

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan salah satu komoditas andalan pada sub sektor perkebunan di Indonesia. Kelapa sawit berperan penting dalam mengendalikan sistem ekonomi Indonesia yaitu sebagai penyumbang devisa terbesar dari ekspor minyak kelapa sawit setiap periodenya. Indonesia sebagai produsen dan eksportir terbesar minyak sawit dunia memiliki luas areal tanam yang menyentuh angka 16,83 juta hektar, terbagi atas PR (Perkebunan Rakyat) 6.900.589 hektar, PBN (Perkebunan Besar Negara) 600.131 hektar dan PBS (Perkebunan Besar Swasta) 9.160.430 hektar serta terdapat sekitar 172.853 hektar lahan berstatus LAD (Luas Akan Dikonfirmasi). Total capaian produksi kelapa sawit dalam bentuk CPO (*Crude Palm Oil*) sebesar 48,12 juta ton (Ditjenbun, 2025).

Produktivitas tanaman kelapa sawit dalam bentuk CPO pada perkebunan rakyat tercatat sebesar 3.178 kg/ha ditahun 2025 (Ditjenbun, 2025). Provinsi Riau masih menjadi sentra utama produksi kelapa sawit nasional, luas lahan mencapai 3.494.583 hektar dengan capaian produksi yang sangat signifikan yaitu 9,22 juta ton CPO (BPS, 2025). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan luas areal tanam menyebabkan terjadinya kenaikan produksi TBS (Tandan Buah Segar) yang diolah menghasilkan limbah padat berupa tandan kosong kelapa sawit dalam jumlah besar (Fachira et al., 2025).

Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan salah satu limbah perkebunan kelapa sawit dengan berat mencapai 20-30% dari berat buah pada TBS yang dipanen (Dewanti, 2018). Satu ton kelapa sawit yang diolah dari TBS akan menghasilkan limbah berupa TKKS 23% atau sekitar 230 kg (Firminda et al., 2024). Pengolahan TKKS didorong oleh tingginya volume limbah yang dihasilkan pabrik dan potensi pemanfaatannya sebagai sumber bahan organik bagi tanah. Tumpukan TKKS yang diletakkan disekitar piringan sebagai mulsa dan dibiarkan menumpuk berpotensi menjadi sarang munculnya penyakit menular seperti *Genoderma* dan habitat kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) hama utama tanaman kelapa sawit. Pengolahan TKKS yang paling ramah lingkungan bagi petani yaitu melalui pengomposan. TKKS mempunyai potensi besar sebagai bahan pembenah tanah dan sumber hara bagi tanaman (Moruk et al., 2023).

TKKS memiliki karakteristik kandungan lignoselulosa yang tinggi seperti selulosa (44,21%), hemiselulosa (16,68%), lignin (35,51%), dan kadar abu (0,26%) (Windiastruti et al., 2022). Hal ini menyebabkan dekomposisi alami TKKS menunjukkan periode degradasi yang sangat lama. Konsentrasi makronutrien TKKS yaitu nitrogen (0,91%), fosfor (2,13%), dan kalium (6,68%) menjadikan TKKS sangat ideal untuk dijadikan bahan pengomposan sekaligus mengatasi masalah pengelolaan limbah agroindustri (Hastuti dan Rohmiyati, 2020). Kandungan unsur hara N, P, K dan Mg menjadikan TKKS sumber bahan pengomposan yang baik karena profil nutrisinya, kapasitas menahan sejumlah air, dan memperbaiki sifat biologis tanah. Pengomposan dengan memanfaatkan mikroba cocok untuk membuat nutrisi yang tidak dapat diakses dalam TKKS menjadi tersedia. Penggunaan bahan organik seperti kompos TKKS dipembibitan awal kelapa sawit

diketahui dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan benih pada fase vegetative serta memperbaiki struktur tanah pada pembibitan awal kelapa sawit atau yang dikenal dengan fase *pre nursery* (Yuliyanto et al., 2022).

Persepsi petani terhadap penggunaan dan teknik pembibitan kelapa sawit yang tepat menjadi faktor penting. Hal ini disebabkan karena tahap penanaman kecambah benih terlebih dahulu dilakukan pada polybag yang berukuran kecil dan berlangsung hingga tanaman berumur 3-4 bulan sebelum dipindahkan ke main nursery (polybag besar). Tujuannya agar tanaman tidak stress terhadap kondisi lingkungan pembibitan sehingga perlu dilakukan dua tahap (Sari, 2018). Pemeliharaan dan penambahan unsur hara melalui pemupukan dilakukan pada fase vegetatif bibit kelapa sawit dengan tetap memperhatikan kondisi pembibitan.

Media tanam yang menggunakan top soil yang dikombinasikan dengan bahan organik seperti kompos memungkinkan akar tanaman untuk tumbuh dan berkembang dengan baik. Penilaian terhadap tanah yang kaya secara biologis yaitu dengan mengetahui keragaman mikroorganisme yang terkandung didalamnya salah satunya keberadaan bakteri *Actinomyces* yang beraktivitas dalam menghancurkan bahan organik atau melakukan *re-cycling* hara tanaman, fiksasi biologis nitrogen, pelarut fosfat, *biocontrol* patogen dan penyerapan hara (Nasaruddin, 2012). Biaya tinggi dari pupuk kimia menyebabkan perlunya alternatif pengganti dari pupuk sintetis yang lebih ramah lingkungan dan berprinsip berkelanjutan yaitu pupuk organik. Pemanfaatan komponen organik dari areal perkebunan kelapa sawit seperti TKKS menjadi solusi untuk mengurangi limbah padat maupun cair.

Aplikasi kompos memiliki nilai ekologi dan ekonomi yang tinggi sebab mampu meningkatkan populasi mikroba, laju mineralisasi karbon dan nitrogen pada tanah serta biaya yang ekonomis. Perspektif agronomi mengenai penggunaan pupuk didasarkan pada penyediaan unsur hara esensial yang mendukung tahap kritis perkembangan tanaman. Makronutrien nitrogen (N), kalium (K_2O), dan fosfor (P_2O_5) memberikan pengaruh utama pada proses perkembangan bibit (Al-Nawaiseh et al., 2021). TKKS tidak hanya menyokong ketersediaan unsur dasar, tetapi juga dapat dioptimalkan melalui kombinasi dengan penambahan inokulan mikroba seperti *Actinomyces* yang mampu memperkaya area rhizosfer akar dalam polybag penyemaian selama tahap *pre-nursery*.

Penambahan kompos TKKS mampu menciptakan stabilitas populasi mikroba dalam tanah yang mencerminkan perkembangbiakan bakteri yang cepat (Yusuf et al., 2025). Sebuah penelitian tentang korelasi aplikasi bahan organik TKKS, total mikroba dan respirasi tanah menunjukkan aktivitas mikroba pada lahan aplikasi TKKS lebih tinggi dibanding pada lahan tanpa aplikasi TKKS. Mikroba akan berperan aktif dalam proses humifikasi dan mineralisasi bahan organik hingga menjadi unsur hara yang tersedia dan mampu diserap tanaman (Sakiah et al., 2018).

Actinomyces berkontribusi dalam proses dekomposisi bahan organik sehingga mampu melarutkan unsur hara penting seperti nitrogen, fosfor, dan kalium yang dapat diserap tanaman, mampu melakukan fiksasi nitrogen atmosfer yang penting untuk meningkatkan kandungan nitrogen tanah secara alami. Menurut Suryanti et al. (2019), penerapan mikroba pelarut fosfat dan fiksator nitrogen berhasil meningkatkan produktivitas tanaman serta memperbaiki sifat kimia tanah secara signifikan. *Actinomyces* mampu berasosiasi dan hidup endofit dengan akar tanaman serta

beraktivitas di tanah sekitar perakaran. Mikroorganisme ini memainkan peran dalam penguraian bahan organik serta pembentukan senyawa bioaktif (Kibu et al., 2025). *Actinomyces* mampu menghasilkan senyawa antibakteri seperti aminoglikosida dan tetrasiklin yang menekan populasi patogen tanah (Kurniati et al., 2019).

Actinomyces memiliki karakteristik biologis yang unik dan berpotensi untuk aplikasi bioteknologi. *Actinomyces* sebagai pengurai hidup bebas di tanah (*free-living soil bacteria*) dan tidak membentuk hubungan simbiosis obligat seperti rhizobium. Penelitian yang dilakukan Dhahbi et al., (2025) menunjukkan salah satu inokulan *Actinomyces* yang diisolasi di Tunisia memiliki keragaman geografis seperti ekosistem tanah kering, lahan basah, dan kondisi lingkungan ekstrim seperti *offshore oil platforms* (anjung minyak di lepas pantai). Namun sumber yang paling baik untuk isolasi *Actinomyces* adalah tanah rizosfer yang berdekatan dengan akar tanaman hidup.

Actinomyces termasuk dalam kelompok bakteri gram positif yang alah satu kemampuan unggulannya adalah menghasilkan Indole-3-Acetic Acid (IAA), yaitu auksin utama yang berperan sebagai zat pengatur tumbuh (ZPT) pada tanaman. Hormon IAA merupakan auksin endogen yang berperan dalam pembesaran sel, pembentukan jaringan xilem dan floem, serta berpengaruh terhadap perkembangan dan pemanjangan akar tanaman. Selain itu, IAA juga memperbaiki pertumbuhan kecambah, diferensiasi sel, serta mendorong pemanjangan dan perkembangan akar lateral pada tanaman.

Actinomyces dari rizosfer juga menghasilkan siderofor, enzim litik, dan selulase, serta dikaitkan dengan peningkatan jumlah nodul dan pertumbuhan tanaman legum. Kemampuan *Actinomyces* sebagai agen antibakteri dan pendegradasi bahan organik juga menjadikannya mikroorganisme multifungsi. Isolat *Actinomyces* terbukti menunjukkan aktivitas antagonisme terhadap patogen sekaligus memproduksi IAA, sehingga berpotensi besar sebagai bio-inokulan dalam budidaya tanaman. Pemanfaatan *Actinomyces* sebagai inokulan pada tanaman kedelai sangat relevan untuk meningkatkan fiksasi nitrogen, pertumbuhan, dan hasil produksi secara berkelanjutan (Khamna et al., 2009; Sahur et al., 2018).

Berdasarkan uraian penjelasan dan permasalahan diatas, maka dilakukan penelitian terkait efek pemberian kompos tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dan *Actinomyces* pada pertumbuhan bibit kelapa sawit *pre nursery*.

1.2. Landasan Teori

1.2.1 Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq)

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan salah satu komoditas tanaman perkebunan penghasil minyak sawit mentah berupa CPO (*Crude Palm Oil*) dan minyak inti sawit berupa PKO (*Palm Kernel Oil*) yang sangat bergantung pada kualitas benih yang diperbanyak dan ditanam baik oleh perusahaan swasta, negeri maupun di perkebunan milik rakyat (Sastrosayono, 2003). Bibit kelapa sawit dipengaruhi oleh tahapan pembibitan melalui perlakuan yang diberikan pada kecambah. Fase pertumbuhan bibit kelapa sawit sering kali mengalami kegagalan difase *pre nursery* yang kemungkinan besar disebabkan oleh perlakuan yang kurang tepat seperti pemupukan untuk memenuhi kebutuhan fase vegetatif yaitu pertumbuhan radikula (akar muda) dan plumula (tunas).

Benih kelapa sawit memiliki struktur cangkang yang tebal sehingga terkadang menjadi masalah yaitu ketidakseragaman pertumbuhan dalam perkecambahan. Benih kelapa sawit tidak tumbuh secara serempak melainkan bergantung pada kondisi ruang perkecambahan. Sehingga pertumbuhan difase pembibitan perlu diperhatikan dari segi pemilihan kecambah hingga penanaman yang benar. Kecambah kelapa sawit awalnya ditanam di dalam polybag kecil di area pembibitan *pre nursery* hingga mencapai usia tiga bulan. Ketika tanaman dipindahkan ke pembibitan utama, tahap *pre nursery* berfokus pada menghasilkan tanaman dengan pertumbuhan yang seragam (Nurhadi et al., 2023).

Varietas D x P Simalungun merupakan salah satu varietas yang dikeluarkan oleh produsen resmi Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS). Varietas Simalungun merupakan hasil persilangan antara tetua Dura Deli dengan tetua Pisifera keturunan SP 540 T. Menurut PPKS Medan (2017), rerata potensi TBS yang dihasilkan varietas ini yaitu sebesar 28,4 ton/ha/tahun. Dibandingkan dengan varietas lain, benih varietas ini memiliki keunggulan *quick starter* dengan persentase mesocarp dan produksi tinggi. Menurut penelitian Ginting et al. (2018) menunjukkan bahwa bibit kelapa sawit membutuhkan hara yang cukup dan ketersediaan hara dari pupuk agar kecambah berkembang baik di fase vegetative. Unsur Nitrogen yang berperan besar difase ini diperlukan dalam bentuk tersedia. Kekurangan unsur N difase ini akan berpotensi menyebabkan pertumbuhan terhambat dan tanaman menjadi kerdil.

1.2.2 Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Tandan kosong kelapa sawit merupakan bagian tanaman kelapa sawit yang digolongkan sebagai limbah berbentuk padat berserat yang tersisa setelah buah dirontokkan atau terpisah dari tandan buah segar. Menurut Rahman et al. (2020), aplikasi kompos TKKS tidak hanya meningkatkan pertumbuhan bibit, tetapi juga mengurangi kebutuhan akan pupuk kimia yang berisiko mencemari tanah dan air. Penggunaan kompos TKKS dalam pertumbuhan bibit kelapa sawit *pre nursery* tidak hanya memberikan manfaat agronomis, tetapi juga mendukung praktik pertanian yang lebih ramah lingkungan. Kompos TKKS mampu memperbaiki sifat biologis tanah sebagai tempat mikroorganisme tumbuh dan menyediakan nutrisi yang esensial bagi tanaman. TKKS dapat diolah menjadi pupuk kompos karena mengandung unsur hara seperti N 1,5%, P 0,3%, K 2%, Ca 0,72%, Mg 0,4% (PPKS, 2008).

Kompos TKKS adalah amelioran, yaitu bahan yang digunakan untuk memperbaiki tanah dengan tujuan mendukung pertumbuhan tanaman. TKKS mengandung unsur hara seperti nitrogen, fosfor, dan kalium yang dapat meningkatkan kesuburan tanah dan mendukung pertumbuhan bibit di masa vegetatif. Selain unsur makro, kompos TKKS juga mengandung unsur mikro esensial seperti Fe, Mn, Zn, Cu, dan B, yang berperan dalam metabolisme tanaman. Unsur boron (B) sangat penting bagi tanaman kelapa sawit karena terlibat dalam pembelahan sel, pertumbuhan meristem, dan perkembangan jaringan vascular (Saputra, 2019). Penelitian oleh Sari et al. (2019) menunjukkan bahwa aplikasi kompos TKKS dapat meningkatkan pertumbuhan tinggi dan biomassa bibit kelapa sawit, serta memperbaiki struktur tanah. Media tanam yang sehat difase *pre nursery* mempersiapkan bibit kelapa sawit lebih siap dan berkualitas untuk fase penanaman di lapangan (Fadhillah et al., 2023).

Penggunaan kompos TKKS pada pembibitan awal kelapa sawit menunjukkan bahwa kompos TKKS mampu meningkatkan pertumbuhan bibit secara signifikan, terutama pada parameter tinggi tanaman, jumlah daun, dan bobot kering tanaman. Aplikasi 100 g kompos TKKS per polybag menghasilkan pertumbuhan terbaik pada bibit, terutama pada parameter tinggi tanaman, diameter batang, bobot kering, dan panjang akar, yang erat kaitannya dengan kandungan hara dan bahan organik kompos TKKS (Ramanda, 2024).

1.2.3 *Actinomycetes*

Actinomycetes adalah sekelompok bakteri berfilamen yang berkarakteristik biologis unik dan berpotensi untuk aplikasi bioteknologi. Bakteri ini dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder bioaktif, hormon tanaman seperti auksin (IAA) yang memengaruhi pembentukan akar lateral dan peningkatan jumlah akar sehingga lebih efisien dalam menyerap air dan unsur hara. Mekanisme dalam serapan hara terjadi melalui hifa eksternal yang terdistribusi di dalam tanah yang dapat menyalurkan air, mineral, hingga unsur hara untuk membantu aktivitas metabolisme tanaman inangnya. Kemampuan mikroba ini menjadikannya sebagai sumber potensial dalam dunia pertanian (Dewi et al., 2024)

Actinomycetes mampu merangsang pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan hormon tumbuh bahkan diperakakan tanaman non legum. *Actinomycetes* berasosiasi dengan mekanisme yang disebut aktinorizas atau menginfeksi sel akar tanaman inang dan hidup didalam korteks bintil akar. *Actinomycetes* gram-positif mendukung pertumbuhan tanaman secara langsung melalui beberapa mekanisme termasuk fiksasi N, pelarutan P, produksi asam asetat, amonia, dan beberapa enzim degradasi dinding sel serta menjadi indikator kesehatan status tanah (Das et al., 2021). Hasil penelitian yang dilakukan Haring et al (2023) menunjukkan pengaruh pemberian *Actinomycetes* 10^6 CFU/ml dikombinasikan dengan mikoriza yang dapat mempengaruhi bobot basah pada cabai, hal ini terjadi karena *Actinomycetes* secara tunggal mampu bersimbiosis dan berikatan dalam tanah. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Sahur et al., (2022) juga menunjukkan pengaruh nyata aplikasi *Actinomycetes* 10^6 CFU/ml berinteraksi positif dengan aplikasi NPK dan Mikoriza terhadap penambahan jumlah daun, hal ini disebabkan oleh peran mikroba penambat nitrogen yang memberikan ketersediaan unsur N untuk tanaman kapas dalam pembentukan protoplasma dalam jumlah yang lebih banyak sehingga memberi pengaruh terbaik terhadap jumlah klorofil a, b dan total pada daun.

Actinomycetes mampu menciptakan lingkungan yang membantu tanaman dalam memperoleh air dan nutrisi dalam keadaan tercekam melalui beberapa mekanisme seperti produksi ACC-deaminase, EPS, hingga fitohormon. Kekurangan dari penggunaan agen hayati yang menyebabkan kurang optimalnya aplikasi isolat *Actinomycetes* adalah rendahnya kemampuan isolat bersaing dan beradaptasi dengan mikroba lain yang berada di dalam tanah (indigenous). *Actinomycetes* merupakan isolat yang kurang efektif dan efisien terhadap tanaman tertentu sehingga dampaknya terhadap tanaman akan terlihat nyata jika inokulan mampu beradaptasi dan mampu bersaing dengan mikroba asli tanah, efektif dan efisien terhadap tanaman, serta mempunyai keserasian dengan tanaman inangnya (Dewi et al., 2024).

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari pertumbuhan bibit kelapa sawit *pre nursery* dengan aplikasi kompos tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dan *Actinomyces*.

Manfaat penelitian ini sebagai berikut:

1. Sebagai bahan pembelajaran guna mengetahui korelasi pemberian kompos TKKS dan *Actinomyces* terhadap pertumbuhan kelapa sawit.
2. Penelitian ini dapat dijadikan informasi dan bahan rujukan bagi peneliti dan akademisi secara umum dan terkhusus yang bergerak dalam bidang pertanian, mengenai pertumbuhan bibit kelapa sawit *pre nursery* dengan *Actinomyces*
3. Penelitian ini dapat dijadikan bahan informasi kepada masyarakat, terkhusus petani kelapa sawit terkait pemanfaatan TKKS dan *Actinomyces* dalam meningkatkan kualitas bibit kelapa sawit.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang telah dikemukakan, maka disusun hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat interaksi antara kompos TKKS dan *Actinomyces* yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan bibit kelapa sawit.
2. Terdapat satu jumlah koloni *Actinomyces* yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan bibit kelapa sawit.
3. Terdapat satu dosis kompos TKKS yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan bibit kelapa sawit.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi Tanaman dan *Experimental Farm*, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar. Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan dimulai dari Juli 2025 hingga Januari 2026.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah benih varietas DxP Simalungun, fungisida, *polybag* ukuran 15 cm x 23 cm, kompos tandan kosong kelapa sawit (TKKS), tanah, *Actinomyces* yang diambil dari area rhizosfer pohon kelapa sawit, media TWYE (*Tap Water Yeast Extract*), media NB (*Nutrient Broth*), aquades, alkohol 70%, KOH, dan EM4.

Alat yang digunakan adalah kamera, mortar, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet tetes, jarum ose, spatula, vortex, pembakar bunsen, *Laminar Air Flow Cabinet*, gelas ukur, rak tabung, alat semprot, jangka sorong, ember, paranet, timbangan analitik, cangkul, *cooling box*, gunting, meteran, papan perlakuan, dan alat tulis menulis.

2.3. Metode Penelitian

Penelitian disusun dalam Rancangan Petak Terpisah (RPT) dimana perlakuan kompos TKKS sebagai Petak Utama (PU) dan perlakuan *Actinomyces* sebagai Anak Petak (AP) yang disusun dengan rancangan acak kelompok (RAK) sebagai rancangan lingkungannya.

Faktor pertama adalah pemberian kompos TKKS pada media tanah yang terdiri dari 3 taraf, yaitu:

- k0 = tanpa kompos TKKS (kontrol)
 - k1 = 25% kompos TKKS dari media tanam/polybag
 - k2 = 50% kompos TKKS dari media tanam/polybag
- Faktor kedua adalah aplikasi terdiri 3 taraf, yaitu:

- a0 = 0 CFU/mL
- a1 = 10^6 CFU/mL
- a2 = 10^8 CFU/mL

Berikut kombinasi perlakuan dari kedua faktor tersebut:

k0a0	k1a0	k2a0
k0a1	k1a1	k2a1
k0a2	k1a2	k2a2

Pada percobaan diatas terdapat 9 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali, setiap unit percobaan terdiri dari 3 tanaman sehingga terdapat 81 tanaman yang digunakan.

2.4. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dilaksanakan dalam beberapa tahap meliputi pelaksanaan di laboratorium, pelaksanaan di lapangan, pengaplikasian perlakuan, pemeliharaan dan pengamatan parameter.

2.4.1 Pelaksanaan Penelitian di Laboratorium

2.4.1.1 Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari perakaran pohon kelapa sawit dengan kedalaman sekitar 20 cm. Sampel tanah dibawa ke Laboratorium untuk keperluan isolasi.

2.4.1.2 Pembuatan Media *Tap Water Yeast Extract* (TWYE)

1. Menyiapkan alat dan bahan untuk membuat media *Tap Water Yeast Extract* (TWYE).
2. Menimbang 0,25 gr *yeast extract*, 0,50 gr K_2HPO_4 , dan 18 gr agar-agar.
3. Memasukkan bahan yang telah ditimbang kedalam Erlenmeyer, tambahkan aquades sebanyak 1 L lalu aduk hingga seluruh bahan larut.
4. Memanaskan media TWYE dengan menggunakan *hot plate* hingga bahan yang berbentuk butiran larut.
5. Menghomogenkan media diatas *hot plate* lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi didinginkan hingga suhu mencapai $\pm 45^{\circ}C - 50^{\circ}C$.
6. Menuangkan media TWYE kedalam cawan petri steril yang dilakukan didalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan memastikan bahwa seluruh permukaan cawan petri terisi dengan media agar. Diamkan media TWYE hingga memadat dan rekatkan menggunakan *plastic wrap*.

2.4.1.3 Perbanyakan Bakteri *Actinomycetes*

1. Isolasi dan Pemurnian

Sampel tanah perakaran kelapa sawit dibawa ke Laboratorium untuk dilakukan isolasi. Mengambil 1 gr tanah yang telah digerus lalu dilarutkan kedalam 9 ml aquades. Setelah itu gunakan mikro pipet untuk mengambil 1 ml suspensi lalu masukkan kedalam tabung reaksi pada tingkat pengenceran 10^{-1} , kemudian di homogenkan. Selanjutnya mengambil lagi 1 mL suspensi dari pengenceran 10^{-1} ke tabung reaksi pada tingkat pengenceran 10^{-2} , proses ini dilakukan hingga tingkat pengenceran 10^{-7} . Tingkat pengenceran yang diambil yaitu 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} . Selanjutnya sampel ditumbuhkan pada media TWYE yang telah steril, lalu diinkubasi selama 24 jam. Hasil inkubasi diamati untuk melihat adanya koloni yang tumbuh, kemudian digores kembali ke media yang sama sampai mendapatkan koloni tunggal. Semua isolat yang sudah murni dikoleksi dan dipelihara di dalam media untuk keperluan identifikasi dan pengujian selanjutnya.

2. Identifikasi Isolat *Actinomycetes*

Identifikasi *Actinomycetes* dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Sahur (2021), yaitu metode karakterisasi morfologi dengan cara mengambil koloni bakteri dari biakan murni menggunakan jarum ose dan mangoleskan pada gelas objek

yang telah diberi dua tetes larutan KOH 3% dan mengaduknya selama kurang lebih 5-10 detik. Koloni yang berlendir memperlihatkan reaksi positif (gram negatif), sedangkan koloni yang tidak berlendir atau terlepas adalah reaksi negatif (gram positif).

a. Uji Reaksi Gram

Uji reaksi gram merupakan tahap untuk mengidentifikasi morfologi bakteri dengan cara mengambil biakan murni lalu digoreskan dengan jarum ose dan dioleskan pada gelas objek yang telah ditetesi larutan KOH 3% dan diaduk. Koloni yang nampak berlendir memperlihatkan reaksi positif dikategorikan sebagai mikroba gram negatif, sedangkan yang tidak berlendir memperlihatkan reaksi negatif dikategorikan sebagai mikroba gram positif. Menurut Sahur et al., (2020), *Actinomycetes* adalah bakteri gram positif berfilamen. Bakteri bergram positif tersebut memiliki kandungan guanin-sitosin (G+C) yang tinggi dalam genom dan ukuran genom berkisar antara 1,5-2,0 kali lebih besar dari bakteri *E. coli*.

b. Karakterisasi Morfologi *Actinomycetes*

Pengamatan secara makroskopis Isolat *Actinomycetes* yang telah murni diamati morfologi koloninya secara makroskopis meliputi bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, warna miselium substrat, warna miselium aerial dan solubel pigmen (Listiana et al., 2006). Spora biakan murni *Actinomycetes* diambil menggunakan jarum ose kemudian diletakkan di permukaan potongan media dan ke empat sisi potongan media pada gelas benda. Selanjutnya potongan media ditutup dengan gelas penutup. Cawan petri ditutup kemudian diinkubasi selama 5-7 hari (Hamdiyati et al., 2010).

3. Tahap Perbanyakan di Media Cair (*Nutrient Broth*)

Perbanyakan dilakukan dengan memindahkan isolat dari media TWYE menggunakan spatula steril ke dalam media NB 1000 ml, lalu media tersebut diinkubasi selama 3-7 hari.

2.4.2 Pelaksanaan Penelitian di Lapangan

2.4.2.1 Analisis Tanah

Analisis tanah dilakukan sebelum dan sesudah penelitian yang bertujuan untuk mengetahui sifat fisika dan kimia serta status unsur hara di dalam tanah.

2.4.2.2 Pembuatan Naungan

Pembuatan naungan dibuat terlebih dahulu dengan ukuran panjang 3 meter, lebar 1 meter dan tinggi 1 meter, dengan penyangga naungan menggunakan kayu. Naungan dibuat menggunakan jaring paranet 75% kemudian dipasang sebagai tempat penelitian.

2.4.2.3 Persiapan Media Tanam

Persiapan media tanam meliputi pengisian polybag dengan tanah kemudian dicampur dengan kompos TKKS dengan taraf berbeda sesuai perlakuan. Berikut prosedur pembuatan kompos TKKS:

1. Mencincang tandan kosong kelapa sawit (TKKS) sampai halus untuk mempercepat dekomposisi
2. Melarutkan EM4 dengan air dan air gula lalu diaduk dan didiamkan beberapa menit

3. Mencampurkan larutan EM4 dengan TKKS yang telah dihaluskan lalu diaduk hingga merata.
4. Melakukan pengomposan dengan memasukkan bahan kedalam terpal dan ditutup dengan rapat sampai bahan organik tersebut menjadi pupuk organik yang matang dengan ciri berwarna kehitaman, tidak berbau dan suhunya konstan (tidak melebihi 50°C) (Warsito et al., 2016).

2.4.2.4 Penanaman Benih

Penanaman kecambah dilakukan pada lubang yang dibuat dengan jari tepat di tengah polybag, bakal daun (*plumula*) berbentuk lancip berwarna putih kekuningan harus berada diatas dan bakal akar (*radicula*) yang kasar dan tumpul berwarna agak coklat menghadap ke bawah. Setelah itu kecambah ditanam dan ditutup dengan tanah setebal 1-1,5 cm.

2.4.3 Pengaplikasian Perlakuan

2.4.3.1 Pengaplikasian *Actinomycetes*

Pengaplikasian *Actinomycetes* dilakukan 2 kali dalam sebulan, dimulai saat tanaman berumur 4 MST dengan cara menyiram larutan ke tanah dengan jumlah koloni sesuai perlakuan yaitu 10^6 CFU/ml dan 10^8 CFU/ml *Actinomycetes* sebanyak 100 ml (Sahur et al., 2022).

2.4.4 Pemeliharaan

1. Pemeliharaan
Pemeliharaan tanaman dapat dilakukan dengan melakukan penyiraman, pengendalian hama, serta melakukan penyiangan jika terdapat gulma disekitar tanaman. Penyiraman dapat dilakukan sebanyak 2 kali yaitu di pagi dan sore hari.
2. Pembongkaran
Pembongkaran bibit dilakukan setelah bibit berumur 4 bulan dengan cara merobek polybag dan memisahkan tanaman dengan media tanam yang melekat.

2.5. Parameter Pengamatan

1. Tinggi Tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman di ukur dari ruas sampai daun tertinggi, dan diamati sebulan sekali.

2. Jumlah Daun (helai)

Jumlah daun di ukur pada saat bibit berumur 8 MST, diamati sebulan sekali.

3. Luas Daun (cm²)

Pengukuran luas daun dilakukan pada saat tanaman berumur 16 MST, pengukuran luas daun dilakukan dengan menggunakan metode fotografi dengan cara mengambil semua jenis daun pada tiga tanaman sampel yang berada pada setiap

petak. Sampel daun yang diamati berukuran kecil, sedang dan besar. Rumus menghitung luas daun kelapa sawit yaitu:

Luas Daun = Panjang x Lebar x Konstanta Daun Kelapa Sawit 16 MST (0,57) (Harahap, 2021).

4. Diameter Batang (mm)

Pengamatan pertama dilakukan saat bibit berumur 8 MST, kemudian dilanjutkan dengan interval pengamatan 12 MST dan 16 MST. Diameter batang diukur dengan menggunakan jangka sorong sekitar 1 cm dari permukaan tanah dengan cara mengukur dua sisi batang yang berlawanan.

5. Volume Akar (mL)

Pengamatan volume akar dilakukan di akhir pengamatan diakhir penelitian. Pengukuran volume akar diukur dengan cara mencuci akar hingga bersih, kemudian akar di potong lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur dan mengamati selisih volume air saat dimasukkan akar dengan volume air di awal.

6. Panjang Akar (cm)

Panjang akar dihitung dengan cara mengukur panjang akar primer saat tanaman telah dipisahkan dari media tanam yaitu 16 MST.

7. Berat Basah Akar (g)

Pengamatan ini dilakukan di akhir penelitian yaitu setelah melakukan pengukuran volume akar, kemudian menimbang akar tanaman dengan menggunakan timbangan analitik.

8. Berat Kering Akar (g)

Akar kelapa sawit yang telah ditimbang berat akar basahanya, selanjutnya dimasukkan kedalam amplop. Kemudian amplop yang berisi akar di oven dengan suhu 70°C sampai bobotnya konstan, setelah itu akar dikeluarkan dari amplop dan dihitung bobot kering ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.

9. Berat Basah Tajuk (g)

Pengamatan ini dilakukan di akhir penelitian, pengukuran ini dilakukan dengan mengambil tajuk tanaman kelapa sawit kemudian menimbang batang tanaman dengan menggunakan timbangan analitik.

10. Berat Kering Tajuk (g)

Tajuk tanaman kelapa sawit yang telah ditimbang berat batang basahanya, dimasukkan kedalam amplop dan di oven pada suhu 70°C sampai bobotnya konstan. Batang dikeluarkan dari amplop dan dihitung bobot keringnya dengan cara ditimbang menggunakan timbangan analitik.

11. Indeks Klorofil a, b, dan Total

Pengamatan indeks klorofil dilakukan dengan menggunakan alat *Chlophyll Content Meter* (CCM) dengan menekan alat pada daun tanaman. Pengamatan ini dilakukan pada saat akhir penelitian setelah 4 bulan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan rumus: Kandungan klorofil daun = $a+b(CCI)c$, dimana a, b, dan c adalah konstanta dan CCI adalah data indeks klorofil daun yang terbaca pada CCM 200+ dimana:

Rumus dan konstanta kadar klorofil daun

Parameter	Y = a + b (CCI)c		
	A	B	C
Chl a	-421.35	375.02	0.1863
Chl b	38.32	4.03	0.88
Chl _{tot}	-283.20	269.96	0.277

Sumber: Goncalves, 2008.

12. Luas Bukaan Stomata (μm^2)

Pengamatan dilakukan setelah pengambilan sampel stomata pada saat akhir penelitian setelah 4 bulan. Luas bukaan stomata dihitung dengan menggunakan perbesaran 100 kali dengan diameter bidang pandang $0,52 \text{ mm}^2$, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Luas Bukaan Stomata} = \pi \times r_1 \times r_2$$

Sumber: Nasaruddin, 2022.

13. Kerapatan Stomata (stomata/ mm^2)

Pengamatan dilakukan menggunakan metode aplikasi kuteks, kemudian melakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan skala perbesaran 400 kal. Kerapatan stomata dihitung dari bantaknya jumlah stomata dengan diameter bidang pandang $0,52 \text{ mm}^2$ dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kerapatan stomata} = \frac{\text{jumlah stomata}}{\text{luas bidang pandang}}$$

Untuk mencari luas bidang pandang menggunakan rumus:

$$\text{Luas bidang pandang} = \frac{1}{4} \pi d^2$$

$$\text{Luas bidang pandang} = 0,19625 \text{ mm}^2$$

2.6. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara analisis sidik ragam ANOVA. Apabila terdapat parameter yang berpengaruh nyata/sangat nyata maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan 95% (α 0,05) untuk mengetahui beda antara perlakuan.