

# Analisis Molekuler Keragaman Genetik *Ganoderma* spp. yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Pangkal Batang Kelapa Sawit

T.W. Darmono<sup>1</sup>, Siswanto<sup>1</sup>, Suharyanto<sup>1</sup>, E.S. Hartani<sup>2</sup>, dan H. Sutejo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor

<sup>2</sup>Pusat Antar Universitas Bioteknologi, ITB, Bandung

## ABSTRAK

Penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh *Ganoderma* spp. merupakan salah satu penyakit terpenting pada tanaman kelapa sawit. Bahan tanaman kelapa sawit yang ada di Indonesia diketahui memiliki latar belakang genetik yang sempit dan seluruhnya diketahui peka terhadap *Ganoderma*. Namun demikian, kepekaan seluruh bahan tanaman terhadap serangan patogen dapat juga terjadi karena patogen yang bersangkutan memiliki keragaman genetik yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit di Indonesia. Koleksi isolat *Ganoderma* spp. dilakukan dari berbagai wilayah di Indonesia. Isolat haploid dan diploid yang diperoleh disimpan pada biakan miring. Uji kompatibilitas seksual antarisolat dilakukan dengan sistem konfrontasi antarkultur miselium isolat haploid. Analisis molekuler dilakukan dengan menggunakan DNA yang diekstraksi dari kultur miselium isolat diploid. Bagian DNA dari masing-masing isolat diamplifikasi secara acak dengan menggunakan teknik RAPD. Sebanyak 250 karakter RAPD digunakan untuk menetapkan tingkat keragaman antarisolat *Ganoderma* dengan analisis UPGMA. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa di samping memerlukan waktu yang lama, penggunaan sistem hifa konfrontasi sulit dilakukan karena pembentukan hifa apit sulit diamati sehingga hasil yang diperoleh tidak konsisten. Penggunaan teknik molekuler merupakan alternatif terbaik untuk menetapkan keragaman atau hubungan kekerabatan antarisolat *Ganoderma*. Isolat *Ganoderma* yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit memiliki tingkat keragaman genetik yang tinggi baik di dalam kebun maupun antarkebud. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penyakit busuk pangkal batang yang berkembang di suatu perkebunan disebabkan oleh patogen yang berasal dari wilayah itu sendiri. Namun demikian, kemungkinan penyebaran penyakit melalui pengiriman bibit antarwilayah tetap dapat terjadi.

**Kata kunci:** *Ganoderma*, kelapa sawit, PCR, RAPD.

## ABSTRACT

Basal stem rot incited by *Ganoderma* is one of the most important diseases of oil palm. Plant materials available in Indonesia have narrow genetic background and all of them are susceptible to *Ganoderma*. However, the susceptibility of all plant materials also may also be due to the presence of high genetic variability in the pathogen. The objective of this experiment was to determine the genetic variability of *Ganoderma* spp. associated with oil palm of Indonesia. Collection of isolates of *Ganoderma* spp. Was made from several geographical origins in Indonesia. Haploid and diploid isolates were maintained in agar slant. Tests of sexual compatibility were made with the use of DNA extracted from each of diploid isolates. Random pieces of DNA were amplified using RAPD technique.

250 RAPD characters were used in determining the genetic variability of isolates of *Ganoderma* using UPGMA analyses. From this experiment it was known that beside it required a lot of time, the use of hypha confrontation technique is difficulties in detecting clamp connection so that the results were inconsistent. The use of molecular technique was the best alternative in determining genetic variability or relatedness among isolates of *Ganoderma*. Isolates of *Ganoderma* associated with oil palm were genetically highly variable in both within and between plantations. From this experiment it can be concluded that basal stem rot disease that developed in certain plantation was incited by pathogen originating from same location. However there is possibility that the disease also spreads through the distribution of planting materials to different geographical regions.

**Kata kunci:** *Ganoderma*, oil palm, PCR, RAPD.

## PENDAHULUAN

Tanaman kelapa sawit merupakan penghasil devisa negara terpenting dari sektor perkebunan. Ekspor minyak sawit Indonesia meningkat dari 179 ribu ton senilai 24 juta dolar Amerika pada tahun 1969 menjadi 1.63 juta ton senilai 717 juta dolar Amerika pada tahun 1994. Diperkirakan produksi minyak sawit pada tahun ini mencapai 6,7 juta ton, dan akan meningkat menjadi 7,2 juta ton pada tahun 2000 dan 9,9 juta ton pada tahun 2005. Gangguan penyakit terpenting yang dihadapi oleh perkebunan kelapa sawit adalah busuk pangkal batang yang disebabkan oleh *Ganoderma* spp. (Basidiomycetes; polyporaceae). Serangan penyakit ini telah menimbulkan kerugian yang besar bagi negara. Tingkat serangan di lapangan dapat mencapai 50% (Turner, 1981). Jika mengacu pada nilai ekspor tahun 1994, kerusakan yang hanya 1 - 10% oleh serangan *Ganoderma* dapat merugikan negara sebesar 17-171 juta dolar Amerika per tahun. Pada penanaman di areal baru biasanya tingkat kejadian penyakit masih rendah, tetapi setelah beberapa kali peremajaan tingkat kejadian penyakit pada lahan yang sama semakin meningkat dan serangannya semakin dini (Sipayung dan Purba, 1986). Bahan tanaman kelapa sawit yang ada di Indonesia diketahui memiliki latar belakang genetik dan seluruhnya diketahui peka terhadap *Ganoderma*. Namun demikian, kepekaan seluruh bahan tanaman terhadap serangan patogen dapat juga terjadi karena patogen yang bersangkutan memiliki keragaman genetik yang tinggi. Jumlah spesies yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang sawit sampai saat ini belum diketahui dengan pasti (Darmono, 1996). Informasi semacam ini sangat penting sebagai dasar untuk memahami perilaku dan sifat hubungan patogen dan tanaman yang berguna bagi perumusan metoda pengendaliannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit di Indonesia.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Koleksi Isolat *Ganoderma***

Isolat *Ganoderma* spp. diperoleh dari berbagai wilayah perkebunan kelapa sawit di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan. Untuk mendapatkan isolat haploid dan diploid, spesimen yang berupa tubuh buah yang pertumbuhannya masih segar dan terdapat deposit spora pada korteksnya dikoleksi dari lapangan. Isolat haploid diperoleh dengan cara membuat suspensi spora dari setiap tubuh buah yang dikoleksi, menyiapkan beberapa tingkat pengenceran suspensi spora, memindahkan dan meratakan suspensi spora di atas permukaan MEA (15 g ekstrak malt, 20 g bakto agar dan 1 l air destilat) yang diperkaya dengan antibiotik streptomisin sebanyak 100 g/l sebagai penangkal bakteri, dan mengisolasi spora yang berkecambah secara individual (Darmono dan Burdsall, 1992). Isolat diploid diperoleh dengan cara mematahkan tubuh buah segar, mengambil sebagian kecil jaringan di dalam tubuh buah dan memindahkannya secara aseptik pada MEA. Isolat haploid dan diploid murni yang diperoleh disimpan pada biakan miring pada suhu ruangan, 26-28°C.

### **Uji Kompatibilitas Seksual**

Uji kompatibilitas seksual dilakukan dengan mamperemukan dua koloni isolat haploid yang akan diuji. Kedua isolat haploid diinokulasikan pada media MEA dengan jarak 20 mm di dalam cawan petri yang sama. Kultur diinkubasikan di ruang gelap pada suhu kamar, 26-28°C selama 2-3 minggu. Pembentukan hifa apit diamati dengan cara mengambil kultur miselium dari pertengahan tempat pertemuan koloni, meletakkan dan menipiskannya di atas gelas objek kemudian diamati dengan mikroskop. Untuk mengetahui kemampuan hasil persilangan dalam membentuk tubuh buah, kultur yang diisolasi dari pertengahan tempat pertemuan koloni ditumbuhkan pada media serbuk gergaji. Terbentuknya hifa apit dan tubuh buah mengindikasikan bahwa kedua isolat yang diuji kompatibel atau berasal dari kelompok atau spesies yang sama.

### **Ekstraksi DNA**

Ekstraksi DNA dilakukan dari kultivar miselium isolat diploid yang ditumbuhkan pada media cair broth dekstrosa kentang (PDB) di dalam gelas erlenmeyer di atas shaker selama tujuh hari. Miselium dipanen dengan penyaringan menggunakan kain kasa dan dua kali pencucian dengan air steril. Lebih kurang 1 cm<sup>3</sup> miselium basah dari setiap isolat digerus dengan nitrogen cair di dalam mortar. Serbuk miselium yang dihasilkan dengan cepat dipindahkan ke dalam tabung sentrifus 16 ml yang berisi 7 ml bufer ekstraksi cetyl methyl ammonium bromide (CTAB) (1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris HCl (pH 8,0), 0,3% (w/v) CTAB, 1% (v/v) 2-mercaptoetanol). Campuran dikocok sampai homogen kemudian diinkubasikan pada suhu 65°C selama 30 menit.

Chloroform/isoamyl alcohol (24:1) ditambahkan pada tabung dengan volume yang sama, dikocok, kemudian disentrifus pada kecepatan 11.000 rpm selama tiga menit. Fase cair yang terpisah di bagian atas di dalam tabung dipindahkan ke dalam tabung sentrifus yang masih bersih. Isopropanol dingin dengan volume yang sama ditambahkan ke dalam tabung kemudian diinkubasikan pada es selama 30 menit. Campuran disentrifus pada kecepatan 11.000 rpm selama tiga menit. Setelah supernatan dibuang, pelet yang diperoleh dicuci dengan 70% etanol, dipeletkan kembali dengan sentrifus, dikeringkan dengan sentrifus berfakum, dilarutkan dengan bufer TE dengan volume terukur, dibagi ke dalam beberapa tabung mikro, kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai siap digunakan. Estimasi tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA dilakukan dengan spektrofotometer UV.

### **RAPD dan Analisis Kekerabatan**

Campuran untuk *polymerase chain reaction* (PCR) disiapkan di dalam tabung mikro 500  $\mu$ l yang berisi 100  $\mu$ M dNTP, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, bufer PCR 1x (0 mM Tris pH 8,8 pada 25°C, 50 mM KCl 0,1% Triton X-100), 5,5 pmol 10-mer primer dengan 10 rantai basa arbitrari, dan 150 ng contoh DNA. Minyak mineral ditambahkan pada setiap tabung. PCR dilakukan sebanyak 45 siklus (94°C selama 1 menit, 45°C selama 1 menit, dan 72°C selama 2 menit). Suhu inkubasi awal dan inkubasi akhir, sebelum dan sesudah ke-45 siklus PCR tersebut, berturut-turut adalah 94°C selama 1 menit dan 72°C selama empat menit. Teknik PCR yang melibatkan penggunaan primer arbitrari untuk amplifikasi bagian DNA secara acak dikenal dengan sebutan *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Limabelas mikroliter produk PCR dicampur dengan primer 3  $\mu$ l bufer loading dilewatkan melalui 1% gel agarosa yang mengandung 0,4 g etidium bromida per mililiter pada 75 V selama 1-2 jam dengan alat elektroforesis. Lambda DNA yang dipotong dengan HindIII dan Eco RI dilewatkan pada sumur yang terpisah pada gel sebagai ukuran pembanding. Penampakan pita-pita DNA dilihat dengan menggunakan transiluminator UV (dari kelompok OPA dan OPB produk Operou). Dari 40 primer arbitrari yang diuji lebih dari 20 di antaranya menghasilkan pita-pita yang kontras pada seluruh isolat yang dibandingkan. Setiap pita DNA diperlakukan sebagai karakter RAPD yang dapat dimiliki atau tidak dimiliki oleh isolat tertentu. Data ada atau tidaknya karakter RAPD tersebut digunakan dalam analisis UPGMA dengan menggunakan program Numerical Taxonomy and Multivariate Analyses System (NTSys) (Applied Biostatistic Inc., USA).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Uji Kompatibilitas Seksual**

Genus *Ganoderma* adalah jamur tingkat tinggi yang termasuk ke dalam kelas Basidiomycetes. Spora *Ganoderma* spp. diproduksi secara seksual pada basidia di

dalam pori-pori di bagian bawah permukaan tubuh buah. Adaskaveg & Gilbertson (1986) melaporkan bahwa beberapa spesies jamur ini bersifat bifaktorial. Artinya, inkompatibilitas pada *Ganoderma* dikendalikan oleh dua lokus (biasanya disebut lokus A dan lokus B) yang masing-masing bersifat multialelik. Dari setiap basidium dihasilkan empat jenis spora dengan genotip mating yang berbeda yaitu  $A_1B_1$ ,  $A_1B_2$ ,  $A_2B_2$  dan  $A_2B_1$ . Jika disilangkan satu sama lain, empat tipe hasil persilangan akan diperoleh yaitu  $A=B=$  ( $A_1B_1 \times A_1B_1$ ,  $A_1B_2 \times A_1B_2$ ,  $A_2B_2 \times A_2B_2$ ,  $A_2B_1 \times A_2B_1$ ),  $A=B\neq$  ( $A_1B_1 \times A_1B_2$  dan  $A_2B_2 \times A_2B_1$ ),  $A\neq B=$  ( $A_1B_1 \times A_2B_1$ , dan  $A_1B_2 \times A_2B_2$ ), dan  $A\neq B\neq$  ( $A_1B_1 \times A_2B_2$ , dan  $A_2B_1 \times A_1B_2$ ). Hanya hasil persilangan dengan alel yang berbeda pada kedua lokus, yaitu  $A\neq B\neq$ , yang mampu menghasilkan hifa apit dan tubuh buah.

Hasil uji kompatibilitas seksual disajikan pada Tabel 1. Dari beberapa persilangan sendiri pada beberapa isolat haploid dapat diamati adanya hifa apit atau hasil persilangannya bertipe  $A\neq B\neq$ . Hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat yang bersangkutan bukan merupakan isolat haploid karena hasil persilangannya seharusnya tidak menghasilkan hifa apit dan bertipe  $A=B=$ . Beberapa kelompok isolat tersebut adalah GBEK 1, GBEK 4, dan GBEK 10. Kesalahan isolasi tersebut kemungkinan terjadi pada saat dilakukan pengambilan spora yang berkecambah terikut spora lain yang kebetulan memiliki alel yang berbeda pada kedua lokusnya. Pada waktu dilakukan persilangan antara ketiga kelompok isolat tersebut dengan isolat yang diperoleh dari lokasi lain, seharusnya selalu dihasilkan hifa apit dan tubuh buah. Namun hasilnya ternyata tidak demikian. Hal tersebut terjadi kemungkinan karena kesulitan dalam pengamatan hifa apit yang ukurannya relatif kecil dan jumlahnya sedikit. Terbentuknya hifa apit palsu (*false clamps*) juga menyulitkan dalam pengamatan secara mikroskopis. Seharusnya terdapat hubungan yang erat antara pembentukan hifa apit dan tubuh buah. Namun dalam penelitian ini hubungan tersebut hanya mencapai kurang lebih 70%. Pembentukan hifa apit dan tubuh buah merupakan hasil akhir dari serangkaian ekspresi gen yang dapat dipengaruhi oleh lingkungannya.

### Analisis Molekuler

Analisis berdasarkan DNA diketahui lebih akurat daripada analisis berdasarkan karakter morfologi karena tidak bergantung kepada hasil ekspresi genom (Zijlstra *et al.*, 1995). Dengan tersedianya mesin PCR karakter molekuler dapat diperoleh dengan jumlah yang tidak terbatas dan dapat digunakan untuk keperluan beberapa jenis analisis dengan akurasi yang tinggi (Darmono, 1996). Untuk menetapkan keragaman genetik isolat *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit, teknik RAPD telah digunakan dalam penelitian ini. Setiap pita DNA hasil amplifikasi dengan primer arbitrari diperlakukan sebagai karakter RAPD yang dapat dimiliki atau tidak dimiliki oleh isolat tertentu. Penampakan perbedaan karakter RAPD dapat dilihat pada Gambar 1.

**Tabel 1.** Pembentukan hifa apit dan tubuh buah dari hasil persilangan antarisolat haploid *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit.

| Persilangan                    | Pembentukan hifa apit | Pembentukan tubuh buah |
|--------------------------------|-----------------------|------------------------|
| <b>Silang sendiri</b>          |                       |                        |
| SP 1.4 x SP 1.4                | -                     | *                      |
| MU 1.3 x MU 1.3                | -                     | *                      |
| PB 1.1 x PB 1.1                | -                     | *                      |
| AD 3.5 x AD 3.5                | -                     | *                      |
| GBEK 1.5 x GBEK 1.5            | +                     | *                      |
| GBEK 1.8 x GBEK 1.8            | +                     | *                      |
| GBEK 1.23 x GBEK 1.23          | +                     | *                      |
| GBEK 1.24 x GBEK 1.24          | +                     | *                      |
| GBEK 3.3 x GBEK 3.3            | -                     | *                      |
| GBEK 3.5 x GBEK 3.5            | -                     | *                      |
| GBEK 3.6 x GBEK 3.6            | -                     | *                      |
| GBEK 3.10 x GBEK 3.10          | -                     | *                      |
| GBEK 4.3 x GBEK 4.3            | ?                     | *                      |
| GBEK 4.6 x GBEK 4.6            | +                     | *                      |
| GBEK 4.7 x GBEK 4.7            | +                     | *                      |
| GBEK 4.9 x GBEK 4.9            | +                     | *                      |
| GBEK 10.2 x GBEK 10.2          | +                     | *                      |
| GBEK 10.4 x GBEK 10.4          | +                     | *                      |
| GBEK 10.6 x GBEK 10.6          | +                     | *                      |
| GBEK 10.7 x GBEK 10.7          | ?                     | *                      |
| GBEK 13.3 x GBEK 13.3          | -                     | *                      |
| GBEK 13.6 x GBEK 13.6          | -                     | *                      |
| GBEK 13.8 x GBEK 13.8          | -                     | *                      |
| <b>Persilangan antarisolat</b> |                       |                        |
| SP 1.4 x GBEK 1.5              | +                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 1.8              | +                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 1.23             | +                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 1.24             | -                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 4.3              | ?                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 4.6              | +                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 4.7              | +                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 4.9              | -                     | +                      |
| SP 1.4 x GBEK 13.3             | +                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 13.6             | -                     | -                      |
| SP 1.4 x GBEK 13.8             | -                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 1.5              | -                     | -                      |
| MU 1.3 x GBEK 1.8              | -                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 1.23             | +                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 1.24             | -                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 3.3              | -                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 3.5              | +                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 3.6              | -                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 3.10             | -                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 4.3              | ?                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 4.6              | +                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 4.7              | +                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 4.9              | +                     | -                      |

Tabel 1. (Lanjutan).

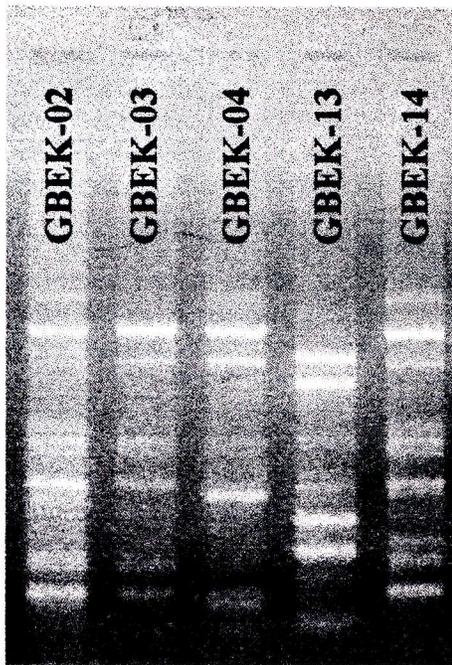
| Persilangan        | Pembentukan hifa apit | Pembentukan tubuh buah |
|--------------------|-----------------------|------------------------|
| MU 1.3 x GBEK 10.2 | -                     | -                      |
| MU 1.3 x GBEK 10.4 | +                     | -                      |
| MU 1.3 x GBEK 10.6 | +                     | -                      |
| MU 1.3 x GBEK 10.7 | -                     | -                      |
| MU 1.3 x GBEK 13.3 | +                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 13.6 | +                     | +                      |
| MU 1.3 x GBEK 13.8 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 1.5  | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 1.8  | +                     | +                      |
| PB 1.1 x GBEK 1.23 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 1.24 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 3.3  | +                     | +                      |
| PB 1.1 x GBEK 3.5  | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 3.6  | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 3.10 | -                     | +                      |
| PB 1.1 x GBEK 4.3  | +                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 4.6  | +                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 4.7  | +                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 4.9  | -                     | +                      |
| PB 1.1 x GBEK 10.2 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 10.4 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 10.6 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 13.3 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 13.6 | -                     | -                      |
| PB 1.1 x GBEK 13.8 | ?                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 1.5  | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 1.8  | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 1.23 | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 1.24 | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 3.3  | -                     | +                      |
| AD 3.5 x GBEK 3.5  | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 3.6  | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 3.10 | +                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 4.3  | ?                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 4.6  | +                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 4.7  | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 4.9  | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 10.2 | +                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 10.4 | +                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 10.6 | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 10.7 | -                     | +                      |
| AD 3.5 x GBEK 13.3 | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 13.6 | -                     | -                      |
| AD 3.5 x GBEK 13.8 | -                     | -                      |

Keterangan: + = Terbentuk

- = Tidak terbentuk

\* = Tidak dilakukan pengamatan

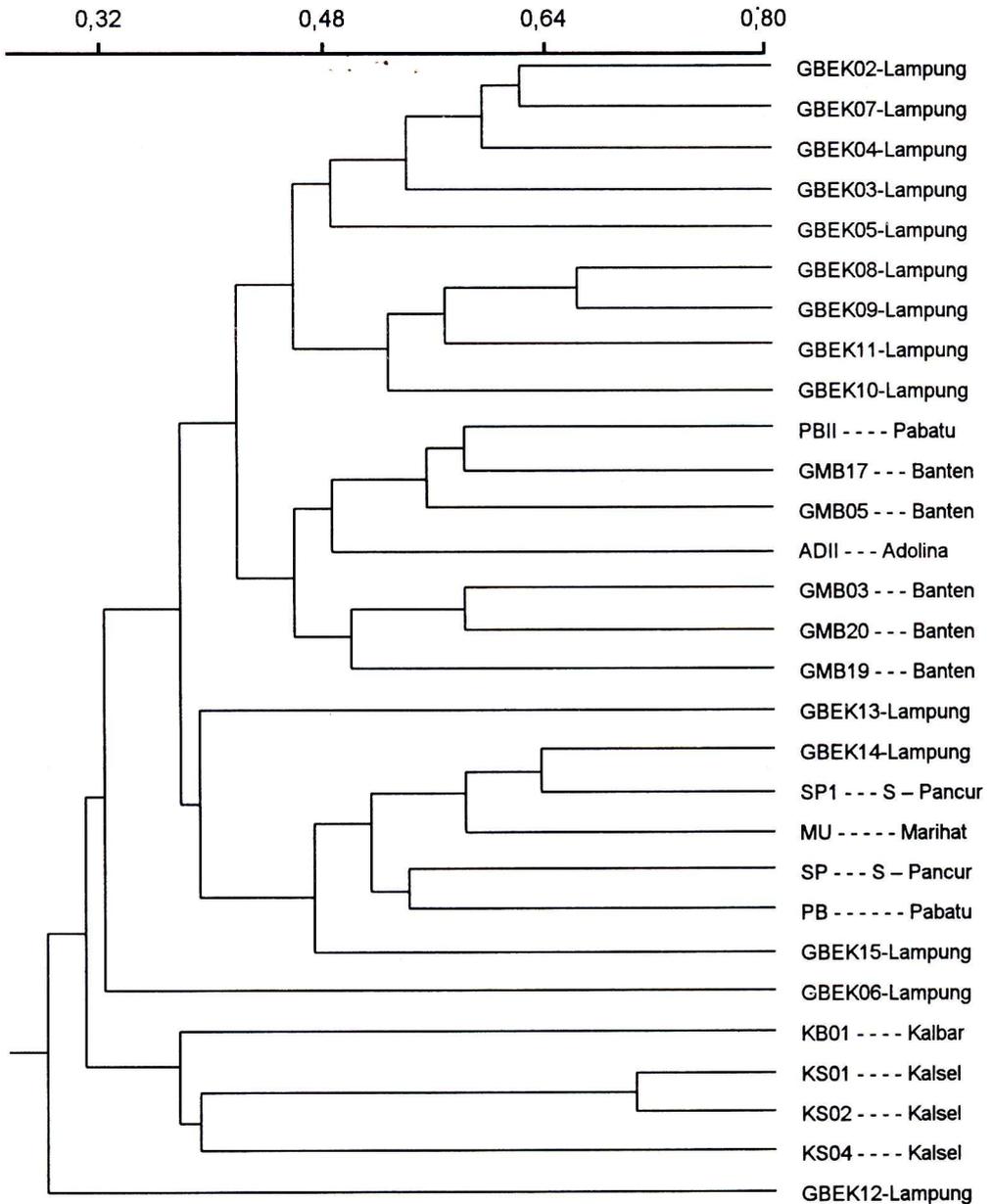
SPs, MUs, PBs, dan ADs adalah isolat dari Sumatera Utara  
 GBEKs adalah isolat dari Lampung.



**Gambar 1** . Pola RAPD beberapa isolat *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang tanaman kelapa sawit.

Pada gambar tersebut terlihat bahwa pola RAPD isolat GBEK-02 mirip dengan pola RAPD yang dimiliki isolat GBEK-03, kemungkinan kesalahan dalam mengambil kesimpulan bahwa isolat tersebut sama masih tinggi karena hanya didasarkan pada pengamatan paling tidak 10 karakter. Dalam hal ini, perbandingan hanya dilakukan menggunakan pita-pita yang penampakannya jelas. Semakin banyak karakter RAPD yang digunakan semakin tinggi tingkat kebenaran hasil analisis (Hallden *et al.*, 1994). Sebanyak 250 karakter RAPD digunakan untuk menetapkan tingkat keragaman isolat *Ganoderma* dengan analisis UPGMA yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2.

Tingkat keragaman genetik *Ganoderma* di dalam satu kebun sangat tinggi. Di kebun Bekri, PT Perkebunan Nusantara VII, Lampung Tengah, paling sedikit terdapat 7 kelompok isolat yang secara genetik berbeda satu sama lain. Di Kebun Pabatu dan Sei Pancur (Sumatera Utara), Banten (Jawa Barat), dan Kalimantan Selatan, masing-masing paling tidak ditemukan dua kelompok isolat yang secara genetik berbeda. Tingkat keragaman genetik *Ganoderma* antarkebun juga diketahui sangat tinggi. Tingginya tingkat keragaman tersebut diduga berkaitan dengan adanya lebih dari satu spesies *Ganoderma* yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit seperti yang dilaporkan oleh Turner (1981), Perbedaan isolat *Ganoderma* yang berasosiasi dengan kelapa sawit pada tingkat spesies berdasarkan kaidah-kaidah taksonomi sulit dilakukan karena pada umumnya memiliki bentuk morfologi tubuh buah yang sama.



**Gambar 2.** Hubungan kekerabatan di antara beberapa isolat *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang tanaman kelapa sawit di Indonesia.

Dari hasil analisis molekuler ini dapat dibuktikan bahwa kelompok isolat yang berasal dari satu wilayah geografis secara genetis berbeda dengan kelompok isolat dari wilayah geografis yang lain. Hal ini mengindikasikan bahwa penyalit busuk pangkal batang yang berkembang pada kebun kelapa sawit di daerah tertentu disebabkan oleh *Ganoderma* yang berasal dari daerah itu sendiri yang semula menyerang tanaman hutan. Jamur *Ganoderma* pada umumnya memiliki tanaman inang yang sangat luas (Steyaert, 1972). Namun demikian tidak tertutup kemungkinan bahwa investasi patogen pada suatu kebun berasal dari penularan melalui bibit yang dikirim dengan media tanah di dalam polibag. Dalam usaha penanggulangan penyakit busuk pangkal batang, hasil penelitian ini mendukung bagi dilakukannya tindakan sanitasi kebun yang ketat yang dimulai dari sejak pembukaan lahan. Penelitian untuk menciptakan bahan tanaman yang tahan perlu segera dilaksanakan secara serius dan dalam pengujiannya harus dilakukan dengan menggunakan beberapa isolat *Ganoderma*.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

Penggunaan hifa konfrontasi untuk menetapkan kompatibilitas seksual antar-isolat sulit dilakukan karena pembentukan hifa apit sulit diamati sehingga hasil yang diperoleh tidak konsisten. Penggunaan teknik molekuler merupakan alternatif terbaik untuk menetapkan keragaman atau hubungan kekerabatan antarisolat *Ganoderma*. Isolat *Ganoderma* yang berasosiasi dengan tanaman kelapa sawit memiliki tingkat keragaman genetik yang tinggi baik di dalam kebun maupun antarkebun. Dari hasil penelitian ini juga dapat disimpulkan bahwa penyakit busuk pangkal batang yang berkembang di suatu wilayah disebabkan oleh patogen yang berasal dari wilayah itu sendiri. Namun demikian, kemungkinan penyebaran penyakit melalui pengiriman bibit antarwilayah tetap dapat terjadi.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Tulisan ini merupakan bagian dari hasil penelitian Riset Unggulan Terpadu (RUT) II, proyek kerja sama kantor Menteri Negara dan Dewan Riset Nasional, Badan Perencanaan Pembangunan Nasional, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi yang pelaksanaannya dipimpin oleh penulis ke dua. Penulis kedua mengucapkan terima kasih kepada Wawan, PAU Bioteknologi, ITB, dan Nina Mardiana BSc, Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan atas bantuan pekerjaan laboratorium selama penelitian ini berlangsung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adaskaveg, J.E., and R.L. Gilberston. 1986.** Cultural studies and genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. Tsugae* in relation to the taxonomy of the *G. lucidum* complex. *Mycologia* 78, 700-711.
- Darmono, T.W. 1996.** Analisis keragaman genetika tanaman dengan teknik molekuler. *Hayati* 3, 7-11.
- Darmono, T.W. and H.H. Burdsall. 1992.** Morphological characteristics of incompatibility reactions and evidence for nuclear migration in *Armillaria mellea*. *Mycologia* 84, 367-375.
- Halden, C., N.O. Nilsson, I.M. Rading, and T. Sall. 1994.** Evaluation of RFLP and RAPD markers in a comparison of *Brassica napus* breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* 88, 123-128.
- Sipayung, A. dan R.Y. Purba. 1986.** Penelitian dan usaha penanggulangan penyakit busuk pangkal batang *Ganoderma* spp. Pada perkebunan kelapa sawit. Edisi khusus, Pusat Penelitian Marihat, Marihat Ulu. 19 hal.
- Steyaert, R.I. 1972.** Species of *Ganoderma* and related genera mainly of the Bogor and Leiden herbaria. *Persoonia* 7, 55-118.
- Turner, P.D. 1981.** Oil Palm Diseases and Disorder. Kuala Lumpur Oxford University Press. pp. 280.
- Zijlstra C., A.E.M. Lever, B.J. Uenk, and C.H. van Silfhout. 1995.** Diferences between ITS regions of isolates of root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Phytopathology* 85, 1231-1237.