



APLIKASI FUNGI RHIZOSFER SEBAGAI PUPUK HAYATI PADA BIBIT KELAPA SAWIT DENGAN MEMANFAATKAN LIMBAH TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT SEBAGAI MEDIA PERTUMBUHAN

Galih Setyo Adiguna¹, I Nyoman P. Aryantha²

¹ Program Studi Pengolahan Hasil Perikanan,
Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Politeknik Negeri Pontianak

² Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati,
Institut Teknologi Bandung

Email: galihsetyo89@gmail.com

ABSTRAK

Tandan kosong kelapa sawit memiliki komposisi kimia berupa selulosa 45,95 %, hemiselulosa 22,84 %, lignin 16,49 %, minyak 2,41 %, dan abu 1,23 %. Selama ini pemanfaatan limbah tandan kosong kelapa sawit sangat terbatas yaitu sebagai sumber kalium setelah proses pembakaran. Proses pembakaran tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dapat menimbulkan polusi udara karena menghasilkan abu terbang (fly ash). Untuk mengurangi pencemaran lingkungan perlu dilakukan penanganan TKKS, contohnya diolah menjadi pupuk hayati. Secara alami limbah TKKS mengalami dekomposisi. Namun, dekomposisi ini memerlukan waktu yang sangat lama. Proses ini dapat dipercepat menggunakan mikroorganisme fungi untuk mendegradasi selulosa dan lignin yang ada dalam TKKS. Perlunya pengelolaan tanda kosong sawit yang ramah lingkungan mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini dengan tujuan umum : mengembangkan pupuk hayati padat menggunakan fungi rhizosfir dan limbah TKKS sebagai bahan baku. Metode pada penelitian ini adalah menggunakan metode eksperimental. Fungi rhizosfir yang dipilih sebagai agen pupuk hayati adalah yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa, melarutkan fosfat, bersifat antagonist terhadap *Ganoderma boinense*. Dipilih 3 isolat fungi rhizosfir dengan kinerja terbaik memenuhi kriteria di atas. Isolat L1 adalah yang mempunyai kemampuan mendegradasi selulosa tertinggi dengan indeks selulase = 2,92. Sementara itu, isolat E1 adalah fungi yang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat. Sedangkan isolat E2 memiliki kemampuan tertinggi dalam menghambat pertumbuhan *G. boninense*. Ketiga isolat tersebut dijadikan agen pupuk hayati untuk diujikan ke anakan tanaman kelapa sawit secara tunggal dan kombinasi. Hasil penelitian diperoleh Pertumbuhan tinggi tananam terbaik pada perlakuan penambahan Fungi kode E2 (T3) dengan tinggi $19,87 \pm 1,61$ cm, Berdasarkan hasil analisis DNA ITS, isolat E1 teridentifikasi sebagai *Talaromyces pinophilus* (100 %), E2 sebagai *Trichoderma viride* (100 %) dan L1 sebagai *Acremonium cellulolyticus* (100 %).

Kata kunci: Tandan kosong kelapa sawit, Pupuk Hayati, Rhizosfir

PENDAHULUAN

Penggunaan pupuk buatan anorganik di Indonesia sangat dominan untuk meningkatkan hasil pertanian secara nyata dan

cepat. Penggunaan pupuk anorganik secara terus-menerus dan berlebihan, tidak diimbangi dengan penggunaan pupuk organik menyebabkan tanah menjadi keras dan

produktivitasnya menurun (Supadma, 2006). Pemupukan dengan pupuk anorganik secara terus-menerus akan menurunkan tingkat kesuburan tanah, misalnya unsur K dalam pupuk anorganik merupakan salah satu unsur hara yang mudah tercuci, sehingga tanah akan kekurangan unsur K yang dapat menurunkan kesuburan tanah (Mujiyati dan Supriyadi, 2009). Pengurangan penggunaan pupuk anorganik dan beralih ke pupuk organik pada pertanian banyak membawa manfaat untuk memperbaiki sifat biokimia tanah. Aplikasi bahan organik yang diperkaya dengan mikroba penyubur perakaran meningkatkan aktivitas respirasi dan enzimatis tanah (Antonius dan Agustiyana, 2011).

Produksi pupuk hayati di Indonesia umumnya menggunakan bahan pembawa anorganik berupa pasir, mineral lempung atau zeolit (Prematuri dan Faiqoh, 1999). Di dalam upaya menciptakan biaya produksi yang lebih ekonomis dan ramah lingkungan, maka dirasakan perlu untuk dicarikan alternatif bahan pembawa lain seperti bahan organik yang merupakan sumber daya potensial yang jumlahnya melimpah.

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang mempunyai peranan penting di Indonesia. Luas perkebunan kelapa sawit di Indonesia pada tahun 2011 mencapai 8.992.824 ha dan produksi tandan buah segar (TBS) sebanyak 36.809.252 ton per tahun (ditjenbun, 2012). Setiap pengolahan 1 ton tandan buah segar (TBS) akan dihasilkan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) sebanyak 22-23% atau sebanyak 220-230 kg. Sebuah pabrik dengan kapasitas pengolahan 100 ton/jam dengan waktu operasi selama 1 jam, dapat menghasilkan sebanyak 22-23 ton TKKS (Rahmadi dkk., 2014). Jumlah limbah TKKS yang sangat berlimpah akan menjadi masalah jika tidak dimanfaatkan dan diolah lebih lanjut. Pengelolaan dan pemanfaatan

limbah tandan kosong kelapa sawit masih belum dilakukan secara optimal. Selama ini pemanfaatannya sangat terbatas yaitu dibakar dalam incinerator. Abu dari pembakaran dimanfaatkan untuk pembuatan pupuk kalium karena mengandung 30% K₂O. Proses pembakaran tandan kosong kelapa sawit dalam incinerator tersebut dapat menimbulkan polusi udara karena menghasilkan abu terbang (fly ash) (Rahmadi dkk., 2014). Untuk mengurangi pencemaran lingkungan perlu dilakukan penanganan TKKS, contohnya diolah menjadi pupuk hayati. TKKS dalam pembuatan pupuk hayati digunakan sebagai bahan pembawa. Bahan pembawa harus dapat memberikan lingkungan hidup yang baik bagi mikroba atau campuran berbagai mikroba selama produksi, transportasi, dan penyimpanan sebelum inokulan tersebut digunakan. TKKS dapat dijadikan sebagai bahan pembawa dikarenakan memiliki kapasitas menahan air yang tinggi (Kresnawaty dkk., 2010). Pembuatan pupuk hayati harus mempertimbangkan media pembawa yang dikomposisikan. Media pembawa harus mengandung komponen penting yang mendukung daya viabilitas dan pertumbuhan mikroba yang diinokulasi ke dalamnya (Ambak dan Melling, 2000). Komposisi kimia TKKS sebagian besar berupa selulosa, hemiselulosa dan lignin. Bahan-bahan organik tersebut diperlukan mikroba selama proses pertumbuhan dan perkembangannya. Pengaruh bahan organik terhadap perkembangan fungi sangatlah berpengaruh, karena bahan organik dapat sebagai nutrisi bagi fungi. Fungsi fungi dalam tanah adalah untuk menguraikan bahan organik dan membentuk bongkahan tanah. Beberapa spesies tertentu dari *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Dematium*, *Glicoladium*, *Helminthopodium*, *Humicola*, dan *Metarhizium* menghasilkan bahan yang mirip humus dalam tanah (Rao, 1994).

Fungi rhizosfir merupakan salah satu kelompok mikroba yang telah dilaporkan dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap berbagai penyakit, baik penyakit terbawa tanah maupun penyakit terbawa udara (Hyakumachi dan Kubota, 2003). Fungi ini membantu pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme, seperti peningkatan penyerapan nutrisi, sebagai kontrol biologi terhadap serangan patogen, dan juga menghasilkan hormon pertumbuhan bagi tanaman. (Chanway, 1997). Berdasarkan hasil penelitian yang ada sampai sekarang, fungi Rhizosfir berpotensi memfasilitasi penyediaan berbagai unsur hara bagi tanaman terutama fosfat. Perbaikan pertumbuhan dan kenaikan hasil berbagai tanaman salah satunya berkaitan dengan ketersediaan unsur fosfat bagi tanaman. Di samping sebagai fasilitator penyerapan hara, fungi Rhizosfir juga berpotensi sebagai agen hayati (Simanungkalit, 2001). Menurut Keputusan Menteri Pertanian Nomor : 411/Kpts/TP.120/6/1995 Tentang Pemasukan Agen Hayati Ke Dalam Wilayah Negara Republik Indonesia, pengertian agen hayati adalah setiap organisme yang meliputi spesies, sub spesies, varietas, semua jenis serangga, nematoda, protozoa, cendawan (fungi), bakteri, virus, mikoplasma serta organisme lainnya dalam semua tahap perkembangannya yang dapat digunakan untuk keperluan pengendalian hama dan penyakit atau organisme pengganggu, proses produksi, pengolahan hasil pertanian dan berbagai keperluan lainnya

Dari penjelasan diatas Penggunaan fungi Rhizosfir untuk mendegradasi selulosa, melarutkan fosfat dan sebagai agen hayati bagi tanaman, dapat dijadikan alternatif pengelolaan TKKS yang selama ini belum tertangani dengan baik. Penggunaan formula TKKS dan fungi rhizosfir sebagai bahan baku pupuk hayati berpotensi mengurangi dampak

negatif pupuk anorganik, meningkatkan serapan unsur hara tanaman serta dapat mengendalikan serangan patogen pada tanaman. Berdasarkan hal-hal tersebut, perlu dilakukan sebuah pengkajian tentang formulasi pupuk hayati padat dari fungi rhizosfir dan tandan kosong kelapa sawit

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan pupuk hayati dengan menggunakan fungi rhizosfir dan limbah TKKS sebagai bahan baku

METODE PENELITIAN

Materi yang digunakan pada penelitian ini mencakup agen fungi, bahan baku pupuk hayati dan tanaman uji. Sampel tanah untuk mengisolasi fungi agen pupuk hayati, diambil dari tanah di sekitar perakaran tanaman kelapa sawit PT. Astra Agro Lestari. Kultur *Ganoderma boninense* diperoleh dari Laboratorium Mikologi, Pusat Penelitian Biosains dan Bioteknologi (PPBB), Institut Teknologi Bandung. Tanaman uji yaitu bibit tanaman Kelapa Sawit diperoleh dari PT. Astra Agro Lestari.

Bahan laboratorium yang digunakan dalam penelitian adalah media Pikovskaya, Urea, media CMC (Carboxymethyl Cellulose), media PDA (Potato Dextrose Agar), larutan iodine, asam sulfat (H₂SO₄), natrium klorida (NaCl), aquades, alcohol.

Isolasi Fungi Rhizosfir

Sampel tanah diambil disekitar perakaran tanaman kelapa sawit dengan jarak 10 cm dan 20 cm dari akar dari beberapa lokasi perkebunan PT Astra Agro Lestari di Kalimantan Tengah. Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran dan plating. Sebanyak 10 g sampel tanah dilarutkan di dalam 100 ml Aquades steril sehingga didapat suspensi tanah. Suspensi diguncang dengan menggunakan alat orbital shaker selama 2 jam dengan kecepatan 150 rpm. Suspensi kemudian diencerkan segera secara seri

dengan cara mencampurkan 1 ml suspensi tanah dengan 9 Aquades steril dalam tabung reaksi sehingga didapat pengenceran 10^{-2} . Pengenceran terus dilakukan hingga tingkat pengenceran 10^{-3} . Hasil pengenceran 10^{-3} diambil 1 ml kemudian dibiakkan dalam media PDA dengan masing-masing 3 ulangan. Hasil biakan diamati selama 4 hari setelah pencawanan (HSP). Setiap koloni fungi yang tumbuh dicatat dan dikelompokkan berdasarkan bentuk dan warna koloni kemudian dimurnikan pada media PDA.

Uji Kemampuan Fungi dalam Mendegradasi Selulosa

Isolat fungi yang diuji secara semikuantitatif didapat dari stok yang telah diremajakan sebelum diuji aktivitasnya. Skrining fungi selulolitik secara semi kuantitatif dilakukan menggunakan metode tanam ke dalam media CMC plate dan diinkubasi selama 6 hari. Pengujian aktivitas selulolitik dilakukan dengan metode Iodin dan dilakukan secara duplo. Pertumbuhan fungi diamati dan diseleksi yang mampu menguraikan CMC. Fungi yang mempunyai kemampuan mendegradasi selulosa diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah diuji dengan Iodin dan dibiarkan selama 3-5 menit. Indeks aktivitas selulase dapat ditentukan dengan cara mengukur rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni (Kasana dkk., 2008).

$$\text{indeks selulolitik} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni}}$$

Uji Potensi Fungi dalam Melarutkan Fosfat Seleksi Fungi dalam Melarutkan Fosfat Secara Kualitatif

Aktivitas fungi pelarut fosfat ditentukan berdasarkan pembentukan zona bening sekitar koloni pada media Pikovskaya (Rao, 1983). Media yang digunakan adalah Pikovskaya

dengan komposisi 10 g/l glukosa, 5 g/l Ca_3PO_4 , 0,5 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g/l KCl, 0,1 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g/l $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/l yeast ekstrak, dan 0,01 g/l $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ pada pH 7,0. Pengukuran yang dilakukan berupa rasio zona bening (holozone) dengan membandingkan diameter zona bening dan diameter koloni setelah dinkubasi selama 2 minggu pada temperatur ruangan. Isolat hasil seleksi uji tahap selanjutnya yaitu penentuan fosfat terlarut.

Penentuan Konsentrasi Fosfat Terlarut

Isolat terpilih dipindahkan dalam 250 ml media Pikovskaya cair dan digoyang selama 7 hari. Sebanyak 3 ml supernatant sampel dan control diambil, lalu ditambahkan 0,5 ml reagen campuran dan diamkan selama 15 menit. Kemudian serapan diukur pada absorbansi 880 nm. Prosedur yang sama dilakukan untuk larutan standar dan blanko.

Uji Antagonisme Fungi terhadap *G. boninense*.

Pengujian dilakukan secara biakan ganda (dual culture) dengan menumbuhkan masing-masing isolat fungi dan fungi *G. boninense* pada cawan petri yang berisi media PDA secara berhadapan dengan jarak 3 cm. Persentase hambatan agen hayati terhadap *G. boninense* diukur pada hari ke 4 setelah inokulasi dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{r1 - r2}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

P = persentase hambatan

r1 = jari-jari koloni patogen yang menjauhi koloni agen hayati

r2 = jari-jari koloni patogen yang mendekati koloni agen hayati

(Dharmaputra, 1999).

Pembuatan Pupuk Organik Hayati

Inokulum yang berasal dari kultur media PDA diinokulasikan ke substrat padat menggunakan teknik *Solid State Fermentation*

(SSF) dengan komposisi: Tandan kosong kelapa sawit, NPK 1% dari Tandan kosong kelapa sawit. Fungi diinkubasi pada suhu ruang selama 2 minggu. Semua medium dan proses inokulasi berada dalam kondisi steril.

Pengujian pada Tanaman Uji

Formula TKKS dan Isolat fungi terpilih diuji keefektifannya terhadap pertumbuhan bibit kelapa sawit umur 3 bulan. Pengujian dilakukan di rumah kaca di Pusat Penelitian Biosains dan Bioteknologi ITB. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan perlakuan sebagai berikut :

1. T₁ = Tanah + Tandan kosong kelapa sawit + isolat terpilih pendegradasi lignin
2. T₂ = Tanah + Tandan kosong kelapa sawit + isolat terpilih pelarut fosfat
3. T₃ = Tanah + Tandan kosong kelapa sawit. + isolat terpilih Aktifitas antagonis
4. T₄ = Tanah + Tandan kosong kelapa sawit. + isolat terpilih pendegradasi lignin + pelarut fosfat + aktifitas antagonis
5. K₋ = Kontrol (Tanah 100%)
6. K₊ = Kontrol Positif (Tanah + Pupuk Hayati merk X*)

Keterangan :

Komposisi media tanam per polybag :
Tanah 2 kg + Formulasi TKKS dan Isolat Terpilih 25 gr

*Komposisi dan manfaat pupuk hayati merk X (Lampiran 1)

Masing-masing perlakuan dirancang 3 ulangan, Pengamatan dilakukan setiap dua minggu selama 56 hari setelah tanam. Peubah yang diamati adalah tinggi tanaman dan jumlah daun. Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis General linear model (GLM) Repeated measures dan analisis ragam (Anova) pada taraf kepercayaan 95 persen (P<0,05). Jika hasil analisis ragam berbeda

nyata, dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada taraf kepercayaan 95% dan 99%.

Analisis Kimia Tanah

Tanah sebelum digunakan untuk penelitian dan tanah hasil evaluasi pupuk hayati diuji pH dan kandungan fosfat tersedia dengan menggunakan metode Olsen (Lampiran 2) dengan bantuan analisis Laboratorium Bioteknologi Lingkungan ICBB, Bogor.

Identifikasi Molekuler Isolat Fungi

Isolat tunggal fungi terpilih ditumbuhkan di cawan Petri. Proses PCR dan isolasi DNA genom fungi dilakukan di Macrogen. Amplifikasi PCR pada ITS menggunakan primer ITS1 (5'- TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG - 3') dan primer ITS4 (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3'). Data hasil sekuensing selanjutnya di *trimming* dan di *assembling* menggunakan BioEdit. Data sekuens yang telah di *assembling* selanjutnya di BLAST dengan data genom yang telah didaftarkan di DDBJ (*Data Bank of Japan*) atau NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) untuk menentukan takson yang memiliki *homology/similarity* terbesar dan terdekat secara molekuler. Penentuan strain fungi hasil Blast nukleotida berpatokan pada nilai keidentikan dan *query cover* yang mendekati 100 %. Strain fungi yang terpilih kemudian ditentukan kekerabatan terdekatnya melalui pohon filogenetik dengan menggunakan program MEGA 7.

HASIL DAN PEMBAHASAN

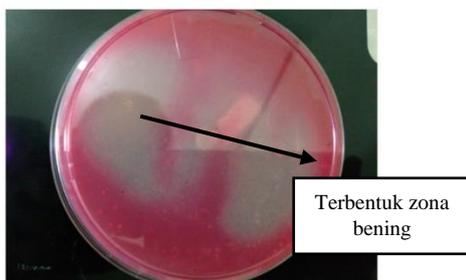
Berdasarkan hasil isolasi fungi pada Rhizosfir tanaman kelapa sawit diperoleh 35 isolat yang selanjutnya dilakukan seleksi berdasarkan kemampuan dalam mendegradasi selulosa, melarutkan fosfat dan antagonisme terhadap *G. Boninense*.

Menurut Zak dkk.(2003) keanekaragaman mikroba tanah akan meningkat dengan beragamnya tumbuhan di ekosistem tersebut. Selain itu, keanekaragaman mikroba tanah juga lebih dipengaruhi oleh banyaknya senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman tersebut. Hasil eksplorasi fungi tanah yang dilakukan Puangsombat dkk. (2010) di 5 tipe lahan yang berbeda juga didapatkan bahwa indeks keanekaragaman fungi di lahan nanas lebih tinggi daripada di hutan sekunder. Menurut Shi dkk. (2013) keanekaragaman fungi tanah pada berbagai tipe hutan dipengaruhi oleh suhu, garis lintang dan keanekaragaman tumbuhan. Keanekaragaman fungi tertinggi didapatkan dari hutan dengan keanekaragaman tumbuhan terendah atau di hutan iklim sedang.

Seleksi Fungi

Uji Kemampuan Fungi dalam Mendegradasi selulosa

Secara umum aktivitas selulolitik isolat fungi ditunjukkan dengan kemampuan tumbuh pada media carboxyl methyl cellulose (CMC) yang mengandung selulosa sebagai satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhannya dan terbentuknya zona bening di sekitar koloni selama inkubasi 6 hari (Gambar IV. 1). Daerah bening menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang diekskresikan oleh isolat fungi. Produk hidrolisis tersebut berupa gula sederhana monosakarida dan tidak terjadi ikatan kompleks dengan iodine (Kasana dkk., 2008)



Gambar 1. Visualisasi Zona Bening pada media CMC

Berdasarkan indeks aktivitas enzim didapatkan bahwa sebanyak 8 isolat

mempunyai kemampuan mendegradasi selulosa dengan kisaran diameter zona bening 1,00-7,30 (Tabel IV. 2). Perbedaan indeks aktivitas selulolitik tersebut diduga karena selulase diekskresikan oleh masing-masing isolat fungi yang berbeda potensinya untuk menguraikan substrat dalam media pertumbuhan (Sudiana dkk., 2001). Semakin besar indeks selulase pada isolat maka semakin besar aktivitas selulolitik yang dihasilkan (Apun dkk., 2000). Isolat L1 dipilih karena diduga merupakan isolat potensial yang memiliki indeks selulolitik tinggi dibanding isolat-isolat lainnya dengan nilai 2,92.

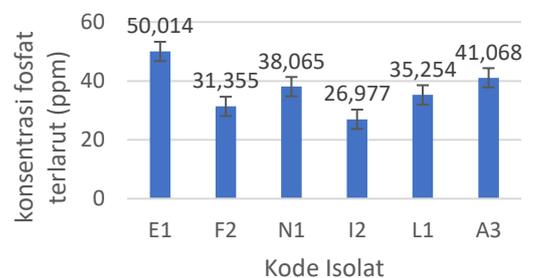
Uji Potensi Fungi dalam Melarutkan Fosfat.

Seleksi Kualitatif Fungi dalam Melarutkan Fosfat.

Seleksi kualitatif fungi pelarut fosfat menghasilkan 6 isolat murni yaitu E1, A1, N1, L1, F2 dan I2. Terbentuknya zona bening di sekitar koloni menjelaskan kemampuan fungi dalam melarutkan P

Media Pikovskaya mengandung yeast, dekstrosa, kalsium fosfat, ammonium sulfat, potassium klorida, magnesium sulfat, dan mangan sulfat serta penambahan agar. Terbentuknya zona bening dikarenakan ikatan kalsium-fosfat terurai di media Pikovskaya. Ikatan kalsium-fosfat terurai karena adanya proses pelarutan yang dilakukan asam organik yang dihasilkan oleh fungi tersebut.

Uji Kuantitatif Fungi dalam melarutkan fosfat.



Gambar 2. Hasil Uji Kuantitatif Isolat Fungi dalam Melarutkan Fosfat

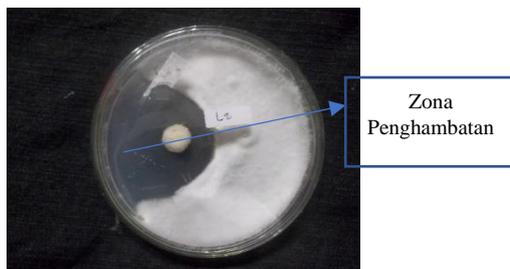
Hasil uji kuantitatif dari fungi pelarut fosfat (Gambar IV. 3) memperlihatkan bahwa isolate E1 memiliki kemampuan tinggi

melarutkan fosfat dengan konsentrasi fosfat terlarut yaitu 50.014 ppm, disusul kemudian A1 = 41.068 ppm, N1= 38.065 ppm, L1= 35.254 ppm, F2 = 31.355 dan I2= 26.97 ppm.

Berdasarkan Gambar IV. 3, semua isolat fungi memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat dengan kemampuan bervariasi. Hal ini disebabkan karena setiap mikroba pelarut fosfat menghasilkan jenis dan jumlah asam organik yang berbeda. Menurut Jumadi dkk (2015) asam organik yang dihasilkan mikroorganisme berbeda kualitas dan kuantitasnya dalam membebaskan fosfat. Hal ini juga sejalan dengan penelitian Yasser dkk., (2014) fungi pelarut fosfat (Phosfat Solubisation Fungi/PSF) dapat diisolasi dari Rhizosfir.

Uji antagonisme Fungi terhadap *G. Boninense*.

Isolat fungi dari risosfer tanaman Kelapa Sawit sebanyak 35 isolat telah diuji daya antagonisnya terhadap *G. boninense* Dengan metode penanaman berpasangan di dalam cawan petri dengan media PDA. Berdasarkan hasil seleksi diperoleh hasil sebagai berikut (Tabel 1).



Gambar 3. Zona Penghambatan pada Biakan Ganda

luas koloni fungi pada kultur ganda mengindikasikan adanya mekanisme kompetisi terhadap ruang dan makanan. Besar kecilnya luas koloni agen hayati menunjukkan kemampuannya untuk berkompetisi dengan patogen, semakin luas pertambahan koloni agen hayati berarti semakin besar kemampuannya untuk berkompetisi dengan patogen. Hal ini ditunjukkan oleh isolat E2, B2, R, O, B1, Q1, L1, R1, I3 koloninya lebih besar dibanding *G. boninense* (Gambar 4)

pada masa inkubasi yang sama yaitu 5 hari sesudah inokulasi

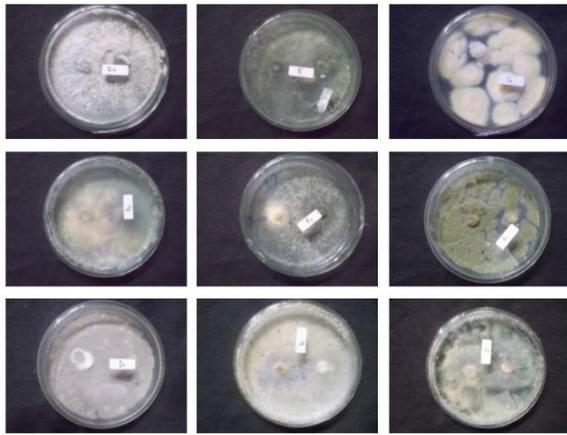
Tabel 1. Tipe Interaksi dan Persentase Hambatan antara *G. boninense* dan Agen Hayati Pada Kultur Ganda

| Kultur ganda | Tipe interaksi | Persentase Hambatan (%) |
|------------------|----------------|-------------------------|
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X E2 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X B2 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X R | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X O | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X B1 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X Q1 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X L1 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X R1 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | A | 100 |
| sp. X I3 | A | 100 |
| <i>Ganoderma</i> | B | 60,86 |
| sp. X A3 | B | 36 |
| <i>Ganoderma</i> | B | 56,52 |
| sp. X N1 | B | 52,17 |
| <i>Ganoderma</i> | B | 52,17 |
| sp. X L2 | B | 52,17 |
| <i>Ganoderma</i> | B | 52,17 |
| sp. X F3 | B | 52,17 |

Sedangkan isolat A3, N1, L2 dan F3 tidak mempunyai kemampuan kompetisi atau sangat kecil sekali kemampuannya berkompetisi terhadap ruang/makanan akan tetapi diduga mampu menghasilkan senyawa antibiosis yang menjadi pembatas pertumbuhan *G. Boninense*. Hal ini ditunjukkan adanya zona bening antara koloni *G. boninense* dan isolat agen hayati (Gambar 3).

Terbentuknya zona penghambatan antar organisme pada media padat merupakan indikasi bekerjanya mekanisme antibiosis. Bekerjanya mekanisme antibiosis dikuatkan oleh tertekannya pertumbuhan fungi patogen pada media padat.

Berdasarkan persentase hambatan dan kecepatan tumbuh isolat dipilih isolat E2 untuk digunakan dalam uji selanjutnya. Dimana isolate E2 mempunyai persentase hambatan sebesar 100 % dan dalam waktu 3 hari sudah mampu tumbuh memenuhi cawan petri.



Gambar 4. Kultur Ganda *G. boninense* dan Agen Hayati dengan Tipe Interaksi A Pada Media PDA Umur 5 Hari Sesudah Inokulasi.

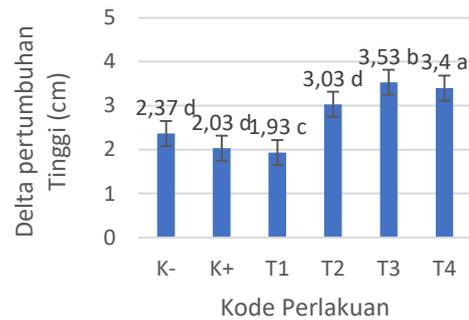
Pengujian pada tanaman uji Perbedaan Formulasi Pupuk Hayati Terhadap Tinggi Tanaman Kelapa Sawit

Hasil rerata perbedaan jenis media tanam terhadap tinggi tanaman Kelapa Sawit ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 5.

Tabel 2. Hasil Rerata Perbedaan Jenis Fungi terhadap Tinggi Kelapa Sawit.

| Perlakuan | Jumlah Daun Tanaman Kelapa Sawit. | | | | |
|-----------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 HST | 14 HST | 28 HST | 42 HST | 56 HST |
| | ----- helai ----- | | | | |
| K- | 4.67 | 5.00 | 4.67 | 4.78 | 4.67 |
| K+ | 3.00 | 3.00 | 5.00 | 3.67 | 5.00 |
| T1 | 4.33 | 4.67 | 4.67 | 4.56 | 5.33 |
| T2 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.33 |
| T3 | 3.67 | 3.67 | 4.33 | 3.89 | 4.00 |
| T4 | 4.33 | 5.00 | 5.00 | 4.78 | 5.00 |

Pada Tabel IV. 4 menunjukkan pertambahan tinggi tananam terbaik diperoleh pada perlakuan penambahan Fungi kode E2 (T3) dengan tinggi pada saat awal pengamatan 16.33 ± 3.09 , di akhir pengamatan diperoleh tinggi 19.87 ± 1.61 cm, Untuk melihat pertambahan tinggi tanaman Kelapa Sawit pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar IV. 6. Hasil uji analisis General linear model (GLM) Repeated measures menunjukan perbedaan perlakuan jenis formulasi pupuk hayati tidak memberikan pengaruh nyata ($p \geq 0,05$) terhadap pertumbuhan tanaman kelapa sawit.



Gambar 5. Pertambahan Tinggi Tanaman Kelapa Sawit pada Berbagai Macam Perlakuan.

Pada perlakuan T3 menghasilkan pertumbuhan tinggi tanaman paling optimal dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini diduga berdasarkan hasil identifikasi molekuler isolate E2 memiliki takson terdekat dengan *Trichoderma viride*. Beberapa hasil penelitian diketahui bahwa agen hayati seperti *Trichoderma* sp. mampu memproduksi asam organik, seperti glicinic, citric atau asam fumaric, yang menurunkan pH tanah, dan solubilisasi fosfat, mikronutrient dan kation mineral seperti besi, mangan, dan magnesium, yang bermanfaat untuk metabolisme tanaman (Saba dkk., 2012), serta metabolit yang meningkatkan pertumbuhan tanaman (Carvajal, 2009). Kemampuan inilah yang diduga mengakibatkan pertumbuhan tinggi tanaman pada perlakuan T3 lebih optimal dibanding perlakuan lainnya.

Beberapa hasil penelitian diketahui bahwa agens hayati seperti *Trichoderma* sp. juga dapat berfungsi sebagai dekomposer. fungi *Trichoderma* berperan sebagai dekomposer dalam proses pengomposan untuk mengurai bahan organik (Soesanto, 2004). *Trichoderma* sp. sebagai decomposer diduga membantu mendegradasi bahan organik yang ada di dalam TKKS sehingga lebih tersedianya hara bagi pertumbuhan tanaman. TKKS terdekomposisi dapat memperbaiki struktur tanah dengan cara meningkatkan Kapasitas Tukar Kation (KTK) sehingga unsur hara yang diserap oleh tanaman bisa maksimal. Selain itu TKKS terdekomposisi juga dapat meningkatkan daya serap tanah terhadap air dan zat hara sehingga zat hara dalam tanah tidak terbawa air (Samekto, 2006 dalam Afif, 2011).

Perbedaan Formulasi Pupuk Hayati terhadap jumlah daun tanaman kelapa sawit

Hasil rerata perbedaan jenis media tanam terhadap jumlah daun tanaman kelapa sawit ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 6.

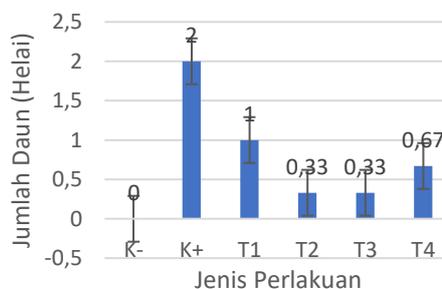
Tabel 3. Hasil Rerata Perbedaan Jenis Fungi terhadap Tinggi Kelapa Sawit.

| Perlakuan | Tinggi Tanaman Kelapa Sawit | | | | |
|-----------|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 HST | 14 HST | 28 HST | 42 HST | 56 HST |
| | ----- cm ----- | | | | |
| K- | 20.80 | 21.20 | 21.73 | 22.27 | 23.17 |
| K+ | 18.67 | 18.67 | 19.47 | 20.10 | 20.70 |
| T1 | 17.07 | 17.60 | 18.20 | 18.63 | 19.00 |
| T2 | 15.87 | 17.03 | 17.57 | 17.97 | 18.90 |
| T3 | 16.33 | 17.30 | 18.53 | 19.47 | 19.87 |
| T4 | 22.60 | 23.80 | 24.50 | 25.13 | 26,00 |

Perlakuan penambahan Pupuk Organik Merk X menunjukkan pertumbuhan jumlah daun terbaik dengan 5 ± 1 helai, sedangkan jumlah daun terendah pada perlakuan tanah 100% (Kontrol) yaitu $4,67 \pm 1,15$ helai. Untuk melihat Pertambahan jumlah daun tanaman kelapa sawit pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar IV.8. Hasil uji analisis General linear model (GLM) Repeated measures menunjukkan perbedaan perlakuan jenis formulasi pupuk hayati tidak memberikan pengaruh nyata ($p \geq 0,05$) terhadap pertumbuhan tanaman kelapa sawit.

Pertumbuhan jumlah daun paling optimal pada perlakuan K+ dengan penambahan daun sebanyak 2 helai. Sementara itu hasil terbaik untuk perlakuan formulasi pupuk hayati diperoleh pada perlakuan penambahan fungi kode L1 (T1) dengan penambahan jumlah daun sebanyak 1 helai. Hal ini diduga berdasarkan hasil seleksi, isolat L1 memiliki kemampuan dalam mendegradasi selulosa, melarutkan fosfat dan antagonisme dengan Ganoderma sp. Kemampuan isolat L1 dalam mendegradasi selulosa akan berpengaruh terhadap turunnya kadar karbon dan kadar nitrogen akan meningkat sehingga C/N rasio menjadi kecil. Semakin kecil nisbah C/N menunjukkan

bahwa bahan organik sudah terdekomposisi dalam TKKS. Selain itu isolat L1 juga mempunyai kemampuan dalam melarutkan fosfat. Hal ini sejalan dengan penelitian Sembiring (2012) pemberian mikoriza pelarut fosfat berpengaruh terhadap serapan P tanaman inang. Unsur nitrogen dan phosphor merupakan unsur hara makro yang dibutuhkan tanaman, dimana unsur tersebut berfungsi merangsang pertumbuhan vegetatif seperti daun, merangsang pembelahan sel tanaman dan memperbesar jaringan sel. Unsur N dan P tersebutlah yang membantu tanaman kelapa sawit melakukan pembelahan sel yang meningkatkan pertumbuhan setiap minggunya (Afif, 2011).



Gambar 6. Grafik Pertumbuhan Jumlah Helai Daun Tanaman Kelapa Sawit pada Berbagai Macam Perlakuan

Hasil Analisis kimia tanah

Hasil analisis kimia Tanah sebelum dilakukan perlakuan disajikan pada Tabel 4. Tabel 4. Sifat Kimia Tanah Sebelum Perlakuan

| No | Parameter | Satuan | Hasil |
|----|--|------------------|-------|
| 1 | pH | H ₂ O | 6.45 |
| | | KCl | 5.08 |
| | | 1 N | |
| 2 | P ₂ O ₅ Tersedia | ppm | 53.66 |

Hasil analisis kimia Tanah pada umur aplikasi 56 hari disajikan pada Tabel 5.

Dari Tabel 4 dan 5 dapat dilihat bahwa pemberian berbagai formulasi pupuk hayati memberikan peningkatan kandungan P-Tersedia di tanah. Akan tetapi jumlah P-tersedia pada akhir percobaan masih di bawah kontrol, hal ini diduga karena P yang terikat di

dalam tanah dan terlarut akibat enzim fosfatase fungi langsung tersedia dan diserap oleh tanaman inang sehingga pemberian mikoriza tidak berpengaruh terhadap P tersedia tanah melainkan terhadap serapan P tanaman inang. Hal ini sejalan dengan Sulistyono, dkk (1999) yang menyatakan penurunan P tersedia dalam tanah tersebut diduga karena mikoriza telah meningkatkan penyerapan P untuk metabolisme fungi sendiri dan untuk ditranslokasikan ke tanaman inang. Selain itu hasil pertumbuhan tanaman sawit baik perlakuan penggunaan formulasi pupuk hayati maupun pupuk hayati merk X semua di atas kontrol-, hal ini menandakan tanaman dengan penambahan formulasi pupuk hayati maupun pupuk merk X memiliki kemampuan menyerap unsur hara yang baik dibandingkan tanaman yang tidak mendapatkan perlakuan (kontrol-). Menurut Hanafiah (2007), masing masing jenis tanaman mempunyai kebutuhan dan kemampuan penyerapan unsur hara yang berbeda, hal ini pula yang diduga menyebabkan perbedaan konsentrasi P-Tersedia pada masing-masing perlakuan.

Tabel 5. Sifat Kimia Tanah Akibat Pemberian Formulasi Pupuk Hayati

| Perlakuan | pH Tanah | | P ₂ O ₅ Tersedia (ppm) |
|----------------|------------------|---------|--|
| | H ₂ O | KCl 1 N | |
| K- | 6,44 | 5,09 | 111,38 |
| K+ | 6,67 | 5,23 | 104,85 |
| T ₁ | 6,54 | 5,10 | 59,97 |
| T ₂ | 6,35 | 5,12 | 74,44 |
| T ₃ | 6,55 | 5,11 | 92,38 |
| T ₄ | 6,53 | 5,11 | 77,99 |

Hasil Analisis Molekuler

Identifikasi isolat fungi yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi Selulosa, melarutkan fosfat dan antagonisme terhadap *G. boninense* dilakukan secara molekuler berdasarkan analisis genetika secara parsial pada lokus *Internal Transcribe Spacer* (ITS) ribosomal DNA fungi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Molekuler

| Isolat | Takson terdekat | homology |
|--------|----------------------------------|----------|
| E1 | <i>Talaromyces pinophilus</i> | 100% |
| E2 | <i>Trichoderma viride</i> | 100% |
| L1 | <i>Acremonium cellulolyticus</i> | 100% |

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan

- Berhasil diperoleh 3 isolat fungi yang berpotensi mendegradasi selulosa, melarutkan fosfat, bersifat antagonist terhadap *Ganoderma boinense*.
- Ketiga isolat tersebut teridentifikasi sebagai isolat E1 sebagai *Talaromyces pinophilus*, E2 sebagai *Trichoderma viride* dan L1 sebagai *Acremonium cellulolyticus*.
- Pemberian formulasi TKKS dan isolat E2 (*Trichoderma viride*) pada tanaman uji, menunjukkan hasil pertumbuhan tinggi tanaman kelapa sawit terbaik

DAFTAR PUSTAKA

- Afif AK. (2011): Pemanfaatan Limbah Padat Proses Pengolahan Agar Pt Agarindo Bogatama sebagai Media Tanam Hortikultura, Skripsi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 56.
- Apun K., Jong BC, dan Salleh MA. (2000): Screening and Isolation of A Cellulolytic and Amylolytic *Bacillus* from Sago Pith Waste, *Journal of Gen.Appl. Microbiol*, 46, 263 -267.
- Carvajal L, Orduz HS, Bissett J. 2009. Growth simulation in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*). *www. Sciencedirect.com*.
- Chanway CP. (1997): Inoculation of Tree Roots with Plant Growth Promoting Bacteria: An Emerging technology for reforestation, *Forest Science* 43: 96-112.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2012): Statistik Kelapa Sawit 2009-2011, Departemen Pertanian.
- Hanafiah KA. (2007): Dasar-Dasar Ilmu Tanah. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta, 358.
- Hyakumachi M. dan Kubota M. (2003): Fungi as plant growth promoter and disease suppressor, 101- 110 dalam: *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food and*

- Environmental Application. Arora D. K. (ed) Marcel Dekker.
- Kasana, Salwan, Dhar, Dutt dan Gulati (2008): A Rapid dan Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine. *Curr Microbiol.* 57, 503–507.
- Mujiyati dan Supriyadi (2009): Pengaruh Pupuk Kandang Dan NPK Terhadap Populasi Bakteri Azotobacter Dan Azospirillum Dalam Tanah Pada Budidaya Cabai (Capsicum Annum). *Nusantara Bioscience*, 1, 59-64.
- Puangsoambat P, Sangwanit U dan Marod D. (2010): Diversity of soil fungi in different land use type in Tha Kum-Huai Raeng forest reserve, Trat province. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 44, 1162-1175.
- Rahmadi R, Awaluddin A dan Itnawita. (2014): Pemanfaatan Limbah Padat Tandan Kosong Kelapa Sawit Dan Tanaman Pakis-Pakistan Untuk Produksi Kompos Menggunakan Aktivator Em-4. *JOM FMIPA*, 1.
- Saba H, Vibhash D, Manisha M, Prashant KS dan Farhan H. (2012): *Trichoderma* promising plant growth stimulator and biocontrol agent. *Mycosphere*, 3(4), 524–531.
- Shi LL, Mortimer PE, Slik JWF, Zou XM, Xu J, Feng WT dan Qiao L. (2013): Variation in forest soil fungal diversity along a latitudinal gradient. *Fungal Diversity*. doi: 10.1007/s13225-013-0270-5.
- Shobah K. (2015): Keanekaragaman Cendawan Pada Rizosfer Kelapa Sawit Dan Palembang Liar, Skripsi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 50.
- Antonius S. dan Agustiyana D. (2009) : Pengaruh Pupuk Organik Hayati Yang Mengandung Mikroba Bermanfaat Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Panen Tanaman Semangka Serta Sifat Biokimia Tanahnya Pada Percobaan Lapangan Di Malinau-Kalimantan Timur, Berk. Penel. Hayati, 16, 203–206.
- Soesanto L. (2004): Ilmu penyakit pascapanen: Sebuah Pengantar. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Subana, M. dan Sudraja, S. (2001): Dasar-Dasar Penelitian Ilmiah. Pustaka Setia Bandung, 240.
- Sudiana, Rahayu, Imaduddin, dan Rahmansyah (2001): Cellulolytic Bacteria of Soil of Gunung Halimun Nasional Park, *Berita Biologi* 5, 703-710.
- Sulistiyono E, Djoefrie M H B, dan Heningtyas I. (1999): Pengaruh Inokulasi Fungi Mikoriza Arbuskula (CMA) dan Berbagai Taraf Pupuk P terhadap Kadar P Daun dan Kualitas Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Pembibitan Pendahuluan. *Buletin Agronomi*, 7, 7-11.
- Supadma (2006) : Kesuburan Tanah dan Pemupukan Tanah Pertanian. Pustaka Buana, Bandung.
- Yasser MM, Massoud ON dan Nasr SH. (2014): Solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing fungi isolated from Egyptian soils. *Journal of Bio. and Earth Scie*, 4, 83-90.
- Zak DR, Holmes WE, White DC, Peacock AD dan Tilman D. (2003): Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links. *Ecology*, 84,2042-2050.