

**DER WIRKSAMKEITSTEST DER BLUME *Trichoderma*
harzianum BEI DER KONTROLLE VON *Ganoderma boninense*
AUF MEDIEN VON PDA IN KOKOSNUSSCHALEN
BIOKOHLE-FILTRATMISCHUNG PALM (*Elaeis guineensis*
Jacq.) IN VITRO**

ABSCHLUSSARBEIT

VON:

ANDYKA EKA SYAHPUTRA

178210128



**AGROTEKNOLOGIE STUDIENPROGRAMM
LANDWIRTSCHAFT FAKULTÄT
MEDAN AREA UNIVERSITÄT
MEDAN
2021**

MEDAN AREA UNIVERSITÄT

© Urheberrechtlich geschützt

Dokument akzeptiert 1/10/22

1. Zitieren Sie dieses Dokument nicht ganz oder teilweise ohne Quellenangabe

2. Zitate dienen nur Bildungs-, Forschungs- und wissenschaftlichen Schreibzwecken

3. Es ist verboten, diese Arbeit ganz oder teilweise ohne Genehmigung der Universität von Medan Area in irgendeiner Form zu reproduzieren

Zugang von (repository.uma.ac.id)1/10/22

ABSTRAKT

Ganoderma boninense war die Hauptursache für den Rückgang der nationalen Ölpalmenproduktivität im Jahr 2016 um 3,5 % gegenüber dem Vorjahr von 3,62 Tonnen/ha auf 3,5 Tonnen/ha. In Ölpalmenplantagen in Tanjung Slamet, Labuhan Batu, Nord-Sumatra, wurde eine Inzidenz von 35 % - 65 % der Stammfäule festgestellt. Die Bekämpfung von *G. boninense* mit dem biologischen Kampfstoff *Trichoderma harzianum* unter Zusatz von Ölpalmenschalen-Pflanzkohlefiltrat ist nicht weit verbreitet. Diese Studie zielte darauf ab, die Anwendung von Palmkernschalen-Biokohlefiltrat auf PDA-Medien zur Stimulierung des Wachstums von *T. harzianum* und seine Wirksamkeit bei der Hemmung von *G. boninense* *in vitro* zu bestimmen. Die Forschungsmethode bestand aus 5 Stufen und 4 Wiederholungen, nämlich BK0 (Kontrolle), BK1 (25 % Filtrat + PDA), BK2 (50 % Filtrat + PDA), BK3 (75 % Filtrat + PDA) und BK4 (100 % Filtrat + PDA). Die Ergebnisse zeigten, dass die Verabreichung von Pflanzkohle-Filtrat keinen signifikanten Einfluss auf die Geschwindigkeit der Durchmesserzunahme von *T. harzianum* hatte und den Antagonistentest zwischen *T. harzianum* und *G. boninense* signifikant beeinflusste. BK3 war die beste Behandlung bei der Hemmung des Wachstums von *G. boninense*, das 56,62 % betrug.

Kata kunci: *Ganoderma boninense*, *Trichoderma harzianum*, Filtrat, Pflanzkohle

KAPITEL I. EINLEITUNG

I.1 Der Hintergrund

Indonesien ist mit einer Produktion von 43,5 Millionen Tonnen der weltweit größte Palmölproduzent und übertrifft Malaysia mit einer Produktion von 19,3 Millionen Tonnen (USDA 2020). Auf die beiden Länder entfallen etwa 85 bis 90 Prozent des weltweiten Palmöls. Der Exportwert von indonesischem Palmöl in Form von *CPO (Crude Palm Oil)* und seinen Derivaten konnte 2018 mit einem Volumen von 27,9 Millionen Tonnen einen Umsatz von 16,5 Mrd. USD generieren (Ditjenbun, 2019). Gleichzeitig ist Palmöl die größte Devisenquelle des Landes und schlägt den Öl- und Gassektor. Abgesehen davon, dass sie eine Devisenquelle ist, ist Ölpalme eine der Plantagenrohstoffe, die eine wichtige Rolle als Einkommensquelle, Arbeitsplatzverfügbarkeit und ökologische Nachhaltigkeit spielt (Rahman et al., 2011). Daher wird in Zukunft die Steigerung der Palmölproduktion im Vordergrund stehen.

Häufig auftretende Probleme im Ölpalmenanbau haben im Allgemeinen zwei Ursachen, nämlich immer kritischer werdende Plantagenflächen und zunehmenden Befall mit *Ganoderma boninense* (Lisnawita et al., 2016). Beides sind die Hauptgründe für den Rückgang der Palmölproduktivität in mehreren asiatischen Regionen. Dies wird durch den Rückgang der Palmölproduktivität im Jahr 2016 um 3,5 Tonnen/ha im Vergleich zu 2015 mit 3,62 Tonnen/ha belegt (Ditjenbun, 2019). Darüber hinaus erreichte die Inzidenz der durch *G. boninense* verursachten Krankheiten in Labuhan Batu, Nord-Sumatra, mehr als 35 %, wobei die höchste Inzidenz der Krankheit mit 63 % auf der Tanjung Slamet-Plantage lag (Afandi et al., 2017).

G. boninense oder *Basal Stem Rot Disease* ist besser bekannt als Stammfäulepilz (BPB) in Ölpalmenplantagen. Neben der Erwachsenenphase befällt diese Krankheit Ölpalmenpflanzen in der Sämlings- und Setzlingsphase. Die Symptome sind in den ersten 3 Monaten visuell zu sehen, was durch Symptome von Blattspreitenekrose und -trocknung gekennzeichnet ist, gefolgt vom Absterben der Sämlinge (Susanto *et al.*, 2013). Denn *G. boninense* kann im Boden und in Pflanzenteilen, insbesondere Gefäßgewebe, vorkommen. Es hemmt die photosynthetische Translokation von Wurzeln zu anderen Teilen der Pflanze. Eine gehemmte Translokation führt dazu, dass Pflanzen nicht in der Lage sind, für Wachstum und Entwicklung zu metabolisieren (Lakitan, 2014).

Auf dieser Grundlage besteht eine Möglichkeit zur Bekämpfung der *G. boninense*-Krankheit darin, biologische Mittel wie *Trichoderma harzianum* einzusetzen. Alvinodinasyari *et al.* (2015) zeigten, dass die Verabreichung von *Trichoderma* SBJ8 >50 % das Wachstum von *G. boninense* wirksam hemmte, nämlich 56,25 % und 65,25 % an den Tagen 3 und 4. Darüber hinaus haben Ibrahim *et al.* (2013) fanden heraus, dass *T. harzianum* und *T. pseudokoningii* *G. boninense* zu 58,84 % bzw. 52,57 % hemmen konnten. Prasetyoet *al.* (2008) berichteten, dass das Anlegen großer Pflanzlöcher mit *Trichoderma sp.* Tangko kann die Lebensdauer von Ölpalmen auf bis zu 9 Jahre verlängern. Es ist jedoch notwendig, die Wirksamkeit von *T. harzianum* bei der Hemmung des Wachstums von *G. boninense* auf dem Feld zu erhöhen, wozu unter anderem die Verwendung von Pflanzenkohle aus Ölpalmenschalen gehört.

Ölpalmenschalen-Biokohle ist ein poröser Bodenverbesserer, der Komponenten wie Zellulose, Hemizellulose und Lignin enthält. Diese Verbindung ist die Komponente mit dem höchsten Kohlenstoffgehalt und kann daher eine Substratquelle für *T. harzianum* sein. Mehr als 50 % Inhaltsstoffe von *T. harzianum* sind Kohlenstoff. Darüber hinaus ist Ölpalmenschale ein lokaler Abfall, der in der Natur reichlich vorhanden ist. Pro 1 ha Ölpalme produziert das Unternehmen die restlichen 2-5 Tonnen Palmschalen pro Jahr (Yulianti et al., 2010). Das Vorkommen von Abfällen mit wirtschaftlichem Wert kann durch die Herstellung von Pflanzenkohle oder Aktivkohle als Kohlenstoffquelle genutzt werden, die das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* anregen soll, so dass sich seine Wirksamkeit auf den Krankheitserreger *G. boninense* auswirkt.

Daher ist es notwendig, einen In-vitro-Test zum „der Wirksamkeitstest des Pilzes *T. harzianum* bei der Bekämpfung von *G. boninense* auf PDA-Medien gemischtes Öl-Palmenschalen-Biokohle-Filtrat (*Elaeis guineensis* Jacq.) in vitro“ durchzuführen.

1.2 Die Problemidentifizierung

Die Zugabe von Ölpalmenschalen-Biokohlefiltrat zu PDA-Medien kann das Wachstum von *T. harzianum* in seiner Wirksamkeit bei der Hemmung des Wachstums von *G. boninense* in vitro steigern.

1.3 Das Untersuchungsziel

Das Ziel dieser Untersuchung ist, um die Ergebnisse der Verabreichung von Palmrinden-Pflanzenkohlefiltrat als Formulierung zur Unterstützung des Wachstums von *T. harzianum* und seine Wirksamkeit bei der Hemmung des Pilzpathogens *G. boninense* in vitro zu bestimmen.

1.4 Hypothese

Die Anwendung von Ölpalmenschalen-Pflanzenkohlefiltrat erhöhte signifikant die Wachstumsrate von *T. harzianum* und spielte eine Rolle bei der Hemmung des Wachstums des pathogenen Pilzes *G. boninense in vitro*.

1.5 Der Untersuchungsnutzen

1. Als eine der Voraussetzungen zur Erlangung eines Bachelor-Abschlusses in Landwirtschaft im Fach Agrotechnologie, Landwirtschaftliche Fakultät, Universität Medan
2. Als die Information für Forscher und Studenten, insbesondere zur Bekämpfung von *G. boninense* mit dem biologischen Kampfstoff *T. harzianum* unter Zusatz von Ölpalmenschalen-Pflanzenkohlefiltrat als Substrat.
3. Als die Grundlage für weitere Forschungen zur Untersuchung der Wirkung von Pflanzenkohle aus Ölpalmenschalen und *T. harzianum* bei der Bekämpfung der durch *G. boninense* verursachten Stammfäulekrankheit im Feld (*in vivo*).

KAPITEL II. LITERATURISCHE REZENSION

2.1 *Trichoderma* sp.

Trichoderma sp. ist einer der biologischen Wirkstoffe, weil er antagonistische Eigenschaften gegen ähnliche Krankheitserreger (Pilz) hat. *Trichoderma* sp. ist leicht auf der ganzen Welt zu finden. *Trichoderma* sp. gehört zum Reich der Pilze, Phylum Ascomycota, Klasse Sordariomycetes, Ordnung Hypocreales, Familie Hypocreaceae, Gattung *Trichoderma* (CABI, 2017).

Trichoderma sp. ist einer der saprophytischen Pilze, die Kohlenstoffquellen als Nahrungssubstrate nutzen. Mehr als 50 % der Trockengewichtskomponente von *Trichoderma* sp. in Form von Kohlenstoff (C). Nach der Meinung von Alviodinasyari et al. (2015) wird diese organische Verbindung als Hauptstruktur bei der Bereitstellung von Energie für Zellen verwendet. Beim Oxidationsprozess sind einige organische Verbindungen, die von Pilzen als Kohlenstoffquelle verwendet werden, Kohlenhydrate (Monosaccharide, Zuckeralkohole, Polysaccharide und Oligosaccharide), organische Säuren und Kohlendioxid. Daher kann dieser Pilz in verschiedenen Arten von Böden und Lebensräumen wachsen, die Kohlenstoffquellen enthalten. Biostoff *Trichoderma* sp. wachsen schneller auf den Wurzeln von Pflanzen, die zur Bekämpfung von bodenbürtigen Krankheitserregern verwendet werden (Gusnawaty et al., 2014).

Mehrere Arten von *Trichoderma* sp. wurden in Indonesien gefunden, zum Beispiel: *Trichoderma hamantum*, *Trichoderma coningii*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma polysporum*, *Trichoderma aureoviride* und *Trichoderma polysporum*. Die unterschiedliche Merkmale und Morphologie hängen von *Trichoderma* sp ab. Im Allgemeinen hat *Trichoderma* sp. morphologische Formen wie Konidiophoren in Form von aufrechten, verzweigten (vertikal angeordneten),

Phialiden (kurz und dick), hellgrünen Konidien, glatten Wänden und ovaler Form sowie grünen und runden Kolonien (Gusnawaty et al., 2014) .

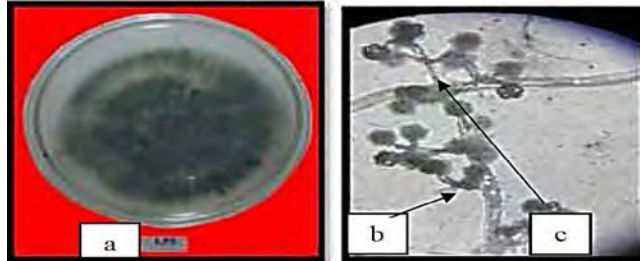


Bild 1. *Trichoderma* sp. auf PDA-Medien (a), Conidiophoren (b) und Phialiden(c) (Quelle: Gusnawaty et al., 2014)

Einige Arten von *Trichoderma* sp. in Indonesien gefunden werden, können wie folgt unterschieden werden:

A. Die Eigenschaften von *T. koningii*

Die makroskopische Morphologie von *T. koningii* hat zu Beginn des Wachstums bis zum 3. Tag eine weiße Farbe. Am 6. Tag wurde es hellgrün, bevor es am 9. Tag schließlich dunkelgrün mit einer runden Kolonieförmigkeit wurde. Inzwischen weist die mikroskopische Morphologie von *T. koningii* aufrechte, verzweigte und vertikal angeordnete Conidiophoren auf. Die Phialiden verzweigen sich zur Spitze hin und die Konidien sind glatt und rau, grün und oval (Gusnawaty et al., 2014).

B. Die Eigenschaften von *T. viride*

Der Pilz *T. viride* bekämpft nicht nur einige samen- oder pflanzenbürtige Krankheiten, sondern auch bodenbürtige Krankheiten. *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp. sind die wichtige Pathogene bei Sämling, Pflanzenwelke und Keimung, das mit *T. viride* bekämpft werden kann. Das makroskopische Erscheinungsbild der *T. viride*-Kolonie war auf PDA-Medien dunkelgrün und von ovaler Form. Mikroskopische Beobachtungen zeigten, dass

die Phialidenstruktur lang und dünn war und jede Phialide mit einer Masse von Konidien bedeckt war (Sakthivel, 2016).

C. Die Eigenschaften von *T. hamantum*

Das makroskopische Erscheinungsbild von *T. hamantum* auf Petri-Medien war auf PDA-Medien grünlich-weiß (Okwusogu et al., 2014). Mikroskopisch sind die Conidiophoren aufrecht und verzweigt, und die Phialidenstruktur ist kurz, dick und dünn. Konidien haben eine grünliche Farbe und eine ovale Form.

Trichoderma sp. nicht nur Zersetzer organischer Verbindungen. wirken als parasitäre Antagonisten gegen andere Pilze. Der Mechanismus des Parasitismus durch den Pilz *Trichoderma sp.* wie Konkurrenz um Nährstoffe und Wachstumsmedien, Antibiose und Parasitismus. Der Mechanismus von Antibiotika in *Trichoderma sp.*, nämlich durch die Freisetzung von Toxinverbindungen wie Gliotoxin und Viridans gegen pathogene Pilze (Berlian et al., 2013).

Die einige Berichte haben Informationen über das Management von Pflanzenpathogenen unter Verwendung von *Trichoderma sp.* als Antagonist. Das *Rubber Research Institute of Nigeria* (RRIN) gab an, dass die Verwendung von *Trichoderma sp.* hat die höchste Wirksamkeit bei der Bekämpfung von *R. microporus* mit 81,85 % im Vergleich zu 2 anderen antagonistischen Pilzen, nämlich *Penicillium* und *Aspergillus* (Omorusi et al., 2011). *T. reesei* hat eine höchste Hemmung betrug, das ist 93,11 % für die Wachstumshemmung von *G. boninense* bei einer Konzentration von 104 Sporen/ml im Vergleich zu *T. koniingi* und *T. harzianum*, nämlich 91,86 % und 91,29 % bei einer Konzentration von 105 Sporen/ml (Widyastuti et al., 2001).

2.2 *Ganoderma boninense*

G. boninense ist ein Bodenpilz aus dem Stamm Basidiomycetes. Dieser Pilz gehört zu den makroskopisch großen Pilzen mit einem großen Teil in Form von Basidiocarps (Fruchtkörpern). Die verschiedene Arten von *G. boninense* ist als Medizin nützlich, aber mehr von dieser Art ist ein Pilzpathogen, insbesondere in Ölpalmenplantagen. Der Pilz *G. boninense* gehört zu den Reichspilzen, Phylum Basidiomycota, Klasse Agaricomycetes, Ordnung Polyporales, Familie Ganodermataceae und Gattung *Ganoderma* (CABI, 2019).

Der Pilz *G. boninense* oder besser bekannt als basale Stammwurzel (*basal stem root*) ist ein pathogener Pilz, der Stammfäule in der Ölpalme (*Elaeis guineensis* Jacq.) verursacht. In Torfgebieten, insbesondere in Labuhan Batu, Nord-Sumatra, hat das Vorkommen von Wurzelfäule mehr als 35 % erreicht, wobei die höchste Krankheitsinzidenz in Tanjung Slamet-Plantagen bei 63 % liegt. Darüber hinaus wird diese Inzidenz durch die Entwicklung von Krankheiten verstärkt, die durch Basidiosporen über die Luft übertragen werden können (Afandi et al., 2017).

Die Morphologie des Fruchtkörpers von *G. boninense* kann einen Durchmesser von 30 cm erreichen, wobei die Farbe des oberen Teils des Fruchtkörpers bräunlich mit gelblich-weißen Linien ist. Im reifen Zustand ist der obere Teil des Fruchtkörpers glänzend und die Unterseite mattweiß, bestehend aus Poren, die ein Basidium in Form einer runden hyalinen Röhre mit einem Durchmesser von 12 µm bilden, Basidiosporen sind bräunlich gefärbt und messen 11 µm. x 7 µm. Unterdessen zeigten in vitro auf PDA-Medien entwickelte Isolate ein gelblich-weißes Myzel wie Samt und neigten dazu, 10-12 Tage lang langsam zu wachsen, um einen Becher mit 9 cm Durchmesser zu füllen (Susanto et al.,

2013).





Bild 2. Morphologie von *G. boninense*-Isolat auf PDA-Medien
(Quelle: Susanto et al., 2013)



Bild 3. Basidiosporen von *G. boninense* auf Ölpalmenstämmen
(Quelle: Ditjenbun, 2019)

Der Wirt von *G. boninense* wurde in anderen Pflanzengruppen der Ölpalme wie *Cocos nucifera*, *Livistona subglobosa*, *Casuarina toluosa* und *Areca* gefunden. Die Wachstumsrate des Pilzes *G. boninense* kann auf drei Arten übertragen werden, nämlich Kontakt von Pflanzenwurzeln mit einer Quelle von *G. boninense*-Inokulum, Luft mit Basidiosporen und sekundärem Inokulum (Susanto et al., 2013). Darüber hinaus wird die Wachstumsrate von *G. boninense* auch vom

Lebensraum beeinflusst, der Bodeneigenschaften, Temperatur, pH-Wert und Nahrungsverfügbarkeit umfasst. *G. boninense* kann im pH-Bereich von 3,0-8,5 mit einer optimalen Temperatur von 300 °C wachsen und sein Wachstum wird bei 150 °C und 350 °C gestört und kann bei 400 °C nicht wachsen (Elfina *et al.*, 2016).

Der Angriff von *G. boninense* auf Ölpalmenplantagen betrifft nicht nur die Reifungsphase, sondern auch die Keimungs- und Sämlingsphasen. Symptome durch *G. boninense* wurde erstmals visuell in Ölpalmensämlingen im Vorschulalter gesehen, als sie drei Monate alt waren und 2-3 Blätter hatten. Die ersten Symptome sind Nekrose und Trockenheit der Blattspreite, gefolgt vom Absterben der Sämlinge. Dieses Absterben wird durch die Hemmung der Zufuhr von Nährstoffen (Nährstoffen) zu den Wurzeln durch das Absterben des Gefäßgewebe (*Xylem und Phloem*) verursacht, wodurch das Wachstum der Spitze gehemmt wird. Im fortgeschrittenen Stadium bildet *G. boninense* Fruchtkörper (Susanto *et al.*, 2013).

2.3 Aktivkohle (Biochar)

Biochar ist eine Abkürzung für Biomass Charcoal, was poröse Holzkohle bedeutet (Asai *et al.*, 2009). Die Rohstoffe für die Herstellung von Biokohle sind in Indonesien weit verbreitet, wie Holz, Kokosnussschalen, Ölpalmenschalen, Gummi-Kendaga, Maiskolben und Reishülsen. Dieser Rohstoff besteht meist aus Verbindungen wie Zellulose, Hemizellulose und Lignin. Diese Verbindungen sind kohlenstoffreiche Verbindungen, sodass sie als Rohstoffe für Aktivkohle verwendet werden können (Yulianti *et al.*, 2010).

Die Verwendung von Biokohle wird im Allgemeinen als Bodenverbesserungsmittel (Kurniawan *et al.*, 2016), Trockenbodensanierung (Nurida, 2014), Schwermetallabsorptionsmittel (Herlandien, 2013) und Bleichen von gebrauchtem Speiseöl (Yulianti *et al.*, 2010) verwendet.

In der Landwirtschaft wird Pflanzenkohle als Bodenverbesserungsmittel eingesetzt, da sie insbesondere auf sandigen Böden indirekt die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften des Bodens verbessern kann. Die Zugabe von Pflanzenkohle in den Boden kann die Verfügbarkeit des Hauptkations P und die Konzentration von N im Boden erhöhen. Der Anstieg von CEC und pH im Boden kann bis zu 40 % betragen (Kurniawan et al., 2016). Die Fähigkeit von Pflanzenkohle, Wasser und Nährstoffe im Boden zu binden, trägt dazu bei, Düngemittelverluste durch Oberflächenerosion (Abfluss) und Auswaschung zu vermeiden, sodass Düngemittel in der Umgebung eingespart werden können. Daher spielt Pflanzenkohle eine Rolle bei der Verbesserung der Bodenbedingungen und der Steigerung der Pflanzenproduktion in Gebieten mit weniger fruchtbaren Bodenbedingungen (BPTP Aceh, 2011).

Die Produktion von Pflanzenkohle erfolgt auf zwei Arten, nämlich Karbonisierung und Aktivierung. Karbonisierung ist ein Verbrennungsprozess mit minimalem oder keinem Sauerstoffgehalt (TMO) unter Verwendung eines Pyrolyserohrs bei einer Temperatur von 2000 °C bis 6000 °C (Nurida, 2014). Während die Aktivierung auf 2 Arten erfolgen kann, nämlich thermische Aktivierung und chemische Aktivierung. Bei der thermischen Aktivierung wird mit einem Ofen auf eine Temperatur von 700 °C bis 1100 °C erhitzt, während bei der chemischen Aktivierung Lösungsmittel wie HCl, NaOH, NaCl, H₂SO₄, ZnCl₂ und H₃PO₄ verwendet werden (Kurniati, 2008). In der Praxis wird eine Aktivierung durchgeführt, um die Oberfläche des Porenraums zu vergrößern und ihn von störender Asche und Schmutz zu befreien, damit die Absorption (Durchlässigkeit) optimal wird. In diesem Fall wird häufiger die chemische Aktivierung verwendet, weil sie billiger ist (Kurniawan et al., 2016).

2.3.1 Ölpalmschalen-Biokohle

Der Zunahme der Palmölproduktion folgt immer eine Zunahme des produzierten Abfalls, einer davon sind Palmkerne. Für jeden 1 ha Ölpalme, die das Unternehmen produziert, fallen 2-5 Tonnen Palmkernschalen pro Jahr an. Das Vorkommen von Abfällen mit wirtschaftlichem Wert kann durch die Herstellung von Pflanzenkohle oder Aktivkohle als Kohlenstoffquelle genutzt werden, die das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* anregen soll, so dass sich seine Wirksamkeit auf den Krankheitserreger *G. boninense* auswirkt.

Ölpalmenschalen bestehen aus Zellulose-, Hemizellulose- und Ligninbestandteilen sowie anorganischen Bestandteilen. Zellulose, Hemizellulose und Lignin sind Verbindungen mit hohem Kohlenstoffgehalt (C), sodass sie als Ausgangsmaterialien für Aktivkohle verwendet werden können (Tjutju, 2005). Je geringer der Wassergehalt in der Schale der Ölpalme ist, desto größer ist der Kohlenstoffgehalt, der als Nahrungsquelle für den Pilz genutzt werden kann. Die von Yuliati et al. (2010) fanden die Berechnung des Wassergehalts und des Aschegehalts wie folgt:

Tabelle 1. Daten zum Feuchtigkeitsgehalt und Aschegehalt von Ölpalmschalen-Aktivkohle

Aktivator (1M)	Wassergehalt (%)	Wassergehalt (%)SNI	Aschegehalt (%)	Aschegehalt (%)SNI
Ohne Aktivator	4,3137	Maksimum 15	3,2864	Maksimum 10
NaOH	3,1394		1,6476	
HCl	2,3577		1,3425	
ZnCl	2,6479		2,7792	

Eine andere Studie von Kurniati (2008) besagt, dass das Brennen von Ölpalmenschalen bei einer Temperatur von 400 °C für 30 Minuten. Die Aktivierungszeit von 22 Stunden Eintauchen mit einer H₃PO₄-Konzentration von 9 % führte zu folgender Qualität der Aktivkohle:

Tabelle 2. Qualitätsstandardtest von Aktivkohle aus Ölpalmenschalen

Nr	Kategorie	Ergebnis (%)	roher Standard SII 0258-88(%)
1	Wassergehalt	7,36	15
2	Aschegehalt	2,77	10
3	Flüchtige Materie	8,21	25
4	Absorption	19,8	20

Nach der Meinung von Hutapea *et al.* (2015), Der Aktivkohle-Qualitätsstandardtest ist erforderlich, um die Fähigkeit von Aktivkohle als Zusatzstoff wie Wassergehalt, Aschegehalt, Gehalt an flüchtigen Bestandteilen und Absorption zu bestimmen. Der Feuchtigkeitsgehalt soll die hygroskopischen Eigenschaften von Aktivkohle bestimmen. Der Aschegehalt zielt darauf ab, den Metallgehalt (anorganisch) in Aktivkohle zu bestimmen. Während der flüchtige Gehalt und die Absorption darauf abzielt, die Absorption von Lösungen und Gasen zu bestimmen.

In-vitro-Kultur ist ein Begriff für die Vermehrung im Raummaßstab, insbesondere im Labor. Nicht nur bei höheren Pflanzen wird die *In-vitro*-Kultur heute von niederen Organismen wie Mikroben, einschließlich Pilzen und Bakterien, durchgeführt. Die *In-vitro*-Vermehrung ist weit verbreitet, da sie einfach zu handhaben ist. Homogene Behandlung und Ernährungskontrolle wirkten sich auf die Ergebnisse der *In-vitro*-Kultur aus. Daher ist es ein weiterer Grund, warum die aus *in vitro*-Kulturergebnissen erhaltenen Produkte denen überlegen sind, die herkömmlich durchgeführt wurden. Es gibt jedoch viele

Dinge, die untersucht und beherrscht werden müssen, wie z. B. physiologische Mechanismen, Aktivitätskraft, Transportrate, Persistenzeigenschaften, Aktivitätskraft und verschiedene organische und anorganische Komponenten, aus denen die Wachstumsmedien bestehen, sowie andere Faktoren, die den Erfolg von beeinflussen *in-vitro*-Kultur (Mariska, 2002).

2.3.2 Sterilisation von Werkzeugen und Materialien

Die Sterilisation ist eine Tätigkeit mit dem Ziel, Werkzeuge und Materialien von allen Lebensformen (Mikroorganismen) zu befreien. Die In-vitro-Sterilisation der Pilzvermehrung wurde mit Werkzeugen und Materialien wie Bechergläsern, Erlenmeyerkolben, Volumenpipetten und *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Nutrient Agar* (NA) und *Nutrient Broth* (NB) Medien durchgeführt. Werkzeuge und Materialien, die frei von jeglichem Leben waren, werden als steril bezeichnet. Da der Pilz mikroskopisch klein ist, ist eine spezielle Handhabung für Werkzeuge und Medien erforderlich, um Reinkulturen zu erhalten (Mariska, 2002).

Es gibt zwei Möglichkeiten, eine physikalische Sterilisation durchzuführen, nämlich Nasssterilisation und Trockensterilisation. Die Nasssterilisation erfolgt mit Hochdruckdampf oder Kochen/Dämpfen. Bei der Nasssterilisation wird Druckdampfwärme (Autoklav) mit einer Temperatur von 1210 °C bei einem Druck von 15 psi für ± 30 Minuten verwendet (Alviodynsyari et al., 2015). Die Trockensterilisation wird im Allgemeinen an Werkzeugen wie Spateln, Kelchen, Petrischalen und Glasgegenständen durchgeführt. Trockensterilisation wurde unter Verwendung eines Ofens bei 180°C für ± 2 Stunden durchgeführt. Es gibt andere Sterilisationen, die durchgeführt werden können, wie z. B. die Verwendung eines Desinfektionsmittels (70 % Alkohol),

direkte Feuererwärmung (Bunsen) und die Verwendung einer UV-Lampe am LAF
(*Laminar Air Flow*) (Sulistyo *et al.*, 2018).



2.3.3 2.3.3 PDA-Wachstumsmedien (*Potato Dextrose Agar*)

Potato Dextrose Agar (PDA) ist ein Medium für Pilzwachstum. Medium ist ein Material, das aus einer Mischung von Nährstoffen besteht, die als Ort für mikrobielles Wachstum dient. Jutono hat festgestellt (1980 in Octavia und Wantini, 2017), dass ein Medium, das Mikroorganismen richtig züchten kann, die folgenden Anforderungen erfüllen: einen angemessenen pH-Wert, keine hemmenden Substanzen, sterile Medien und Nährstoffe enthalten, die von Mikroorganismen benötigt werden. Zu den Nährstoffen, die Mikroorganismen zum Wachstum benötigen, gehören Kohlenstoff, Stickstoff, nichtmetallische Elemente wie Phosphor und Kalium sowie Metalle wie Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg und Fe, Vitamine, Wasser und Energie (Cappucino, 2014).

PDA ist ein Medium, das üblicherweise bei der Pilzvermehrung im Labormaßstab verwendet wird. Denn PDA hat einen niedrigen pH-Wert, der zwischen 4,5 und 5,6 liegt, und hemmt so das Wachstum von Bakterien, die eine neutrale Umgebung mit einem pH-Wert von 7,0 und einer optimalen Wachstumstemperatur zwischen 25 und 300 °C benötigen (Cappucino, 2014). Aufgrund seiner Zusammensetzung ist PDA-Medium ein halbsynthetisches Medium, das aus verschiedenen Komponenten wie Kartoffel, Dextrose und Agar besteht. Kartoffeln sind eine Quelle für Kohlenstoff (Kohlenhydrate), Vitamine und Energie, Dextrose als Zucker- und Energiequelle und dient als Pressmedium. Diese drei Komponenten sind sehr wichtig für das Wachstum und die Vermehrung von Mikroorganismen, insbesondere von Pilzen (Octavia und Wantini 2017). Die ideale Zusammensetzung von PDA-Medien besteht aus 200 ml Kartoffelextrakt, 10 g Dextrose und 12 g Agar (Alviodynsyari et al., 2015).

Einige Pilze, die durch PDA-Medium gezüchtet wurden, umfassen *Trichoderma sp.* (Elfina *et al.*, 2010), *Aspergillus flavus* (Octavia und Wantini 2017), *Aspergillus niger* (Aini und Rahayu, 2015), *Ganoderma boninense* (Elfina *et al.*, 2016) und *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Suwanda, 2016).

2.3.4 Inokulation (Reinkultur)

Inokulation oder Reisolierung ist die Vermehrung von Isolaten im In-vitro-Maßstab, die mit dem Ziel durchgeführt wird, Reinkulturen zu erhalten. Diese Kultur wird durchgeführt, um spezifischere Arten oder Arten von Mikroben zu erhalten. Aufgrund seiner reinen Natur werden Impfaktivitäten aseptisch durchgeführt, um alle Lebensformen zu eliminieren (Sulistyo *et al.*, 2018).

KAPITEL III. FORSCHUNGSMETHODIK

3.1 Die Untersuchungszeit und der Untersuchungsort

Die Forschung wurde von August bis Oktober im Labor des Wachstumszentrums der Region Kopertis I, Peratunstrasse Nummer 1, Kenangan Baru, Percut Sei Tuan, Deli Serdang, Nord-Sumatra, durchgeführt..

3.2 Die Werkzeuge und Materialien

Die in diesem Praktikum verwendeten Werkzeuge sind Pyrolyseröhrchen, Ofen, Autoklav, Inkubator, Analysenwaage, *Laminar Air Flow* (LAF), Mikroskop, Bunsen, 9 cm Petrischale, Objektglas, Deckglas, Spatel, Kochbohrer, Erlenmeyerkolben, Trichter, Reagenzgläser, Becher, Mikropipetten, Kocher, Boiler, Kameras und Schreibwaren.

Die in diesem Praktikum verwendeten Materialien sind Palmschalen-Biokohlefiltrat, PDA, Filterpapier, *Ganoderma boninense*-Isolat, *Trichoderma harzianum*-Isolat, Plastikfolie, Aluminiumfolie, 70 % Alkohol, 1 M NaCl, destilliertes Wasser, Spiritus, Baumwolle und Etikettenpapier.

3.3 Untersuchungsmethodologie

3.3.1 Untersuchungsdesign

Diese Untersuchung wurde unter Verwendung eines vollständig randomisierten Designs (CRD) durchgeführt - nicht faktoriell, bestehend aus 1 Behandlungsfaktor mit 5 Stufen wie folgt:

BK0 = PDA-Medium (ohne Pflanzenkohle-Filtrat)

BK1 = PDA-Medium + 25 % Pflanzenkohle-Filtrat

BK2 = PDA-Medium + 50 % Pflanzenkohle-Filtrat

BK3 = PDA-Medium + 75 %Pflanzenkohle Filtrat

BK4 = PDA-Medium + 100 % Pflanzenkohle-Filtrat

Damit insgesamt 20 Behandlungen erhalten wurden, bestand jede Behandlungsstufe aus 4 Wiederholungen.

3.3.2 Analysemethode

Nachdem die Untersuchungsdaten erhoben wurden, wurde die Datenanalyse unter Verwendung eines *Non-Factorial Completely Randomized Design* (CRD) mit durchgeführt:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Bezeichnung :

Y_{ijk} = der Wert der Beobachtungen in der i-Behandlung & j-Replikation

μ = allgemeiner Mittelwert

τ_i = Wirkung der Behandlung i

ϵ_{ij} = Versuchsfehler in der Behandlung i & Wiederholung j

Wenn die Ergebnisse der Behandlung in dieser Studie einen signifikanten Effekt haben, werden weitere Tests mit dem DNMRT-Test (*Duncan's New Multiple Range Test*) durchgeführt.

3.4 Die Untersuchungsdurchführung

3.3.3 Sterilisation von Werkzeugen und Materialien

Sterilisation von Werkzeugen und Materialien durch ein Nasssterilisationsverfahren mit einem Autoklaven. Die Nasssterilisation wird durchgeführt, um PDA-Medien, Pflanzenkohle und Werkzeuge aus allen Lebensformen zu vermeiden und zu eliminieren. Die Nasssterilisation wurde unter Verwendung eines Autoklaven bei einer Temperatur von 121 °C und einem Druck von 15 psi für 15 Minuten durchgeführt (Alviodinasyari et al., 2015).

3.3.3 Herstellung von Pflanzenkohle-Filtrat

Die Ölpalmenschalen wurden von der Palmölverarbeitungsfabrik Adolina im Besitz von PTPN-IV, Serdang Bedagai, Nord-Sumatra, bezogen. Es gibt zwei Hauptstufen bei der Herstellung von Biokohle aus Ölpalmenschalen, bevor die Stufe der Herstellung des Filtrats erreicht wird, nämlich Karbonisierung und Aktivierung.

In der Karbonisierungsstufe werden die Palmkernschalen aus der Abfallentsorgung der Palmölmühle 2-3 Tage in der Sonne getrocknet. Dies geschieht, um den Verbrennungsprozess mit einem geringen Feuchtigkeitsgehalt im Kern zu erleichtern. Anschließend wird die Schale ohne Sauerstoff mit einem modifizierten Pyrolyserohr bei einer Temperatur von 600–700 °C (Hutapea et al., 2015) gebrannt, bis der Schalenzustand leicht krümelig und geschwärzt ist.

Dann wurde die Aktivierungsphase durchgeführt, indem der Becher für 24 Stunden in 1 M NaCl-Lösung (58,5 g in 1000 ml Wasser) eingeweicht wurde (Herlandien, 2013). Die Aktivierung erfolgt, um den Porenraum zu erweitern, Schmutz darin zu vermeiden und den Porenraum aktiver zu machen. Waschen Sie auch so viel wie möglich, dh 8 Wäschen, um das in der Lösung enthaltene Restsalz zu vermeiden. Eine gute Voraussetzung für aktivierte Pflanzenkohle ist der pH-Wert der Lösung im letzten Waschwasser auf neutral (6,7-7,2).

Dann wurde der Trocknungsprozess unter Verwendung eines Ofens bei einer Temperatur von 100°C für 2 Stunden durchgeführt, um den Wassergehalt zu reduzieren. Außerdem wird die Pflanzenkohle eingemaischt und das feine Pulver, das den Filter passiert, wird als Filtrat verwendet. Das feine Pulver wurde im Verhältnis 1:1 in Wasser eingeweicht, dann gerührt und 30 Minuten stehen gelassen. Sammeln Sie das Filtrat nach dem Einweichen mit Whatmaan-

Filterpapier Nr. 40 (Alamsyah et al., 2005), das bei der Herstellung von PDA-Medien verwendet wird.

3.3.4 Herstellung von PDA und Behandlungsmedien

Die Herstellung von PDA-Medien bezieht sich auf Alviodinasyari et al. (2015) bestand die Zusammensetzung des PDA-Mediums aus 200 g Kartoffelextrakt, 10 g Dextrose und 12 g Agar. Alle Bestandteile wurden in 1000 ml destilliertem Wasser gelöst, dann auf einer Heizplatte bis zum Sieden erhitzt, während sie mit einem Magnetrührer homogenisiert wurden, dann in einem Autoklaven bei 121°C und 15 psi Druck für 15 Minuten sterilisiert.

Die Zusammensetzung des PDA-Mediums wurde an die verwendete Behandlungsmenge angepasst. Die Zusammensetzung des BK0-Mediums (Kontrolle) bestand aus 100 ml PDA in einem Erlenmeyerkolben. Die Zusammensetzung von BK1-Medium, nämlich PDA mit einer Filtratkonzentration von 25 % (12,5 ml Pflanzenkohle-Filtrat + 37,5 ml destilliertes Wasser + 50 ml PDA). Die Zusammensetzung von BK2-Medien, nämlich PDA mit 50 % Filtratkonzentration (25 ml Pflanzenkohle-Filtrat + 25 ml destilliertes Wasser + 50 ml PDA). Die Zusammensetzung von BK3-Medien, nämlich PDA mit einer Filtratkonzentration von 75 % (37,5 ml Pflanzenkohle-Filtrat + 12,5 ml destilliertes Wasser + 50 ml PDA). Die Zusammensetzung von BK4-Medium, nämlich PDA mit einer Filtratkonzentration von 100 % (50 ml Pflanzenkohle-Filtrat + 50 ml PDA).

3.3.5 Isolat von *Trichoderma harzianum* und *Ganoderma boninense*

Isolat von *T. harzianum* und *G. boninense* wurden vom Labor für Pflanzenkrankheiten der Fakultät für Landwirtschaft der Universität von Nord-Sumatra erhalten. Die erhaltenen Isolate wurden mit der DNA-

Sequenzierungsmethode durch den PCR-Test (Polymerase-Kettenreaktion) auf Spezieesebene validiert, Isoliert ein auf beiden Pilzen erhalten und dann erneut gereinigt (Inokulation) auf einer Petrischale (Petrischale), dann inkubiert und den Fortschritt für einen Monat beobachtet.

3.4 Beobachtungsparameter

3.3.6 Makroskopische und mikroskopische Morphologie des Pilzes *Trichoderma harzianum*

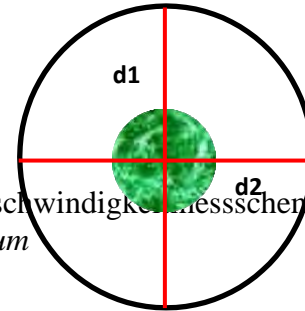
Morphologische Beobachtungen wurden durchgeführt, indem gereinigte Proben des Pilzes *T. harzianum* entnommen wurden. Es wurden Beobachtungen gemacht, um die makroskopische und mikroskopische Form des Pilzes *T. harzianum* zu bestimmen. Makroskopische morphologische Beobachtungen umfassten Farbe, Form, Struktur und Koloniedichte. Unterdessen wurden mikroskopische Beobachtungen unter Verwendung eines Mikroskops mit einer Vergrößerung von 40×10 unter Verwendung von Methylenblau-Farbstoff durchgeführt, und die beobachteten Variablen umfassten die Form von Konidien, Konidiophoren und Hyphen.

3.3.7 Durchmessererrate von *T. harzianum*

Die Bestimmung des Koloniedurchmessers von *T. harzianum* erfolgte nach den Regeln von Elfina et al. (2016), indem der Durchmesser des Pilzes *T. harzianum* diagonal gemessen wurde. Messungen werden durchgeführt, indem vertikale und horizontale Linien gezeichnet werden, die sich auf der Bodenfläche der Petrischale kreuzen, um die Messung zu erleichtern.

Die Beobachtung der Durchmessererrate wurde an dem Pilz *T. harzianum* jeden Tag um 10.00 Uhr WIB durchgeführt, bis der Pilz die Petrischale füllte. Die Berechnung der Durchmessererrate kann mit der folgenden Formel erfolgen:

$$D = \frac{d1 + d2}{2}$$



Bezeichnung :

Bild 4. Geschwindigkeitsmessschema von *T. harzianum*

D = Pilzdurchmesser

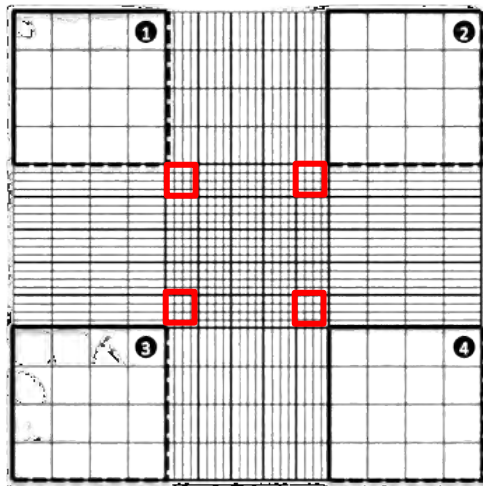
d1 = Vertikaler Durchmesser der Pilzkolonie *T. harzianum*

d2 = Horizontaler Durchmesser der Pilzkolonie *T. harzianum*



= Wachstum des Pilzes *T. harzianum*

Die Konidiendichte wurde unter Verwendung eines Hämocytometers berechnet, um die Wirkung der Gabe von Biokohle-Filtrat aus Ölpalmenschalen auf die Entwicklung von *T. harzianum* zu sehen. Nehmen Sie bei jeder Behandlungsstufe eine Probe von *T. harzianum* in eine Petrischale, tropfen Sie dann 1 ml destilliertes Wasser auf eine Petrischale mit *T. harzianum* und führen Sie die Verdünnungstechnik bis zu 10^{-6} durch. 1 ml der Lösung in ein Reagenzglas mit einer Verdünnungsrate von 10^{-6} geben, dann in die Mitte des Hämocytometers tropfen und mit einem Deckglas abdecken. Stellen Sie das Hämocytometer auf ein Lichtmikroskop, beobachten und zählen Sie die Anzahl der Konidien auf *T. harzianum* mit der folgenden Formel:



$$S = \frac{\sum (X_1 + X_2 + \dots + X_n) \times L}{DL}$$

Keterangan:

□ : Anzahl der Konidien in Feld X

□ : Konidien in unzähligen Kisten

S : Anzahl der Konidien

X_n : Gesamtzahl der Konidien im n-Kästchen

D : Verdünnung (Verdünnungsgrad) 10⁻⁶

L : Bereich der Zählbox (0,4 µL)

Die erhaltenen Ergebnisse werden dann in Gesamtzellen/ml umgerechnet.

Biologische Arbeitsstoffe, die im Feld ausgebracht werden können, haben einen Mindestwert der Sporendichte von 10⁻⁵.

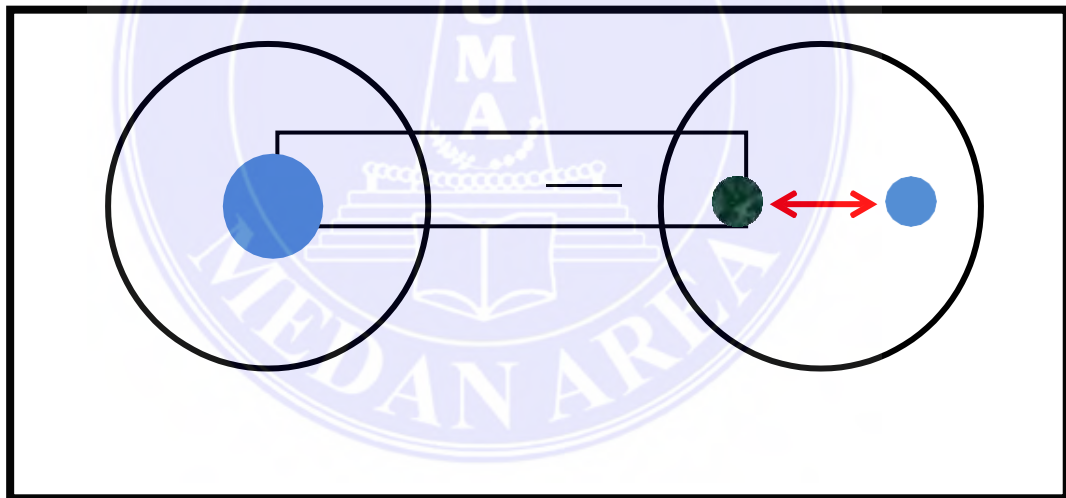
3.3.8 Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense*

Es wurde ein Antagonismustest durchgeführt, um die Fähigkeit des Pilzes *T. harzianum* zur Bekämpfung des bodenbürtigen pathogenen Pilzes *G. boninense*, ausgedrückt in Prozent (%) Hemmung, zu sehen. Der Antagonistentest wurde durchgeführt, indem die *G. boninense*-Kultur mit einem Kochbohrer mit einem Durchmesser von 0,5 cm geschnitten und dann mit verschiedenen Behandlungsniveaus auf das Medium geimpft wurde. Die Stücke werden auf die

Seite der Petrischale gelegt, 2 cm vom Rand des Bechers entfernt

dann wurde die Kultur für ± 7 Tage inkubiert. Jede Stufe der Medienbehandlung erhielt eine *G. boninense*-Kontrolle, die in die Mitte der Petrischale geimpft wurde.


Am 8.Tag wurde die *T. harzianum*-Kultur unter Verwendung eines Kochbohrers mit 0,5 cm Durchmesser geschnitten. Die Stücke von *T. harzianum* wurden gegenüber der *G. boninense*-Kultur im gleichen Abstand platziert wie bei der Kultivierung des pathogenen Pilzes *G. boninense*. Dann wurden beide Kulturen in einem dunklen Raum bei 27°C inkubiert. Die Beobachtungen wurden jeden Tag um 10.00 Uhr (Westindonesische Zeit) für ± 14 Tage durchgeführt. Die Berechnung der Hemmung von *T. harzianum* gegenüber *G. boninense* bezieht sich auf Korsten et al. (1997 in Alviodinasyari et al., 2015):




Bezeichnungen :

D1 = Durchmesser der *G. boninense*-Kontrolle

D2 = Durchmesser des *G. boninense*-Tests

 = *G. boninense*

 = *T. harzianum*

KAPITEL V. FAZIT AND ANREGUNG

5.1 Fazit

Durch den Einsatz von Ölpalmenschalen-Pflanzenkohlefiltrat konnte die Durchmesserrate von *T. harzianum* erhöht werden. Die BK3-Behandlung war die beste Medienzusammensetzung für das Wachstum von *T. harzianum* bei der Hemmung des Wachstums von *G. boninense* mit einem Hemmungsprozentsatz von 56,62 % bei 14 DAP. Die Hemmung des Wachstums des pathogenen Pilzes *G. boninense* wurde durch Lyseereignisse und Schäden an der Zellwand der Wirtshyphen sowie durch enzymatische Aktivität, insbesondere Chitinase, Glucanase und Protease sowie sekundäre Metabolitenverbindungen in Form von Harzianolid, hervorgerufen der Antagonistenpilz *T. harzianum*.

5.2 Anregung

Es ist notwendig, weitere Untersuchungen zur inhibitorischen Aktivität des Pilzes *T. harzianum* gegen *G. boninense* *in vitro* unter Verwendung von Pflanzenkohle aus anderen Materialien durchzuführen, um zu sehen, welche Art von Pflanzenkohle das größte Angebot an Kohlenstoffquellen liefert, um eine erhöhte T.-Aktivität von B. zu induzieren. *harzianum* vor der Anwendung im Feld.

