

## PENGUJIAN KEEFEKTIFAN TEKNIK INOKULASI *Ganoderma* sp. BERDASARKAN DOT IMMUNOBINDING ASSAY (DIBA)

H. Widiastuti<sup>1)</sup>, Suharyanto<sup>1)</sup>, F. Novianti<sup>1)</sup>, A. Wulaningtyas<sup>1)</sup>, dan Trisning<sup>1)</sup>

**Abstrak** Penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang disebabkan oleh *Ganoderma* sp. adalah patogen terpenting pada kelapa sawit dan sangat merugikan pengusaha kelapa sawit di Indonesia dan Malaysia. Pencarian metode pengendalian penyakit BPB yang efektif terhambat karena teknik inokulasi buatan tidak dapat menjaga virulensi patogen. Penelitian ini bertujuan mendapatkan teknik inokulasi *Ganoderma* sp. yang efektif yang dapat menjaga virulensinya berdasarkan dot immunobinding assay (DIBA). Metode yang diuji adalah jenis substrat inokulum yaitu kayu karet dan pelepah kelapa sawit yang dikombinasikan dengan ukuran inokulum yaitu 1, 8, dan 27 cm<sup>3</sup>. Pengamatan kualitatif dilakukan terhadap vigor tanaman yang terinfeksi *Ganoderma* sp. dan deteksi infeksi dini *Ganoderma* sp. dengan DIBA enam minggu setelah bibit kelapa sawit diinokulasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan teknik DIBA, metode inokulasi *Ganoderma* sp. terbaik adalah menggunakan inokulum yang ditumbuhkan pada kayu karet yang berukuran 27 cm<sup>3</sup>. Dengan teknik ini, infeksi dini *Ganoderma* sp. pada bibit kelapa sawit dapat diamati enam minggu setelah inokulasi.

**Kata kunci** : penyakit busuk pangkal batang, kelapa sawit, metode inokulasi *Ganoderma* sp., kayu karet, pelepah kelapa sawit, DIBA.

**Abstract** Basal stem rot (BSR) disease caused by *Ganoderma* sp. is the most serious disease of oil palm in Indonesia and Malaysia. Effective control of

*Ganoderma* sp. was inhibited by difficulty of artificial inoculation technique that could not maintain pathogen virulency. An artificial inoculation technique that effective for *Ganoderma* sp. should be developed correctly. This research was conducted to examine the inoculation technique of *Ganoderma* sp. that still maintain its virulency. The treatment included type of inoculants media (rubber wood and oil palm stalk blocks) with size (1, 8, and 27 cm<sup>3</sup>) as *Ganoderma* sp. substrate. The vigor of oil palm infected by *Ganoderma* sp. was observed and early detected *Ganoderma* sp. based on serological technique using Dot Immunobinding Assay (DIBA) six weeks after inoculation. The results showed that the best inoculation method was using inoculant prepared from block of rubber wood with size of 27cm<sup>3</sup>. Using this assay, *Ganoderma* sp. early infection could be observed six weeks after inoculation.

**Keywords:** basal stem rot, oil palm, infection method of *Ganoderma*, rubber wood, oil palm stalk, DIBA.

### PENDAHULUAN

Penyakit Busuk Pangkal Batang (BPB) pada kelapa sawit yang disebabkan cendawan Basidiomycetes tular tanah *Ganoderma* sp. merupakan penyakit yang paling merusak baik pada bibit maupun tanaman dewasa (Semangun, 2000). Untuk menginfeksi tanaman, cendawan ini menghasilkan tiga enzim utama pendegradasi jaringan tanaman, yaitu lignin peroksidase, selulase, dan hemiselulase. Pada awalnya penyakit ini ditemukan pada tanaman dewasa dengan masa tanam melebihi 25 tahun, tetapi sekarang tingkat serangan terus meningkat pada periode pembibitan hingga penanaman ulang, tanaman yang mati pada periode

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

<sup>1)</sup> H. Widiastuti (✉)  
Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia  
Jl Taman Kencana No 1 Bogor 16151

tanam ke-2 atau ke-3 dapat mencapai 40% sehingga saat ini penyakit BPB ditetapkan sebagai penyakit penting pada kelapa sawit yang dapat menurunkan nilai produksi sebesar 80% (Semangun, 2000; Suharyanto dan Darmono, 2001; Susanto, 2009).

Gejala awal penyakit BPB adalah pertumbuhan tanaman terhambat dan pemucatan daun yang mendekati pangkal batang yang diikuti dengan nekrosis di seluruh daun. Ketika tanaman dewasa gejala terlihat dari seluruh bagian tanaman yang mengalami pemucatan dan pengeringan, daun tombak tidak membuka, dan lama kelamaan tanaman akan mati (Susanto, 2009).

Perkembangan penyakit dipercepat oleh kontak akar yang intensif mengingat kelapa sawit ditanam pada populasi yang rapat, selain tanaman tersebut juga memiliki akar yang banyak, padat dan menyebar ke segala arah. Tindakan untuk menghambat tingkat perkembangan penyakit pada individu tanaman terbentur pada kesulitan dalam mendeteksi tingkat infeksi atau kerusakan yang ditimbulkan. Gejala penyakit biasanya baru dapat dideteksi pada tingkat serangan lanjut yaitu pada kondisi di mana hampir sebagian besar jaringan pangkal batang telah rusak.

Spora *Ganoderma* sp. yang dihasilkan dari satu tubuh buah dapat mencapai 2000 milyar tiap 24 jam (Wan dan Idris, 2010). Walaupun demikian Turner (1981) melaporkan bahwa inokulasi *Ganoderma* sp. secara langsung menggunakan basidiospora pada bibit kelapa sawit tidak menyebabkan terjadinya infeksi. Wan dan Idris (2010) mengemukakan bahwa infeksi *Ganoderma* sp. adalah melalui kontak akar sakit dengan akar sehat, sedangkan Singh (1990) mengemukakan bahwa ukuran inokulum dan kecukupan hara merupakan hal penting yang mempengaruhi infeksi. Hal ini ditunjukkan keparahan infeksi *Ganoderma* sp. pada tanaman generasi ke tiga dibandingkan dengan generasi ke dua. Idris *et al.* (2006) juga mengemukakan bahwa keberhasilan infeksi *Ganoderma* sp. sangat dipengaruhi oleh ukuran sumber inokulum. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada 6 bulan setelah inokulasi, gejala penyakit yang teramati pada daun dan hasil isolasi kembali *Ganoderma* sp. tertinggi teramati pada bibit kelapa sawit yang diinokulasi dengan balok kayu karet berukuran 216 cm<sup>3</sup>. Namun adanya perbedaan basidium dari lokasi yang sama menunjukkan bahwa

kontak akar-akar dari miselia yang tumbuh bukan merupakan satu-satunya metode infeksi atau penyebaran *Ganoderma* sp. (Ariffin *et al.*, 1996). Selain itu, walaupun miselium monokariot dapat mengkolonisasi debris namun tidak mampu menyebabkan infeksi, sedangkan miselium dikariot dapat menyebabkan infeksi (Hasan dan Flood, 2003)

Tingkat serangan suatu penyakit sangat dipengaruhi jenis inang, virulensi atau tingkat keganasan patogen, dan kondisi lingkungan. Pengendalian suatu patogen dinyatakan efektif dan sesuai apabila dapat mengendalikan patogen yang memiliki virulensi tinggi. Virulensi patogen tergantung pada medium yang membawanya. Sumber inokulum yang ditumbuhkan pada medium yang cocok akan dapat mempertahankan virulensi patogen. Bagaimanapun juga dalam mempelajari patogenitas *Ganoderma* sp. dan pengendaliannya diperlukan inokulasi buatan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Idris *et al.* (2006) dan Breton *et al.* (2005) teknik inokulasi buatan *Ganoderma* sp. menggunakan substrat kayu karet dengan inokulasi di perakaran dapat menjaga daya virulensi *Ganoderma* sp. pada bibit kelapa sawit berumur 12 bulan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Breton *et al.* (2005) setelah 28 minggu pengamatan setelah inokulasi, presentase keberhasilan bibit yang terinfeksi adalah 30%, sedangkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Idris *et al.* (2006) presentase keberhasilan bibit yang terinfeksi adalah 60% menggunakan substrat kayu karet berukuran 216 cm<sup>3</sup> sebagai medium tumbuh *Ganoderma* sp. dalam jangka waktu 6 bulan setelah inokulasi. Namun demikian inokulasi dengan cara ini memerlukan waktu yang lama dan tidak spesifik, karena pengamatan infeksi *Ganoderma* sp. hanya dilakukan berdasarkan abnormalisasi pertumbuhan bibit dan reisolasi *Ganoderma* sp. dari bibit yang terinfeksi.

Untuk mendeteksi infeksi *Ganoderma* sp. telah dikembangkan beberapa metode deteksi dini yaitu menggunakan mesin PCR dengan primer IT1-IT2 dan amplifikasi daerah ITS dengan primer ITS1 dan ITS4 dan karakterisasinya menggunakan enzim restriksi *Mlu1* (Utomo dan Susanto, 2008). Penggunaan teknik molekuler ini memiliki keuntungan karena contoh yang diperlukan sangat sedikit dan sangat sensitif, namun demikian saat ini teknik ini masih mahal, harus



dilakukan di lab dan memerlukan alat untuk deteksinya. Sebaliknya dengan teknik serologi, sampel dapat dideteksi dengan cepat, mudah, dan dapat dilaksanakan langsung di lapang serta dapat mendeteksi secara spesifik. Suharyanto dan Taniwiryono (2010) melaporkan bahwa teknik serologi *dot immunobinding assay* (DIBA) efektif untuk mendeteksi dini infeksi *Ganoderma sp.* pada kelapa sawit baik pada tanaman bibit maupun dewasa. Percobaan ini bertujuan untuk memperoleh metode inokulasi buatan *Ganoderma sp.* yang efektif berdasarkan teknik serologi DIBA.

## BAHAN DAN METODE

### Penyiapan inokulum *Ganoderma sp.*

Kultur *Ganoderma sp.* yang digunakan adalah koleksi BPBPI yang diisolasi dari tubuh buah *Ganoderma sp.* yang berasal dari tanaman kelapa sawit di Sumatera Utara. Kultur *Ganoderma sp.* selanjutnya disimpan dalam PDA miring dan disubkulturkan setiap 4 minggu.

Substrat *Ganoderma sp.* yang diuji adalah balok kayu karet dan pelepah kelapa sawit yang masing-masing dipotong berbentuk kubus dengan ukuran 1, 8, dan 27 cm<sup>3</sup>. Potongan substrat tersebut direbus 5 kali berturut-turut sampai terlihat jernih untuk menghilangkan sisa getah dan zat warna. Balok kayu karet dan pelepah kelapa sawit yang telah direbus kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 1,2 atm selama 45 menit.

Inokulum *Ganoderma sp.* dibuat dengan mengkulturkan miselium dalam botol selai berisi 15 ml medium PDA pada suhu ruang selama 1 minggu, selanjutnya ditanam balok kayu karet atau pelepah kelapa sawit steril. Inokulum *Ganoderma sp.* tersebut diinkubasi selama 2 minggu pada suhu ruang (25-30°C) hingga kayu karet dan pelepah kelapa sawit diselimuti miselium.

### Persiapan bahan tanam kelapa sawit

Benih kelapa sawit yang dipakai dalam penelitian ini adalah varietas Yangambi yang berasal dari Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan, Sumatera Utara. Kecambah kelapa sawit ditumbuhkan pada baki

plastik berukuran 40 cm x 15 cm x 12 cm berisi media semai berupa campuran tanah dan pasir steril dengan perbandingan 1:3 (v/v) selama tiga bulan. Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan penyiraman dan setelah tiga bulan, bibit kelapa sawit dipindahkan ke dalam *polybag* berukuran 10 cm x 30 cm berisi 1 kg tanah steril.

### Inokulasi buatan *Ganoderma sp.* pada bibit kelapa sawit

Bibit kelapa sawit berumur 3 bulan diinokulasi *Ganoderma sp.* dengan cara melukai pangkal batang bibit kelapa sawit terlebih dahulu dengan skapel steril, kemudian *Ganoderma sp.* yang telah ditumbuhkan pada kayu karet atau pelepah kelapa sawit ditempelkan pada daerah pelukaan, kemudian diikat dengan tali kasur dan selanjutnya diinkubasi selama 1,5 bulan. Bibit kelapa sawit dipelihara di rumah kaca dengan penyiraman secara teratur.

### Deteksi infeksi *Ganoderma sp.* pada bibit kelapa sawit dengan metode *dot immunobinding assay* (DIBA)

Sampel yang digunakan untuk deteksi DIBA adalah daun (0,2 x 0,2 cm<sup>2</sup>), pangkal batang ( $\pm$  0,2 cm), dan akar ( $\pm$  0,2 cm) bibit kelapa sawit 1,5 bulan setelah inokulasi *Ganoderma sp.* Sampel dipotong sampai halus kemudian digerus dengan pengaduk kaca di dalam sumuran cawan ELISA dengan menambahkan *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,5 satu tetes sampai hancur. Sampel kemudian ditambahkan 10 tetes PBS lalu diaduk hingga homogen dan dibiarkan mengendap selama 30 menit. Supernatan digunakan sebagai sumber antigen.

Antigen (5  $\mu$ l) diteteskan pada kertas nitroselulosa lalu di kering-anginkan  $\pm$  5 menit. Setelah kering, kertas nitroselulosa direndam dengan *buffer tris EDTA NaCl- tween 20 casein* (TEN-TC) sebagai *blocking agent* (15 ml) lalu digoyang selama 15 menit kemudian rendaman dibuang. Kertas kemudian direndam dengan antibodi anti miselium yang telah diencerkan 10 kali dengan PBS pH 7-8 lalu diinkubasikan selama 1 jam sambil digoyang, kemudian rendaman dibuang. Kertas selanjutnya dicuci dengan 0,05% PBS Tween 20 sebanyak tiga kali, masing-masing selama  $\pm$  2



menit. Kemudian direndam dengan konjugat *antichicken* peroksidase dengan perbandingan 1:5000 dicuci kembali dengan 0,05% PBS Tween 20. Pewarnaan dilakukan menggunakan 15 ml PBS, 12 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan 1 tablet diamino benzidine (DAB).

Pengamatan kualitatif bercak DIBA dilakukan 24 jam setelah pewarnaan kertas membran untuk menghindari bias warna yang mungkin terjadi akibat pewarnaan yang belum sempurna. Semakin pekat warna bercak titik reaksi pada kertas membran akan semakin kuat pula daya infeksi atau tingkat keparahan infeksi *Ganoderma* sp. Pengamatan semi kuantitatif DIBA diamati dari persentase angka *red*, *green*, dan *blue* (RGB) pada titik reaksi dengan *Adobe Photoshop* versi CS3 tahun 2007 dan menghasilkan angka proporsi kadar warna merah, hijau dan biru pada bercak hasil DIBA.

### Rancangan percobaan dan pengamatan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok untuk menguji delapan perlakuan yang merupakan kombinasi empat ukuran substrat (0, 1, 8, dan 27 cm<sup>3</sup>) dan dua jenis substrat (kayu karet dan pelepah kelapa sawit). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak lima kali.

Pengamatan vigor tanaman meliputi tinggi, warna daun dan akar dilakukan secara kualitatif 1,5 bulan setelah inokulasi (BSI) *Ganoderma* sp. sedangkan

pengamatan infeksi *Ganoderma* sp. dilakukan secara kualitatif dan semi kuantitatif menggunakan DIBA.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### *Pengamatan gejala awal BPB berdasarkan vigor tanaman*

Kultur *Ganoderma* sp. tumbuh baik pada substrat kayu karet dan pelepah kelapa sawit (Lampiran 1). Inokulasi dengan pelukaan pada pangkal batang dengan substrat tersebut (Lampiran 2) mampu menginfeksi kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma* sp. Penggunaan pelepah kelapa sawit menyebabkan vigor lebih merata dibandingkan dengan kayu karet (Gambar 1). Vigor bibit kelapa sawit yang diinokulasi kayu karet dan pelepah kelapa sawit ukuran 27 cm<sup>3</sup> memiliki vigor yang lebih merata dibandingkan dengan bibit kelapa sawit yang diinokulasi kayu karet dan pelepah kelapa sawit ukuran 1 dan 8 cm<sup>3</sup> (Gambar 1). Daun tanaman yang diinokulasi *Ganoderma* sp. tampak menguning dengan bercak nekrotik dan dimulai dari pelepah di bagian bawah (Gambar 1). Selain itu, bibit kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma* sp. lebih kerdil, jumlah daun sedikit, daun lebih pucat (Gambar 2), pertumbuhan akar sedikit dan membusuk (Gambar 3).



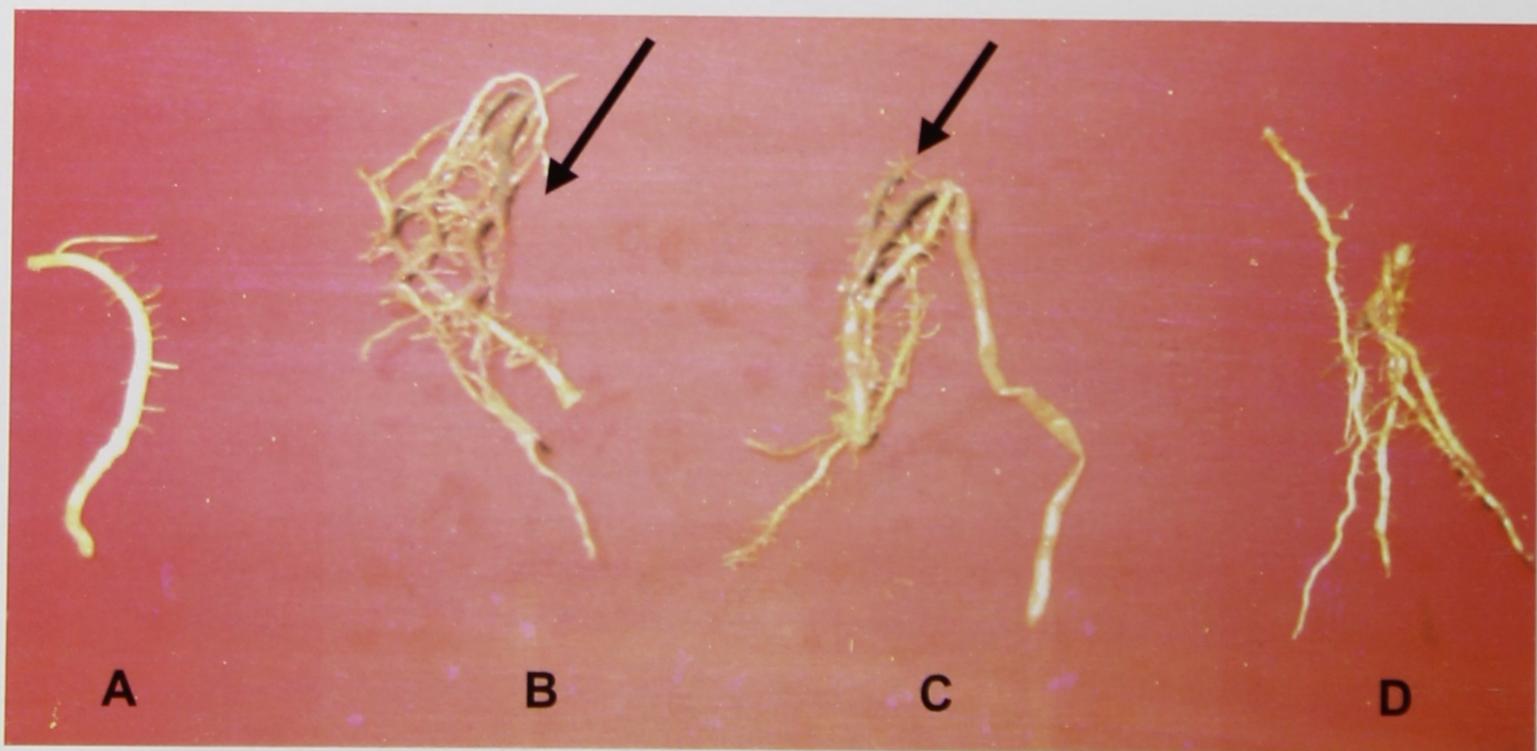
Gambar 1. Pengamatan kualitatif pertumbuhan bibit kelapa sawit yang diinfeksi *Ganoderma* sp. dari pelepah kelapa sawit berukuran 0, 1, 8, dan 27 cm<sup>3</sup> (A) (kiri-kanan), dan *Ganoderma* sp. pada karet berukuran 0, 1, 8, dan 27 cm<sup>3</sup> (B) (kiri-kanan)



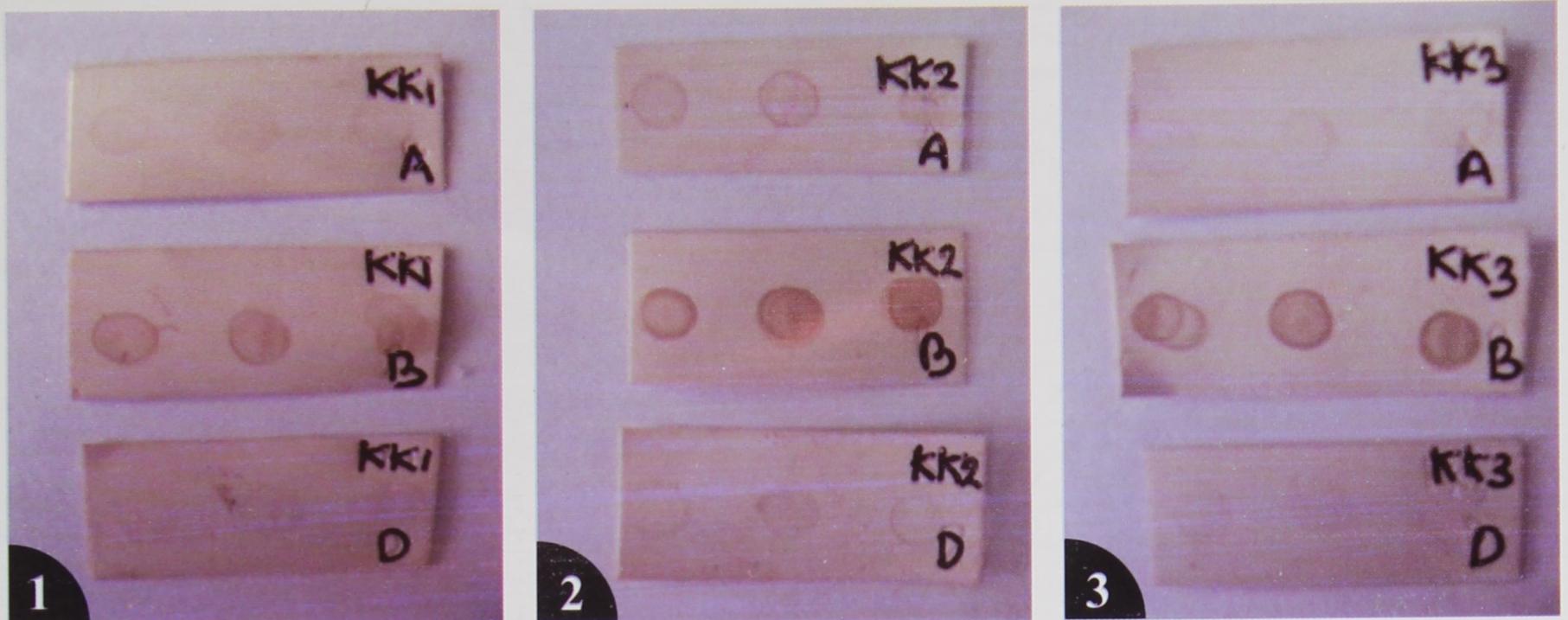
Gambar 2. Bibit kelapa sawit tanpa (A) dan dinokulasi (B) *Ganoderma sp.*

Pada Gambar 3 juga dapat diamati perbedaan tingkat nekrotik atau pembusukan pada akar kelapa sawit. Akar bibit kelapa sawit yang tidak diinokulasi *Ganoderma sp.* (Gambar 3A) tampak sehat dan tidak mengalami nekrotik. Nekrotik dimulai dengan adanya

bercak cokelat yang disebabkan oleh jaringan yang mulai membusuk (Gambar 3D), dan berkembang menjadi pembusukan yang ditandai dengan adanya jaringan akar yang mengempis dan berwarna cokelat (Gambar 3B dan 3C).



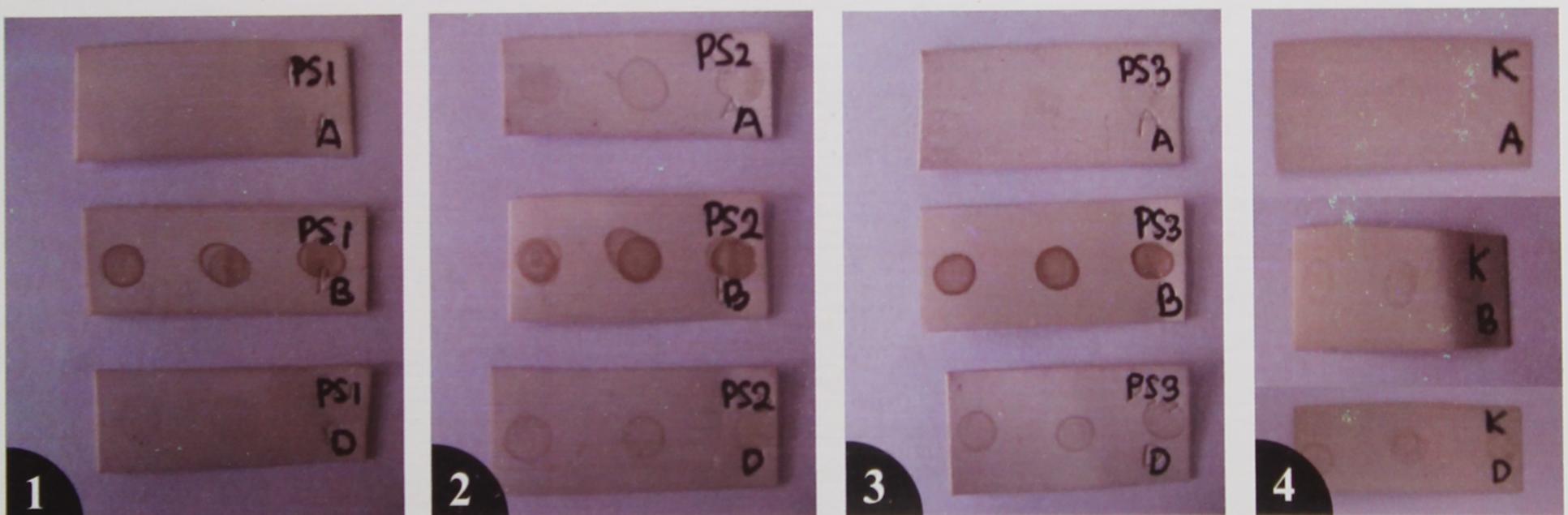
Gambar 3. Perakaran bibit kelapa sawit kontrol (A), akar kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma sp.* menggunakan kayu karet ukuran  $27 \text{ cm}^3$  (B), ukuran  $8 \text{ cm}^3$  (C), ukuran  $1 \text{ cm}^3$  (D). Anak panah menunjukkan terjadinya pembusukan akar.



Gambar 4. Deteksi infeksi *Ganoderma* sp. dengan DIBA dari sampel kelapa sawit yang diinokulasi dengan kayu karet ukuran 27 cm<sup>3</sup> (1), ukuran 8 cm<sup>3</sup> (2) ukuran 1 cm<sup>3</sup> (3) (A= akar, B=batang, D=daun).

Inokulum *Ganoderma* sp. pada pelepah sawit dan karet berukuran 27 cm<sup>3</sup> memberikan reaksi yang paling kuat dibandingkan dengan inokulum *Ganoderma* sp. yang ditumbuhkan pada pelepah kelapa sawit dan kayu karet berukuran 1 dan 8 cm<sup>3</sup>. Reaksi yang kuat pada kertas membran ditandai dengan tingkat kepekatan warna merah kehitaman yang muncul karena reaksi pengikatan antigen dengan antibodinya yang direaksikan dengan

konjugat. Walaupun demikian berdasarkan metode DIBA tidak terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan penggunaan kayu karet atau pelepah kelapa sawit terhadap daya virulensi *Ganoderma* sp. (Gambar 4 dan 5). Gambar 4 dan 5 juga memperlihatkan bahwa reaksi DIBA paling kuat terjadi di daerah pelukaan yaitu pangkal batang dibandingkan dengan pada bagian lain bibit seperti akar dan daun.



Gambar 5. Deteksi infeksi *Ganoderma* sp dengan DIBA dari sampel kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma* sp. dengan pelepah kelapa sawit ukuran 27 cm<sup>3</sup> (1), 8 cm<sup>3</sup> (2), 1 cm<sup>3</sup> (3), dan kontrol (tanpa diinokulasi) (4) (A= akar, B=batang, D=daun).

Pengamatan semi kuantitatif DIBA diamati dari persentase angka *red*, *green* dan *blue* (RGB) dengan *Adobe Photoshop* versi CS3 tahun 2007 dan menghasilkan angka proporsi kadar warna merah, hijau, dan biru pada hasil deteksi. Dalam analisis hasil DIBA diasumsikan bahwa semakin kecil proporsi RGB semakin kuat reaksi DIBA. Angka RGB pangkal batang yang merupakan titik infeksi pada umumnya lebih rendah dibandingkan dengan angka RGB pada

akar dan daun kelapa sawit. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa bibit yang diinokulasi *Ganoderma sp.* yang ditumbuhkan pada substrat kayu karet berukuran 27 cm<sup>3</sup> memiliki nilai RGB yang lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan substrat lainnya dan kontrol, dari hasil ini disimpulkan bahwa kayu karet berukuran 27 cm<sup>3</sup> merupakan substrat yang terbaik untuk inokulasi *Ganoderma sp.*, karena dapat menjaga daya virulensinya.

Tabel 1. Persentase RGB sampel akar, pangkal batang, dan daun kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma sp.* yang ditumbuhkan di kayu karet dan pelepah kelapa sawit pada berbagai ukuran.

No.	Perlakuan	Sampel tanaman <sup>a</sup>		
		Akar	Pangkal batang	Daun
1.	Karet ukuran 1 cm <sup>3</sup>			
	Red			
	Green	137,56	115,22	106,78
	Blue	129,11	109,44	124,89
2.	Karet ukuran 8 cm <sup>3</sup>			
	Red			
	Green	133,67	99,22	99,33
	Blue	118,78	88,22	113,22
3.	Karet ukuran 27 cm <sup>3</sup>			
	Red			
	Green	143,00	86,44	94,00
	Blue	135,22	69,55	109,00
4.	Pelepah ukuran 1 cm <sup>3</sup>			
	Red			
	Green	140,33	119,00	115,11
	Blue	130,89	98,44	108,44
5.	Pelepah ukuran 8 cm <sup>3</sup>			
	Red			
	Green	136,33	117,00	119,11
	Blue	129,11	94,44	101,56
6.	Pelepah ukuran 27 cm <sup>3</sup>			
	Red			
	Green	146,22	119,00	124,11
	Blue	140,22	90,22	112,89
7.	Kontrol			
	Red			
	Green	148,00	146,00	132,67
	Blue	134,33	131,00	117,67
		116,67	112,00	100,00

<sup>a</sup> Presentase yang rendah menunjukkan tingkat infeksi *Ganoderma sp.* yang tinggi

## Pembahasan

*Ganoderma* sp. dapat tumbuh pada substrat kayu karet maupun pelepah kelapa sawit. Hal ini disebabkan kedua bahan ini mengandung sumber karbon berupa lignin dan selulosa yang merupakan sumber karbon bagi *Ganoderma* sp yang termasuk jamur pelapuk putih. Infeksi nampaknya semakin dipercepat dengan adanya pelukaan yang dilakukan sebelum inokulasi *Ganoderma* sp. Flood *et al.* (2010) mengemukakan bahwa tanpa pelukaan, infeksi *Ganoderma* sp. dapat terjadi, namun jika ada pelukaan maka infeksi lebih mudah dan cepat. Pengamatan visual gejala yang timbul sebagai akibat infeksi *Ganoderma* sp. nampaknya menunjukkan proses infeksi yang lazim dikenal sebagai akibat proses infeksi *Ganoderma* sp. Hal ini dikemukakan Semangun (2000) pada tanaman kelapa sawit belum menghasilkan (TBM) atau umur 1 tahun yang menunjukkan adanya gejala awal BPB berupa daun menguning, kemudian muncul bercak nekrotik, dan mengering dimulai dari pelepah bawah terus ke pelepah atas, sampai akhirnya tanaman mati.

Vigor bibit kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma* sp. menggunakan pelepah kelapa sawit dan kayu karet sebagai substrat *Ganoderma* sp. lebih kerdil dibandingkan dengan bibit yang tidak diinokulasi. Terjadinya gangguan fisiologi berupa penyerapan hara dan air pada tanaman yang dikolonisasi *Ganoderma* sp. menyebabkan pertumbuhan yang kerdil. Namun demikian berdasarkan pengamatan pertumbuhan nampaknya terdapat perbedaan virulensi *Ganoderma* sp. antara yang ditumbuhkan menggunakan pelepah kelapa sawit dan kayu karet sebagai substrat. Vigor bibit kelapa sawit yang diinokulasi menggunakan substrat pelepah kelapa sawit lebih merata dibandingkan dengan kayu karet. Hal yang sama juga dilaporkan Risanda (2008) bahwa pelepah kelapa sawit direkomendasikan sebagai medium tumbuh *Ganoderma* sp. karena dapat menjaga virulensinya. Virulensi patogen sangat dipengaruhi oleh komposisi hara dalam substrat dan kemungkinan juga dipengaruhi sifat fisik substrat.

Selain dipengaruhi oleh karakteristik kimia dan fisik substrat, perbedaan daya virulensi *Ganoderma* sp. juga dipengaruhi oleh ukuran inokulum. Berdasarkan pengamatan vigor tanaman

menunjukkan bahwa semakin besar ukuran inokulum maka semakin merata vigor tanaman. Hal ini dapat dipahami karena semakin luas permukaan inokulum maka akan mempengaruhi luas kontak antara inang dengan patogen serta semakin besar juga kemampuan patogen untuk bertahan dalam medium tersebut sebelum menginisiasi infeksi ke jaringan inang. Menurut Susanto (2002) luasan permukaan inokulan yang digunakan sebagai sumber inokulum *Ganoderma* sp. dapat mempengaruhi daya virulensi patogen tersebut. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Idris *et al.* (2006) yang menyimpulkan bahwa berdasarkan pengamatan kualitatif gejala BPB di tajuk bibit uji, ukuran inokulum  $216 \text{ cm}^3$  dapat menginfeksi bibit kelapa sawit sebesar 60%. Rees *et al.* (2007) mengemukakan bahwa semakin besarnya ukuran inokulum maka semakin cepat pula perkembangan gejala penyakit, walaupun Flood *et al.* (2010) mengemukakan bahwa inokulum berukuran  $3 \text{ cm}^3$  dapat mengkolonisasi bibit kelapa sawit tanpa pelukaan terlebih dahulu.

*Dot immunobinding assay* (DIBA) merupakan teknik serologi yang dapat mendeteksi infeksi patogen berdasarkan spesifisitas reaksi antara antigen (eksudat, miselium, ataupun struktur spora) dengan antibodi (Suharyanto dan Taniwiryono, 2010). Hasil analisis DIBA menunjukkan bahwa inokulasi melalui pelukaan jaringan dengan inokulum *Ganoderma* sp. menggunakan pelepah kelapa sawit dan kayu karet sebagai substrat merupakan cara yang efektif untuk menginokulasi kelapa sawit yang ditunjukkan dengan adanya bercak dibandingkan dengan yang tidak diinokulasi *Ganoderma* sp. (kontrol). Pengamatan kualitatif dengan metode DIBA juga menunjukkan bahwa perbedaan ukuran inokulum yang berarti juga luas permukaan inokulum *Ganoderma* sp. mempengaruhi tingkat infeksi *Ganoderma* sp. Ukuran inokulum *Ganoderma* sp. pada pelepah sawit dan karet berukuran  $27 \text{ cm}^3$  memberikan reaksi terkuat dibandingkan dengan inokulum *Ganoderma* sp. yang diperbanyak pada pelepah kelapa sawit dan kayu karet berukuran 1 dan  $8 \text{ cm}^3$ . Reaksi yang kuat pada kertas membran ditandai dengan tingkat kepekatan warna merah kehitaman yang muncul karena reaksi pengikatan antigen dengan antibodinya yang direaksikan dengan konjugat. Berdasarkan analisis ini ditunjukkan bahwa teknik inokulasi *Ganoderma* sp. yang paling efektif adalah menggunakan inokulum



*Ganoderma sp.* yang diperbanyak pada kayu karet atau pelepah kelapa sawit yang berukuran 27 cm<sup>3</sup>. Namun demikian virulensi *Ganoderma sp.* yang ditumbuhkan menggunakan substrat pelepah kelapa sawit dan kayu karet tidak berbeda berdasarkan metode DIBA.

Daerah tempat inokulasi nampaknya memberikan reaksi yang kuat dibandingkan dengan daerah lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan reaksi DIBA yang lebih kuat pada pangkal batang dibandingkan dengan pada bagian lain bibit seperti akar dan daun. Pelukaan memungkinkan inokulan mencapai daerah kambium batang sehingga dapat memperepat infeksi *Ganoderma sp.* sehingga antibodi di pangkal batang lebih cepat terbentuk. Sedangkan sampel antigen akar yang diambil dari inokulum *Ganoderma sp.* pada pelepah kelapa sawit dan kayu karet yang berukuran 27 cm<sup>3</sup> tidak menunjukkan reaksi yang kuat walaupun pada sampel batangnya menunjukkan hasil yang kuat. Hal ini diduga karena pada perlakuan tersebut jaringan akar kelapa sawit sudah mengalami pembusukan dan hancur, sehingga reaksi antibodi tidak dapat ditemukan.

Pengamatan semi kuantitatif DIBA diamati dari persentase angka *red*, *green* dan *blue* (RGB) dengan *Adobe Photoshop* versi CS3 tahun 2007 dan menghasilkan angka proporsi kadar warna merah, hijau dan biru pada hasil deteksi. Dalam analisis hasil DIBA diasumsikan bahwa semakin kecil proporsi RGB semakin kuat reaksi DIBA. Lebih kecilnya nilai RGB pada substrat kayu karet berukuran 27 cm<sup>3</sup> dibandingkan dengan perlakuan substrat lainnya dan kontrol menunjukkan bahwa kayu karet berukuran 27 cm<sup>3</sup> dapat menjaga virulensi *Ganoderma sp.* Hasil ini nampaknya tidak seiring dengan pengamatan vigor bibit kelapa sawit yang menunjukkan bahwa substrat pelepah kelapa sawit merupakan substrat yang dapat menjaga virulensi *Ganoderma sp.* dibandingkan dengan substrat kayu karet. Perbedaan ini diduga karena perbedaan metode pengamatan yang dilakukan. Pada penelitian sebelumnya daya virulensi diamati berdasarkan vigor tajuk bibit dan tingkat keparahan penyakit yang dinilai dari tingkat nekrotik dan pembusukan akar, sedangkan pada penelitian ini yang menggunakan pengamatan daya virulensi diamati dari reaksi spesifik antara antigen *Ganoderma sp.* dengan antibodinya, sehingga diduga menghasilkan pengamatan yang lebih spesifik dan

akurat. Selain itu, pengamatan berdasarkan reaksi spesifik antara antigen dengan antibodinya dapat menghindari bias data yang disebabkan infeksi patogen ataupun hama sekunder yang mungkin muncul pada saat periode inkubasi tanaman. Berdasarkan pengamatan DIBA secara semi kuantitatif maka *Ganoderma sp.* yang ditumbuhkan pada kayu karet berukuran 27 cm<sup>3</sup> sebagai substrat dan diinokulasi dengan melakukan pelukaan terlebih dahulu merupakan teknik yang efektif untuk inokulasi buatan *Ganoderma sp.* karena menghasilkan infeksi *Ganoderma sp.* tertinggi. Selain itu, hasil dalam penelitian ini menunjukkan bahwa dengan DIBA maka pengamatan infeksi *Ganoderma sp.* dapat dilakukan lebih cepat.

## KESIMPULAN

Teknik inokulasi *Ganoderma sp.* pada bibit kelapa sawit terbaik yang diamati berdasarkan teknik serologi DIBA adalah melalui pelukaan pangkal batang terlebih dahulu dan menggunakan kayu karet yang berukuran 27 cm<sup>3</sup> sebagai substrat *Ganoderma sp.* Dengan teknik DIBA infeksi *Ganoderma sp.* dapat dideteksi lebih awal tanpa pengamatan visual pada pangkal batang dan akar.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana dengan pendanaan DIPA TA 2010 Pusat Penelitian Pengembangan Perkebunan (Puslitbangpun) melalui Masyarakat Perkelapa Sawitan Indonesia (MAKSI). Atas pendanaan ini kami mengucapkan terima kasih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ariffin, D., Idris A.S. and W. Azahari, 1996. Spread of *Ganoderma boninense* and vegetative compatibility studies of palm isolates in a single fields. Dalam Proc of the 1996. PORIM International Palm Oil Congress. Competitiveness for the 21<sup>st</sup> century, PORIM, KL pp 317-329.
- Breton, F., Hasan, Y; Hariadi; Lubis, Z and de Franqueville. 2005. Characterization of Parameter for the development of an early



screening test for basal stem rot tolerance in oil palm progenies. In *Agriculture, biotechnology, & sustainability conference, Proceedings of International Palm Oil Congress*, Eds Malaysian Palm Oil Board, Kuala Lumpur, pp 167-183.

- Flood, F., Y. Hasan, R. Rees, U. Pottar, R. Cooper. 2010. Some latest R&D on *Ganoderma* diseases in oil palm. Proc. Second Intern. Seminar Oil Palm Diseases. Advances in *Ganoderma* Research and Management. 31 May 2010. Yogyakarta, Indonesia.
- Hasan, Y. and J. Flood. 2003. Colonisation of rubber wood and oil palm blocks by monokaryons and dycaryons of *Ganoderma boninense*-implications to infection in the field. *The Planter*, 79 (922), 31-36
- Idris, A.S., D Kushairi, D. Ariffin, dan M.W. Basri. 2006. Technique for inoculation of oil palm germinated seeds with *Ganoderma*. MPOB Information series, 11 (314).
- Rees R.W., J. Flood, Y. Hasan, and R.M. Cooper. 2007. Low soil temperature and root inoculums contact enhance *Ganoderma* infection of oil palm: implications for late disease appearance in plantations and screening for disease resistance. *Plant Pathology* 56, 862-870.
- Risanda, D. 2008. Pengembangan Teknik Inokulasi Buatan *Ganoderma boninense* pat. Pada Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* jacq.). [skripsi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Semangun, H. 2000. *Penyakit-penyakit utama tanaman perkebunan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Singh. 1990. *Ganoderma*-the scourge of oil palms in the coastal areas. *The Planter* 67, 421-444.
- Suharyanto and T.W. Darmono. 2001. Analysis of protein profiles on oil palm and coconut tree to *Ganoderma* sp. infection. *Proc.of the 2<sup>nd</sup> Indonesian Biotechnol. Conf.* p. 388 -395.
- Suharyanto dan T.W. Darmono. 2010. Aplikasi perangkat deteksi dini *Ganoderma* sp. dengan teknik serologi. Laporan Akhir Penelitian Kerjasama PTPN IV.
- Susanto, A. 2002. Kajian pengendalian hayati *Ganoderma boninense* patogen penyebab penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit (disertasi) Fakultas Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Susanto, A. 2009. Basal stem rot in Indonesia- Biology, economic importance, epidemiology, detection and control. In proceedings of International workshop on awareness, detection and control of oil palm devastating diseases, Kuala Lumpur, Malaysia, Paper 2.
- Turner, P.D. 1981. *Oil palm disease and disorder*. Oxford University Press.
- Utomo, C. dan A. Susanto. 2008. Perkembangan penelitian penanganan *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit. Seminar Tahunan MAKSI. Penelitian dan Pengembangan untuk Mendukung Agribisnis Kelapa Sawit Nasional, Bogor 31 Januari 2008.
- Wan, H.H. and Idris A.S. 2010. Control and management of *Ganoderma* disease of oil palm in Malaysia. Proc. Second Intern. Seminar Oil Palm Diseases. Advances in *Ganoderma* Research and Management. 31 May 2010. Yogyakarta, Indonesia.

## LAMPIRAN



A



B

Lampiran 1. Inokulan *Ganoderma sp.* yang ditumbuhkan di kayu karet (A) dan pelepah kelapa sawit (B) sebagai substrat.



A



B

Lampiran 2. Inokulasi *Ganoderma sp.* melalui pelukaan pada pangkal batang (A) dan penempelan inokulan *Ganoderma sp.* pada pangkal batang yang terluka (B).