

ISOLASI DAN KARAKTERISASI AGAROSA DARI TEPUNG AGAR DENGAN MENGGUNAKAN PELARUT PROPILEN GLIKOL DAN ISOPROPIL ALKOHOL

Suci Rahmawati^{1*}, Adek Zamrud Adnan², Marlina³, Muhammad Taher⁴

¹Program Studi D3 Farmasi Fakultas MIPA Universitas Bengkulu

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

³Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

⁴Faculty of Pharmacy, International Islamic University Malaysia

sramawati@unib.ac.id

ABSTRAK

Agarosa merupakan biopolimer kandungan utama dari rumput laut (*Gracilaria gigas*) yang sering dimanfaatkan dibidang bioteknologi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi agarosa dari tepung agar dengan pelarut propilen glikol. Isolasi agarosa dilakukan dengan melarutkan tepung agar menggunakan pelarut propilen glikol pada suhu 105 °C dengan pengadukan untuk memperoleh 2% b/v larutan agar. Larutan agar didiamkan semalam pada suhu 10 °C dan pelarut isopropil alkohol ditambahkan untuk memperoleh Agarosa 1 (A1) dan pemurnian dilakukan dengan mengisolasi A1 dengan metode yang sama untuk memperoleh A2. Karakterisasi agarosa melalui penentuan nilai rendemen, kekuatan gel dan angka sulfat. Hasil penelitian menunjukkan nilai rendemen A1 dan A2 adalah 81,49% dan 79,74%. Hasil karakterisasi diperoleh kekuatan gel dan angka sulfat agarosa A1 dan A2 diperoleh masing-masingnya adalah 1431 g/cm²; 0,57% dan 1438 g/cm²; 0,40%. Simpulan, hasil isolasi Agarosa dari tepung agar yaitu A1 memiliki nilai rendemen yang lebih besar dibandingkan A2, akan tetapi hasil karakterisasi A2 memiliki nilai yang lebih baik dari A1.

Kata Kunci : Agar, Agarosa, Propilen glikol, Isopropil alkohol

PENDAHULUAN

Agarosa sebagai fraksi netral dari agar memiliki karakteristik yang lebih baik dibandingkan dengan agaropektin. Keunggulan ini membuat agarosa sering dimanfaatkan dibidang bioteknologi dan memiliki nilai jual yang lebih tinggi dibanding. 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) (Abidin dkk, 2015).

Adnan *et.al.* (2016) telah 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).

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 (Wang *et.al.* 2012)

Pada penelitian ini dilakukan isolasi agarosa dari 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.

METODE PENELITIAN

Isolasi dan Pemurnian Agarosa

Tepung agar hasil ekstraksi dari *Gracilaria gigas Harvey* produksi PT. Satelit Sriti ditimbang 20 gram, ditaburkan perlahan ke dalam 900 mL pelarut propilen glikol yang ditambahkan 10% aquades (100 mL) dipanaskan hingga suhu 70°C pada *hot plate*, dilarutkan hingga suhu larutan mencapai 105°C selama satu jam. Larutan agar 2% dalam propilen glikol kemudian dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 2000 mL dan dibiarkan semalaman pada suhu 10°C. Larutan agar 2% dalam pelarut propilen glikol ditambahkan 1000 mL pelarut isopropil alkohol dan simpan pada suhu 10°C selama 24 jam (A1). Lakukan pengulangan sebanyak 2x untuk memperoleh A2. Hasil endapan dikering anginkan, hingga diperoleh serbuk agarosa dan dievaluasi karakteristiknya menggunakan baku pembanding agarosa Top Vision® (Adnan dkk, 2016)

Karakterisasi Agarosa

Rendemen Agarosa

Rendemen agarosa dihitung berdasarkan perbandingan berat kering agarosa terhadap berat sampel agar yang digunakan untuk isolasi.

Rendemen agarosa (%) = $(\text{berat agarosa} / \text{berat agar}) \times 100\%$

Evaluasi titik pembentukan gel

Sebanyak 0,75 gram agarosa ditimbang dan dilarutkan dalam 50 ml aquades (konsentrasi 1,5 %), dididihkan dalam *water bath* selama 5 menit. Tuangkan 15 ml suspensi ke dalam tabung reaksi berdiameter 18 mm dan tingginya 150 mm, letakkan ke dalam *water bath* dengan suhu 60 °C. Alirkan air dingin ke dalam *water bath* untuk menurunkan suhu sekitar 0,3-0,5°C per menit. Titik pembentukan gel adalah suhu saat larutan tidak bergerak ketika dimiringkan 45°.

Evaluasi titik leleh gel

Tabung reaksi berisi gel hasil pengukuran titik pembentukan gel didiamkan selama 1 jam sampai terbentuk gel dengan sempurna. Pada permukaan gel diletakkan bola timah (gotri), kemudian tabung reaksi dimasukkan ke dalam *water bath* yang suhunya 20°C. Panaskan *water bath* dengan laju pemanasan sekitar 1°C permenit. Pada saat bola tenggelam, suhu *water bath* dicatat. Suhu titik leleh gel didapatkan dari suhu *water bath* dikurangi 5°C.

Evaluasi kekuatan gel

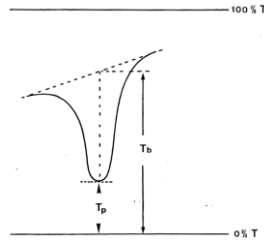
Timbang agarosa 0,75 gram dilarutkan dalam 50 ml aquades sehingga konsentrasinya 1,5 % b/v. Larutan diaduk sampai homogen kemudian dipanaskan sampai suhu 60°C selama 15 menit. Tuang larutan dalam *Standard Bloom Jars* (botol dengan diameter 58-60 mm, tinggi 85 mm), tutup dan diamkan selama 2 menit, kemudian diamkan pada suhu 10 °C selama 17±2 jam.

Kekuatan gel diukur menggunakan alat CT3 *Texture Analyzer Brookfield* pada diameter probe 6 mm ($r = 3 \text{ mm}$), kecepatan probe 0,5 mm/s dengan kedalaman 25 mm dengan kontak area 28,26 mm². Kekuatan gel dinyatakan dalam satuan g/cm².

Evaluasi kadar sulfat

Kadar sulfat pada agarosa dihitung menggunakan *FT-IR Spectrometer*. Pita absorban infra merah pada 2920 cm⁻¹ menggambarkan C-H yang digunakan sebagai indeks untuk jumlah total kandungan gula. Pengukuran dengan menggunakan agarosa hasil isolasi sebanyak 1 sampai 2 mg dihaluskan secara hati-hati dengan 100 mg KBr dan mencetaknya pellet (metode pellet KBr). Kadar sulfat dihitung menggunakan berdasarkan serapan

pada bilangan gelombang tertentu. Sulfat total = 1250/2920; Galaktosa-4-sulfat = 845/2920; 3,6-anhidrogallaktosa-2-sulfat = 805/2920



Gambar 1. Pengukuran absorbansi kadar sulfat metode *base line*

$$\text{Absorbansi (A)} = \log T_b/T_p$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Agarosa

Hasil isolasi agarosa dari tepung agar diperoleh Agarosa 1 (A1) dan hasil pemurnian A1 diperoleh Agarosa 2 (A2) dengan karakteristik rendemen A1 lebih banyak dari A2 sedangkan sifat fisik A2 lebih menunjukkan kemurnian lebih baik dari pada A1.

Nilai rendemen diukur untuk menentukan perolehan kembali agarosa yang didapat dari isolasi yang dilakukan menggunakan metode yang sama. Dari hasil pengukuran rendemen diperoleh nilai rendemen A1 adalah 81,49% dan A2 adalah 79,74%. Hasil ini menunjukkan nilai rendemen pada

isolasi A1 lebih besar dibandingkan pemurniannya (A2).

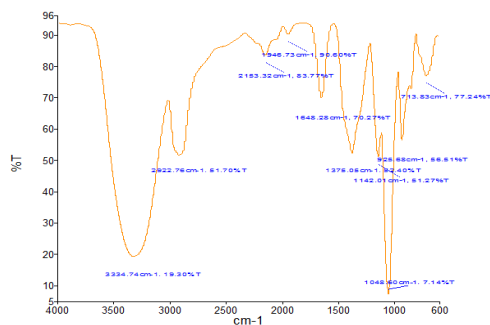
Proses isolasi agarosa (A1) dan pemurnian agarosa (A2) pada penelitian ini diperoleh nilai rata-rata rendemen A1 dan A2 masing-masingnya 81,49% dan 79,74%. Rendemen A2 diperoleh lebih kecil dibandingkan agarosa A1, hal ini memperlihatkan agarosa A2 lebih murni dari A1, karena adanya proses pengurangan kadar agaropektin pada nilai pengukuran angka sulfat saat proses pemurnian agarosa dari hasil isolasi agarosa A1 (Adnan, 2016).

Karakterisasi Agarosa

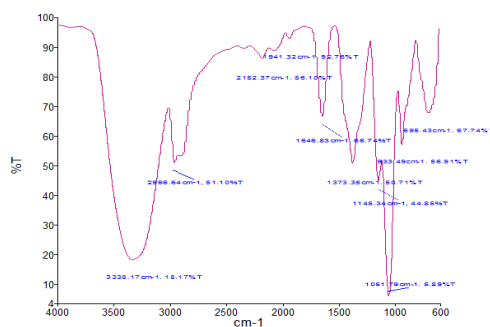
Hasil pengukuran kadar sulfat total diukur menggunakan spektrofotometer FT-IR (Gambar 2 dan Gambar 3) dengan metode *Base Line* agarosa dan diperoleh kadar sulfat total A1 dan A2 adalah 0,57% dan 0,40% masih memenuhi standar agarosa menurut Guisley.

Hasil penelitian (Gambar 2 dan 3) menunjukkan kadar sulfat A2 lebih rendah dari kadar sulfat A1 memperlihatkan bahwa hasil pemurnian agarosa dengan metode yang sama dapat mengurangi jumlah kadar sulfat pada agarosa yang dimurnikan. Hal ini juga sebanding dengan besarnya rendemen masing-

masing agarosa, agarosa A1 memiliki rendemen dan kadar sulfat yang lebih besar dari agarosa A2. Semakin kecil rendemen semakin rendah kadar sulfat dan semakin murni agarosa yang dihasilkan (Adnan, 2016).



Gambar 2. Spektrum IR A1



Gambar 3. Spektrum IR A2

Hasil pengukuran titik pembentukan gel dan titik leleh gel. Sedangkan Titik pembentukan gel merupakan temperatur terjadinya peralihan fase larutan menjadi fase gel yang padat. Pada penelitian ini diperoleh nilai rata-rata suhu titik leleh dan pembentukan gel A1 dan A2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada penelitian ini diperoleh suhu titik pembentukan gel A1 dan A2 dengan nilai rata-rata 35,67°C dan

35,17°C. Titik pembentukan gel A1 lebih rendah dibandingkan suhu titik pembentukan gel agar dengan nilai rata-rata 38,6°C (Tabel 1). Hal ini menandakan bahwa pembentukan gel terjadi lebih cepat pada A1 dan A2 yang mengindikasikan pada agarosa A1 dan A2 mengandung agarosa yang murni dibandingkan dengan sampel agar yang masih mengandung agaropektin. Pembentukan gel pada agar disebabkan oleh adanya 3 atom hidrogen pada residu 3,6-anhydro-L-galaktosa pada agarosa. Struktur heliks ganda membentuk agregat dapat membentuk kerangka struktur tiga dimensi yang dapat mengikat molekul air dalam celah kerangka molekul (Porto, 2003).

Tabel 1. Hasil evaluasi titik pembentukan gel dan titik leleh gel

Sampel	TPG	TL
A1	35,67	84,33
A2	35,17	85,67
Agar	8,6	82,0
Baku	35,5	75,5
Pemandi ng (Top Vision®)		

Keterangan: TPG (Titik Pembentukan Gel); TL (Titik Leleh Gel)

Kekuatan gel sebagai salah satu indikator mutu agarosa pada penelitian ini diukur menggunakan *Brookfield CT3 Texture Analyzer*

(Tabel 2). Hasil uji menunjukkan nilai rata-rata kekuatan gel A1 dan A2 masing-masingnya adalah 1431 g/cm² dan 1438 g/cm². Hasil ini menunjukkan nilai kekuatan gel A2 lebih baik dibandingkan nilai kekuatan gel A1, akan tetapi nilai kekuatan gel pada Agorosa dengan baku pembanding dengan merk dagang Top Vision® lebih baik dibandingkan A1 dan A2 yang merupakan hasil isolasi.

Tabel 2. Hasil Evaluasi Kekuatan Gel

Sampel	Kekuatan Gel
A1	1431 g/cm ²
A2	1438 g/cm ²
Agar	998 g/cm ²
Top Vision®	1646 g/cm ²

Kekuatan gel A1 dan A2 lebih rendah bila dibandingkan dengan baku pembanding agarosa Top Vision® dengan rata-rata kekuatan gel 1646 g/cm² (Tabel 2). Hasil uji statistik ANOVA satu arah memberikan hasil F hitung 144,365 dengan Sig. 0,000 (<0,005) yang berarti Ho ditolak atau rata-rata kekuatan gel A1, A2, agar dan standar adalah berbeda. Kemudian uji lanjut Duncan memperlihatkan rata-rata kekuatan gel A1 dan A2 adalah sama dan berbeda nyata dengan kekuatan gel agar dan standar.

Semakin kecil kadar sulfat maka kekuatan gel akan semakin besar dan sebaliknya. Kekuatan gel

merupakan suatu beban maksimum yang dibutuhkan untuk memecah matrik polimer pada daerah yang dibebani (Purwonto, 2002). Sehingga terlihat jelas hubungan kekuatan gel A1 lebih rendah dibandingkan kekuatan A2 karena A1 memiliki kadar sulfat yang lebih besar dibandingkan kadar sulfat A2.

KESIMPULAN

Hasil pemurnian agarosa A1 yaitu agarosa A2 memiliki kemurnian yang lebih baik setelah dilakukan isolasi berulang dengan pelarut dan metoda yang sama dengan isolasi A1. Isolasi berulang dapat memperbaiki karakteristik agarosa yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana dengan adanya bantuan dana penelitian dari Kementrian Riset dan Perguruan Tinggi tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. Marcellino Rudyanto, dan Sudjarwo. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Agarosa dari Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol 13: 69 – 75
- Adnan, A.Z., Marlina and Ridho A. 2016. Isolation of Agarose and its Application as medium of Gel Electrophoresis Method for HPV (Human papillomavirus) DNA Identivication. *Scholars Research Library*. 8 (16):76 – 82
- Adnan, A.Z. Marlina dan Adrin G.R. 2017. Isolasi Agarosa dari Agar dan Aplikasinya sebagai Adsorben Zat Warna pada Analisis Tatzazin denagan Metode TLC Scanner. *Skripsi Sarjana Farmasi*. Padang: Universitas Andalas
- Porto, S. 2003. Agar-agar: Properties and Specification. diakses pada tanggal 10 Februari 2017 dari www.agargel.com.br/agar-tec-en.html
- Purwoto, H., Gustini, S., Istini, S. 2002. Pemurnian Agarosa dari Agar-agar dengan Menggunakan Propilen Glikol. *Dasar-Dasar Teknik Kimia*.
- Wang TP, Chang LL, Chang SN, Wang EC, Hwang LC, Chen YH. 2012. Successful preparation and characterization of biotechnological grade agarose from indigenous *Gelidium amansii* of Taiwan. *Process Biochemistry*. 47