

## Deteksi *Ganoderma* secara molekuler pada kebun kelapa sawit yang diberi perlakuan biofungisida Ganor

*Molecular detection of Ganoderma on oil palm plantation treated with Ganor biofungicide*

Hayati MINARSIH<sup>\*)</sup>, Happy WIDIASTUTI & Djoko SANTOSO

Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, Jl. Taman Kencana No. 1, Bogor 16128

Diterima tgl 8 Februari 2018 / disetujui tgl 6 April 2018

### Abstract

*Ganor organic fungicide potentially reduces Ganoderma, a pathogenic fungus causing basal stem rot disease. Application of Ganor on oil palm trees in the plantation attacked Ganoderma, inhibits the growth of Ganoderma fruiting bodies, improves rooting and stimulates the opening of the spear leaf. This study aims to identify molecularly the presence of Ganoderma in oil palm trees that have been attacked by Ganoderma routinely treated with Ganor for three months. Molecular analysis was performed by PCR using Ganoderma specific primers. The analysis results of sample from trunks and roots of oil palm, indicating that the Ganoderma infected oil palm which has been treated with Ganor, were relatively free (96.4%) of Ganoderma. Of the 28 samples examined of treated plants, 27 samples did not indicate the presence of Ganoderma specific DNA band. On the other hand, the untreated oil palm trees infected by Ganoderma were still detected by the appearance of DNA bands specific to Ganoderma. The results of molecular analysis indicated that Ganor treatments can effectively reduce the attack rate of Ganoderma in oil palm trees in the plantation infected by Ganoderma. However, the use of the molecular technique for early detection needs to be further tested to evaluate its consistency prior to introduction to the commercial growers. The reproducibility can be confirmed by repeating the experiment using more samples. Ganor effectiveness in curing oil palm trees infected by Ganoderma, maybe indicated by the ability of the reproductive organs to develop, particularly female flowers. The sex ratio of Ganor treated oil palms was clearly higher than that of control palms in 10 to 12 weeks after the treatment.*

[Keywords: organic fungicides, stem rot, molecular analysis, *Elais guinensis* Jack.]

### Abstrak

Fungisida organik Ganor berpotensi mengurangi serangan *Ganoderma*, cendawan patogenik penyebab penyakit busuk pangkal batang. Aplikasi Ganor pada tanaman kelapa sawit di kebun yang terserang *Ganoderma*, menghambat

pertumbuhan tubuh buah *Ganoderma*, memperbaiki perakaran dan merangsang pembukaan daun tombak. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara molekuler adanya *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* yang telah mendapat perlakuan Ganor secara rutin selama tiga bulan. Analisis molekuler dilakukan dengan teknik PCR menggunakan primer DNA spesifik *Ganoderma*. Hasil analisis sampel batang dan akar tanaman kelapa sawit, menunjukkan bahwa tanaman Perlakuan, yaitu kelapa sawit terserang *Ganoderma* yang telah mendapat perlakuan Ganor, 96,4% bebas *Ganoderma*. Dari 28 sampel tanaman Perlakuan yang diperiksa, 27 sampel tidak menunjukkan adanya pita DNA spesifik *Ganoderma*. Sementara itu pada tanaman Kontrol, yaitu tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* dan tidak mendapat perlakuan Ganor, 100% masih terdeteksi adanya *Ganoderma*. Dari 7 sampel tanaman kontrol yang diperiksa semuanya menunjukkan adanya pita DNA spesifik *Ganoderma*. Hasil analisis molekuler ini mengindikasikan bahwa perlakuan Ganor efektif mengurangi tingkat serangan *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit di kebun yang terinfeksi *Ganoderma*. Namun demikian, untuk lebih meyakinkan praktisi perkebunan, penggunaan teknik molekuler ini masih perlu diuji lebih lanjut terkait konsistensinya. Reprodusibilitas dapat dikonfirmasi dengan mengulangi percobaan menggunakan lebih banyak sampel. Efektivitas Ganor dalam menyetatkan tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* ini, terindikasi juga dari perkembangan organ reproduktifnya. *Sex ratio* meningkat dalam waktu 10 hingga 12 minggu setelah perlakuan.

[Kata Kunci: fungisida organik, busuk pangkal batang, analisis molekuler, *Elais guinensis* Jack.]

### Pendahuluan

*Ganoderma* merupakan cendawan Basidiomycetes yang menjadi ancaman utama pada perkebunan kelapa sawit saat ini. Sampai saat ini belum ada cara pengendalian yang dianggap efektif terhadap penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit yang terserang *Ganoderma*. Penyakit ini menimbulkan kerugian yang besar

<sup>\*)</sup> Penulis korespondensi: hmsikan@yahoo.com

pada usaha perkebunan kelapa sawit di Indonesia dan Malaysia. Makin meluasnya serangan *Ganoderma* pada perkebunan kelapa sawit, kerugian yang ditimbulkannya juga semakin besar. Di Indonesia dan Malaysia kerugian mencapai US\$ 500 juta per tahun (Ommelna *et al.*, 2012). Jika serangan mencapai 20%, di Indonesia kerugiannya mencapai Rp 40 trilyun setiap tahunnya (Purnamasari *et al.*, 2012). Upaya dan teknologi pengendalian *Ganoderma* yang telah diteliti dan dikembangkan selama ini sudah cukup banyak, termasuk penggunaan biofungisida (Alviodinasyari *et al.*, 2015), namun demikian belum membuahkan hasil yang memuaskan (Santoso *et al.*, 2015).

Tidak seperti patogen tanaman lainnya, *Ganoderma* sp. mempunyai karakteristik biologi dan penyebaran yang spesifik. *Ganoderma* sp. memiliki perkembangan pertumbuhan yang lambat namun memiliki kemampuan bertahan yang lama di sisa-sisa akar dan tunggul tanaman karena adanya *resting spores* dan psudosklerotium (Widiastuti *et al.*, 2016; Mohd Su'ud *et al.*, 2007). Berdasarkan hal ini maka diperlukan penanganan yang khusus dalam pengendalian *Ganoderma* sp. Pada tingkat serangan yang ringan, gejala yang terjadi sangat bervariasi di lingkungan yang berbeda, dan baru muncul sangat spesifik pada serangan lanjut. Ketika gejala secara kasat mata terlihat seperti terbentuknya daun tombak ataupun adanya tubuh buah *Ganoderma* pada akar maupun batang, pada umumnya tanaman sudah tidak dapat tertolong lagi dan tidak lama kemudian mati (Mohd Su'ud *et al.*, 2007). Atas dasar hal ini sangat diperlukan deteksi dini dalam usaha penanggulangan serangan *Ganoderma* sp. khususnya pada tingkat serangan ringan.

Penyembuhan dan penyehatan tanaman kelapa sawit di kebun yang terserang *Ganoderma* menggunakan fungisida organik (Ganor) yang dikombinasikan dengan biostimulan tanaman (fitohormon) telah diteliti (Santoso *et al.*, 2015). Hasilnya sejauh ini cukup menjanjikan. Dari pengamatan visual dan agromomis tanaman kelapa sawit yang mendapat perlakuan Ganor dengan cara dan dosis perlakuan yang bervariasi menunjukkan bahwa pemberian Ganor seminggu sekali menghasilkan tanaman kelapa sawit dengan perakaran yang paling baik dibandingkan tanaman kelapa sawit kontrol maupun yang mendapat perlakuan lainnya. Terjadi pembukaan daun tombak. Rerata bobot tandan pada 5 bulan setelah aplikasi Ganor nampak meningkat pada tanaman perlakuan. Sedangkan kandungan minyak di dalam mesokarp buah sawit baik berdasarkan bobot basah maupun kering meningkat tertinggi pada perlakuan Ganor setiap 2 minggu dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Widiastuti *et al.*, 2016).

Deteksi patogen secara dini merupakan langkah yang sangat penting dalam penentuan teknik pengendalian patogen/penyakit. Deteksi menggunakan marka molekuler berbasis

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah dikembangkan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dibandingkan cara konvensional (Hushiarian *et al.*, 2013). Penelitian ini bertujuan melakukan analisis molekuler untuk mengetahui apakah tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* dan telah mendapat perlakuan Ganor tersebut, sembuh atau bebas dari cendawan patogenik tersebut. Analisis dilakukan dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik *Ganoderma*.

## Bahan dan Metode

Sampel untuk analisis molekuler berupa jaringan akar dan batang tanaman kelapa sawit TM12 yang ditanam tahun 2002 dari kebun yang terserang *Ganoderma* di kebun produksi di Cisalak Baru Rangkasbitung – Banten (milik PT PT Perkebunan Nusantara VIII). Tanaman kelapa sawit telah diberi perlakuan fungisida organik Ganor dan juga biostimulan berbasis rumput laut (Widiastuti *et al.*, 2016). Sampel akar diambil dengan cara menggali pangkal batang tanaman kelapa sawit dan memotong akarnya sebanyak 2-5 gram. Sedang sampel batang diambil menggunakan corck borer sebagaimana diuraikan oleh Jee & Chong (2015), yaitu di bagian batang kira-kira 1 m dari pangkal batang dengan sampel bagian dalam batang sebesar 2 cm. Setelah kotoran yang menempel pada sampel dibersihkan, sampel dibawa dari kebun ke laboratorium dengan menjaga keseegarannya menggunakan *cool box* berisi dry es. Jarak antara kebun ke laboratorium sekitar 60 km atau perjalanan mobil selama 2-3 jam. Sesampainya di laboratorium, sampel disimpan di dalam *deep freezer* atau nitrogen cair untuk kemudian diekstraksi langsung.

### Isolasi DNA genomik dari jaringan tanaman sawit

Isolasi DNA genomik dari jaringan kelapa sawit dilakukan menggunakan metode yang mengacu pada Orozco-Castillo *et al.* (1994). Sedangkan isolasi DNA genomik dari jaringan akar dilakukan menggunakan DNeasy Plant Mini kit (Qiagen) dengan mengikuti manual yang ada.

Penggerusan jaringan sampel dilakukan dengan penambahan N<sub>2</sub> cair terus-menerus untuk menjaga temperatur agar DNA tidak rusak. Sampel digerus sampai menjadi serbuk halus yang siap diisolasi DNA totalnya. Sebanyak 0,1 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf, ditambahkan campuran 1 mL bufer ekstraksi dan 0,1 mL β-merkaptotanol hangat. Campuran dihomogenasi dengan vortex dan dipanaskan pada suhu 65°C selama 30 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Setelah dingin, ditambahkan larutan kloroform : isoamilalkohol (24:1) sebanyak 1 mL, selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang.

Sentrifugasi menghasilkan dua lapisan, diambil lapisan atas dan ditambahkan larutan kloroform: isoamilalkohol (24:1) sebanyak 1 mL kemudian divorteks sampai homogen. Campuran disentrifus kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang. Sentrifugasi menghasilkan dua lapisan, diambil lapisan atas dan ditambahkan larutan isopropanol dingin sebanyak 1 volume. Campuran dikocok pelan sampai homogen, kemudian disimpan 4°C selama 30 menit. Setelah itu campuran disentrifus dengan kecepatan 11000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C, pelet diambil dan dikeringkan. Pelet di dalam tabung eppendorf dilarutkan dengan 100 µL bufer TE, kemudian ditambahkan 10 µL CH<sub>3</sub>COONa pH 5,2 dan 250 µL etanol absolut, dikocok hingga homogen. Campuran selanjutnya disimpan pada suhu -20°C selama minimal 30 menit, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Pelet DNA diambil dan dicuci dengan 70% etanol sebanyak 100 µL, disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm, lalu dikeringudarkan. Setelah pelet benar-benar kering, ditambahkan 30 µL *nuclease-free water* (NFW) dan disimpan pada suhu -20°C. Pengujian integritas DNA secara kualitatif dilakukan dengan elektroforesis gel agarosa 1%. Pengukuran kuantitas DNA dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan spektrofotometer Nanodrop (Thermo).

#### Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi PCR dilakukan menggunakan beberapa pasang primer spesifik yaitu; Gan1-Gan2, Gan1-ITS4, ITS1-ITS4, dan ITS1-Gan2 (Tabel 1) yang diperoleh dari peneliti PPBBI (Komunikasi pribadi dengan Dr. Darmono Taniwiryono). Sampel DNA disiapkan dalam konsentrasi 100 µg/mL. Larutan "RCR mix" dibuat dengan mencampurkan 2,5 µL bufer PCR, 0,5 µL dNTPs 10 mM, 0,3 µL Taq DNA polimerase, dan 19,7 µL NFW (*nuclear free water*) ke dalam tabung Eppendorf. Selanjutnya ke dalam tabung mikro khusus PCR dimasukkan 1 µL primer, 1 µL DNA sampel, dan 23 µL larutan "PCR mix". Reaksi PCR dilakukan dengan program sebagai berikut: denaturasi awal pada suhu 92°C selama 1 menit; *annealing* pada suhu antara 54°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit; Reaksi PCR dilakukan sebanyak 40 siklus. Hasil amplifikasi kemudian diseparasi dengan elektroforesis gel agarosa 1% dan divisualisasikan dengan UV transiluminator.

#### Hasil dan Pembahasan

Data analisis kuantitatif maupun kualitatif menggunakan spektrofotometer DNA genomik dari sampel jaringan kelapa sawit ditampilkan pada

Tabel 2. Huruf pertama pada kode sampel menunjukkan jaringan akar (AK) atau batang (BT). Data ini menunjukkan bahwa kualitas DNA genomik yang dihasilkan dari sampel jaringan tanaman kelapa sawit cukup baik. Konsentrasi DNA berkisar antara 27 hingga 961 ng/µL. Rasio serapan pada panjang gelombang 260 nm per 280 nm berkisar antara 1,85 – 2,03. Ini berarti bahwa DNA hasil preparasi tersebut murni dari protein. Rasio serapan pada panjang gelombang 260 nm per 230 nm berkisar antara 1,29 – 1,87. Nilai rasio  $A_{260}/230 \geq 1,8$  menunjukkan bahwa DNA hasil preparasi murni dari kontaminasi guanidin atau karbohidrat (Androniki *et al.*, 2015).

Profil elektroforesis DNA genomik hasil preparasi dari sampel tersebut ditampilkan pada Gambar 1. Data visual ini menunjukkan bahwa sebagian besar DNA genomik tersebut berkualitas cukup baik, masih utuh atau tidak terdegradasi. Ada pita DNA diskrit berukuran besar di lokasi dekat sumuran elektroforesis. Pita DNA tersebut terdapat di semua lajur meskipun dengan intensitas yang bervariasi sesuai dengan konsentrasi larutan DNA genomik yang diperoleh.

Untuk memastikan kualitas DNA genomik tersebut apakah dapat digunakan untuk reaksi amplifikasi DNA dilakukan PCR menggunakan pasangan primer yang lebih umum yaitu ITS dan pasangan primer spesifik *Ganoderma*. Profil elektroforesis dari DNA hasil amplifikasi PCR tersebut ditampilkan pada Gambar 2. Data visual ini membuktikan bahwa DNA genomik yang dipreparasi dari sampel akar dan batang memiliki kualitas yang cukup baik dan dapat diamplifikasi dengan PCR.

Setelah sistem PCR dengan pasangan primer 20-mer tersebut teruji positif, kemudian teknik PCR tersebut digunakan untuk menganalisis DNA genomik dari 28 sampel jaringan akar dan batang kelapa sawit dari kebun yang terserang *Ganoderma*. Hasil analisis seri I, 14 sampel akar dan batang tersebut menunjukkan bahwa pada sampel dari tanaman yang diperlakukan Ganor setiap 2 minggu tidak terdapat pita DNA berukuran 200 bp (lini 4 s.d. 17). Sementara kontrol positif (lini 2 dan 3) terlihat adanya pita DNA 200 bp. Data elektroforesis hasil PCR spesifik ini mengindikasikan tidak terdapatnya *Ganoderma* sp pada tanaman yang diperlakukan Ganor setiap 2 minggu (Gambar 3).

Hasil yang mirip juga diperoleh pada sampel DNA seri II (dari tanaman kelapa sawit yang mendapat perlakuan Ganor seminggu sekali), kecuali pada sampel BT C1.8 (lini 13). Pada DNA genomik dari jaringan batang kode tersebut terlihat adanya pita DNA 200 bp yang *smear*. Hasil elektroforesis ini mengindikasikan bahwa dari 14 sampel seri II, 13 diantaranya bebas *Ganoderma* dan satu sampel menunjukkan adanya *Ganoderma* (Gambar 4).

Tabel 1. Sekuen primer dan ukuran amplikon  
 Table 1. *Primer sequences and amplicons size*

Primer <i>Primer</i>	Sekuen (5' to 3') <i>Sequence (5' to 3')</i>	Amplikon (bp) <i>Amplicon (bp)</i>
Gan 1	F: TTGACTGGGTTGTAGCTG	Gan1-Gan2 (200)
Gan 2	R: GCGTTACATCGCAATACA	ITS1-ITS4 (700)
ITS 1	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	Gan1-ITS4 (700)
ITS 4	CAGGAGACTTGTACACGGTCCAG	ITS1-Gan2 (200)

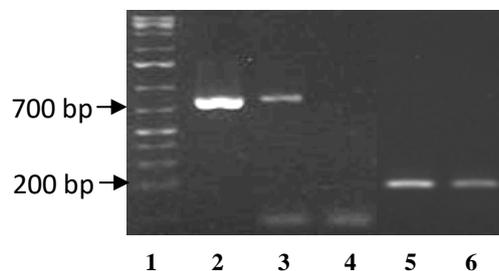
Tabel 2. Kuantitas dan kualitas DNA genomik kelapa sawit hasil isolasi  
 Table 2. *Quantity and quality of genomic DNA after isolation*

Sampel ( <i>Samples</i> )	[DNA] ng/ $\mu$ L	Rasio ( <i>Ratio</i> )	
		260/280	260/230
AK H0.2	961,5	1,90	1,34
BT H0.2	422,4	1,93	1,57
AK H0.8	204,1	1,86	1,46
BT H0.8	131,4	1,93	1,60
AK H1.4	190,5	1,88	1,57
BT H1.4	31,9	1,79	1,29
AK H1.8	342,3	1,94	1,68
BT H1.8	166,9	2,03	1,87
AK H2.4	131,9	2,03	1,81
BT H2.4	262,7	1,88	1,38
AK H2.7	249,6	1,93	1,57
BT H2.7	75,6	1,91	1,62
AK K-14	232,4	1,89	1,34
BT K-14	88,6	1,93	1,60
AK K-12	539,0	1,87	1,46
BT K-12	66,6	1,92	1,48
AK C0.8	254,5	1,92	1,62
BT C0.8	237,8	2,00	1,73
AK C0.5	438,4	1,89	1,47
BT C0.5	319,1	1,99	1,87
AK C1.5	691,5	1,94	1,45
BT C1.5	168,5	2,01	1,86
AK C1.8	302,2	1,90	1,50
BT C1.8	27,1	1,91	1,24
AK C2.7	290,2	2,01	1,69
BT C2.7	53,4	1,86	1,87
AK C2.5	925,0	1,85	1,47
BT C2.5	117,1	1,93	1,69



Gambar 1. Profil elektroforesis sebagian DNA genomik jaringan kelapa sawit

Figure 1. *Electrophoresis profile of genomic DNA of oil palm tissue*



Gambar 2. Elektroforesis PCR DNA dengan pasangan primer ITS1-ITS4 (lini 2 & 3); Gan-1-Gan2 (5 & 6). Lini 1 & 4 Marker dan kontrol negatif.

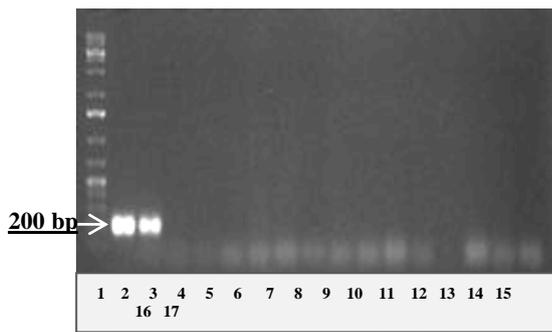
Figure 2. *Electrophoresis DNA PCR using primer pair of ITS1-ITS4 (lane 2 & 3); Gan1-Gan2 (5 & 6). Lane 1 & 4 are Marker and negative control.*

Pada tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* yang tidak mendapat perlakuan Ganor (kontrol), analisis PCR spesifik *Ganoderma* tersebut menunjukkan hasil yang sebaliknya. Dari semua sampel yang dianalisis, dijumpai adanya pita DNA berukuran 200 bp (Gambar 5). Hasil analisis molekuler ini menunjukkan bahwa tanaman kelapa sawit dari kebun yang terserang *Ganoderma* dan tidak mendapat perlakuan Ganor, terkonfirmasi adanya infeksi cendawan patogenik tersebut.

Namun demikian teknik PCR dengan primer spesifik ini masih perlu divalidasi misalnya dengan membandingkannya dengan metode deteksi berbasis serologi (Suharyanto *et al.*, 2012). Teknik ini diketahui efektif untuk monitoring atau sensus tanaman terserang di lapang dengan hasil yang tepat sebelum gejala dan tanda penyakit terlihat secara visual. Meskipun cara PCR spesifik ini telah dilaporkan juga hasilnya cukup baik (Rahayu, 2013), namun untuk menjamin konsistensi atau reproduksibilitasnya masih perlu dikonfirmasi

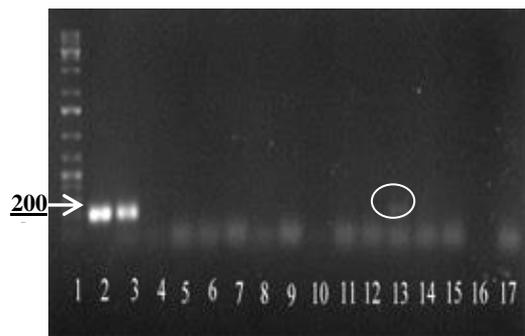
dengan mengulangi percobaan menggunakan lebih banyak sampel.

Data analisis molekuler untuk mendeteksi adanya *Ganoderma* ini menunjukkan bahwa perlakuan Ganor berpotensi efektif dalam menekan pertumbuhan *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit di kebun yang terinfeksi penyakit busuk pangkal batang. Pada sebagian besar (27 dari 28) sampel tanaman yang mendapat perlakuan Ganor secara rutin setiap 1 – 2 minggu, tidak terdeteksi adanya genom *Ganoderma*. Sementara itu, pada tanaman pembandingnya yang tidak mendapat perlakuan Ganor, pada semua sampel yang diuji genom *Ganoderma* terdeteksi jelas dengan teknik PCR menggunakan primer Gan dan ITS yang spesifik *Ganoderma*. Data molekuler ini sejalan dengan data fisiologis dan morfologis seperti terbentuknya kembali tubuh buah *Ganoderma*, daun tombak yang membuka dan jumlah TBS dipanen meningkat secara signifikan (Widiastuti *et al.*, 2016).



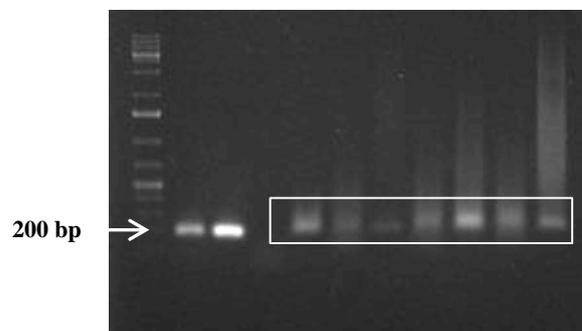
Gambar 3. Elektroforesis hasil PCR seri I. Lini 1=Marker, 2-3=kontrol positif, 4-17 dari perlakuan Ganor setiap 2 minggu. Primer Gan1-Gan2.

Figure 3. *Electroforesis of PCR products of serie I. Lane 1 is marker, 2-3 positive controls, 4-14 from Ganor-treated palm every 2 weeks. Primer Gan1-Gan2.*



Gambar 4. Elektroforesis hasil PCR seri II. Lini 1=Marker, 2-3=kontrol positif, 4-17 dari perlakuan Ganor setiap minggu. Primer Gan1-Gan2

Figure 4. *Electroforesis of PCR products of serie II. Lane 1 is marker, 2-3 positive controls, 4-14 from Ganor-treated palm everyweek. Primer Gan1-Gan2.*



Gambar 5. Elektroforesis hasil PCR seri III. Lini 1=Marker, 2-3=kontrol positif, 4-17 dari perlakuan Kontrol. Primer Gan1-Gan2

Figure 5. *Electroforesis of PCR products. Lane 1 is marker, 2-3 +controls, 4-14 from control palm. Primer Gan1-Gan2*

*Internal transcribed spacer* (ITS) umum digunakan untuk melakukan identifikasi pada cendawan termasuk *Ganoderma* (Park *et al.*, 2012; Nusaibah *et al.*, 2011). Daerah ITS merupakan daerah pada ribosomal RNA yang memisahkan 3 subunit yaitu 18s, 5,8s dan 28s yang dibatasi oleh daerah yang terkonservasi (conserved region) dan memiliki variasi yang tinggi meskipun antar spesies yang berkerabat dekat (Hillis & Dixon, 1991).

Selain tertekannya pertumbuhan *Ganoderma*, kesehatan tanaman juga menjadi sasaran penting dari kegiatan perlakuan fungisida organik. Akan sangat menarik untuk menilai kesehatan tanaman kelapa sawit dengan melihat perkembangan organ reproduktif, seperti *sex ratio* yaitu rasio antara jumlah bunga betina terhadap jumlah bunga total. *Sex ratio* ini merupakan salah satu komponen produksi yang berkorelasi dengan produksi TBS.

Hasil perhitungan *sex ratio* dari data pengamatan jenis dan jumlah bunga tanaman kelapa sawit yang telah mendapat perlakuan Ganor selama 12 minggu ditampilkan pada Tabel 3. Data pengamatan selama 12 minggu ini menunjukkan bahwa perkembangan *sex ratio* pada tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* dan yang mendapat perlakuan Ganor cenderung meningkat walau pun hasilnya cukup bervariasi (Tabel 3). Sementara itu *sex ratio* pada kontrol, tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* namun tidak mendapat perlakuan Ganor cenderung menurun. Besarnya *sex ratio* pada tanaman kelapa sawit

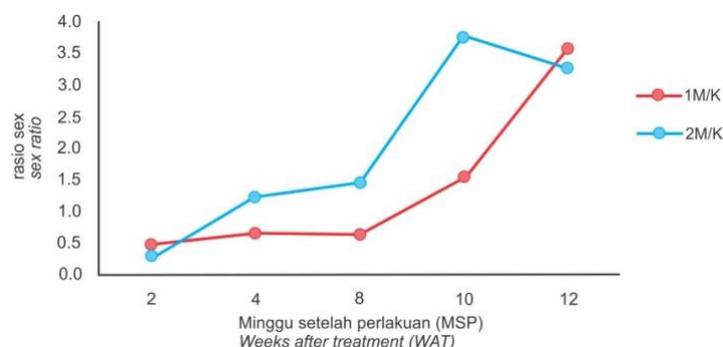
dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain faktor genetik, umur tanaman dan lingkungan seperti cekaman kekurangan air (mungkin juga cekaman biotik) serta ketersediaan nutrisi (Santoso *et al.*, 2009).

Karena bervariasinya faktor lingkungan, di kebun besarnya sex ratio antar individu tanaman kelapa sawit telah menghasilkan (TM) sangat bervariasi. Pada kondisi lingkungan yang relatif baik, nutrisi dan air tersedia cukup, sex ratio tanaman kelapa sawit TM dan muda misalnya umur 3-4 tahun bisa lebih dari 90%. Makin bertambahnya umur tanaman sex rasionya menurun hingga menjadi 50% pada tanaman yang berumur 10 tahun (Lubis, 1992). Dengan demikian pada tanaman umur 12 minggu pada percobaan ini jika kesehatan, air dan nutrisi cukup baik, sex rasionya berkisar antara 40 hingga 42%.

Tren kenaikan *sex ratio* oleh pengaruh Ganor pada kelapa sawit terserang *Ganoderma*, akan lebih kuat jika hasil perhitungannya dibandingkan dengan tren perubahan *sex ratio* pada tanaman kontrolnya (Gambar 6). Namun demikian mempertimbangkan lamanya waktu pengamatan, menimbulkan pertanyaan apakah benar tren kenaikan *sex ratio* ini karena pengaruh Ganor yang telah dikombinasikan dengan biostimulan berbasis rumput laut. Untuk menjelaskan fenomena ini, dapat ditelaah kembali kajian molekuler tentang diferensiasi seksual bunga pada tanaman kelapa sawit.

Tabel 3. Pengaruh Ganor terhadap tren rasio sex (%)  
 Table 3. Effect of Ganor towards sex ratio trend (%)

Perlakuan <i>Treatment</i>	Minggu setelah perlakuan (MSP) <i>Weeks after treatment (WAT)</i>				
	2	4	8	10	12
Kontrol/ <i>Control</i>	33,3	33,3	25	8,3	6,7
Ganor 1x1 minggu/ <i>Ganor 1x1 week</i>	14,7	21,5	15,9	12,9	23,8
Ganor 1x 2 minggu/ <i>Ganor 1x 2 weeks</i>	10	40,5	35,8	31,3	21,7



Gambar 6. Tren sex ratio kelapa sawit perlakuan Ganor terhadap Kontrol, tiap Minggu (1M/K), tiap 2 Minggu (2M/K).

Figure 6. Trend of sex ratios of Ganor-treated oil palms to the Control, everyweek (1M/K), every 2 weeks (2M/K)

Pada setiap ketiak daun (organ vegetatif) tanaman kelapa sawit memiliki potensi untuk berkembangnya bunga (*inflorescences*). Tingkat perkembangan organ reproduktif atau pembungaan pada tanaman kelapa sawit terkait erat dengan tahapan atau level perkembangan daun, dari yang paling awal Leaf-40 berupa meristem vegetatif. Melewati beberapa level kemudian menjadi meristem bunga pada Leaf+6. Pada level Leaf+15 terjadi perkembangan bunga, lalu bunga menjadi matang atau siap polinasi pada level Leaf+18 (Adam *et al.*, 2011). Pada level daun selanjutnya setelah penyerbukan akan terjadi pembuahan (*fruit setting*), pemasakan buah dan saat panen. Diferensiasi seksual, tahapan yang menentukan apakah bunga kelapa sawit akan menjadi bunga jantan atau betina akan terjadi “sesaat” sebelum bunga berkembang tumbuh (Leaf+15). Menurut Adam *et al.* (2005) pada tanaman kelapa sawit Afrika (*Elaeis Guineensis*, Arecaceae), differensiasi ini terjadi pada level Leaf+12. Menurut pengalaman Dr. Asmini Budiani (komunikasi pribadi), secara histokimia seluler tanda diferensiasi seksual pada kelapa sawit hibrida Tenera mulai terlihat pada level Leaf+11.

Dengan asumsi diferensiasi seksual dari bunga tanaman kelapa sawit terjadi pada level Leaf+11 dan perbedaan antara bunga jantan dengan bunga betina terlihat secara visual terjadi pada level Leaf+17, maka akan ada jarak 6 level atau siklus daun. Jika jarak antara level daun yang satu dengan yang terdekat lainnya sekitar 12 – 14 hari (Pallas *et al.*, 2013), maka 6 level atau siklus daun setara dengan 72 hingga 84 hari atau 10 hingga 12 minggu. Dari pembahasan tersebut terindikasi bahwa perlakuan Ganor dapat menyembuhkan, menyetatkan dan meningkatkan *sex ratio* pada tanaman kelapa sawit di kebun terserang *Ganoderma*. Pengaruh Ganor terhadap *sex ratio* juga sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa bahan baku biostimulan (Orgamin) yang terdapat dalam Ganor juga meningkatkan *sex ratio* serta produksi TBS tanaman kelapa sawit (Widiastuti *et al.*, 2012; Putra *et al.*, 2013).

### Kesimpulan

Teknik PCR menggunakan primer spesifik mengindikasikan bahwa perlakuan fungisida organik Ganor efektif mengurangi gejala serangan *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit di kebun terinfeksi busuk pangkal batang. Efektivitas Ganor dalam menyetatkan tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma* ini, terindikasi juga dari perkembangan organ reproduktifnya. *Sex ratio* meningkat dalam waktu 10 hingga 12 minggu setelah perlakuan. Namun demikian, untuk lebih meyakinkan praktisi perkebunan, penggunaan teknik molekuler ini masih perlu diuji lebih lanjut dalam skala lebih besar untuk menilai konsistensinya.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh APBN Tahun Anggaran 2015 dari Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi; SK Nomor 147/M/Kp/IV/2015 tanggal 9 April 2015; melalui Program Insentif Riset SINas dengan Kode Riset RT-2015-0286. Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan teknis di kebun kepada Hery Hudoyono SPT dan di laboratorium kepada Niyah Fitrianti, SSi.

### Daftar Pustaka

- Adam H, S Jouannic, J Escoute, Y Duval, J-L Verdil & JW Tregear (2005). Reproductive developmental complexity the African oil palm (*Elaeis Guineensis*, Arecaceae). *American Journal of Botany* 92(11), 1836–1852.
- Adam H, M Collin, F Richaud, T Beule, D Cros, A Omere, L Nodichao, B Nouy & JW Tregear (2011). Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. *Ann Bot* 108,1529–1537.
- Alviodyasari R, A Martina & W Lestari (2015). Pengendalian *Ganoderma boninense* oleh *Trichoderma* sp. SBJ8 pada kecambah dan bibit kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di tanah gambut. *JOM FMIPA* 2(1),99-107.
- Androniki P, Dovas CI, Bramis G, Lazou T, Russel CL, Arsenos G& Banos (2015). Comparison of eleven methods for genomic DNA extraction suitable for large-scale whole-genome genotyping and long-term DNA banking using blood samples. *PLoS ONE* 10(1),1-18.
- Hillis DM & Dixon MT. (1991). Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology* 66(4), 411-453.
- Hushiarian R, Yusof, NA & Dutse SW (2013). Detection and control of *Ganoderma boninense*: strategies and perspective. *Springer Plus* 2(555), 1-12.
- Jee WR & Chong KP (2015). *Ganoderma* colonization in oil palm tissues and soil after treated with phenolic acids. *Advances in Environmental Biology* 9(2), 7-12.
- Lubis AU (1992). *Kelapa Sawit* (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Indonesia. Pematang Siantar, Pusat Penelitian Perkebunan Marihat-Bandar Kuala
- Mohd Su'ud, M, Loonis PIA & Idris AS (2007). Towards automatic recognition and grading of *Ganoderma* infection pattern using fuzzy systems. *Int J Biomed Sci* 2, 1306–1216.

- Nusaibah S, Latiffah Z & Hassaan A (2011). ITS-PCR-RFLP analysis of *Ganoderma* sp. infecting industrial crops. *Pertanika* 34(1),83–91.
- Ommelna BG, AND Jennifer & KP Chong (2012). The potential of chitosan in suppressing *Ganoderma boninense* infection in oil-palm seedlings. *J Sustain Sci Manage* 7(2),186–192.
- Orozco-Castillo, CKJR Chalmers, W Waugh & W Powell (1994). Detection of genetic diversity and selective gen introgression in coffee using RAPD markers. *Theor Appl Genet* 8, 934-940.
- Pallas B, Mialet-Serra I, Rouan L, Clément-Vidal A, Caliman JP & Dingkuhn M (2013). Effect of source/sink ratios on yield components, growth dynamics and structural characteristics of oil palm (*Elaeis guineensis*) bunches. *Tree Physiol* 33 (4), 409–424.
- Park Y-J, Kwon O-C, Son E-S, Yoon D-E, Han W, Nam J-Y, Yoo Y-B & Lee C-S (2012). Genetic diversity analysis of *Ganoderma* species and development of a specific marker for identification of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Afric J of Microbiol Res* 6(25), 5417-5425.
- Purnamasari MI, C Prihatna, AW Gunawan & A Suwanto (2012). Isolasi dan identifikasi secara molekuler *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan penyakit Busuk Pangkal Batang di Kelapa Sawit. *J Fitopatol Indones* 8(1), 9-15.
- Putra SM, D Santoso, H Widiastuti, AH Saragih, MA Ghoni, B Marahimin & K Panjaitan (2012). Respons awal pemberian biostimulan Orgamin pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Kebun Marjandi PTPN IV. *Menara Perkebunan* 81(1), 22-27.
- Rahayu N (2013). Perancangan primer untuk pengembangan sistem deteksi dini berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada *Ganoderma* spp. Skripsi, Departemen Biologi – FMIPA -IPB, 34 p.
- Santoso D, H Widiastuti & H Minarsih (2015). Pengoptimalan teknologi fungisida organik (Ganor) untuk menyetatkan tanaman kelapa sawit terserang *Ganoderma*. Laporan Akhir InSINas 2015.
- Santoso D, Samanhudi & T Chaidamsari (2009). Kemungkinan peningkatan produktivitas kelapa sawit melalui induksi perkembangan reproduktif: homologi molekuler dari tanaman kakao. *Menara Perkebunan* 77(2),125-137.
- Suharyanto, DD Eris, HT Prakoso, AH Saragih & TW Darmono (2012). Perangkat serologi untuk deteksi dini infeksi *Ganoderma* sp. pada kelapa sawit. *Menara Perkebunan* 80(1), 8-16
- Widiastuti H, D Eris & D Santoso (2016). Potensi fungisida organik untuk pengendalian *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit. *Menara Perkebunan* 84(2), 98-105.
- Widiastuti H, D Santoso & SM Putra (2012). Uji coba formula ZPT orgamin pada kelapa sawit TM untuk efisiensi pemupukan dan peningkatan produktivitas (TBS dan rendemen minyak). Proposal Kerjasama Riset PT Perkebunan Nusantara.

