

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Masyarakat Indonesia sekarang ini banyak yang mulai menganut budaya penggunaan bahan-bahan alami atau dikenal dengan istilah kembali ke alam (*Back to Nature*). Dengan berkembangnya budaya tersebut, masyarakat lebih menyukai untuk mengkonsumsi bahan makanan maupun obat-obatan dari bahan alami. Hal ini membuka kesempatan bagi pengembangan dan budidaya tumbuhan obat yang masih tumbuh secara liar. Selain digunakan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat, usaha budidaya tumbuhan obat juga berguna untuk mencegah terjadinya kepunahan, sebab tumbuhan obat yang dibiarkan tumbuh secara liar lama kelamaan akan punah karena berbagai faktor lingkungan.

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat. Khasiat obat yang terdapat pada pegagan ini berasal dari kandungan zat kimia yang merupakan hasil metabolisme sekundernya. Menurut Handra (2002), pegagan mengandung senyawa triterpenoid yaitu asam asiaticat, asam madekasat, asiaticosida, madekasosida. Kegunaan pegagan antara lain sebagai obat sakit perut, luka, obat cacing, kencing batu, demam, pembersih darah, batuk kering dan penyakit anak-anak hidung berdarah.

Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh menggunakan cara konvensional yaitu ekstraksi langsung. Cara ekstraksi langsung membutuhkan bahan baku (tumbuhan) dalam jumlah banyak. Sejalan dengan berkembangnya

teknik kultur *in-vitro*, maka semakin banyak penelitian yang dilakukan dengan metode tersebut. Selain digunakan untuk metode propagasi tumbuhan, teknik kultur *in-vitro* juga dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder. Salah satu metode dalam kultur *in-vitro* untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder adalah kultur suspensi sel. Dengan memanipulasi media, lingkungan kultur maupun eksplan, serta penambahan hormon pertumbuhan, prekursor dan elisitor tertentu akan menaikkan kandungan senyawa metabolit sekunder tertentu (Staba dalam Prihastanti, 1999). Sehingga teknik kultur suspensi sel lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan cara ekstraksi langsung tumbuhan pegagan.

Kultur suspensi sel merupakan sel atau sekumpulan sel yang dikulturkan dalam medium cair tertentu (Bhojwani and Razdan, 1983). Dalam kultur suspensi sel ini biasanya menggunakan eksplan yang berasal dari kalus, tetapi untuk studi tertentu sel mesofil daun lebih sesuai karena kemampuan differensiasi lebih baik. Keuntungan menggunakan sel-sel mesofil sebagai eksplan adalah karena sel mesofil memiliki keseragaman morfologi dan genetik, tersusun atas sel dalam jumlah banyak serta relatif tanpa mutasi jika dibandingkan dengan kalus. Untuk melakukan kultur suspensi sel dari mesofil daun diperlukan beberapa tahapan kerja, yaitu pemisahan sel mesofil dari jaringan, purifikasi sel dan kultur sel (Santoso dan Nursandi, 2003).

Pada kultur suspensi sel, diperlukan banyak sel-sel viabel untuk dijadikan eksplan. Menurut Prihastanti (1999) sel yang digunakan sebagai eksplan dalam kultur suspensi sel adalah sel dengan jumlah banyak dan mempunyai

viabilitas tinggi. Viabilitas sel ditentukan dari kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan metabolismenya. Viabilitas sel merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur suspensi sel, sebab dengan menggunakan sel yang memiliki viabilitas tinggi, maka sel dalam medium tersebut dapat hidup dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang diinginkan.

Dalam proses pemisahan sel (isolasi sel) dan purifikasi sel diperlukan adanya zat yang dapat mempertahankan tekanan osmotik sel sehingga sel hasil isolasi tidak mudah rusak atau mengalami plasmolisis karena kondisi lingkungan yang tidak sesuai (hipotonis maupun hipertonis). Larutan yang digunakan untuk mempertahankan stabilitas tekanan osmotik sel disebut dengan *osmotik stabilizer* (osmotikum). Menurut Bhojwani and Razdan (1983) zat yang digunakan sebagai osmotikum adalah sorbitol, glukosa, mannitol dan sukrosa. Pada beberapa penelitian disebutkan penggunaan sorbitol dan mannitol sebagai osmotikum adalah berkisar antara 450 mmol/L - 800 mmol/L (81,9 g/L - 145,6 g/L) (Bhojwani and Razdan, 1983). Adapula yang menyebutkan penggunaan sorbitol sebesar 13 % (130 g/L) untuk isolasi protoplast (Reinert and Bajaj, 1989). Dixon (1987) menyatakan bahwa pada medium purifikasi sel mesofil tumbuhan tomat digunakan sorbitol dengan kisaran antara 54 g/L - 100 g/L. Untuk memperoleh viabilitas sel yang optimal diperlukan konsentrasi sorbitol yang tepat. Perbedaan konsentrasi penggunaan sorbitol sebagai osmotikum akan mempengaruhi jumlah sel viabel yang dihasilkan dari proses isolasi sel dan purifikasi sel. Oleh karena itu, konsentrasi yang efektif dari sorbitol sebagai osmotikum akan menghasilkan jumlah sel viabel yang tinggi.

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut maka dapat dikemukakan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi sorbitol dalam medium purifikasi sel terhadap perolehan jumlah sel yang viabel.
2. Berapa konsentrasi efektif dari penggunaan sorbitol dalam medium purifikasi sel untuk mendapatkan jumlah sel viabel paling tinggi.

## 1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Mengkaji pengaruh perbedaan konsentrasi sorbitol dalam medium purifikasi sel terhadap perolehan jumlah sel yang viabel.
2. Menentukan konsentrasi efektif dari penggunaan sorbitol dalam medium purifikasi sel untuk mendapatkan jumlah sel viabel paling tinggi.

## 1.4. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang pengaruh konsentrasi sorbitol dalam medium purifikasi sebagai zat osmotikum yang dapat mempertahankan tekanan osmotik sel sehingga sel tetap viabel untuk dijadikan sebagai eksplan dalam kultur suspensi sel pegagan.