnomo, 2016). Machmud (2001) menyebutkan bahwa pemeliharaan (preservasi) bertujuan untuk menahan laju aktivitas mikroba, sehingga daya tumbuh (viabilitas) dapat dipertahankan dan untuk memelihara isolat agar daya tumbuh (*recovery*) dan kelangsungan hidupnya tidak mengalami perubahan yang signifikan. Metode preservasi ditentukan oleh sifat mikroba, antara lain adalah ciri morfologi, ciri fisiologis, biokimia, dan kemampuan untuk tumbuh di lingkungan alami maupun buatan (Machmud, 2001).

Tujuan preservasi jangka pendek atau jangka panjang disesuaikan dengan tujuan program yang akan dirancang. Pemeliharaan jangka pendek digunakan untuk kegiatan rutin seperti penelitian atau proyek yang sudah terprogram. Pemeliharaan jangka panjang berhubungan dengan koleksi dan upaya konservasi, apabila suatu saat mikroba tersebut diperlukan sudah tersedia. Koleksi dan pemeliharaan mikroba bertujuan untuk keperluan pribadi atau lembaga non komersial dan swasta atau lembaga komersial. Pembuatan koleksi mikroba, keberhasilannya ditentukan oleh teknologi, fasilitas yang tersedia, dan tenaga yang terampil, tekun serta rutin dikerjakan (Machmud, 2001).

Teknik penyimpanan dan pengawetan mikroba menurut (Machmud, 2001) memerlukan waktu yang lama, panjang, dan rumit. Hal ini berhubungan dengan tujuan utama preservasi yaitu mengurangi laju metabolisme mikroorganisme, agar daya hidup (viabilitas) dapat dipertahankan dan memelihara isolat dengan baik sehingga tidak terjadi perubahan sifat morfologinya. Teknik penyimpanan untuk jangka pendek yaitu dengan memindahkan kultur secara rutin (berkala). Penyimpanan isolat dalam jangka pendek dan menengah antara lain penyimpanan dalam minyak mineral, parafin cair, tanah steril, akuades steril, manik-manik poreselin, lempengan gelatin, dan P₂O₅ dalam keadaan vakum. Metode penyimpanan ini dapat bermanfaat bagi lembaga yang belum memiliki peralatan canggih (Skerman, 1973). Metode penyimpanan jangka panjang yang paling efektif adalah menggunakan penyimpanan liofilisasi ataua kering beku dan kriopreservasi. Teknik jangka panjang ini menurut (Clark, 1976; Ashwood Smith & Farrant, 1980) merupakan teknik yang paling efektif digunakan, tetapi tidak semua laboratorium memiliki alat tersebut.

Tepung tapioka merupakan salah satu medium organik yang dapat digunakan untuk preservasi mikroba, diantaranya bakteri *Pseudomonas flouresen*. Tapioka merupakan bahan yang murah, praktis, tahan lama, dan mudah diperoleh (Susanti, 2013). Media ini mempunyai kandungan nutrisi yang diperlukan oleh bakteri, diantaranya kalori, air, protein dan lemak (Suprapti, 2005). Tepung beras juga merupakan bahan organik yang dapat digunakan untuk preservasi mikroorganisme. Kandungan pati yang tinggi pada tepung beras menjadi sumber karbon dan nutrisi bagi bakteri (Sulistiani, 2009).

Laboratorium Mikrobiologi yang merupakan bagian dari Laboratorium Dasar FMIPA ULM melayani kegiatan praktikum, penelitian, jasa analisis sampel, jasa produksi (penyedia kultur mikroba untuk kalangan luar). Kultur mikroorganisme yang ada di Laboratorium Mikrobiologi antara lain adalah beberapa jenis kapang endofit dan patogen, bakteri serta khamir. Penyimpanan dan pemeliharaan kultur berupa kapang yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi saat ini lebih banyak menggunakan cara penyimpanan jangka pendek, yaitu dengan memindahkan kultur secara berkala ke media yang baru. Hal ini masih terkendala karena tidak semua dapat ditangani oleh tenaga yang terbatas, serta memerlukan media yang banyak karena dilakukan secara rutin. Penyimpanan kultur dalam jangka pendek biasanya dilakukan untuk kegiatan yang bersifat rutin yaitu pendidikan dan penelitian yang sedang berlangsung. Kendala yang sering dihadapi pada saat kegiatan sudah selesai adalah kultur harus dipertahankan agar tetap hidup dan tidak menurun kemampuan viabilitasnya, sehingga perlu dilakukan penyimpanan jangka menengah atau panjang dengan metode yang mudah, murah, serta mampu mempertahankan viabilitas kapang.

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian adalah eksperimen laboratorium menggunakan koleksi isolat kapang di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA ULM yaitu *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae*. Penelitian dilaksanakan dari bulan Mei- September 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru Kalimantan Selatan.

Rekultur Isolat

Rekultur isolat *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae* menggunakan medium Potato Dekstrosa Agar (PDA) yang sudah steril dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 5-7 hari.

Preparasi *Cryprotectant* Agents

Penelitian ini menggunakan tiga agensia *Cryprotectant* yaitu tepung tapioka, parafin cair dan gliserol. *Cryprotectant* tepung tapioka dibuat dengan komposisi 4 gr tapioka ditambahkan 2 ml akuades steril (Ahmad, 2018). Pembuatan *cryprotectant* parafin cair dan gliserol menggunakan metode dari Machmud (2001) yang telah dimodifikasi. Parafin cair dan gliserol masing-masing ditambahkan ke dalam medium Potato Dekstrosa Broth (PDB) dengan konsentrasi parafin cair dan gliserol masing-masing 50%. Medium kemudian dimasukkan dalam tabung Falcon dan disterilisasi menggunakan autoclave.

Preparasi Isolat

Isolat *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae* yang sudah diinkubasi selama 5-7 hari dipotong menggunakan *cock boorer* ukuran 6 mm secara aseptik dan dimasukkan dalam tabung Falcon yang sudah berisi *cryprotectant* steril.

Preservasi Isolat dalam *Refrigerator*

Preservasi kapang dilakukan selama 1-3 bulan dan masing –masing ulangan sebanyak 3 kali dengan perlakuan sebagai berikut:

1. Tabung 1 : medium tapioka + *Colletotrichum capsici* 6 mm.
2. Tabung 2 : PDB + parafin cair 50% + *Colletotrichum capsici* 6 mm.
3. Tabung 3 : PDB + gliserol 50% + *Colletotrichum capsici* 6 mm
4. Tabung 1 : medium tapioka + *Prycularia oryzae* 6 mm.
5. Tabung 2 : PDB + parafin cair 50% + *Prycularia oryzae* 6 mm.
6. Tabung 3 : PDB + gliserol 50% + *Prycularia oryzae* 6 mm.

Tabung Falcon yang sudah berisi potongan isolat dan *cryprotectant* selanjutnya disimpan dalam refrigerator suhu -3°C selama 1-3 bulan. Secara periodik setiap bulan dilakukan uji viabilitas.

Uji Viabilitas

Uji viabilitas secara periodik dilakukan dengan mengambil secara aseptik isolat kapang yang telah disimpan dan direkultur menggunakan medium PDA dalam cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 5-7 hari untuk melihat kemampuan daya hidupnya (Ahmad, 2018). Pengamatan mikroskopik isolat kapang, dilakukan untuk memastikan morfologinya tidak berubah. Pengamatan secara

mikroskopis dapat dilakukan dengan metode *slide culture* (Budi *et al.*, 2010; Rosana *et al.*, 2014) untuk mengamati bentuk karakteristik konidia dan konidiofor. Pengamatan *slide culture* di bawah mikroskop dilakukan setelah inkubasi selama 24-72 jam. Identifikasi isolat mengacu pada buku identifikasi *The Genera of Hyphomycetes* (Seifert *et al.*, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Teknik preservasi kapang *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae* selama 1-3 bulan pada perlakuan 3 *cryprotectant* menunjukkan hasil yang berbeda. Preservasi kapang selama 1 bulan (Tabel 1) setelah dilakukan rekultur pada medium PDA menunjukkan *Colletotrichum capsici* mempunyai kemampuan tumbuh pada semua medium penyimpanan sedangkan *Prycularia oryzae* tidak dapat tumbuh. *Colletotrichum capsici* pada medium PDB+gliserol 50% dapat tumbuh pada ketiga ulangan

Tabel 1. Pertumbuhan isolat kapang yang disimpan selama 1 bulan

Cryprotectant Agents	Kapang					
	<i>Colletotrichum capsici</i>			<i>Prycularia oryzae</i>		
	Ulangan ke-					
	1	2	3	1	2	3
Tapioka	√	x	x	x	x	x
PDB + gliserol 50%	√	√	√	x	x	x
PDB + parafin cair 50%	√	√	x	x	x	x

Hasil preservasi selama 2 bulan (Tabel 2) menunjukkan setelah isolat *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae* direkultur pada media PDA, yang dapat tumbuh hanya *Colletotrichum capsici* pada perlakuan medium PDB+parafin cair 50%.

Tabel 2. Pertumbuhan isolat kapang yang disimpan selama 2 bulan

Cryprotectant Agents	Kapang					
	<i>Colletotrichum capsici</i>			<i>Prycularia oryzae</i>		
	Ulangan ke-					
	1	2	3	1	2	3
Tapioka	x	x	x	x	x	x
PDB + gliserol 50%	x	x	x	x	x	x
PDB + parafin cair 50%	√	x	x	x	x	x

Isolat *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae* setelah preservasi selama 3 bulan (Tabel 3) menunjukkan hasil rekultur pada medium PDA yang dapat tumbuh hanya *Colletotrichum capsici* pada perlakuan medium PDB+parafin cair 50%.

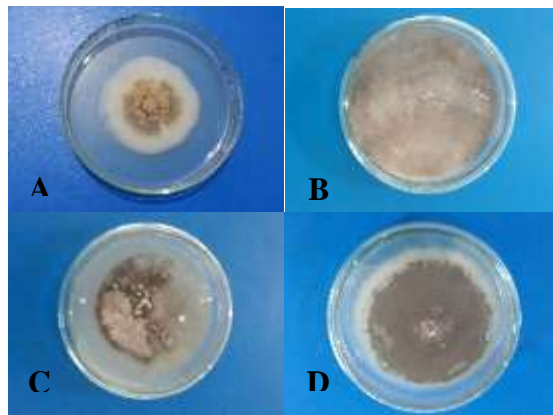
Tabel 3. Pertumbuhan isolat kapang yang disimpan selama 3 bulan

Cryprotectant Agents	Kapang					
	<i>Colletotrichum capsici</i>			<i>Prycularia oryzae</i>		
	Ulangan ke-					
	1	2	3	1	2	3
Tapioka	x	x	x	x	x	x
PDB + gliserol 50%	x	x	x	x	x	x
PDB + parafin cair 50%	√	√	√	x	x	x

Isolat *Colletotrichum capsici* menggunakan medium tapioka hanya dapat dipreservasi selama 1 bulan (Tabel 1). Preservasi *Colletotrichum capsici* selama 2-3 bulan, pada saat direkultur di medium PDA tidak mampu untuk tumbuh kembali. Isolat *Prycularia oryzae* yang dipreservasi selama 1-3 bulan di medium tapioka, pada saat direkultur ke medium PDA tidak dapat tumbuh. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan morfologi, struktur spora, dan hifa kedua isolat kapang yang digunakan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Ahmad (2018) menyebutkan bahwa kapang *D. flagrans* dapat dipreservasi selama 12 bulan menggunakan medium tapioka, sedangkan *P. lilacinum* hanya dapat dipreservasi selama 8 bulan.

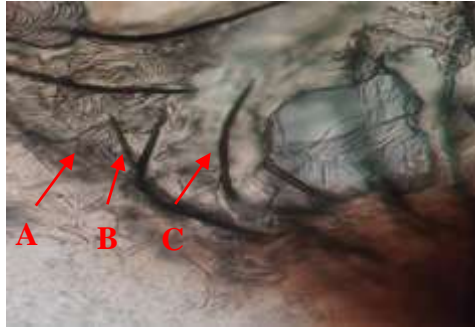
Preservasi selama 1-3 bulan menggunakan medium PDB-gliserol 50% menunjukkan hasil isolat *Colletotrichum capsici* hanya dapat dipreservasi selama 1 bulan, sedangkan preservasi selama 2 bulan dan 3 bulan tidak dapat tumbuh kembali di medium PDA. Hasil preservasi *Prycularia oryzae* selama 1-3 bulan dan direkultur ke media PDA tidak mampu tumbuh kembali. Penggunaan medium PDB-gliserol 50% diduga kurang sesuai dengan jenis kapang yang digunakan, karena mempengaruhi viabilitasnya. Simanjuntak *et al.* (2008) menyebutkan bahwa gliserol merupakan bahan preservasi yang baik, tetapi dapat menyebabkan masalah tekanan osmosis. Tekanan osmosis merupakan faktor pengendali mikroorganisme (Waluyo, 2012). Penggunaan gliserol secara umum digunakan untuk preservasi bakteri yaitu mencampur gliserol dengan berbagai medium cair. Setaji *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyebutkan gliserol 15% yang dicampurkan di medium *Tryptic soya broth* (TSB) merupakan konsentrasi yang paling baik untuk mempertahankan viabilitas *Aeromonas hydrophila* selama 5 bulan preservasi.

Morfologi makroskopis kapang setelah preservasi 1-3 bulan (Gambar 1) menunjukkan hanya *Colletotrichum capsici* yang dapat tumbuh. Perlakuan medium menunjukkan bahwa ketiga medium dapat digunakan untuk preservasi kapang, dan medium PDB + parafin cair 50% yang mempunyai kemampuan lebih baik dibandingkan medium tapioka dan PDB+gliserol 50%



Gambar 1. Morfologi *Colletotrichum capsici* (A) kontrol tanpa perlakuan preservasi. Perlakuan preservasi (B) medium tapioka (C) medium PDB- gliserol 50% (D) medium PDB- parafin cair 50%.

Isolat hasil rekultur yang dapat tumbuh diamati untuk melihat morfologi mikroskopisnya (Gambar 2). Morfologi mikroskopis *Colletotrichum capsici* hasil preservasi selama 3 bulan menunjukkan tidak ada perubahan morfologinya.



Gambar 2. Mikroskopis *Colletotrichum capsici* (perbesaran 400x) (A) konidia (B) setae (C) konidiofor

Colletotrichum capsici yang dipreservasi menggunakan medium PDB-parafin cair 50% mempunyai viabilitas yang lebih baik, karena pada preservasi 1-3 bulan mampu tumbuh pada saat rekultur di medium PDA. *Prycularia oryzae* tidak mampu tumbuh saat rekultur di medium PDA. Penggunaan parafin cair pada preservasi kapang merupakan teknik penyimpanan untuk mempertahankan viabilitasnya dan mencegah pengeringan medium. Kapang yang dipresevasi menggunakan parafin cair dapat bertahan sampai 20 tahun apabila disimpan pada suhu 4°C (Machmud, 2001). Parafin cair memiliki kelemahan yaitu toksisitasnya relatif tinggi (Setiaji et al., 2015) dan mengakibatkan pada saat rekultur menjadi kotor (Machmud, 2001).

Hasil preservasi kapang selama 1-3 bulan menggunakan medium tapioka, PDB-glisierol 50%, dan PDB-parafin cair 50% menunjukkan bahwa viabilitas *Colletotrichum capsici* mempunyai kesesuaian dengan medium preservasi yang digunakan, sedangkan *Prycularia oryzae* tidak mampu untuk tumbuh kembali pada penggunaan 3 medium ini. *Colletotrichum capsici* mempunyai viabilitas yang baik selama 3 bulan preservasi pada medium PDB-parafin cair 50%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan parafin cair sesuai untuk preservasi isolat *Colletotrichum capsici* jangka pendek dan menengah. Skerman (1973) menyebutkan teknik penyimpanan sederhana yang efektif untuk jangka pendek atau menengah antara lain menggunakan parafin cair, minyak mineral, akuades steril, manik-manik porselin, lempengan gelatin, dan P₂O₂ dalam keadaan vakum.

Keberhasilan preservasi memiliki tingkat yang berbeda-beda pada setiap jenis kapang, hal ini dapat dilihat dari hasil preservasi selama 1-3 bulan menggunakan 3 jenis medium berbeda, dimana *Prycularia oryzae* tidak mampu tumbuh pada saat dilakukan rekultur di medium PDA. Situmorang (2012) menyebutkan bahwa kemampuan spora atau konidia pada kapang berbeda dalam bertahan hidup pada media. Tingkat kematangan konidia juga mempengaruhi pada saat perbanyak kultur. Viabilitas mikroba dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu tekanan osmosis, nutrisi, penurunan suhu dan proses *thawing* (pencairan isi tube) (Setiaji et al., 2015). Kultur sel yang disimpan harus melalui proses bertahap, tahapan penurunan suhu sekitar -1°C – -3°C untuk mencegah dehidrasi sel. Penurunan suhu secara drastis menyebabkan terjadinya pembekuan dalam sel sehingga proses difusi atau osmosis tidak terjadi dengan sempurna dan akibatnya masih ada sisa air dalam sel (Simanjuntak et al., 2008).

Suhu preservasi yang digunakan dapat mempengaruhi viabilitas, hal ini berhubungan dengan laju metabolisme mikroba. Penelitian ini masih menggunakan refrigerator dengan suhu 3°C sebagai alat untuk menyimpan medium yang berisi kapang. Laju metabolisme mempengaruhi ketersediaan nutrisi medium. Hal ini sesuai dengan penelitian Setiaji et al. (2015)

dimana daya tumbuh bakteri yang disimpan dalam gliserol 25% menurun pada hari ke-14, statis pada hari ke-42 dan mengalami kematian pada hari ke-56. Simajuntak *et al.* (2008) menyatakan bahwa suhu yang belum optimal belum dapat mengurangi laju metabolisme secara total sehingga energi yang ada di dalam sel digunakan untuk metabolisme, akibatnya sebagian mikroba kehabisan nutrisi dan akhirnya mati, sehingga viabilitasnya berkurang. Proses *thawing* dapat mempengaruhi viabilitas mikroba, pada penelitian ini isolat kapang yang disimpan dalam refrigerator dikeluarkan dan dibiarkan pada suhu ruang hingga mencair, sehingga waktu yang diperlukan untuk mencairkan es menjadi lebih lama dan dapat merusak sel. Proses *thawing* sebaiknya dilakukan dengan merendam tabung dalam air hangat 37°C selama 60-90 detik

KESIMPULAN

Preservasi *Colletotrichum capsici* selama 1-3 bulan menggunakan 3 jenis *cryoprotectant* yang berbeda menunjukkan bahwa pada medium PDB-parafin cair 50% viabilitasnya paling baik dibandingkan medium tapioka dan PDB-gliserol 50% setelah dilakukan rekultur di medium PDA. *Prycularia oryzae* yg dipreservasi selama 1-3 bulan menggunakan medium tapioka, PDB-gliserol 50%, dan PDB-parafin cair 50% tidak dapat tumbuh pada saat dilakukan rekultur di medium PDA

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu Universitas Lambung Mangkurat atas pendanaan penelitian ini untuk anggaran pada tahun 2019 dan Witiyasti Imaningsih, S. Si., M. Si sebagai Kepala Bagian Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru Kalimantan Selatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R. Z. 2018. Medium Tapioka untuk Preservasi Kapang yang Bermanfaat untuk Veteriner. *Jurnal Mikologi*. 2 (1): 1-6.
- Ashwood-Smith, M.J. and J. Farrant. 1980. *Low temperature preservation in medicine and biology*. Tunbridge Wells, UK Pitman.
- Budi, S. W., E. Santoso & A. Wahyudi. 2010. Identifikasi Jenis-Jenis Fungi yang Potensial Terhadap Pembentukan Gaharu dari Batang *Aquilaria* spp. *Jurnal Silvikultur Tropika*. 1(1): 1-5.
- Clark, W.A. 1976. *Selected bibliography of literature on preservation of microorganisms, blood, tissues, and vaccines with emphasis on freezing and freeze-drying (1968-1976)*. US Department of Health Education and Welfare, Center for Disease Control, Atlanta.
- Kusmiati & D. Priadi. 2003. Kriopreservasi Bakteri Selulolitik *Bacillus pumilus* dengan Krioprotektan Berbeda. *Biosmart*. 5(1): 1-6
- Machmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin Agrobio*. 4(1): 24-32.
- Rosana, Y., T. Matsuzawa, T. Gono & A. Karuniawati. 2014. Modified Slide Culture Methode for Faster and Easier Identification of Dermatophytes. *Microbiology Indonesia*. 8(3): 135-139.
- Setiaji, J., T. I. Johan & M. Widantari. 2015. Pengaruh Gliserol Pada Media *Tryptic Soy Broth* (TSB) Terhadap Viabilitas Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Dinamika Pertanian*. 30(1): 83-91
- Shivas, R & D. Beasley. 2005. *Plant Pathology Herbarium*. Queensland Department of Primary Industries and Fisheries, Australia.
- Simanjuntak, R., S. Baddu., T. S. Ekawati., M. Widantari & M. M. As'adi. 2008. Preservasi Beku *Aeromonas salmonicida* Dengan Gliserol dala TSB Selama 6 Bulan. *Prosiding Hasil Uji Coba Preservasi*. Vol 3. Pusat Karantina Ikan, Jakarta.

- Situmorang, E. C. 2012. Penyimpanan Spora *Trichoderma asperellum* T13 dan *Aspergillus niger* A1 dalam Bahan Pembawa Padat dan Cair. Disertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sulistiani. 2009. Formulasi spora *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Hayati dan PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) pada Berbagai Bahan Pembawa. Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB.
- Suprpti, M.L. 2005. Tepung Tapioka. Kanisius. Yogyakarta.
- Susanti, R. R. 2013. Viabilitas *Pseudomonas flouresen* Formula Tapioka dengan Penambahan Laktosa Sebagai Senyawa Penstabil. Skripsi. Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang. Padang.
- 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.
- Seifert, K., G. M. Jones., W. Gams., & B. Kendrick. 2011. *The Genera of Hyphomycetes*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Netherlands.
- Susilawati, L & E. S. Purnomo. 2016. Viabilitas Sel Bakteri dengan Cryoprotectans Agents Berbeda (Sebagai Acuan dalam Preservasi Culture Collection di Laboratorium Mikrobiologi). *Biogenesis*. 4(1): 34-40.
- Waluyo, L. 2012. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang