

ISOLASI DAN PURIFIKASI SEL MESOFIL DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*, L.) URBAN UNTUK PENYEDIAAN EKSPLAN BAGI KULTUR SUSPENSII SEL

E. Prihastanti¹, Y. Nurchayati¹, N. Setiari¹, E.D. Hastuti¹
¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Diponegoro Semarang
e-mail: eprihast@yahoo.co.id

Abstrak— Salah satu tanaman obat yang hampir selalu digunakan sebagai komponen pada industri jamu tradisional di Indonesia adalah pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban. Kandungan kimia yang sudah teruji secara klinis menjadikan tanaman ini banyak dibudidayakan. Salah satu cara budidaya tanaman untuk produksi metabolit sekunder adalah melalui kultur suspensi sel. Kultur suspensi sel dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan kalus maupun eksplan dari sel mesofil daun. Penyediaan eksplan sel mesofil untuk kultur suspensi umumnya melalui tahapan isolasi sel dan purifikasi sel. Tahapan ini mempunyai fungsi yang penting terutama dalam perolehan jumlah sel dan viabilitas sel. Tujuan penelitian ini adalah mengkaji pengaruh konsentrasi enzim dan sukrosa serta kombinasi keduanya serta pengaruh lama inkubasi dan kecepatan stirer terhadap jumlah perolehan dan viabilitas sel mesofil daun pegagan. Dari hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan konsentrasi sukrosa dan enzim mempengaruhi perolehan jumlah sel viabel dan viabilitas sel dengan kombinasi yang efektif yaitu dengan konsentrasi sukrosa 30% dan *macerozym* 0,1 %. Lama inkubasi dan kecepatan stirer serta kombinasinya juga mempengaruhi perolehan jumlah sel viabel dengan kombinasi yang efektif pada kecepatan stirer 600 rpm dan lama inkubasi 15 menit.

Kata Kunci: Kultur suspensi sel, isolasi sel, purifikasi sel, *Centella asiatica* (L.) Urban

PENDAHULUAN

Kultur *in vitro* mempunyai peranan penting khususnya dalam produksi metabolit sekunder tanaman baik melalui kultur kalus maupun kultur suspensi sel. Kultur suspensi sel dapat dilakukan dengan eksplan kalus maupun eksplan dari sel mesofil daun. Penyediaan eksplan sel mesofil untuk kultur suspensi melalui tahapan isolasi sel dan purifikasi sel. Tahapan ini mempunyai fungsi yang penting terutama dalam perolehan jumlah sel dan viabilitas sel. Dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi sel dan purifikasi sel. Pada isolasi sel akan dilakukan kajian terhadap pengaruh konsentrasi enzim dan sukrosa serta kombinasi keduanya; pengaruh lama inkubasi dan kecepatan stirer terhadap jumlah perolehan dan viabilitas sel mesofil. Dari hasil penelitian ini akan diperoleh informasi

metode yang efektif untuk penyediaan eksplan mesofil daun pegagan pada kultur suspensi sel.

Pegagan merupakan tanaman obat yang hampir selalu digunakan pada industri jamu tradisional Indonesia. Komposisi penggunaannya bervariasi untuk setiap merek jamu, berkisar 5% - 20%. Kegunaan pegagan antara lain sebagai diuretik, antihipertensi, obat lepra, dan antiferti (Prmono, 1992). Di samping itu ekstrak pegagan digunakan pada industri obat modern seperti untuk keloid (Hefnawi, 1962 a), luka akar, bisul dan nama dagang madecassol (Hefnawi, 1962 b).

Teknik kultur jaringan tidak hanya dilakukan untuk propagasi tanaman, tetapi akhir-akhir ini banyak digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder. Pada produksi metabolit dilakukan dengan kultur suspensi sel. Pada kultur suspensi sel, eksplan yang digunakan dapat berupa suspensi sel kalus maupun dari sel-sel mesofil daun (Dixon, 1992). Isolasi sel dapat dilakukan secara mekanik maupun khemis. Proses isolasi sel biasanya dilakukan dengan mengkombinasikan teknik khemis dan mekanis. Pada pemisahan sel dipengaruhi oleh umur tanaman, jenis eksplan konsentrasi enzim, lamanya inkubasi, kecepatan stirer, dan faktor lingkungan. Adapun tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah mengkaji perlakuan dalam isolasi dan purifikasi sel mesofil daun pegagan untuk kultur suspensi sel dimana kajian akan difokuskan pada pengaruh konsentrasi enzim dan sukrosa serta kombinasinya terhadap terhadap perolehan dan viabilitas sel mesofil daun pegagan, serta pengaruh lama inkubasi dan kecepatan stirer serta kombinasinya terhadap perolehan dan viabilitas sel mesofil daun pegagan.

METODE, ALAT, DAN BAHAN

1. Bahan Penelitian

Tanaman Pegagan (*C. asiatica*) yang diambil dari daerah Tembalang dan ditanam di pot pada rumah kaca laboratorium BSF Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP, bahan kimia untuk sterilisasi, medium untuk maserasi, medium untuk purifikasi, dan larutan safranin 0,2%, *macerozym* Onozuka R-10.

2. Alat Penelitian

Alat untuk sterilisasi, isolasi dan purifikasi sel serta kultur sel. *Laminar AirFlow* yang dilengkapi lampu UV, autoklaf untuk sterilisasi alat