

AKTIVITAS ENZIM LIGNINOLITIK *GANODERMA* ISOLAT TANAMAN KELAPA SAWIT INDONESIA

LIGNINOLYTIC ENZYMES ACTIVITY OF INDONESIAN *GANODERMA* OIL PALM ISOLATES

Agus Susanto, Agus Eko Prasetyo, Hari Priwiratama, dan Sri Wening

Abstrak *Ganoderma* tergolong dalam jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) kelas Basidiomycetes yang mampu mendegradasi lignin kelapa sawit dengan mengeluarkan enzim ekstraseluler ligninolitik. Enzim ligninolitik yang dikeluarkan umumnya adalah lakase, lignin peroksidase (Li P), dan mangan peroksidase (Mn P). Indonesia mempunyai distribusi isolat *Ganoderma* yang berasosiasi dengan kelapa sawit yang sangat luas. Pada saat ini belum diketahui karakteristik dan aktivitas enzim ligninolitik *Ganoderma* yang berasal dari seluruh Indonesia. Hasil penelitian ini akan membantu teknik pengendalian penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit baik secara langsung maupun tidak langsung. Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu koleksi isolat *Ganoderma* dari perkebunan kelapa sawit di Indonesia dan analisis aktivitas enzim ligninolitik semua isolat yang ada. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enam puluh isolat *Ganoderma* yang berasal dari seluruh Indonesia mempunyai variabilitas yang tinggi dalam aktivitas enzim ligninolitik maupun jenisnya. Aktivitas enzim ligninolitik *Ganoderma* dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Berdasarkan aktivitas enzim ligninolitik tersebut, isolat *Ganoderma* dapat dikelompokkan menjadi 3 – 6 kelompok.

Kata kunci : *Ganoderma*, enzim ligninolitik, lakase, Li peroksidase, Mn peroksidase

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

Agus Susanto (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia
Email: marihat_agus@yahoo.com

Abstract *Ganoderma*, a white rot basidiomycete, has an ability to degrade oil palm lignin by producing extra cellular ligninolytic enzymes such as laccase, lignin peroxidase (Li P), and manganese peroxidase (Mn P). *Ganoderma* isolates associated with oil palm are widely distributed in Indonesia. However, the characteristics and activities of the ligninolytic enzymes produced by each isolate in Indonesia remain unknown. Result of this experiment will be very useful for controlling of the basal stem rot disease, particularly in Indonesia. The experiment consisted of two major activities i.e. collection of *Ganoderma* isolates in Indonesian oil palm plantations, and determination of ligninolytic enzymes activity of all isolates. Result showed that high variability of strain as well as ligninolytic enzymes activity was observed in 60 isolates of *Ganoderma*. The activity of ligninolytic enzymes is influenced by the substrate utilized by the fungus. Based on the activity of the ligninolytic enzymes, collected *Ganoderma* isolates could be divided into 3-6 groups.

Keywords : *Ganoderma*, *ligninolytic enzymes*, *laccase*, *Li peroxidase*, *Mn peroxidase*

PENDAHULUAN

Ganoderma merupakan golongan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) yang mampu mendegradasi lignin untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya (Paterson, 2007). *Ganoderma* memproduksi enzim ekstraseluler ligninolitik untuk menghancurkan dinding sel tanaman. Proses degradasi lignin oleh *Ganoderma* merupakan proses oksidasi. Enzim yang berperan dalam proses degradasi lignin adalah lakase, lignin peroksidase (LiP), dan mangan peroksidase (MnP)



(Artiningsih, 2006; Paterson, 2007; Rees et al., 2009). Oleh karena itu, *Ganoderma* juga mampu menyerang kelapa sawit yang dinding selnya banyak mengandung lignin. Penyakit yang disebabkan oleh *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit adalah busuk pangkal batang (BPB) yang saat ini menjadi penyakit paling destruktif di perkebunan kelapa sawit di Indonesia dengan kerugian yang sangat besar (Susanto, 2013). Pada beberapa kebun tertentu kejadian penyakit dapat mencapai lebih dari 80% (Susanto, 2009).

Pengendalian penyakit busuk pangkal batang (BPB) biasanya dilakukan dengan pendekatan kultur teknis (Susanto, 2009; Virdiana et al, 2012), biologi (Idris, 2009; Susanto, 2013), dan penggunaan tanaman toleran (Idris et al., 2004; Durand Gaselin et al., 2014). Pengendalian-pengendalian di atas belum memberikan hasil yang optimal. Bahkan pengendalian secara kimiawi cenderung tidak efektif. Salah satu sebab kurang optimalnya pengendalian penyakit BPB adalah belum diketahui secara mendalam mengenai biologi *Ganoderma*, khususnya patogenisitas.

Indonesia mempunyai sebaran perkebunan kelapa sawit yang sangat luas. Hampir di seluruh kebun kelapa sawit tersebut telah ditemukan penyakit BPB dengan tingkat kejadian penyakit yang berbeda-beda (Susanto, 2009). *Ganoderma* yang menyerang kelapa sawit di berbagai daerah tersebut tentunya memiliki patogenisitas yang berbeda-beda. Patogenisitas *Ganoderma* sangat berkaitan dengan produksi enzim ligninolitiknya (Paterson, 2007). Pada saat ini, jamur pelapuk putih sudah diklasifikasikan atau dibedakan berdasarkan aktivitas enzim ligninolitiknya (Ward et al., 2004; Artiningsih, 2006; Goh et al., 2014) namun belum spesifik untuk jamur *Ganoderma* sebagai patogen pada tanaman kelapa sawit.

Penelitian ini dilakukan untuk mengelompokkan isolat-isolat *Ganoderma* yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit dari seluruh Indonesia berdasarkan produksi dan jenis enzim ligninolitik. Dengan mengetahui karakter produksi dan jenis enzim ligninolitik masing-masing isolat *Ganoderma* diharapkan dapat membantu upaya pengendalian penyakit BPB kelapa sawit baik secara langsung maupun tidak langsung. Informasi ini juga sangat berguna dalam eksplorasi tanaman toleran *Ganoderma*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu koleksi isolat *Ganoderma* dan analisis aktivitas enzim ligninolitik. Penelitian dimulai dari Januari 2012 sampai Desember 2013. Koleksi isolat *Ganoderma* dilakukan dari seluruh pulau di Indonesia yang terdapat perkebunan kelapa sawit. Analisis aktivitas enzim dilaksanakan di Laboratorium Kimia, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor.

Koleksi dan Isolasi Isolat *Ganoderma*

Isolat *Ganoderma* dikumpulkan dari seluruh propinsi yang memiliki perkebunan kelapa sawit dengan beberapa atau banyak tanaman kelapa sawitnya telah terserang oleh *Ganoderma* di Indonesia. Isolat *Ganoderma* tersebut diperoleh dari tubuh buah *Ganoderma* yang muncul pada batang tanaman kelapa sawit yang telah terinfeksi (bergejala penyakit BPB). Pengambilan sampel diharapkan juga mewakili semua pulau tempat perkebunan kelapa sawit.

Tubuh buah *Ganoderma* yang masih muda dan berwarna putih dipilih sebagai tubuh buah yang akan diisolasi. Tubuh buah yang dipilih selanjutnya dimasukkan dalam kantong plastik dan diisolasi di Laboratorium Fitopatologi Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Tubuh buah dibersihkan dengan menggunakan chlorox 1% dan setelah kering dipotong dengan ukuran $1 \times 1 \text{ cm}^2$. Potongan tubuh buah ini selanjutnya ditumbuhkan pada medium potato dextrose agar (PDA) secara aseptik di dalam laminar air flow. Biakan yang tumbuh selanjutnya dimurnikan hingga memperoleh isolat murni *Ganoderma*.

Aktivitas Enzim Ligninolitik *Ganoderma*

Seluruh isolat *Ganoderma* ditumbuhkan kembali pada medium potato dextrose (PD) dan glucose asparagine (GAE). Kultur selanjutnya digoyang pada shaker dengan kecepatan 150 rpm dengan suhu 30°C selama 2-3 minggu. Pemanenan filtrat enzim dilakukan dengan menggunakan sentrifuse kecepatan 9000 rpm selama 15 menit.

Aktivitas lakase dilakukan dengan metode Buswell (1996). Sebanyak 0,5 mL larutan buffer asetat pH 5 dengan konsentrasi 0,05 M ditambahkan dengan 0,1

mL ABTS 1 mM dan 0,4 mL filtrat enzim sehingga memperoleh volume total sebanyak 1 mL. Campuran larutan tersebut selanjutnya divorteks dan kemudian dilakukan pembacaan dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Pembacaan dilakukan pada menit ke-0 dan menit 30.

Aktivitas lignin peroksidase (LiP) dilakukan dengan metode Tien & Kirk (1984). Sebanyak 0,1 mL larutan veratril alkohol 8 mM ditambahkan dengan 0,2 mL buffer asetat 0,05 M pH 5, akuades 0,4 mL, H₂O₂ 1 mM sebanyak 0,1 mL, dan 0,2 mL filtrat enzim. Campuran larutan tersebut kemudian divorteks dan dilakukan pembacaan pada menit ke-0 dan 30 menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 310 nm.

Aktivitas mangan peroksidase (MnP) dilakukan dengan metode Kofujita *et al.* (1992). Sebanyak 0,1 mL buffer Na-laktat 50 mM pH 5 ditambahkan dengan 0,1 mL guaiacol 4 mM, 0,2 mL MnSO₄ 1 mM, 0,1 mL H₂O₂ 1 mM, akuades 0,3 mL, dan 0,2 mL filtrat enzim. Campuran larutan tersebut kemudian divorteks dan dilakukan pengukuran menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 465 nm. Pembacaan dilakukan pada menit ke-0 dan 30.

Perhitungan aktivitas enzim ligninolitik sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{(At - Ao) \times V_{\text{total}}(\text{ml}) \times 10^6}{\epsilon_{\text{maks}} \times d \times \text{Vol enzim}(\text{ml}) \times t}$$

Tabel 1. Daftar Isolat *Ganoderma* yang diperoleh dari berbagai pulau di Indonesia.

Table 1. List of *Ganoderma* isolates and ligninolytic enzymes activity.

No.	Kode Isolat	Lokasi Sampel
1	S-NAD-001	Langsa, Nangroe Aceh Darussalam
2	S-NAD-002	Langsa, Nangroe Aceh Darussalam
3	S-NAD-003	Langsa, Nangroe Aceh Darussalam
4	S-SU-001	Simalungun, Sumatera Utara
5	S-SU-002	Karo, Sumatera Utara
6	S-SU-003	Deli Serdang, Sumatera Utara
7	S-SU-004	Asahan, Sumatera Utara
8	S-SU-005	Deli Serdang, Sumatera Utara
9	S-SU-006	Simalungun, Sumatera Utara
10	S-SU-007	Simalungun, Sumatera Utara
11	S-SU-008	Simalungun, Sumatera Utara
12	S-SU-009	Simalungun, Sumatera Utara

Ao = absorbansi awal (menit ke-0)

At = absorbansi akhir (menit ke-30)

d = ketebalan kuvet

ϵ_{maks} = absorpsivitas molar

ABTS : 36000 M⁻¹ cm⁻¹

Guaiacol : 12100 M⁻¹ cm⁻¹

Veratril alkohol: 9300 M⁻¹ cm⁻¹

Pengelompokan isolat *Ganoderma* dilakukan menggunakan software Mega 5 (Kumar *et al.*, 2011) dengan metode *Unweighted Pair Group with Arithmetic Mean Method* (UPGMA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 60 isolat *Ganoderma* telah berhasil diisolasi dari berbagai pulau di Indonesia meliputi Sumatera, Kepulauan Riau, Bangka, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, dan Papua (Tabel 1). Jumlah isolat *Ganoderma* yang diperoleh paling banyak dari Pulau Sumatera sesuai dengan areal perkebunan kelapa sawit yang paling luas. Kecepatan tumbuh maupun karakter morfologis berbagai isolat *Ganoderma* tersebut pada media PDA relatif sama.

Tabel 1. Daftar Isolat *Ganoderma* (lanjutan)Table 1. List of *Ganoderma* (continued)

No.	Kode Isolat	Lokasi Sampel
13	S-SU-010	Labuhan Batu, Sumatera Utara
14	S-SU-011	Medan, Sumatera Utara
15	S-SU-012	Labuhan Batu, Sumatera Utara
16	S-SU-013	Labuhan Batu, Sumatera Utara
17	S-SU-014	Simalungun, Sumatera Utara
18	S-SU-015	Labuhan Batu Selatan, Sumatera Utara
19	S-SU-016	Langkat, Sumatera Utara
20	S-SB-001	Agam, Sumatera Barat
21	S-R-001	Indragiri Hilir, Riau
22	S-R-002	Indragiri Hilir, Riau
23	S-R-003	Kampar, Riau
24	S-R-004	Kampar, Riau
25	S-R-005	Batam, Kepulauan Riau
26	S-R-006	Indragiri Hulu, Riau
27	S-KR-001	Natuna, Kepulauan Riau
28	S-BB-001	Bangka, Bangka Belitung
29	S-BB-002	Bangka, Bangka Belitung
30	S-BB-003	Bangka, Bangka Belitung
31	S-J-001	Tanjung Jabung Timur, Jambi
32	S-J-002	Tanjung Jabung Timur, Jambi
33	S-SS-001	Sumatera Selatan
34	S-SS-002	Sumatera Selatan
35	S-SS-003	Sumatera Selatan
36	S-L-001	Rejosari, Lampung
37	S-L-002	Rejosari, Lampung
38	S-L-003	Rejosari, Lampung
39	S-L-004	Bekri, Lampung
40	S-L-005	Bekri, Lampung
41	S-L-006	Bekri, Lampung
42	J-B-001	Jawa Barat
43	J-B-002	Jawa Barat
44	J-B-003	Jawa Barat
45	K-KB-001	Sanggau, Kalimantan Barat
46	K-KB-002	Sanggau, Kalimantan Barat
47	K-KB-003	Sanggau, Kalimantan Barat
48	K-KB-004	Sanggau, Kalimantan Barat
49	K-KH-001	Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah
50	K-KH-002	Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah
51	K-KH-003	Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

Tabel 1. Daftar Isolat *Ganoderma* (lanjutan)

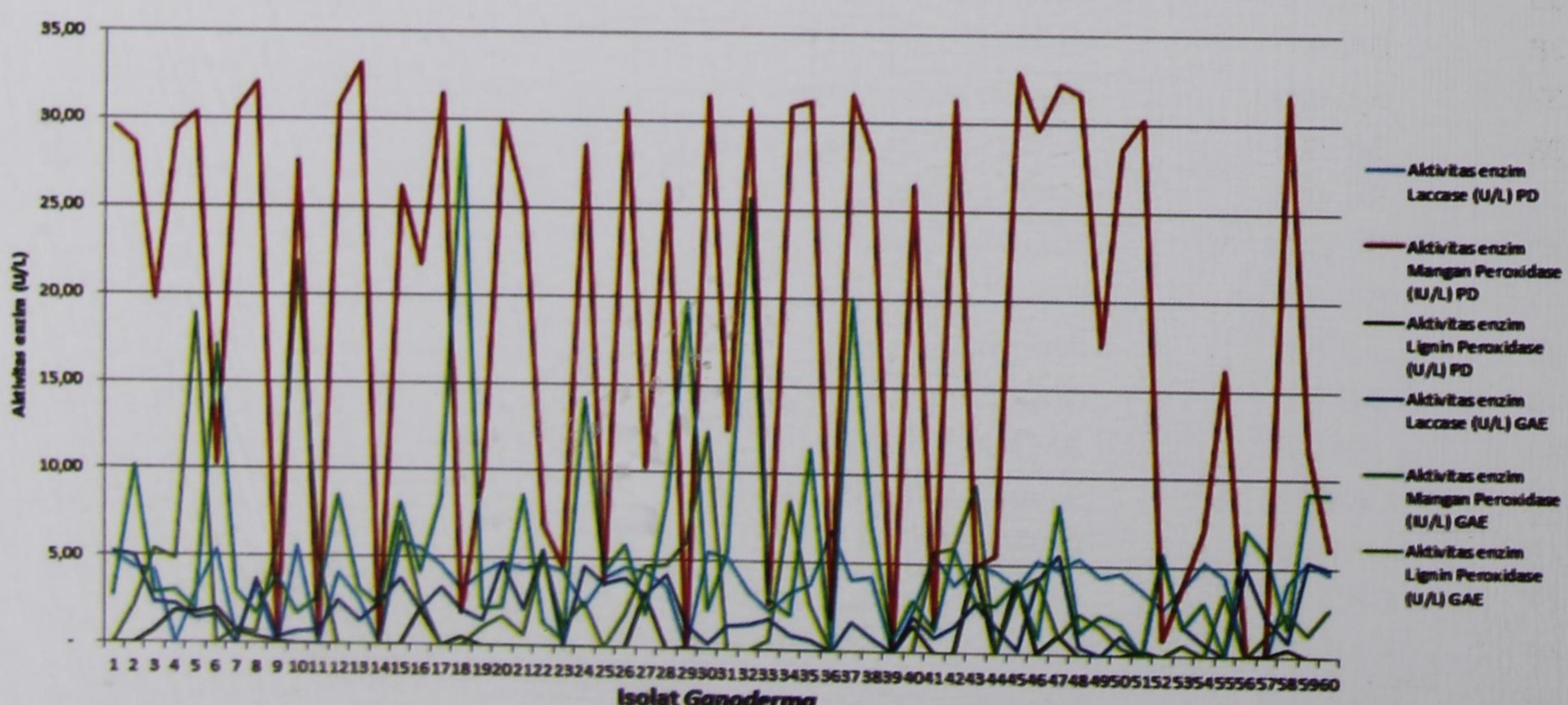
Table 1. List of *Ganoderma* (continued)

No.	Kode Isolat	Lokasi Sampel
52	K-KT-001	Pasir, Kalimantan Timur
53	K-KT-002	Kutai Timur, Kalimantan Timur
54	K-KT-003	Kutai Timur, Kalimantan Timur
55	C-ST-001	Sulawesi Tenggara
56	C-ST-002	Sulawesi Tenggara
57	C-ST-003	Sulawesi Tenggara
58	P-P-001	Lereh, Papua
59	P-P-002	Lereh, Papua
60	P-P-003	Lereh, Papua

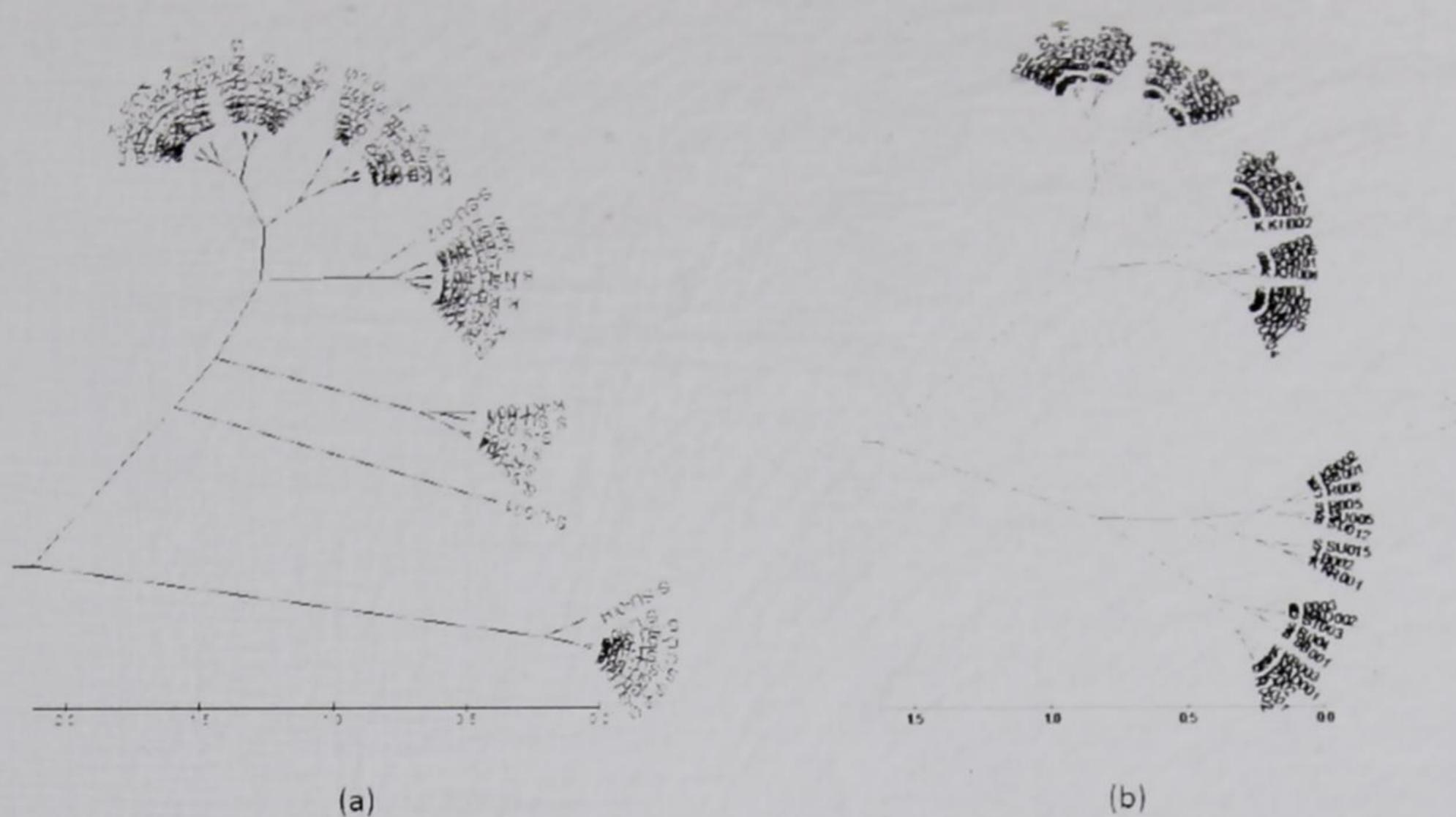
Aktivitas enzim ligninolitik yang dihasilkan dari 60 isolat *Ganoderma* tersebut mempunyai variasi yang besar dalam kualitas maupun kuantitasnya. Tidak semua isolat *Ganoderma* menghasilkan enzim ligninolitik secara lengkap. Sebagian besar isolat *Ganoderma* menghasilkan enzim lakase pada medium PD (96%) dan 91% pada medium GAE. Sebanyak 98% isolat menghasilkan enzim MnP pada medium PD maupun GAE. Enzim LiP tidak diproduksi oleh seluruh isolat *Ganoderma*. Pada medium PD, sebanyak 33% isolat *Ganoderma* menghasilkan enzim LiP dan 68% pada medium GAE.

Jenis medium sangat mempengaruhi aktivitas enzim LiP. Medium GAE dapat meningkatkan aktivitas enzim LiP. Seluruh isolat *Ganoderma* mempunyai kecenderungan aktivitas enzim MnP yang lebih tinggi daripada enzim lakase maupun LiP, baik pada medium PD maupun GAE. Aktivitas enzim MnP tertinggi terlihat pada isolat *Ganoderma* asal Sumatera Utara dengan produksi sebesar 33, 16 IU/L. Sedangkan aktivitas enzim lakase dan LiP semua isolat *Ganoderma* hanya berkisar antara 1 – 5 IU/L (Gambar 1).

Berdasarkan analisis UPGMA, aktivitas enzim lakase masing-masing isolat *Ganoderma* dapat



Gambar 1. Aktivitas enzim ligninolitik berbagai isolat *Ganoderma*.
Figure 1. Ligninolytic enzymes activity of *Ganoderma* isolates.



Gambar 2. Pengelompokan isolat *Ganoderma* berdasarkan aktivitas enzim lakase pada medium PD (a) dan pada medium GAE (b).

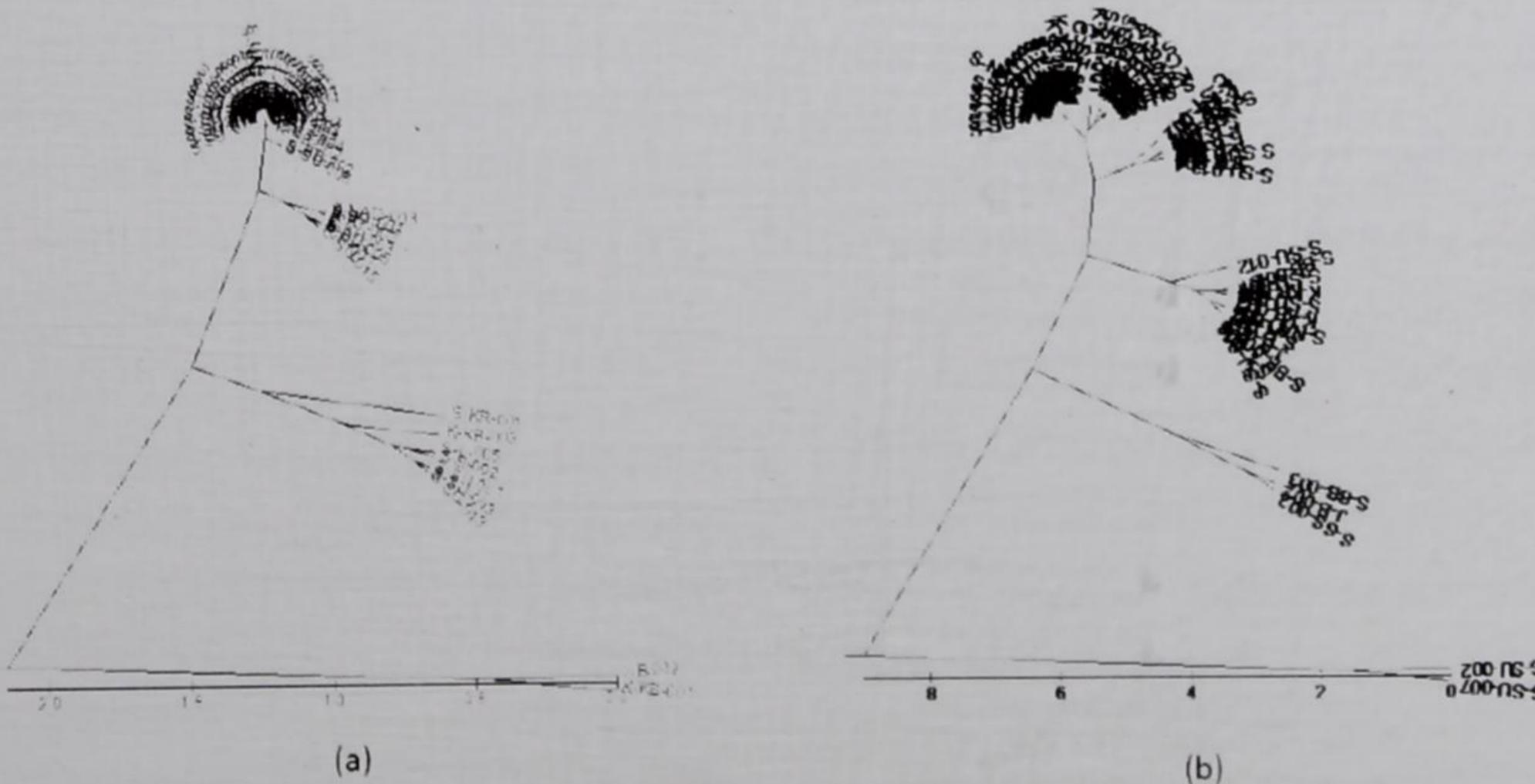
Figure 2. Clustering of Ganoderma isolates based on laccase enzyme activity in PD medium (a) and GAE medium (b).

dikelompokkan menjadi 6 grup baik pada medium PD maupun medium GAE (Gambar 2). Jumlah kelompok sebenarnya tergantung pada tingkat kesamaan yang digunakan.

Isolat-isolat *Ganoderma* apabila dikelompokkan berdasarkan aktivitas enzim LiP dapat dibagi menjadi 4 kelompok untuk medium PD dan 5 kelompok untuk medium GAE (Gambar 3). Pada kedua medium ini

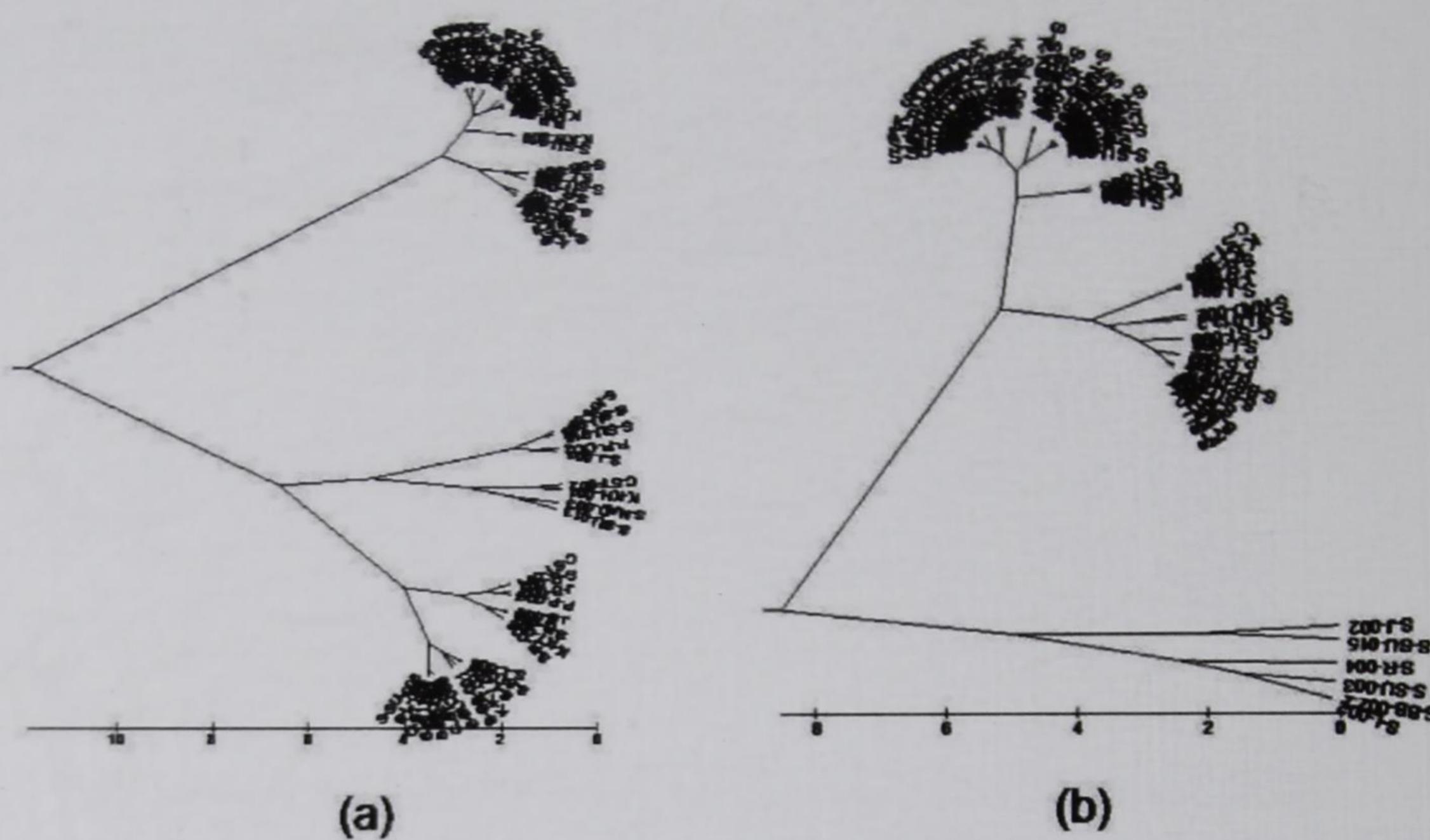
terdapat pengelompokan yang sangat besar yaitu banyak isolat *Ganoderma* yang tidak menghasilkan enzim ini.

Sedangkan pengelompokan isolat *Ganoderma* berdasarkan aktivitas enzim MnP dapat dibagi menjadi 5 kelompok untuk medium PD dan 3 kelompok untuk medium GAE (Gambar 4).



Gambar 3. Pengelompokan isolat *Ganoderma* berdasarkan aktivitas enzim Li Peroksidase pada medium PD (a) dan pada medium GAE (b)

Figure 3. Clustering of Ganoderma isolates based on Li Peroxidase enzyme activity in PD medium (a) and GAE medium (b).



Gambar 4. Pengelompokan isolat *Ganoderma* berdasarkan aktivitas enzim Mn Peroksidase pada medium PD (a) dan pada medium GAE (b)

Figure 4. Clustering of *Ganoderma* isolates based on Mn Peroxidase enzyme activity in PD medium (a) and GAE medium (b).

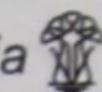
Berdasarkan aktivitas enzim ligninolitik tersebut, isolat *Ganoderma* tidak mengelompok berdasarkan distribusi daerahnya. Isolat yang berasal dari satu daerah memiliki variasi nilai aktivitas enzim yang cukup tinggi sehingga setiap isolatnya dapat tergolong kedalam kelompok yang berbeda.

Aktivitas enzim ligninolitik ini sangat berkaitan dengan virulensi atau patogenisitas isolat *Ganoderma*. Semakin tinggi aktivitasnya maka kemampuan *Ganoderma* merombak dinding sel kelapa sawit yang terdiri dari lignin, hemiselulosa, dan selulosa akan semakin baik. Karbon yang sudah terurai selanjutnya digunakan oleh *Ganoderma* untuk metabolismenya. Sebagai jamur pelapuk putih, *Ganoderma* dan basidiomiset lainnya juga sering digunakan sebagai perombak lignin pada industri kertas (Paterson, 2007).

Mekanisme *Ganoderma* mendegradasi lignin kelapa sawit adalah dengan memproduksi enzim kompleks (Paterson *et al.*, 2008). Enzim ekstraseluler utama pendegradasi lignin adalah lakase, LiP, dan MnP (Paterson *et al.*, 2009). Lakase adalah Cu yang mengandung polifenol oksidase. Enzim ini akan mengkatalisis reduksi 4 elektron oksigen ke air dan proses ini biasanya diikuti oleh oksidasi dari substrat yang mengandung fenol ke fenol radikal. Sedangkan

MnP adalah enzim yang mengandung Fe yang akan mengoksidasi fenol ke fenol radikal. Prosesnya adalah oksidasi Mn^{1+} ke Mn^{3+} dengan bantuan H_2O_2 sebagai oksidan. Mn^{3+} selanjutnya dikhelat dengan menggunakan oksal yang secara spontan akan mengoksidasi fenol lignin. Enzim LiP dapat juga mengoksidasi komponen non fenolik dari lignin. LiP merupakan glikosilate, berupa heme yang terdiri dari enzim yang secara fungsional membutuhkan H_2O_2 untuk oksidasi lignin yang berstruktur aromatik. Enzim LiP termasuk pengoksidasi yang kuat sehingga mampu mengoksidasi berbagai jenis struktur kimia misalnya fenol, amine aromatik, ether aromatik, dan hidrokarbon polisiklik aromatik.

Penelitian lain menunjukkan hasil yang sama dengan pengujian ini bahwa Polyporaceae atau isolat *Ganoderma* memproduksi enzim ligninolitik dengan variasi yang sangat luas (D'Souza *et al.*, 1999; Artiningsih, 2006; Goh *et al.*, 2014). Lima belas isolat dari 55 isolat yang diteliti mempunyai kemampuan untuk mendegradasi lignin. Jenis enzim ligninolitik yaitu lakase, Mn Peroksidase, dan Li Peroksidase, tetapi *Hexagoniatenuis* sp. A, *Inonotuspatouillardii* dan *Stereum* sp. hanya memproduksi lakase dan Li Peroksidase (Risna &



Suhirman, 2002). Aktivitas enzim ligninolitik tidak hanya ditentukan oleh faktor isolatnya tetapi juga sangat dipengaruhi oleh jenis substrat (Sivakumar et al., 2010). Substrat juga dipengaruhi oleh faktor suhu. Suplemen Cu dan Ca sangat mempengaruhi patogenisitas *Ganoderma* yang diduga melalui jalur degradasi lignin (Nur Sabrina et al., 2012).

Data aktivitas enzim ligninolitik *Ganoderma* sebaiknya dikorelasikan dengan uji patogenisitas di pembibitan kelapa sawit maupun di lapangan, namun data tersebut belum tersedia. Kegunaan mengetahui patogenisitas masing-masing isolat *Ganoderma* adalah untuk membantu mengendalikan penyakit BPB secara langsung maupun tidak langsung. Sebagai contoh, sanitasi inokulum *Ganoderma* pada isolat dengan patogenisitas tinggi sangat membantu mengurangi laju infeksi penyakit di lapangan. Selain itu, sanipulasi lingkungan juga dapat dilakukan dengan mengetahui patogenisitas *Ganoderma*, misalnya aplikasi bahan organik yang akan memperkaya mikroorganisme antagonis di lapangan.

Informasi patogenisitas pada masing-masing daerah di Indonesia sangat bermanfaat dalam perakitan tanaman kelapa sawit toleran *Ganoderma*. Uji skrining tanaman toleran di pembibitan kelapa sawit sebaiknya menggunakan isolat *Ganoderma* dari seluruh kelompok yang ada karena masing-masing kelompok memiliki tingkat aktivitas enzim yang berbeda. Dalam hal ini, sebaiknya digunakan sekitar 6 isolat *Ganoderma* yang berbeda aktivitas enzim ligninolitiknya. Dengan demikian tanaman toleran yang diperoleh akan mempunyai rentang toleransi yang lebih lebar.

KESIMPULAN

Aktivitas enzim ligninolitik yang terdiri dari lakase, lignin peroksidase, dan mangan peroksidase dari isolat-isolat *Ganoderma* asal Indonesia mempunyai variabilitas yang tinggi dan sangat dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Substrat medium GAE lebih baik dalam menganalisis aktivitas enzim ligninolitik *Ganoderma* daripada medium PD. Berdasarkan aktivitas enzim ligninolitik, isolat-isolat *Ganoderma* dapat dikelompokkan menjadi 3-6 kelompok yang berguna sebagai penentuan jumlah isolat yang digunakan dalam pencarian tanaman kelapa sawit toleran *Ganoderma*.

DAFTAR PUSTAKA

- Artiningsih, T. 2006. Aktivitas ligninolitik jenis *Ganoderma* pada berbagai sumber karbon. *Biodiversitas*. 7 (4): 307-311.
- Buswell, J.A., Y.J. Cai, and S.T. Chang. 1996. Effect of nutrient nitrogen of manganese peroxidase and laccase production by *Lentinula* (*Lentinus*) edodes. *FEMS Microbiol. Lett.* 128: 81-88.
- D'Souza, T.M., C.S. Merritt, and C.A. Reddy. 1999. Lignin-modifying enzymes of the white rot basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Applied and environmental microbiology*. 65 (12): 5307-5313.
- Durand Gasselin, T., N. Turnbull, H. de Franqueville, F. Breton, S. Jeyen, I. Syahputra, and B. Cochard. 2014. Screening methodology to select oil palm planting material partially resistant to *Ganoderma boninense*. In: *Unedited Proceedings of International Oil Palm Conference, Bali, Indonesia, 17-19 June 2014*.
- Goh, K.M., M. Ganeson, and C.V. Supramaniam. 2014. Infection potential of vegetative incompatible *Ganoderma boninense* isolates with known ligninolytic enzyme production. *African Journal of Biotechnology*. 13 (9): 1056-1066.
- Idris, A. S. 2009. Basal stem rot in Malaysia: Biology, economic importance, epidemiology, detection and control. In: *Proceedings of the International Workshop of Awareness, Detection and Control of Oil Palm Devastating Diseases*. 6 November 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Idris, A. S, A. Kushairi, S. Ismail, and D. Ariffin. 2004. Selection for partial tolerance in oilpalm progenies to *Ganoderma* basal stem rot. *Journal of Oil Palm Research* 16:12 – 8
- Kofujita. H., A. Matsushita, T. Ohsaki, Y. Asada, and M. Kuwahara, 1992. Production of oxidizing enzyme in wood- meal medium by white rot fungi. *Journal of the JapanWood Research Society*, 38 (10) : 950 – 955.
- Kumar, T., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, and S. Kumar. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28 (10): 2731–2739.

- Nur Sabrina,A.A., M. Sariah, and A.R. Zaharah. 2012. Suppression of basal stem rot disease progress in oil palm (*Elaeis guineensis*) after copper and calcium supplementation. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 35(S): 13-24 (2012).
- Paterson, R. R. M. 2007. *Ganoderma* disease of oil palm—A white rot perspective necessary for integrated control. *Crop Protection* 26: 1369-1376.
- Paterson, R.R.M., S. Meon, M.A. Z. Abidin, and N. Lima. 2008. Prospects for inhibition of lignin degrading enzymes to control *Ganoderma* white rot of oil palm. *Current Enzyme Inhibition*, 2008, 4, 172-179
- Paterson, R.R.M., S. Meon, and N. Lima. 2009. The feasibility of producing oil palm with altered lignin content to control *Ganoderma* disease. *J. Phytopathol* 157:649–656.
- Rees, R.W., J. Flood, Y. Hasan, U. Potter, R.M. Copper. 2009. Basal stem rot of oil palm (*Elaeis guineensis*); mode of root infection and lower stem invasion by *Ganoderma boninense*. *Plant Pathology* 58: 982-986.
- Risna, R.A. and Suhirman. 2002. Ligninolytic enzyme production by Polyporaceae from Lombok Indonesia. *Fungal Diversity* 9: 123-134.
- Sivakumar, R., R. Rajendran, C. Balakumar, M. Tamilvendan. 2010. Isolation, screening, and optimization of production medium for thermostable laccase production from *Ganoderma* sp. *International Journal of Engineering Science and Technology*. 2 (12): 7133-7141.
- Susanto, A. 2009. Basal stem rot in Indonesia: Biology, economic importance, epidemiology, detection and control. In: *Proceedings of the International Workshop of Awareness, Detection and Control of Oil Palm Devastating Diseases*. 6 November 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Susanto, A. 2013. Biological control of basal stem rot diseases (*Ganoderma*) in Indonesia: application and challenge. In: *Proceeding of Fifth MPOB-IOPRI International Seminar of Oil Palm Pest and Disease, Kuala Lumpur, November 2013*.
- Tien, M. and T.K. Kirk. 1984. Lignin degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂ -requiring enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 2280-2284.
- Virdiana, I., J. Flood, B. Sitepu, Y. Hasan, R. Aditya, and S. Nelson. 2012. Integrated disease management to reduce future *Ganoderma* infection during oil palm replanting. *Planters*. 88 (1305): 383-393.
- Ward, G., Y. Hadar, and C.G. Dosoretz. 2004. The biodegradation of lignocellulose by white rot fungi. Marcel Dekker, New York.