

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Araki pada tahun 1965 dalam penelitiannya membuktikan agar merupakan polisakarida yang tersusun dari dua fraksi utama. Fraksi netral yang merupakan substansi bebas sulfat yang disebut agarosa dan fraksi bermuatan yang merupakan polisakarida tersulfatasi yang dikenal dengan agaropektin (Santos, 1990). Kandungan sulfat pada agaropektin mempengaruhi besarnya kekuatan gel, semakin tinggi kadar sulfat kekuatan gel akan semakin rendah (Glicksman, 1983).

Agarosa sebagai fraksi netral dari agar memiliki karakteristik yang lebih baik dibandingkan dengan agaropektin dalam pemanfaatan dibidang bioteknologi serta memiliki nilai jual yang lebih mahal dibanding agar mikrobiologi. Sebagai prosedur telah banyak dikembangkan untuk mengisolasi dan memurnikan agarosa dari agar sehingga dapat memperoleh agarosa dengan kadar sulfat yang rendah (0,1 – 0,7). Pemurnian agarosa dari agar dapat dilakukan secara sederhana dengan menggunakan metode glikol dengan pelarut alkilen glikol. Pemisahan agarosa dan agaropektin yang dilakukan berdasarkan pada kelarutan agarosa dan agaropektin pada pelarut yang digunakan untuk mengendapkan agarosa. Metode ini relatif sederhana dan mudah dilakukan (Provonchee, 1991).

Adnan dkk (2016) berhasil mengisolasi agarosa menggunakan modifikasi metode Provonchee dengan pelarut etilen glikol. Hasil isolasi berupa serbuk agarosa dengan rendemen 73% dan kadar sulfat 0,1%, memiliki kadar sulfat yang sama dengan agarosa standar untuk elektroforesis. Agarosa hasil isolasi kemudian diaplikasikan sebagai fase diam elektroforesis dalam identifikasi DNA HPV dan memberikan hasil yang sama baik dengan agarosa standar. Agarosa hasil isolasi menggunakan pelarut

etilen glikol juga dapat diaplikasikan sebagai pengganti agar sebagai media uji difusi cakram antibiotik dan adsorben zat warna pada analisa tatrazin menggunakan *TLC Scanner* (Adnan dkk, 2017).

Kanker paru di Indonesia berada pada urutan ke tiga penyebab kematian pada penderita kanker. Di dunia kanker paru menjadi penyebab kematian nomor satu pada kasus penderita kanker laki-laki pada tahun 2012 (Kemenkes RI, 2015). Terdapat dua jenis tipe sel kanker paru yaitu SCLC (*Small Cell Lung Cancer*) dan NSCLC (*Non-Small Cell Lung Cancer*). 85 – 90% kanker paru merupakan tipe NSCLC. Sel kanker *Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)* menyebabkan 85% terjadinya kanker paru. Sel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel kanker paru line A549. Sel ini merupakan jenis sel NSCLC yang merupakan derivat sel karsinoma epitel yang didapat dari pasien laki-laki ras kaukasia berumur 58 tahun (Franklin, 2016).

Perkembangan penelitian terhadap sel kanker telah banyak dilakukan, termasuk penelitian pada sel kanker paru line A549. Perkembangan penelitian tidak hanya pada penemuan obat baru tetapi juga perkembangan jenis kultur. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan gambaran uji aktivitas biologi yang lebih akurat. Terdapat tiga tipe kultur sel dalam pengujian bioaktivitas kultur sel 2D (dua Dimensi), 3D (tiga Dimensi) dan 4D (empat Dimensi). Ketiga kultur ini berbeda pada bentuk sel, tempat melekat sel pada kultur (*matriks/scaffolding agent*), dan profil ekspresi gen yang dihasilkan. Sel kanker paru line A549 telah dikembangkan pada ke tiga tipe kultur tersebut. Hasilnya kultur sel 4D memberikan gambaran profil ekspresi gen lebih baik dibandingkan 3D serta profil ekspresi gen pada kultur 3D lebih baik dari kultur 2D (Mishra dkk, 2014).

Agarosa memiliki banyak manfaat dalam penelitian di bidang mikrobiologi maupun bioteknologi. Salah satu pemanfaatan agarosa yang akhir-akhir ini dikembangkan adalah agarosa sebagai *scaffolding agent* (*matriks*) pada kultur sel 3D.

Kultur sel 3D telah terbukti memberikan gambaran interaksi sel-sel yang menyerupai kondisi *in vivo*, sehingga akan memberikan profil ekspresi gen yang lebih baik dari kultur sel 2D pada uji bio aktivitas (Edmondson dkk, 2014; Xu dkk, 2014; Mirsha dkk, 2014; Tang dkk, 2016).

Pemilihan *scaffolding agent* (matriks) pada kultur sel 3D harus menjamin nutrisi seperti pemberian *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) untuk pemeliharaan sel dapat berdifusi dengan baik, sehingga sel pada kultur 3D dapat berkembang. Salah satu *scaffolding agent* yang akhir-akhir ini dikembangkan adalah agarosa. Agarosa dalam beberapa penelitian telah diuji sebagai matriks pada kultur sel 3D dan hasilnya perkembangan sel pada matriks agarosa dapat berproliferasi lebih baik dari kultur sel 2D. Sifat gel agarosa yang netral dalam bentuk *mold* tidak menghalangi difusi nutrisi dan interaksi sel-sel pada kultur 3D (Li dkk, 2012; Xu dkk, 2014).

Pada penelitian ini peneliti tertarik melakukan pengujian pemanfaatan agarosa hasil isolasi menggunakan modifikasi metode Provonsee (1991) sebagai matriks kultur sel 3D pada sel kanker paru line A549. Agarosa diisolasi dari tepung agar menggunakan pelarut propilen glikol. Hasil isolasi kemudian dilakukan pemurnian dengan mengisolasi kembali hasil isolasi pertama menggunakan pelarut yang sama. Hal ini bertujuan untuk menghasilkan agarosa dengan kemurnian yang lebih baik dan diharapkan dapat dikembangkan sebagai matriks yang menjamin difusi nutrisi pada kultur 3D sel kanker paru line A549.

## 1.2. Rumusan Masalah

Apakah agarosa hasil isolasi dari agar dapat diaplikasikan sebagai matriks kultur sel 3D pada sel kanker paru line A549?

### 1.3. Hipotesis

Agarosa hasil isolasi dari agar dapat diaplikasikan sebagai matriks kultur sel 3D pada sel kanker paru line A549.

### 1.4. Tujuan Penelitian

#### 1.4.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi agarosa dari agar menggunakan metode sederhana dengan pelarut alkilen glikol (propilen glikol).

#### 1.4.2. Tujuan Khusus

Memanfaatkan agarosa hasil isolasi dari agar sebagai matriks kultur sel 3D pada sel kanker paru line A549.

### 1.5. Manfaat Penelitian

1. Meningkatkan nilai ekonomi tepung agar, menjadi agarosa yang bernilai ekonomi lebih baik
2. Hasil publikasi penelitian dapat menjadi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

