

Pengaruh Cendawan Endofit Akar dan Mikoriza Arbuskula Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Kurkumin Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

The Effects of Root Endophytic and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Curcumin Content of Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

SUKMA TRIPERDANA PUTRA¹, NAMPIAH SUKARNO^{1,3*}, DYAH ISWANTINI^{2,3}, UTUT WIDYASTUTI^{1**}, WENDI NURUL FADILLAH¹

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

³Pusat Studi Biofarmaka Tropika (Trop BRC) LPPM IPB, Kampus IPB Taman Kencana, Bogor 16128

Diterima 26 Oktober 2022/Disetujui 13 Desember 2022

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) is known to be used as an ingredient in Jamu. The global demand for the rhizome of the temulawak affects the urgency of sustainable rhizome production. This research aimed to analyze the effects of root endophytic and arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and curcumin content of the *C. xanthorrhiza*. Five fungal inoculation treatments were conducted on temulawak seedlings grown in sterilized and unsterilized growth media under greenhouse conditions. They were root endophytic fungi *A. niger* (A), *Glomus* sp. (G), the combination of *A. niger* and AMF *Glomus* sp. applied at the same time (GA) and at a different time (G-A), and control treatments. The plant growth parameters, fungal colonization, and rhizomes curcumin content were measured. The result showed a significant interaction between fungal inoculation and control treatments. In general, fungal inoculation on both sterilized and unsterilized growth media increased the plant growth and rhizomes curcumin content. On the sterilized growth media, *C. xanthorrhiza* inoculated by *A. niger* showed the best growth parameter. At the same time, the mixed fungal inoculation showed the best growth parameter on the unsterilized media. The highest curcumin content was shown by *C. xanthorrhiza* inoculated by *Glomus* sp. as a single inoculation.

Key words: *Aspergillus niger*, combined inoculation, curcumin, *Glomus* sp., rhizome

PENDAHULUAN

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional di Indonesia. Tercatat pada tahun 2019, *C. xanthorrhiza* dibudidayakan di Indonesia secara luas. Hasil panen rimpang *C. xanthorrhiza* untuk penanaman sekitar 13 km² area lahan ialah sebanyak 29.637.119 kg (BPS 2019). Secara tradisional, *C. xanthorrhiza* dimanfaatkan sebagai bahan jamu (suplemen dan obat herbal Indonesia) atau untuk pengobatan dan pengendalian berbagai penyakit karena memiliki sifat farmakologi seperti antiproliferatif, antiinflamasi, antibakteri, anticendawan, antidiuretik, antioksidan, antidiabetes, antitumor, antikanker, mengobati hipertensi, rematik,

gangguan hati dan jantung (Ab Halim *et al.* 2012; Mary *et al.* 2012; Schmid *et al.* 2015; Salleh *et al.* 2016; Akarchariya *et al.* 2017; Cho *et al.* 2017). *C. xanthorrhiza* juga telah diekspor dan dimanfaatkan di Eropa setidaknya sejak tahun 1963, terutama untuk pengobatan dispepsia, infeksi, penyakit kulit dan penyakit hati (Rahmat *et al.* 2021).

Tanaman *C. xanthorrhiza* memiliki senyawa bioaktif paling melimpah pada rimpang berupa terpenoid dan kurkuminoid, diantaranya yaitu xanthorrhizol, kurkumena, dan kurkuminoid (Zhang *et al.* 2014; Akarchariya *et al.* 2017). Xanthorrhizol adalah komponen utama dari minyak atsiri *C. xanthorrhiza*, yang merupakan senyawa kelompok *sesquiterpenoid* yang menjadi pembeda *C. xanthorrhiza* dengan spesies *Curcuma* lainnya (Ramdani *et al.* 2016). Xanthorrhizol dan kurkumin yang juga merupakan sesquiterpenoid dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologis

**Almarhum

*Penulis korespondensi:

E-mail: nampiah@apps.ipb.ac.id

seperti antioksidan, antikanker, neuroprotektif dan antiinflamasi (Lim *et al.* 2005; Jantan *et al.* 2012; Simamora *et al.* 2022). Dua jenis kurkuminoid yang dihasilkan oleh *C. xanthorrhiza*, yaitu kurkumin dan demetoksikurkumin diketahui memiliki aktivitas antikanker, antipenyakit kardiovaskuler, dan antidiabetes (Afzal *et al.* 2013; Krup *et al.* 2013; Raut & Karuppayil 2014; Nugroho *et al.* 2015; Sikha *et al.* 2015). Kurkumin juga memiliki efek terapi terhadap penyakit Alzheimer, sclerosis, katarak, HIV, kerusakan hati, paru-paru, dan ginjal (Aggarwal *et al.* 2005). Oleh karena itu, aktivitas obat *C. xanthorrhiza* sebagian besar disebabkan oleh dua kelompok utama senyawa tersebut, sehingga permintaan pasar terhadap rimpang *C. xanthorrhiza* semakin meningkat dari waktu ke waktu.

Peningkatan permintaan terhadap *C. xanthorrhiza* menjadikan pentingnya penelitian bioteknologi tanaman tersebut melalui perbanyakan dan produksi rimpang yang mengandung metabolit sekunder kurkumin yang tinggi dan ramah lingkungan dan berkelanjutan. Namun demikian, penelitian bioteknologi untuk *C. xanthorrhiza* masih sangat terbatas, dan diperlukan penelitian lebih lanjut yang komprehensif. Usaha peningkatan produksi tanaman tidak terlepas dari penggunaan pupuk yang ramah lingkungan yaitu pupuk hayati. Cendawan endofit akar dan cendawan mikoriza arbuskula (CMA) merupakan mikroorganisme yang bermanfaat sebagai pupuk hayati. Berbagai manfaat potensial bagi inang dalam interaksi mutualistik dengan cendawan endofit dan atau mikoriza diantaranya ialah induksi metabolit sekunder yang berpotensi aktif melawan patogen, sekresi fitohormon, mobilisasi nutrisi untuk inang dari rizosfer, dan induksi/perubahan metabolisme inang termasuk produksi metabolit untuk rimpang seperti produksi kurkumin (Faiza *et al.* 2018). Salah satu manfaat pupuk hayati bagi tanaman ialah kemampuan pelarutan fosfat oleh cendawan. Pelarutan fosfat oleh *A. niger* dilakukan dengan proses asidifikasi yaitu dengan cara memproduksi asam organik berupa asam glukonat atau asam oksalat (Xiao *et al.* 2013). Mekanisme lain *A. niger* dalam melarutkan fosfat ialah dengan memproduksi enzim hidrolitik, namun enzim tersebut masih belum terkarakterisasi (Young *et al.* 2000; Chuang *et al.* 2007). Hifa eksternal CMA juga diketahui dapat menyerap dan mentransfer P dari tanah ke dalam akar tumbuhan sehingga dapat mengatasi keterbatasan difusi fosfat anorganik yang lambat dalam tanah (Smith *et al.* 2003). Khastini *et al.* (2022) melaporkan bahwa tanaman *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Pharaserianthes falcataria*, *Acasia* sp., *Theobroma cacao*, *Phaleria macrocarpa*, dan *Brassica* sp. yang diinokulasi *Aspergillus* section *Nigri* FKK3 mengalami peningkatan pertumbuhan terbaik dibanding cendawan endofit lainnya. Inokulasi cendawan endofit akar *A. niger* dan CMA dalam media tumbuh tanaman *Jatropha curcas* juga dapat meningkatkan pertumbuhan biomassa tanaman tersebut (Zulfutri *et al.* 2007). Namun penelitian

mengenai peran *A. niger* dan *Glomus* sp. sebagai usaha peningkatan pertumbuhan dan kandungan senyawa bioaktif kurkumin yang terdapat di dalam rimpang *C. xanthorrhiza* belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi cendawan endofit akar *A. niger* dan CMA sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan pertumbuhan dan kandungan senyawa bioaktif kurkumin pada rimpang tanaman *C. xanthorrhiza*.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Media Tanam, Inokulum Cendawan, dan Bibit *C. xanthorrhiza*. Percobaan inokulasi pada penelitian ini dilakukan pada dua tipe media tumbuh yaitu pada media tumbuh steril dan tidak steril dengan perawatan pertumbuhan dilakukan di rumah kaca. Media tanam yang digunakan sebagai media tumbuh ialah campuran antara tanah dengan pasir dengan perbandingan 3:1. Sterilisasi media tumbuh dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 1 jam pada tekanan 1 atmosfer. Sterilisasi tanah dilakukan sebanyak dua kali.

Cendawan yang digunakan sebagai sumber inokulum ialah cendawan endofit akar *A. niger* dan cendawan mikoriza arbuskula (CMA) *Glomus* sp. koleksi Divisi Mikologi, Departemen Biologi, FMIPA-IPB. Perbanyakan cendawan *A. niger* dilakukan dengan cara menumbuhkan miselium hasil peremajaan dari kultur penyimpanan jangka panjang (*cryopreservation*). Miselium cendawan hasil peremajaan kemudian dicuplik dan ditumbuhkan pada media biji jagung steril pada kantong plastik dan diinkubasi selama 7 hari. Inokulum dipanen dengan cara mengeringkan seluruh media pertumbuhan miselia dan spora pada suhu 30 °C dan dihaluskan menggunakan blender. Perbanyakan CMA *Glomus* sp. dilakukan dengan cara menumbuhkan 400 spora pada media zeolit steril dengan inang *Centrosema pubescens* pada pot berukuran 2 kg. Pot dipelihara selama 6 bulan. Sebelum dipanen, persen kolonisasi pada akar dianalisis untuk menentukan potensi inokulum CMA. Pot yang kolonisasi akarnya minimal 75% dipilih dan digunakan sebagai sumber inokulum CMA. Inokulum yang digunakan untuk percobaan berupa campuran spora, akar terkolonisasi, dan media zeolit yang digunakan untuk perbanyakan.

Tunas tanaman *C. xanthorrhiza* disiapkan dengan cara menumbuhkan umbi *C. xanthorrhiza* yang telah disterilisasi permukannya dengan NaOCl 5% pada media tanah steril. Tunas yang tumbuh seragam dan memiliki akar dipilih dan digunakan sebagai bibit tanaman inang.

Inokulasi Cendawan terhadap Tanaman *C. xanthorrhiza* pada Media Tanam Steril. Tunas tanaman *C. xanthorrhiza* diinokulasi dengan cendawan endofit akar *A. niger* dan CMA *Glomus* sp. pada media tanam steril yang terdiri dari campuran tanah dan pasir steril (3:1) pada pot berukuran 3 kg. Terdapat 5 perlakuan inokulasi cendawan terhadap

tanaman *C. xanthorrhiza*, yaitu kontrol atau tanpa inokulasi (K), inokulasi cendawan *A. niger* (A), inokulasi CMA *Glomus* sp. (G), inokulasi ganda cendawan *A. niger* dan *Glomus* sp. pada waktu yang sama (GA), dan inokulasi ganda pada waktu yang berbeda dengan inokulasi *Glomus* sp. dilakukan 3 minggu sebelum inokulasi *A. niger* (G-A). Inokulasi dilakukan terhadap sistem perakaran bibit tanaman *C. xanthorrhiza*. Jumlah inokulum cendawan yang diinokulasikan ke tanaman ialah sebesar 5% dari bobot media tumbuh untuk *A. niger*, dan 2% untuk *Glomus* sp.. Pot ditumbuhkan di rumah kaca selama 12 minggu. Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan penyiraman secara berkala menggunakan akuades. Pemupukan dilakukan seminggu sekali menggunakan pupuk Johnson dengan kadar P sebesar 50% dari konsentrasi normal. Pemanenan dilakukan pada umur 12 minggu setelah tanam (MST). Parameter yang diamati ialah pertumbuhan tanaman, kolonisasi cendawan dan kandungan kurkumin pada rimpang.

Pengaruh Inokulasi Cendawan terhadap Tanaman *C. xanthorrhiza* pada Media Tanam Tidak Steril. Media tumbuh yang digunakan ialah 6 kg media tidak steril yang terdiri dari campuran tanah dan pasir (3:1). Perlakuan ini dilakukan untuk menggambarkan penerapan inokulasi cendawan dalam produksi rimpang *C. xanthorrhiza* di lahan pertanian dengan kondisi seperti di lapang. Perlakuan inokulasi, metode inokulasi, pemeliharaan tanaman dan parameter yang diamati ketika panen dilakukan sama seperti pada inokulasi dengan media steril namun pemanenan dilakukan pada tanaman berumur 24 minggu setelah tanam (MST). Pot ditumbuhkan dan dipelihara di rumah kaca.

Analisis Pertumbuhan Tanaman dan Kolonisasi Cendawan. Pemanenan tanaman dilakukan pada umur 12 MST untuk tanaman yang ditumbuhkan pada media tanam steril dan 24 MST untuk tanaman yang ditumbuhkan pada media tanam tidak steril. Sebelum dipanen, dilakukan pengukuran terhadap tinggi tanaman dan jumlah serta tinggi anakan. Selanjutnya tanaman dipanen dengan cara memotong bagian tajuk. Tajuk ditimbang untuk memperoleh bobot basah tajuk, selanjutnya tajuk dikeringkan di dalam oven pada suhu 65°C sampai bobotnya konstan untuk pengukuran bobot kering Akar dan rimpang dicuci dan dipisahkan. Selanjutnya dikeringkan dengan kertas merang dan ditimbang untuk memperoleh bobot basah akar. Akar selanjutnya dibagi menjadi dua bagian yaitu satu bagian (25%) digunakan untuk analisis kolonisasi cendawan dan sebagian lainnya (75%) dikeringkan dalam oven pada suhu 65°C sampai bobotnya konstan untuk pengukuran bobot kering.

Analisis kolonisasi akar oleh cendawan dilakukan dengan cara memotong akar sepanjang 1 cm kemudian direndam dalam KOH 10% (v/v) dan dipanaskan selama 30 menit pada suhu 90°C. Akar kemudian dicuci dengan air mengalir, ditiriskan dan direndam dalam HCl 1% (v/v) selama 30 menit. Akar

selanjutnya diwarnai dengan cara direndam dalam larutan pewarna biru trypan dan dipanaskan selama 30 menit pada suhu 90°C. Akar kemudian direndam dalam larutan gliserol 50%. Setelah diwarnai, akar selanjutnya diamati struktur kolonisasi cendawannya menggunakan mikroskop cahaya. Struktur kolonisasi CMA yang diamati ialah titik penetrasi, hifa internal, arbuskula dan vesikula. Persen kolonisasi dihitung dengan rumus berikut (Brundrett *et al.* 1994).

$$\text{Persen kolonisasi (\%)} = \frac{\text{jumlah akar yang terkolonisasi}}{\text{total akar yang diamati}} \times 100$$

Pengukuran Kadar Bioaktif Kurkumin.

Pengukuran kadar kurkumin dilakukan dengan cara mengukur konsentrasi rubrokurkumin menggunakan spektrofotometer. Pengukuran dilakukan berdasarkan Rahayu *et al.* (2010) dan Kim *et al.* (2018) dengan cara menimbang sebanyak 0.1 gram rimpang *C. xanthorrhiza* halus kemudian dilarutkan dengan aseton. Larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring dan ditampung ke dalam labu ukur 25 ml lalu ditambahkan aseton hingga tera. Selanjutnya 1 ml dari larutan tersebut dipipet ke labu ukur baru dan ditambahkan dengan asam borat dan asam oksalat masing-masing sebanyak 50 mg. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya larutan ditera kembali dengan aseton hingga 25 ml. Larutan kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 531.5 nm.

HASIL

Pengaruh Inokulasi Cendawan Terhadap Pertumbuhan, Kolonisasi Akar dan Kadar Kurkumin Rimpang *C. xanthorrhiza* pada Media Tumbuh Steril.

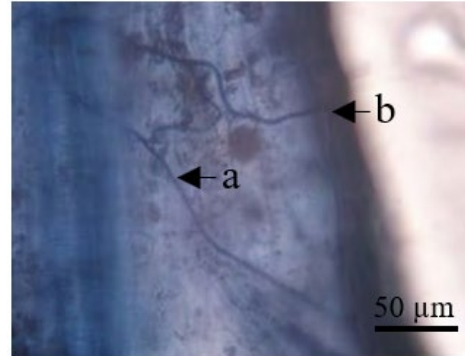
Pengaruh Inokulasi terhadap Pertumbuhan Tanaman dan Bobot Rimpang. Inokulasi cendawan pada tanaman *C. xanthorrhiza* mempunyai pengaruh lebih besar pada tajuk dari pada akar pada media tanam steril pada umur 12 MST (Tabel 1). Tanaman *C. xanthorrhiza* yang diinokulasikan dengan cendawan endofit akar dan CMA mengalami pertumbuhan tajuk yang lebih baik bila dibandingkan dengan tanaman yang tidak diinokulasi (Tabel 1). Tanaman yang diinokulasi cendawan *A. niger* mengalami pertumbuhan tinggi tajuk, bobot basah dan bobot kering tajuk tertinggi dibandingkan dengan perlakuan inokulasi lainnya dan kontrol. Tanaman *C. xanthorrhiza* yang diinokulasi *A. niger* memiliki nilai bobot basah dan bobot kering akar dan rimpang tertinggi. Secara umum, inokulasi tunggal *A. niger* secara nyata dapat meningkatkan pertumbuhan tajuk dan akar tanaman *C. xanthorrhiza* yang ditumbuhkan pada media tanam steril. Terdapat kecenderungan peningkatan bobot basah dan kering rimpang pada perlakuan ini walaupun perbedaannya tidak signifikan. Inokulasi tunggal *Glomus* sp. secara signifikan meningkatkan tinggi tajuk, namun tidak berpengaruh terhadap bobot tajuk, akar dan rimpang.

Sedangkan inokulasi ganda yaitu perlakuan GA dan G-A tidak berpengaruh terhadap tinggi tajuk maupun bobot tajuk dan akar (Tabel 1).

Pengaruh Inokulasi terhadap Kolonisasi Cendawan. Struktur CMA *Glomus* sp. yang teramati antara lain ialah struktur hifa internal, hifa apresorium, vesikula, dan arbuskula (Gambar 1). Sedangkan pada *A. niger* dijumpai struktur hifa internal dan apresorium (Gambar 2). Akar tanaman *C. xanthorrhiza* yang ditumbuhkan pada media steril memiliki nilai persentase kolonisasi cendawan tertinggi (60,5%) yaitu kolonisasi oleh *A. niger*. Selanjutnya diikuti oleh perlakuan G-A (54,83%), GA (54,80%), dan *Glomus* sp. (53,50%). Nilai persentase kolonisasi akar pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai kolonisasi pada perlakuan ganda merupakan kolonisasi total antara *Glomus* sp. dan *A. niger*.

Analisis Kandungan Kurkumin pada Rimpang. Secara umum perlakuan inokulasi cendawan meningkatkan kadar kurkumin yang terkandung dalam rimpang. Inokulasi tunggal *Glomus* sp.

meningkatkan kandungan kurkumin pada rimpang kering *C. xanthorrhiza* secara signifikan yaitu lebih dari dua kali lipat kandungan kurkumin pada perlakuan kontrol. Perlakuan inokulasi lainnya juga meningkatkan kandungan kurkumin rimpang, namun

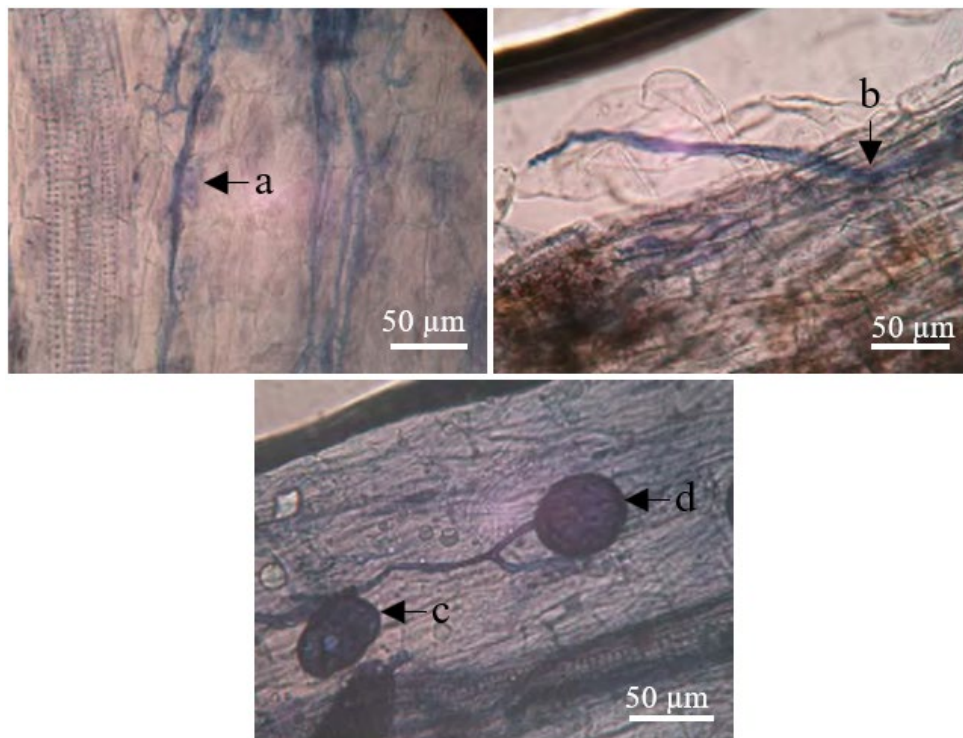


Gambar 2. Struktur kolonisasi cendawan endofit akar *A. niger* pada akar *C. xanthorrhiza* (a) hifa internal, (b) apresorium

Tabel 1. Analisis parameter kolonisasi, respon tumbuh dan kandungan kurkumin rimpang *C. xanthorrhiza* pada media steril

Perlakuan cendawan	<i>A. niger</i>	<i>Glomus</i> sp.	GA	G-A	K
Tinggi tajuk (cm)	142,75 ^a	128,25 ^b	123,13 ^{bc}	118,00 ^{bc}	111,50 ^c
BB tajuk (gr)	239,21 ^a	158,74 ^b	155,03 ^b	125,21 ^b	130,43 ^b
BK tajuk (gr)	33,63 ^a	21,63 ^b	23,00 ^b	18,75 ^b	20,13 ^b
BB akar (gr)	156,69 ^a	118,23 ^{ab}	93,12 ^b	94,99 ^b	114,85 ^b
BK akar (gr)	19,50 ^a	16,88 ^{ab}	12,13 ^b	13,13 ^b	16,75 ^{ab}
BK rimpang (gr)	2,75 ^a	1,63 ^a	1,33 ^a	1,50 ^a	2,00 ^a
% kolonisasi	60,50 ^a	53,50 ^a	54,80 ^a	54,83 ^a	0,00 ^b
g kurkumin/rumpun rimpang kering	0,08 ^a	0,16 ^b	0,08 ^a	0,10 ^a	0,07 ^a

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (DMRT). BB = bobot basah, BK = bobot kering, GA = *Glomus* sp. + *A. niger*, G-A = *Glomus* sp. + *A. niger* (inokulasi *A. niger* 3 minggu setelah *Glomus* sp.), K = kontrol (tanpa inokulasi)



Gambar 1. Struktur kolonisasi CMA pada akar *C. xanthorrhiza*. (a) arbuskula, (b) apresorium, (c) vesikula (d) spora

Tabel 2. analisis parameter kolonisasi, respon tumbuh dan kandungan kurkumin rimpang *C. xanthorrhiza* pada media tidak steril

Perlakuan cendawan	<i>A. niger</i>	<i>Glomus</i> sp.	GA	G-A	K
Tinggi tajuk (cm)	157,50 ^a	156,50 ^a	165,00 ^a	140,88 ^b	147,50 ^b
Tinggi tajuk anak (cm)	37,75 ^{ab}	-	45,50 ^a	16,63 ^b	-
Jumlah tajuk anakan	2 ^a	-	2 ^a	2 ^a	-
BB tajuk (gr)	226,25 ^a	185,00 ^a	243,75 ^a	260,00 ^a	216,25 ^a
BK tajuk (gr)	18,00 ^a	16,63 ^a	17,38 ^a	21,63 ^a	18,88 ^a
BB akar (gr)	107,50 ^a	81,25 ^b	91,25 ^b	88,75 ^b	106,25 ^a
BK akar (gr)	13,75 ^a	15,00 ^a	12,500 ^a	12,50 ^a	12,00 ^a
BK rimpang (gr)	32,25 ^b	44,00 ^a	47,00 ^a	44,38 ^a	36,38 ^b
% kolonisasi	52,00 ^a	52,83 ^a	56,17 ^a	44,50 ^a	0,0 ^b
g kurkumin/rumpun rimpang kering	3,82 ^b	12,23 ^a	3,81 ^b	4,24 ^b	1,20 ^c

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (DMRT). BB = bobot basah, BK = bobot kering, GA = *Glomus* sp. + *A. niger*, G-A = *Glomus* sp. + *A. niger* (inokulasi *A. niger* 3 minggu setelah *Glomus* sp.), K = kontrol (tanpa inokulasi)

peningkatan tersebut tidak signifikan secara statistik. Nilai kandungan kurkumin dalam rimpang kering pada media tumbuh tanaman steril disajikan pada Tabel 1. Nilai kandungan kurkumin tertinggi dihasilkan oleh tanaman yang diinokulasi dengan *Glomus* sp. (0,16 g), diikuti perlakuan G-A (0,10 g), *A. niger* (0,08 g), GA (0,08 g), dan terkecil ialah kontrol (0,07 g).

Pengaruh Inokulasi Cendawan Terhadap Pertumbuhan, Kolonisasi Akar dan Kadar Kurkumin Rimpang *C. xanthorrhiza* pada Media Tumbuh Tidak Steril.

Pengaruh Inokulasi Terhadap Pertumbuhan Tanaman dan Bobot Rimpang. Respon inokulasi terhadap pertumbuhan dan bobot rimpang tanaman *C. xanthorrhiza* pada media tumbuh tidak steril berbeda dengan pada media steril (Tabel 1 dan 2). Seluruh perlakuan inokulasi meningkatkan tinggi tajuk tanaman secara signifikan dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Tabel 2). Perlakuan inokulasi tidak mempengaruhi bobot tajuk dan akar kecuali perlakuan inokulasi tunggal *Glomus* sp., dan inokulasi ganda yaitu menurunkan bobot basah akar. Nilai tinggi tajuk tertinggi teramati pada tanaman yang diinokulasi ganda (GA), sedangkan tanaman yang memiliki bobot basah dan bobot kering tertinggi ialah tanaman yang diinokulasi ganda berurutan (G-A).

Perlakuan inokulasi cendawan juga meningkatkan bobot kering rimpang secara signifikan kecuali perlakuan inokulasi tunggal *A. niger* yang memberikan pengaruh tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol.

Pengaruh Inokulasi Terhadap Kolonisasi Cendawan. Semua tanaman yang ditumbuhkan pada media tidak steril yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan membentuk kolonisasi cendawan pada akar pada umur pengamatan 24 MST. Nilai kolonisasi akar oleh cendawan berkisar antara 44,50 sampai 56,17 % dengan kolonisasi tertinggi terdapat pada perlakuan inokulasi ganda GA dan terendah pada inokulasi ganda berurutan G-A (Tabel 2). Pada perlakuan kontrol tidak terbentuk kolonisasi cendawan. Struktur kolonisasi yang terbentuk pada akar yang diinokulasi *Glomus*

sp. ialah hifa internal, hifa apresorium, aruskula dan vesikula, sedangkan inokulasi dengan *A. niger* terbentuk struktur apresorium dan hifa internal.

Analisis Kandungan Kurkumin pada Rimpang. Nilai kandungan kurkumin dalam rimpang pada panen umur 24 MST disajikan pada Tabel 2. Seluruh perlakuan inokulasi cendawan meningkatkan kandungan kurkumin rimpang tanaman *C. xanthorrhiza* secara signifikan baik pada inokulasi tunggal maupun ganda dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Inokulasi tunggal *Glomus* sp. menghasilkan kandungan kurkumin tertinggi yaitu 12,23 gram. Nilai ini ialah 10 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan inokulasi tunggal *A. niger* dan inokulasi ganda meningkatkan kandungan kurkumin rimpang sekitar 3,5 kali lebih tinggi dari perlakuan kontrol. Kandungan kurkumin rimpang pada perlakuan inokulasi *A. niger* dan inokulasi ganda ialah antara 3,81 sampai 4,24 gram, sedangkan pada perlakuan kontrol ialah 1,20 gram per rumpun rimpang.

PEMBAHASAN

Tanaman *C. xanthorrhiza* ditumbuhkan pada media steril hingga umur 12 MST dan pada media tidak steril hingga umur 24 MST. Perbedaan waktu pertumbuhan dilakukan karena keterbatasan media tumbuh. Pada media tumbuh steril, tanaman ditumbuhkan pada media tumbuh sebanyak 3 kg, sedangkan pada media tumbuh tidak steril digunakan media tumbuh sebanyak 6 kg. Oleh karena itu, media tumbuh steril memiliki keterbatasan ruang untuk pertumbuhan *C. xanthorrhiza* sehingga pengamatan dilakukan pada umur 12 MST. Walaupun demikian, Tanaman *C. xanthorrhiza* dapat bersimbiosis dengan cendawan endofit akar *A. niger* dan CMA *Glomus* sp. pada media tumbuh steril maupun tidak steril. Media tumbuh steril dilakukan untuk mengamati pengaruh perlakuan tanpa adanya pengaruh luar seperti mikroorganisme lain pada tanah, sedangkan media tumbuh tidak steril dilakukan untuk mengamati pengaruh perlakuan pada kondisi yang mirip seperti di lingkungan pertanian.

Pada media tumbuh steril, inokulasi *A. niger* memberikan respon pertumbuhan tanaman *C. xanthorrhiza* terbaik dibandingkan dengan kontrol

dan perlakuan inokulasi lainnya. Tanaman yang diinokulasi *A. niger* memiliki tinggi tajuk, bobot basah dan kering tajuk, bobot basah dan kering akar, dan bobot kering rimpang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena cendawan *A. niger* dapat menghasilkan hormon tumbuh tanaman seperti auksin yang berperan dalam pembelahan sel tanaman inang (Lubna *et al.* 2018). Cendawan endofit *A. niger* juga dapat melarutkan fosfat (P) tanah yang terjerap dan tidak dapat diserap oleh akar tanaman menjadi P yang tersedia. Pada tanah masam, P anorganik dijerap oleh partikel liat, Fe^{+3} , dan Al^{+3} . Sedangkan pada tanah basa, P anorganik dijerap oleh Ca^{+2} . Cendawan endofit akar dilaporkan dapat mensekresikan asam organik seperti asam sitrat, glukonat, oksalat, dan suksinat yang dapat melarutkan fosfat terfiksasi dan kemampuannya mengkelat Ca^{+2} , Fe^{+3} , dan Al^{+3} . Chuang *et al.* (2007) melaporkan bahwa *A. niger* memproduksi asam glukonat secara ekstraseluler yang disekresikan pada media tumbuh yang mengandung $Ca_3(PO_4)_2$ dan mensekresikan asam oksalat pada media tumbuh yang mengandung $FePO_4$ dan $AlPO_4$. Selain itu, Zulfitri *et al.* (2007) melaporkan inokulasi *A. niger* dapat meningkatkan kandungan klorofil pada daun yang kemudian dapat meningkatkan aktivitas fotosintesis. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Khastini *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa perlakuan inokulasi tunggal *A. niger* memberikan respon pertumbuhan vegetatif terbaik pada tanaman pertanian dan kehutanan.

Secara umum perlakuan inokulasi tunggal *A. niger* maupun *Glomus* sp. memberikan respon pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan inokulasi ganda. Hal ini diduga disebabkan oleh minimnya ukuran media tanam sehingga kadar fosfat dalam media tanam pada perlakuan inokulasi ganda mengalami penipisan lebih cepat dibanding dengan perlakuan inokulasi tunggal. Penipisan kandungan fosfat tanah menyebabkan tanaman mengalami defisiensi unsur tersebut terutama untuk tanaman yang ditumbuhkan pada ukuran media terbatas (3 kg). Selain itu pada inokulasi ganda kemungkinan terjadi kompetisi antara *A. niger* dan *Glomus* sp. dalam mengkolonisasi akar sehingga menurunkan penyerapan P.

Pada media tumbuh tidak steril, inokulasi cendawan meningkatkan tinggi tanaman kecuali pada perlakuan G-A. Selain itu, inokulasi *Aspergillus* sp. pada perlakuan tunggal maupun ganda meningkatkan jumlah anakan rimpang. Hal ini diduga berhubungan dengan peran *Aspergillus* sp. sebagai penghasil hormon tumbuh tumbuhan dan pelarut P.

Penggunaan media tanam yang tidak steril dan dalam jumlah lebih banyak (6 kg) dapat memberikan lingkungan yang mendorong kedua cendawan untuk dapat berimbiosis secara sinergis. Ketersediaan P di dalam media yang lebih banyak memungkinkan terjadinya eksplorasi hifa cendawan di rizosfir tanah yang lebih besar dibandingkan pada media steril (3 kg) untuk menyerap P. Selain itu, seluruh

perlakuan inokulasi cendawan pada media tidak steril meningkatkan kandungan kurkumin dalam rimpang tanaman *C. xanthorrhiza* dengan hasil tertinggi diperoleh pada perlakuan inokulasi *Glomus* sp. yaitu 10 kali lebih tinggi dari perlakuan kontrol dan 3 kali lebih besar dari perlakuan inokulasi lainnya.

Beberapa laporan hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi kombinasi cendawan endofit akar dengan CMA memberikan pertumbuhan tanaman inang yang lebih baik. Tarafdar dan Marschner (1995) melaporkan bahwa kombinasi cendawan *A. fumigatus* dan CMA dapat meningkatkan akitivitas pelarutan P dan pertumbuhan tajuk tanaman. Medina *et al.* (2006) melaporkan kombinasi *A. niger*, CMA, dan batuan P alam meningkatkan pertumbuhan *Trifolium repens* pada tanaman yang ditumbuhkan di tanah yang terkontaminasi Zn. Medina *et al.* (2010) juga melaporkan interaksi CMA dan *A. niger* meningkatkan resistensi tanaman terhadap kekeringan dan tekanan oksidatif sehingga mencegah terjadinya kerusakan tanaman yang disebabkan dari keterbatasan air dan nutrisi. Interaksi tersebut dapat digunakan dalam strategi pengelolaan sumber daya alam yang menjamin pertumbuhan, nutrisi dan resistensi tanaman di area lahan kering dan terdegradasi.

Cendawan endofit akar *A. niger* dan CMA *Glomus* sp. terbukti dapat mengkolonisasi akar tanaman *C. xanthorrhiza*. Kolonisasi ini terjadi pada tanaman *C. xanthorrhiza* yang ditumbuhkan pada media steril maupun tidak steril dengan baik. Struktur CMA yang teramati antara lain ialah struktur hifa internal, hifa apresorium, struktur vesikula sebagai tempat cadangan makanan, dan arbuskula sebagai tempat transfer nutrisi antara cendawan dengan tanaman. Struktur CMA yang terbentuk termasuk ke dalam tipe Arum, karena tidak ditemukannya struktur hifa koil pada arbuskula. Pada hifa *A. niger* ditemukan struktur hifa internal dan apresorium yang merupakan karakteristik struktur kolonisasi cendawan endofit.

Selain pengaruh inokulasi cendawan terhadap respon tumbuh tanaman inang, pada penelitian ini dipelajari juga pengaruhnya terhadap senyawa bioaktif kurkumin sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman inang yang mempunyai nilai farmakologi. Jumlah nutrisi yang tersedia dan umur panen tanaman merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kadar kurkumin (Hadipoentyanti & Syahid 2007). Pada panen umur 12 MST, perlakuan inokulasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan kurkumin dalam rimpang bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan nutrisi yang tersedia pada tanaman masih diutamakan untuk pertumbuhan vegetatif tanaman, sehingga pemanenan pada umur 12 minggu setelah tanam menyebabkan tanaman belum optimal memproduksi kurkumin. Hasil panen tanaman *C. xanthorrhiza* pada umur 24 MST, menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi mampu meningkatkan kadar kurkumin dalam rimpang kering. Seluruh perlakuan inokulasi meningkatkan kandungan kurkumin secara signifikan dan perlakuan inokulasi

tunggal *Glomus* sp. meningkatkan kandungan kurkumin 10 kali lebih besar dari kontrol sedangkan perlakuannya lainnya meningkat 3-4 kali lebih tinggi. Hal ini diduga karena pemanfaatan nutrisi P pada perlakuan tunggal *Glomus* sp. lebih dialokasikan pada pembentukan rimpang dan produksi kurkumin dari pada dialokasikan ke pertumbuhan tajuk, sedangkan pada perlakuan *A. niger* tunggal maupun inokulasi ganda lebih cenderung diarahkan untuk pertumbuhan tajuk dan pembentukan anakan. Machiani *et al.* (2022) dan Ran *et al.* (2022) melaporkan bahwa CMA pada tanaman obat dapat meningkatkan metabolit primer dan sekunder dengan mekanisme langsung melalui peningkatan penyerapan nutrisi dan air dan peningkatan kapasitas fotosintesis, atau secara tidak langsung dengan menstimulai produksi metabolit sekunder melalui perubahan konsentrasi fitohormon dan produksi molekul sinyal. CMA juga dilaporkan meningkatkan potensi alelopati dan kemampuan berkompetisi melalui peningkatan produksi metabolit sekunder pada 3 spesies gulma (Rashidi *et al.* 2022). Selain itu kemampuan *A. niger* menghasilkan hormon auksin yang berperan pada perkecambahan tanaman, diduga menyebabkan tanaman tersebut lebih dominan menggunakan nutrisinya untuk pembentukan tajuk dan anakan dibandingkan ke arah pembentukan senyawa metabolit sekunder (Zulfitri *et al.* 2007; Khastini *et al.* 2022).

Cendawan endofit akar *A. niger* dan CMA mampu mengkolonisasi akar tanaman *C. xanthorrhiza* dan mampu berperan sebagai pupuk hayati yang berpotensi meningkatkan respon pertumbuhan dan kualitas rimpang berupa peningkatan kandungan senyawa bioaktif kurkumin. Perlakuan inokulasi cendawan pada umumnya dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman *C. xanthorrhiza*. Pada penelitian ini juga dilakukan perlakuan dengan menggunakan media taman tidak steril untuk mendapatkan gambaran umum kemampuan perlakuan inokulasi cendawan pada pertanian temulawak di lapang. Hasil perlakuan pada media taman tidak steril menunjukkan perlakuan inokulasi ganda memiliki kemampuan paling baik dalam meningkatkan respon tumbuh tanaman. Namun, perlakuan inokulasi tunggal *Glomus* sp. menghasilkan jumlah kandungan kurkumin tertinggi di dalam rimpang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi (PPSHB), IPB dalam menyediakan fasilitas rumah kaca selama kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Ab Halim MR, Tan MS, Ismail SA, Mahmud RO. 2012. Standardization and phytochemical studies of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Int J Pharm Pharm Sci* 4:606-610.

- Afzal A, Oriqat G, Khan MA, Jose J, Afzal M. 2013. Chemistry and biochemistry of terpenoids from *Curcuma* and related species. *J Biol Act Prod Nat* 3:1-55. <https://doi.org/10.1080/022311866.2013.782757>
- Aggarwal BB, Kumar A, Aggarwal MS, Shisodia S. 2005. Curcumin Derived from Turmeric (*Curcuma longa*): A Spice for All Seasons. In: Bagchi D, Preuss HG. (Eds.), *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*. Boca Raton: CRC Press, p. 349-387. <https://doi.org/10.1201/9780203506707.ch23>
- Akarchariya N, Sirilun S, Julsrigival J, Chansakaowa S. 2017. Chemical profiling and antimicrobial activity of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Curcuma glans* K. Larsen & J. Mood and *Curcuma cf. xanthorrhiza* Roxb. collected in Thailand. *Asian Pac J Trop Biomed* 7:881-885. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.09.009>
- Brundrett M, Melville L, Peterson L. 1994. Practical Methods in Mycorrhiza Research: based on a workshop organized in conjunction with the ninth North American Conference on mycorrhizae. Canada: University of Guelph.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2019. Statistics of Medicinal Plants Indonesia. Jakarta: BPS-statistics Indonesia.
- Cho JY, Kim HY, Kim HM, Song HN, Hong E, Hwang JK, Chun HS. 2017. Standardized ethanolic extract of the rhizome of *Curcuma xanthorrhiza* prevents murine ulcerative colitis by regulation of inflammation. *J Funct Foods* 30:282-289. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.020>
- Chuang CC, Yu-Lin K, Chao CC, Chao WL. 2007. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Bio Fertils Soil* 43:575-584. <https://doi.org/10.1007/s00374-006-0140-3>
- Faiza LL, Arifin PF, Nurcholis W, Ridwan T, Darusman LK, Susilowidodo RA, Wisastra R. 2018. Effect of local microorganism utilization to increase productivity of Javanese Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *J Jamu Indo* 3:62-67. <https://doi.org/10.29244/jji.v3i2.55>
- Hadipoentyanti E, Syahid SF. 2007. Respon temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) hasil rimpang kultur jaringan generasi kedua terhadap pemupukan. *Littri* 13:106-110. <https://doi.org/10.21082/jlittri.v13n3.2007.106-110>
- Jantan I, Saputri FC, Qaisar MN, Buang F. 2012. Correlation between chemical composition of curcuma domestica and *Curcuma xanthorrhiza* and their antioxidant effect on human low-density lipoprotein oxidation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012:438356. <https://doi.org/10.1155/2012/438356>
- Khastini RO, Sukarno N, Suharsono UW, Hashidoko Y. 2022. Isolasi dan respons tumbuh cendawan mutualistik akar pada beberapa tanaman pangan dan kehutanan. *J Ilmu Pertan Indones* 27:85-94. <https://doi.org/10.18343/jipi.27.1.85>
- Kim JY, Kang YY, Kim EJ, Ahn JH, Mok H. 2018. Effects of curcumin-/boron-based compound complexation on antioxidant and antiproliferation activity. *Appl Biol Chem* 61:403-408. <https://doi.org/10.1007/s13765-018-0374-4>
- Krup V, Prakash HL, Harini A. 2013. Pharmacological activities of turmeric (*Curcuma longa* Linn): a review. *J Tradit Med Clin Naturop* 2:133. <https://doi.org/10.4172/2167-1206.1000133>
- Lim CS, Jin DQ, Mok H, Oh SJ, Lee JU, Hwang JK, Ha I, Han JS. 2005. Antioxidant and antiinflammatory activities of xanthorrhizol in hippocampal neurons and primary cultured microglia. *J Neurosci Res* 82:831-838. <https://doi.org/10.1002/jnr.20692>
- Lubna, Asaf S, Hamayun M, Gul H, Lee IJ, Hussain A. 2018. *Aspergillus niger* CSR3 regulates plant endogenous hormones and secondary metabolites by producing gibberellins and indoleacetic acid. *Plant. Interact* 13:100-111. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1436199>

- Machiani MA, Javanmard A, Machiani RH, Sadeghpour A. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi and changes in primary and secondary metabolites. *Plants* 11:1-10. <https://doi.org/10.3390/plants11172183>
- Mary HPA, Susheela GK, Jayasree S, Nizy AM, Rajagopal B, Jeeva S. 2012. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Asian Pac J Trop Biomed* 2:637-640. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60288-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60288-3)
- Medina A, Roldán A, Azcón R. 2010. The effectiveness of arbuscular-mycorrhizal fungi and *Aspergillus niger* or *Phanerochaete chrysosporium* treated organic amendments from olive residues upon plant growth in a semi-arid degraded soil. *J Environ Manage* 91:2547-2553. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.07.008>
- Medina A, Vassileva M, Barea JM, Azcon R. 2006. The growth-enhancement of clover by *Aspergillus*-treated sugar beet waste and *Glomus mosseae* inoculation in Zn contaminated soil. *App Soil Ecol* 33:12-17. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.08.003>
- Nugroho A, Rohman A, Lukitaningsih E, Rakhmawati N, Sudjadi S. 2015. Analysis of curcumin in ethanolic extract of *Curcuma longa* Linn. and *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. using high performance liquid chromatography with UV detection. *Res J Phytochem* 9:188-194. <https://doi.org/10.3923/rjphyto.2015.188.194>
- Rahayu WS, Tjiptasurasa T, Indriyani D. 2010. Kurkuminoid, penetapan kadarnya pada jamu serbuk temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) secara spektrofotometri ultraviolet-visibel. *Pharmacy* 7:131-137.
- Rahmat E, Lee J, Kang Y. 2021. Javanese Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.): ethnobotany, phytochemistry, biotechnology, and pharmacological activities. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021:9960813. <https://doi.org/10.1155/2021/9960813>
- Ramdani ED, Marlupi UD, Sinambela J, Tjandrawinata RR. 2016. A new method of xanthorrhizol isolation from the rhizome extract of *Curcuma xanthorrhiza*. *Sch Acad J Biosci* 4:732-737.
- Ran Z, Ding W, Cao S, Fang L, Zhou J, Zhang Y. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi: effects on secondary metabolite accumulation of traditional Chinese medicines. *Plant Biology* 24:932-938. <https://doi.org/10.1111/plb.13449>
- Rashidi S, Yousefi AR, Pouryousef M, Goicoechea N. 2022. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the accumulation of secondary metabolites in roots and reproductive organs of *Solanum nigrum*, *Digitaria sanguinalis* and *Ipomoea purpurea*. *Chem Biol Technol Agric* 9:1-11. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00288-1>
- Raut JS, Karuppaiyl SM. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod* 62:250-264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>
- Salleh NM, Ismail S, Ab Halim M. 2016. Effects of *Curcuma xanthorrhiza* extracts and their constituents on phase II drug-metabolizing enzymes activity. *Pharmacognosy Res* 8:309. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188873>
- Schmidt E, Ryabchenko B, Wanner J, Jäger W, Jirovetz L. 2015. Cytotoxic active constituents of essential oils of *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza*. *Nat Prod Commun* 10:139-141. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000132>
- Sikha A, Harini A, Prakash H. 2015. Pharmacological activities of wild turmeric (*Curcuma aromatica* Salisb): a review. *J Pharmacogn Phytochem* 3:1-4.
- Simamora A, Timotius KH, Yerer MB, Setiawan H, Mun'im A. 2022. Xanthorrhizol, a potential anticancer agent, from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Phytomedicine* 105:154359.
- Smith SE, Smith FA, Jacobsen I. 2003. Mycorrhizal can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol* 133:16-20. <https://doi.org/10.1104/pp.103.024380>
- Tarafdar JC, Marschner H. 1995. Dual inoculation with *Aspergillus fumigatus* and *Glomus mosseae* enhances biomass production and nutrient uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) supplied with organic phosphorus as Na-phytate. *Plant and Soil* 173:97-102. <https://doi.org/10.1007/BF00155522>
- Xiao C, Fang Y, Chi R. 2013. Phosphate solubilization *in vitro* by isolated *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius*. *Res Chem Intermed* 41:2867-2878. <https://doi.org/10.1007/s11164-013-1395-6>
- Young CC, Huang ZQ, Lin DF. 2000. Studies on properties of solubilizing tricalcium phosphate of *Pseudomonas cepacia* Al-74 strain. *J Agric Assoc China* 1:150-158.
- Zhang CM, Fan PH, Li M, Lou HX. 2014. Two new sesquiterpenoids from the rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *Helvetica Chimica Acta* 97:1295-1300. <https://doi.org/10.1002/hlca.201300440>
- Zulfitri A, Sukarno N, Prawitasari T. 2007. Peran fungi mikoriza arbuskula *Glomus manihotis* dan fungi endofitik akar, *Aspergillus niger*, terhadap pertumbuhan tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn). *Dalam: Prosiding Seminar Nasional Mikoriza II*. Bogor: Seameo Biotrop, p 52-59.