

AKTIVITAS ENZIM KOMERSIAL, EKSTRAK KASAR ENZIM DARI VISCERA KEONG MAS (*Pila polita*), ABALON (*Haliotis asinina*), DAN BEKICOT (*Achatina fulica*) UNTUK LISIS JARINGAN RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii* PADA KULTUR PROTOPLAS

Sri Redjeki Hesti Mulyaningrum¹⁾ dan Emma Suryati²⁾

ABSTRAK

Dalam usaha perbaikan kualitas bibit rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dilakukan kultur protoplas dengan isolasi protoplas menggunakan enzim. Untuk mendapatkan sumber enzim yang ekonomis sebagai alternatif pengganti enzim komersial dan untuk mengetahui perbandingan konsentrasi enzim komersial yang optimum agar menghasilkan jumlah protoplas yang maksimum, dilakukan karakterisasi terhadap enzim dari berbagai sumber. Aktivitas ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot (*Achatina fulica*) tidak berbeda nyata dengan enzim komersial ($P>0,05$) dengan aktivitas sebesar 0,729 unit/mL; enzim komersial 0,354 unit/mL; ekstrak kasar enzim dari viscera keong mas (*Pila polita*) 0,048 unit/mL; dan ekstrak kasar enzim dari viscera abalon (*Haliotis asinina*) 0,014 unit/mL. Perbandingan enzim komersial yang optimum adalah 2:1 menghasilkan protoplas sebanyak $1,26 \times 10^8$ sel/mL; kemudian 1:2 dengan jumlah protoplas $1,22 \times 10^8$ sel/mL; perbandingan 1:1 menghasilkan protoplas sebanyak $8,36 \times 10^7$ sel/mL; perbandingan 0:1 menghasilkan protoplas sebanyak $6,33 \times 10^7$ sel/mL; dan perbandingan 1:0 menghasilkan protoplas sebanyak $9,55 \times 10^6$ sel/mL. Rumput laut asal Takalar memiliki protoplas dengan kepadatan tertinggi sebesar $3,7 \times 10^8$ sel/mL.

ABSTRACT: Activity of commercial enzyme, crude extract enzyme from viscera of golden nail (*Pila polita*), abalone (*Haliotis asinina*), and garden snail (*Achatina fulica*) for tissue digestion of seaweed, *Kappaphycus alvarezii* in protoplast culture. By: Sri Redjeki Hesti Mulyaningrum and Emma Suryati

Effort to improve the quality of seaweed seed *Kappaphycus alvarezii* has been done by protoplast culture with protoplast isolation using enzyme. To find out economical enzyme sources as alternatives to substitute the expensive commercial enzyme and to determine the optimum concentration ratio of commercial enzyme to produce maximum amount of protoplast, characterization was executed to several potential sources. Activity of crude extract enzyme from viscera of garden snail (*Achatina fulica*) was not significantly different with commercial enzyme ($P>0.05$) it was 0.729 unit/mL, commercial enzyme 0.354 unit/mL activity; crude extract enzyme from viscera of golden snail (*Pila polita*) 0.048 unit/mL activity and crude extract enzyme from viscera of abalone (*Haliotis asinina*) 0.014 unit/mL activity. Optimum ratio of commercial enzyme was 2:1, it resulted protoplast up to 1.26×10^8 cell/mL, then ratio of 1:2 resulted protoplast up to 1.22×10^8 cell/mL, ratio of 1:1 resulted protoplast up to 8.36×10^7 cell/mL, ratio of 0:1 resulted protoplast up to 6.33×10^7 cell/mL and ratio of 1:0 resulted protoplast up to 9.55×10^6 cell/mL. The highest density of protoplast gained by seaweed from Takalar reached 3.7×10^8 cell/mL.

KEYWORDS: commercial enzyme, crude extract enzyme, *Kappaphycus alvarezii*, protoplast culture, lysis

¹⁾ Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

PENDAHULUAN

Rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii* merupakan jenis rumput laut penghasil karagenan yang banyak terdapat di Indonesia, khususnya Sulawesi Selatan yang menjadi daerah utama penghasil rumput laut. Selain itu, rumput laut juga merupakan komoditas ekspor yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat pesisir karena pelaksanaan budidayanya mudah, tidak memerlukan modal investasi yang tinggi, dan mampu menyerap tenaga kerja dalam jumlah yang besar. Kebutuhan rumput laut jenis *K. alvarezii* tahun 2007—2009 diproyeksikan terus meningkat dengan kenaikan rata-rata 60% setiap tahun, sehingga untuk memenuhi kebutuhan pasar diperlukan kesinambungan produksi rumput laut yang sangat bergantung pada tersedianya benih secara kontinu dengan kualitas yang baik. Penyediaan benih rumput laut dapat berasal dari alam, budidaya, dan perbenihan secara vegetatif maupun generatif (Nurdjana, 2006; Parenrengi *et al.*, 2007). Perbaikan kualitas benih dan penyediaan benih yang berkesinambungan dapat dilakukan dengan adaptasi bioteknologi, salah satu cara dengan fusi protoplas (Marx, 1991).

Pada kultur protoplas dilakukan isolasi protoplas rumput laut *K. alvarezii* dengan lisis jaringan dinding sel rumput laut yang tersusun dari makro molekul yang kompleks, sehingga enzim yang beragam dibutuhkan dalam lisis jaringan dinding sel (Fuller *et al. dalam* Bird & Benson, 1987). Enzim yang biasa digunakan dalam lisis jaringan dinding sel rumput laut adalah enzim selulase dan pektinase yang secara komersial disebut macerozyme. Selain enzim komersial, enzim dapat diperoleh dari vischera keong mas (*Pila polita*), abalon (*Haliotis asinina*), dan bekicot (*Achatina fulica*) (Fuller *et al. dalam* Bird & Benson, 1987; Salvador & Serrano, 2005; Suryati *et al.*, 2007b).

Keong mas merupakan salah satu genus *Pomacea* yang dapat berkembang biak dengan cepat, termasuk dalam family *Ampullariidae* hidupnya di air tawar, tetapi dapat bernafas di udara karena mempunyai insang dan paru-paru. Cangkangnya berukuran agak besar dan berbentuk cembung. Keong mas juga merupakan hama terbesar bagi padi yang biasa menghabiskan banyak produksi padi, pada bagian vischera (abdomen) keong mas biasa diisolasi enzim selulase (Dharma, 1988).

H. asinina atau biasa dikenal dengan sebutan abalon termasuk famili *Haliotidae* yang

hanya mempunyai satu genus yaitu *Haliotis*, kebanyakan hidup di laut dangkal yang bertemperatur hangat. Bentuk cangkangnya agak rata seperti telinga dan tidak mempunyai operculum. Mempunyai satu baris spiral lubang-lubang dan sebagian lubang di bagian depannya terbuka yang berfungsi untuk menghembuskan air. Bagian dalam cangkang berwarna perak. Abalon termasuk hewan herbivorous (Dharma, 1988).

Bekicot (*A. fulica*) merupakan hewan hermaphrodite, memiliki cangkang yang berukuran besar, amblicusnya tertutup, dan bibir aperture tajam tanpa penebalan. Hewan ini masuk dalam family *Achatinidae* dan merupakan hewan pemakan tanaman (Dharma, 1992).

Enzim komersial harganya sangat mahal maka dalam isolasi protoplas rumput laut *K. alvarezii* perlu dicari enzim alternatif yang ekonomis namun memiliki karakter serta aktivitas yang sama dengan enzim komersial. Untuk mengetahui perbandingan aktivitas dan karakter ekstrak kasar enzim dari vischera keong mas, abalon, dan bekicot dengan enzim komersial maka dilakukan karakterisasi dan uji aktivitas terhadap ekstrak kasar enzim dari ketiga sumber tersebut.

BAHAN DAN METODE

Karakterisasi Enzim

Penyiapan enzim

Vischera keong mas, abalon, dan bekicot sebanyak 40 gram ditambah 800 mL *buffer phosphat* 50 mM dengan pH= 6,1 sebagai pelarut, diekstrak menggunakan *blender* pada suhu 4°C kemudian disaring menggunakan kain kasa dan ditambahkan Mannitol 0,6 M dan CaCl₂ 5 mM dengan volume yang sama dan diset pada pH= 6,1 menggunakan *buffer phosphat* 0,1 M. Larutan ekstrak kasar enzim kemudian disentrifuse pada 5.000 rpm selama 45 menit, dan diambil supernatannya.

Enzim komersial (selulase dan macerozyme) dengan konsentrasi 1% dilarutkan dalam air laut steril, ditambahkan Mannitol 0,6 M dan CaCl₂ 5 mM dengan volume yang sama dan diset pada pH= 6,1 menggunakan *buffer phosphat* 0,1 M.

Penyiapan substrat

Limbah serbuk gergaji kayu agatis dicuci dengan akuades hingga bersih kemudian

dijemur hingga kering, selanjutnya di-grinder hingga halus, kemudian diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Selanjutnya bubuk yang dihasilkan ditimbang sebanyak: 0,5 gram; 1,0 gram; 1,5 gram; 2,0 gram; 2,5 gram; dan 3,0 gram; kemudian ditambahkan 100 mL aquades, kemudian dilakukan *autoclave* selama 20 menit.

Penentuan konsentrasi substrat maksimum

Substrat sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3%; 3,5%; dan 4% direaksikan dengan enzim komersial, ekstrak enzim dari vischera keong mas, abalon, dan bekicot, kemudian diinkubasi selama 60 menit pada pH= 6 dan suhu 30°C.

Penentuan pH optimum

Substrat maksimum untuk masing-masing enzim direaksikan dengan enzim komersial, ekstrak enzim dari vischera keong mas, abalon, dan bekicot, kemudian diinkubasi selama 60 menit pada suhu 30°C pada pH 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; dan 6,2.

Penentuan suhu optimum

Substrat pada konsentrasi maksimum direaksikan dengan enzim komersial, ekstrak enzim dari vischera keong mas, abalon, dan bekicot, kemudian diinkubasi selama 60 menit pada pH optimum dan suhu 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, dan 45°C.

Penentuan waktu inkubasi optimum

Substrat pada konsentrasi maksimum direaksikan dengan enzim komersial, ekstrak enzim dari vischera keong mas, abalon, dan bekicot, kemudian diinkubasi selama 15, 30, 45, 60, dan 75 menit pada pH optimum dan suhu optimum.

Penentuan aktivitas enzim

Substrat pada konsentrasi maksimum direaksikan dengan enzim komersial, ekstrak kasar enzim dari vischera keong mas, abalon, dan bekicot, kemudian diinkubasi pada waktu inkubasi optimum, pH optimum, dan suhu optimum. Glukosa hasil reaksi enzim selulase dengan substrat ditentukan konsentrasinya menggunakan kurva standar kadar glukosa yang dianalisis dengan metode Nelson-Somogyh menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS. Aktivitas enzim selulase dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{G_{\text{akhir}} - G_{\text{awal}}}{\text{waktu inkubasi}}$$

di mana:

G_{akhir} = konsentrasi glukosa akhir

G_{awal} = konsentrasi glukosa awal

Optimasi perbandingan konsentrasi enzim komersial

Metode yang digunakan adalah modifikasi dari metode Salvador & Serrano (2006) dan Reddy *et al.* (2006). Enzim selulase dan macerozyme masing-masing dengan perbandingan konsentrasi dalam persen (%) sebagai berikut: 1:0; 0:1; 1:1; 2:1; 1:2 dilarutkan menggunakan pelarut campuran dari 60% media kultur Conwy dan 40% larutan *buffer phosphate* 0,1 M dengan volume larutan enzim sebanyak 10 mL. Larutan enzim ditambah manitol 1,0 M dan CaCl₂ 5 mM sama banyak kemudian diset pada pH= 6,1. Larutan kemudian disaring menggunakan filter selulase nitrat 0,2 mm.

Talus rumput laut *K. alvarezii* hasil kultur jaringan asal Takalar, Tambalang, Bali, dan Maumere dibersihkan dan dikeringkan menggunakan tissue. Kemudian dipotong kurang lebih 2—5 cm, dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi larutan antibiotik mix yang terdiri atas campuran vancomycin, polymixin B sulfate, colistin sulfat, nalidixic acid, trimethoprim, ampicilin sodium, dan erytromycin dengan konsentrasi 10 mg/L dalam air laut steril dan direndam selama 24 jam. Masing-masing talus diiris dengan ketebalan 1 mm menggunakan scapel steril dan dimasukkan ke dalam botol vial steril yang berisi larutan enzim yang telah disiapkan, ditempatkan pada *shaker* dengan kondisi gelap dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 20°C.

Protoplas yang diperoleh kemudian disaring dan dicuci dengan *washing solution* (WS) yang mengandung larutan media Conwy, manitol 0,6 M dan CaCl₂ 27,5 mM dalam akuades steril dengan pH larutan 7,6 kemudian disentrifuse, supernatan dipisahkan dari homogenat dengan cara menyaring menggunakan penyaring dengan porositas 500 µm, homogenat yang diperoleh dicuci kembali dengan *washing solution* (WS) dan disentrifuse kembali, pencucian ini diulang hingga 3 (tiga) kali dan terakhir homogenat dilarutkan dalam *culture solution* (CS) yang mengandung 60% WS, 40% media Conwy,

mannitol 0,4 M, CaCl₂ 12,5 mM dalam akuades steril dengan pH larutan 6 dan diberi zat perangsang tumbuh kinetin, IAA, dan auxin masing-masing 4 mg/L.

Untuk mengetahui protoplas yang hidup dan yang mati, dilakukan tes *viability* dengan penambahan zat warna *evan blue* dengan konsentrasi 0,05% yang dilarutkan dalam air laut steril, protoplas hidup dan mati dapat dibedakan dengan warna, di mana protoplas hidup dapat menyerap warna biru dari *evan blue*, sedangkan protoplas yang mati tidak dapat menyerap warna dari *evan blue*. Protoplas yang *viable* dihitung menggunakan SRC (*Sedgewick-Rafter Cell*).

HASIL DAN BAHASAN

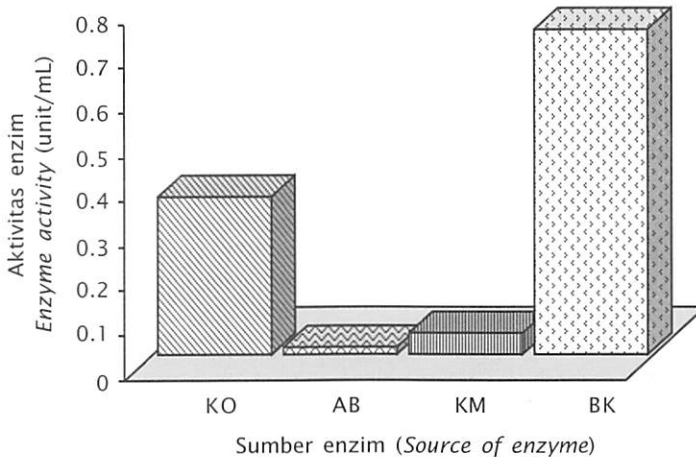
Uji aktivitas terhadap enzim komersial, ekstrak kasar enzim dari viscera abalon (*H. asinina*), keong mas, dan bekicot menunjukkan bahwa ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot mempunyai aktivitas sebesar 0,729 unit/mL; kemudian berturut-turut adalah enzim komersial dengan aktivitas sebesar 0,354 unit/mL; ekstrak kasar enzim dari viscera keong mas sebesar 0,048 unit/mL; dan abalon dengan aktivitas sebesar 0,014 unit/mL (Gambar 1).

Aktivitas ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot tidak berbeda nyata dengan aktivitas enzim komersial ($P>0,05$) namun berbeda nyata

dengan ekstrak kasar enzim dari viscera abalon (*H. asinina*) dan keong mas. Karakterisasi terhadap keempat sumber enzim menunjukkan bahwa enzim komersial, ekstrak kasar enzim dari viscera abalon, dan keong mas tidak memberikan respons yang signifikan terhadap perubahan suhu, pH, maupun waktu inkubasi. Ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot memberikan respons yang signifikan terhadap perubahan suhu, pH, dan waktu inkubasi. Ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot memiliki pH optimum 5,8 (Gambar 2), suhu optimum 27,1°C (Gambar 3) dan waktu inkubasi optimum adalah 35,4 menit (Gambar 4).

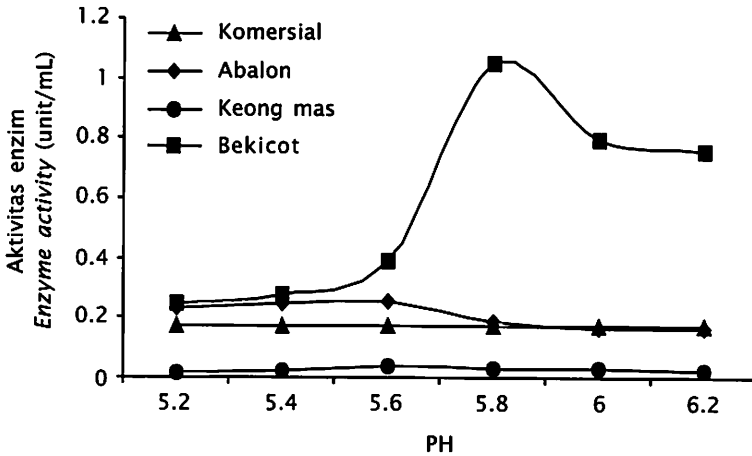
Ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot juga memiliki kemampuan untuk melisis substrat paling tinggi dibanding enzim dari sumber lain, hal ini terlihat pada konsentrasi substrat yang mampu dihidrolisis oleh enzim (Tabel 1).

Pada pengenceran 50 kali ekstrak kasar enzim dari viscera bekicot mampu menghidrolisis substrat pada konsentrasi 2,5%; sedangkan enzim komersial mampu menghidrolisis substrat dengan konsentrasi 2,5% pada pengenceran 10 kali; keong mas mampu menghidrolisis substrat dengan konsentrasi 2,5% pada pengenceran 5 kali dan abalon menghidrolisis substrat pada konsentrasi 2% pada pengenceran 10 kali. Dapat disimpulkan



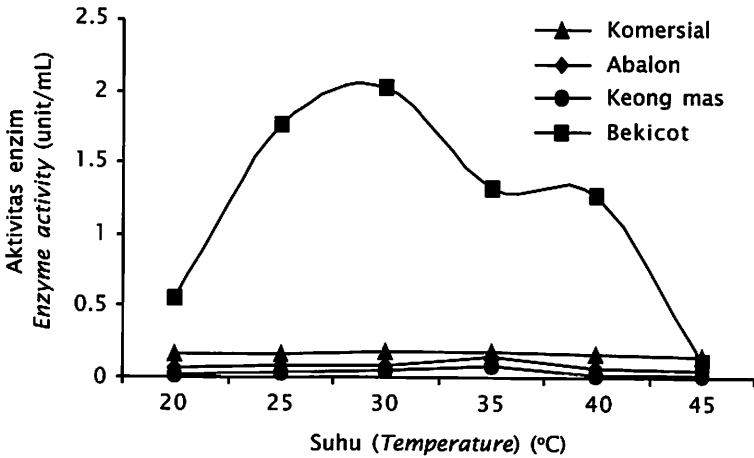
Gambar 1. Aktivitas enzim komersial (KO), ekstrak kasar enzim dari viscera abalon (*H. asinina*) (AB), keong mas (*P. polita*) (KM), dan bekicot (*A. fulica*) (BK)

Figure 1. Comparison of commercial enzyme (KO), crude extract enzyme from viscera of abalone (*H. asinina*) (AB), snail (*P. polita*) (KM), and garden snail (*A. fulica*) (BK)



Gambar 2. pH optimum enzim bekicot (*H. asinina*)

Figure 2. Optimum pH of garden snail (*H. asinina*) enzyme



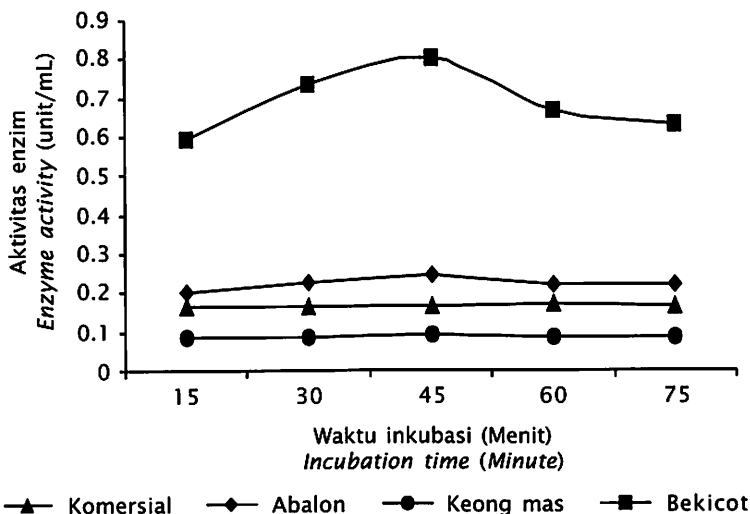
Gambar 3. Suhu optimum enzim bekicot (*H. asinina*)

Figure 3. Optimum temperature for garden snail (*H. asinina*) enzyme

bahwa ekstrak kasar enzim dari bekicot memiliki daya lisis yang lebih tinggi dibanding enzim komersial dan ekstrak kasar enzim dari sumber lain. Kondisi optimum suatu enzim sangat mempengaruhi kerja enzim dalam bereaksi dengan substratnya, suatu enzim hanya dapat bekerja dengan baik pada kondisi tertentu yang memungkinkan untuk bekerja secara maksimal seperti kondisi pH, temperatur, konsentrasi substrat, dan kofaktor (Plummer, 1978).

Salvador & Serrano (2005) melaporkan bahwa isolasi protoplas terhadap rumput laut *K. alvarezii* dari Philipina (Tambalang) dengan

lisis menggunakan ekstrak segar abalon untuk *varian giant* pada bagian tengah talus dapat menghasilkan protoplas dengan kepadatan $3,7 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ jaringan. Untuk varian Bohol tipe liar pada bagian tengah talus menghasilkan protoplas dengan kepadatan $4,5 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ jaringan. Sedangkan dengan perlakuan menggunakan ekstrak keong kebun pada varian yang lain dapat menghasilkan protoplas dengan kepadatan $1,9-19 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ jaringan. Dipakkore *et al.* (2005) juga menyebutkan bahwa isolasi menggunakan campuran enzim komersial yang terdiri atas selulase, macerozyme, abalone acetone powder, dan



Gambar 4. Waktu inkubasi optimum enzim bekicot (*H. asinina*)

Figure 4. Optimum incubation time of garden snail (*H. asinina*) enzyme

Tabel 1. Perbandingan konsentrasi substrat maksimum enzim komersial dan ekstrak enzim dari berbagai sumber

Table 1. Comparison of maximum substrate concentration of commercial enzyme and crude extract enzyme from several sources

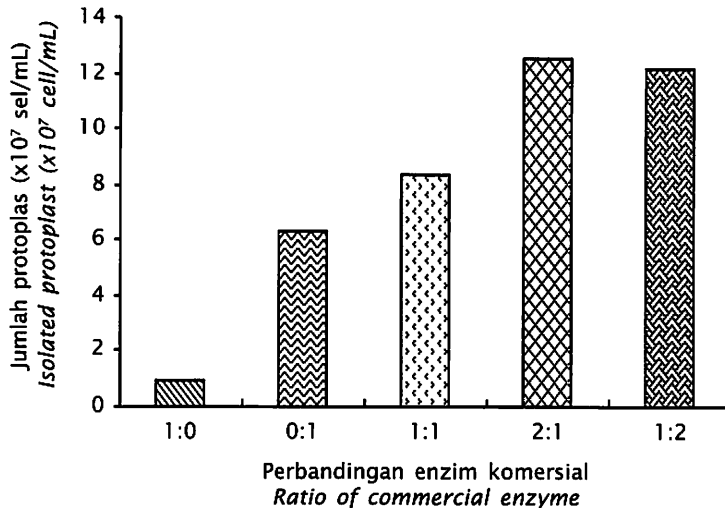
Sumber enzim Sources of enzyme	Konsentrasi maksimum substrat Maximum substrate concentration (%)	Faktor pengenceran (kali) Factor of dilution (time)
Komersial (KO) Commercial (KO)	2.5	10
Abalon (AB) Abalone (AB)	2.0	10
Keong mas (KM) Snail (KM)	2.5	5
Bekicot (BK) Garden snail (BK)	2.5	50

agarase terhadap *Porphyra okhaensis* dapat menghasilkan protoplas dengan kepadatan $23,2 \pm 0,24 \times 10^6$ protoplas g^{-1} bobot segar. Suryati *et al.* (2007b) telah melakukan isolasi protoplas terhadap rumput laut *K. alvarezii* menggunakan ekstrak viscera keong mas dan menghasilkan protoplas dengan kepadatan $3,7 \times 10^6$ sel/mL.

Perbandingan enzim komersial selulase: macerozyme 2:1 menghasilkan jumlah protoplas tertinggi sebanyak $1,26 \times 10^8$ sel/

mL, kemudian untuk perbandingan 1:2 menghasilkan protoplas sebanyak $1,22 \times 10^8$ sel/mL, perbandingan 1:1 menghasilkan protoplas sebanyak $8,36 \times 10^7$ sel/mL, perbandingan 0:1 menghasilkan protoplas sebanyak $6,33 \times 10^7$ sel/mL dan perbandingan 1:0 menghasilkan protoplas sebanyak $9,55 \times 10^6$ sel/mL (Gambar 5).

Senyawa penyusun dinding sel adalah selulosa yang merupakan polisakarida yang tersusun dari unit-unit glukosa yang



Gambar 5. Jumlah protoplas yang dihasilkan dengan lisis menggunakan enzim selulase dan macerozyme pada perbandingan 1:0 (A), 0:1 (B), 1:1 (C), 2:1 (D), dan 1:2 (E)

Figure 5. The ratios of isolated protoplast by cellulase and macerozyme digestion as follows 1:0 (A), 0:1 (B), 1:1 (C), 2:1 (D), and 1:2 (E)

dirangkaikan melalui ikatan glikosida b-1,4-glikosida. Enzim yang mampu menghidrolisis ikatan b-1,4-glikosida tersebut adalah enzim selulase (Toha, 2001). Tiap sel dilapisi oleh membran plasma atau membran sel dan di luar membran plasma terdapat lapisan dinding sel. Sel tumbuhan yang masih muda memiliki dinding sel hanya selapis dan dinamakan lapisan primer. Apabila sel tumbuh dewasa akan terbentuk lapisan luar yang disebut lapisan sekunder. Antara lapisan primer dan lapisan sekunder terdapat lapisan tipis yang mengandung pektin yang merupakan polisakarida dengan struktur kompleks yang berfungsi sebagai perekat antara kedua lapisan (Juwono & Juniarto; 2003). Secara alami pektin merupakan bagian tumbuhan yang berada ditengah-tengah sel berfungsi untuk mengikat sel dan mengatur kadar air pada tanaman. Jumlah, struktur, dan komposisi kimia pektin berbeda-beda untuk setiap tanaman, usia tanaman dan berbeda pula untuk setiap bagian tanaman, jaringan pektin dapat dilisis oleh enzim pektinase yang mengakibatkan jaringan dinding sel menjadi terdegradasi (Wikipedia, 2007).

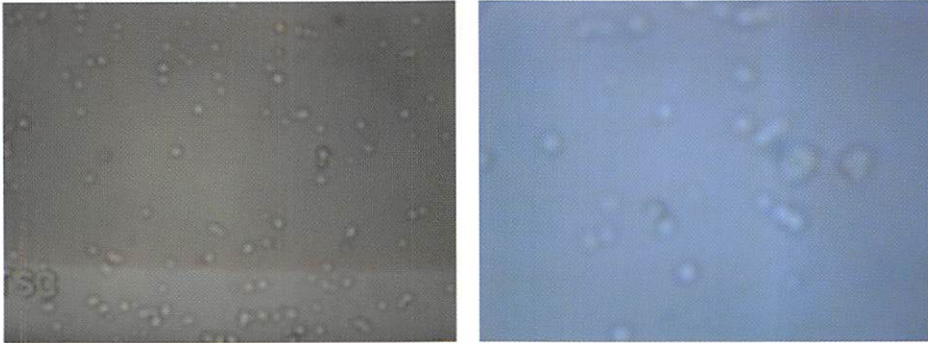
Protoplas merupakan sel yang tidak memiliki dinding sel, di mana sel tanaman yang memiliki dinding sel dibuang dengan melakukan lisis menggunakan campuran enzim yang memecah kandungan dinding sel

(Marx, 1991). Dinding sel berperan penting pada pertumbuhan sel, proses pembentukan tunas dan pertumbuhan tanaman, beberapa sel pada rumput laut apabila diisolasi dapat melakukan regenerasi menjadi tumbuhan yang utuh (Lobban & Harrison, 1994).

Pada isolasi protoplas, enzim selulase berperan pada lisis selulosa yang menyusun dinding sel dan macerozyme berperan pada lisis lapisan pektin yang berada di antara lapisan primer dan sekunder. Dengan terjadinya lisis selulosa dan lapisan pektin, dinding sel rumput laut mengalami degradasi sehingga memudahkan dalam isolasi protoplas.

Pencucian protoplas hasil isolasi (Gambar 6), dilakukan dengan *washing solution* (WS) dengan media pupuk conwy, di mana media pupuk Conwy adalah media yang baik untuk pertumbuhan tunas rumput laut *K. alvarezii* dalam kultur jaringan (Amini & Parenrengi, 1995) dan untuk menginduksi setiap bagian dan regenerasi dari protoplas yang terisolasi, pada *cultur solution* (CS) ditambahkan hormon perangsang tumbuh yaitu kinetin, IAA, dan auxin.

Dari hasil karakterisasi dan uji aktivitas dapat disimpulkan bahwa ekstrak enzim dari viscera keong mas, abalon, dan bekicot memiliki aktivitas untuk melisis dinding sel yang mengandung selulosa. Dari ketiga sumber



Gambar 6. Protoplas hasil isolasi dengan lisis menggunakan campuran enzim komersial

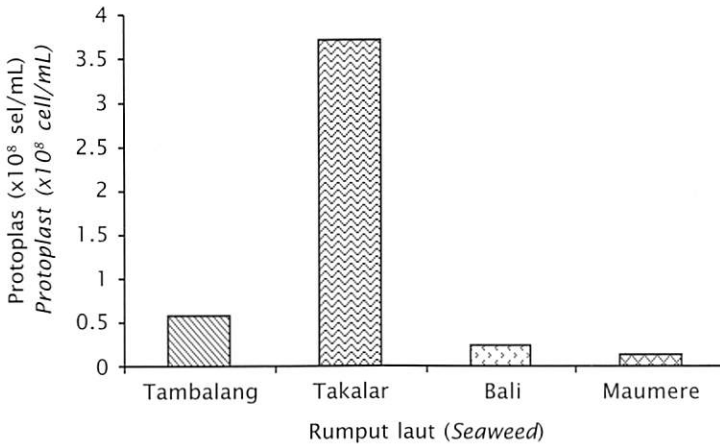
Figure 6. Isolated protoplast by commercial enzyme

enzim tersebut, yang memiliki aktivitas tertinggi dalam lisis dinding sel adalah ekstrak enzim dari viscera bekicot yang memiliki karakter yang sama dengan enzim komersial dengan waktu lisis yang lebih singkat. Ekstrak enzim dari viscera bekicot ini dapat digunakan sebagai pengganti enzim komersial dalam pemanfaatannya untuk isolasi protoplas, namun diperlukan kondisi yang steril agar protoplas yang dihasilkan tidak mudah terkontaminasi.

Protoplas rumput laut *K. alvarezii* dari beberapa daerah yang berbeda, menunjukkan kepadatan yang berbeda. Protoplas yang diisolasi dari rumput laut *K. alvarezii* asal Takalar memiliki kepadatan paling tinggi mencapai $3,7 \times 10^8$ sel/mL; Tambalang $0,59 \times$

10^8 sel/mL; Bali $0,25 \times 10^8$ sel/mL; dan rumput laut asal Maumere menghasilkan protoplas dengan kepadatan $0,14 \times 10^8$ sel/mL (Gambar 7).

Enzim komersial pada perbandingan 2:1 dan 1:2 tidak menunjukkan jumlah protoplas yang jauh berbeda, lisis menggunakan enzim komersial pada perbandingan 2:1 menghasilkan jumlah protoplas yang maksimum. Sedangkan pada perbandingan 1:0 dan 0:1 menghasilkan protoplas dengan jumlah yang paling kecil. Penggunaan enzim selulase dan macerozyme secara bersamaan pada isolasi protoplas rumput laut *K. alvarezii* sangat mempengaruhi proses lisis jaringan dinding sel rumput laut yang berpengaruh juga terhadap jumlah protoplas yang dapat



Gambar 7. Perbandingan protoplas rumput laut *K. alvarezii* dari asal yang berbeda

Figure 7. Comparison of *K. alvarezii* protoplast from several areas

dihasilkan. Reddy et al. (2006) menyebutkan bahwa variasi protoplas yang dihasilkan selain dipengaruhi oleh fisiologi, biokimia, dan kondisi eksplan, juga dipengaruhi oleh komposisi dan konsentrasi enzim yang digunakan, pH, kekuatan ion, dan osmotik serta waktu inkubasi dan temperatur. Dari hasil penelitian ini perbandingan konsentrasi enzim selulase dan macerozyme yang disarankan untuk isolasi rumput laut *K. alvarezii* agar diperoleh protoplas dengan hasil yang optimum adalah perbandingan 2:1.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak kasar enzim dari vischera bekicot (*A. fulica*) memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan enzim komersial dan dapat digunakan sebagai pengganti enzim komersial pada isolasi protoplas dengan sterilisasi yang baik.

Pemakaian enzim selulase dan macerozyme dalam lisis fragmen jaringan rumput laut *K. alvarezii* akan optimal bila digunakan secara bersamaan. Perbandingan enzim komersial selulase dan macerozyme yang optimum untuk isolasi protoplas rumput laut *K. alvarezii* adalah 2:1.

Rumput laut *K. alvarezii* asal Takalar memiliki protoplas dengan kepadatan tertinggi sebesar $3,7 \times 10^8$ sel/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S. dan A. Parenrengi. 1995. Pengaruh Variasi Komposisi Pupuk Terhadap Pertumbuhan Rumput Laut *Eucaema cottonii* Pada Kultur In Vitro. *J. Pen. Perik. Indonesia*. 1(3): 47—53.
- Bird, K.T. and P.H. Benson. 1987. *Seaweed Cultivation For Renewable Resources*. Elsevier. New York. 19 pp.
- Dharma, B. 1988. Siput dan Kerang Indonesia I. Cetakan pertama. PT. Sarana Graha. Jakarta. p. 30—45.
- Dharma, B. 1992. Siput dan Kerang Indonesia II. PT. Sarana Graha. Jakarta. 2: 106—107.
- Dipakkore, Shikh, C.R.K. Reddy, and Bhavanath Jha. 2005. Production and seeding of protoplasts of *Porphyra okhaensis* (Bangiales, Rhodophyta) in Laboratory Culture. *Journal of Applied Phycology*. 17(4): 331—337.
- Juwono dan A.Z. Juniarto. Cetakan I. 2003. *Biologi Sel*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. p. 21—22.
- Lobban, S. Christopher, and P.J. Harrison. 1994. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press. New York. 45 pp.
- Marx, J. 1991. *Revolusi Bioteknologi*. penerjemah: Wildan Yatim. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta. p. 279—283.
- Nurdjana, M.L. 2006. Pengembangan Budidaya Rumput Laut di Indonesia. *Disampaikan pada Diseminasi Teknologi dan Temu Bisnis Pengembangan Budidaya Rumput Laut*, 12 September 2006 di Makassar. 35 pp.
- Parenrengi, A., E. Suryati, dan Rachmansyah. 2007. Penyediaan Benih dalam Menunjang Kebun Bibit dan Budidaya Rumput Laut, *Kappaphycus alvarezii*. *Makalah disampaikan pada Simposium Nasional Riset Kelautan dan Perikanan*, 7 Agustus 2007 di Jakarta. 12 pp.
- Plummer, T. D. 1978. *An Introduction To Practical Biochemistry*. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi. 243 pp.
- Reddy, C.R.K, S. Dipakkore, G.R. Kumar, B. Jha, D.P. Cheney, and Y. Fujita. 2006. An improved enzyme preparation for rapid mass production of protoplasts as seed stock for aquaculture of macrophytic marine green algae. *Aquaculture*. 260: 290—297.
- Salvador, C.R. and A.E. Serrano. 2005. Isolation of protoplast from tissue fragments of Philippine cultivars of *Kappaphycus alvarezii* (Solieriaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*. 17(4): 5—12.
- Suryati, E., A. Tenriulo, dan S.R.H. Mulyaningrum. 2007a. Isolasi dan Kultur Protoplas Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* di Laboratorium. *J. Ris. Akuakultur*. 2(3): 403—408.
- Suryati, E., A. Tenriulo, dan S.R.H. Mulyaningrum. 2007b. Isolasi Protoplas Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* Menggunakan Enzim Komersial dan Viscera Keong Mas (*Pila Polita*). *Pengembangan Teknologi Budidaya Perikanan*. PRPB. Jakarta. p. 132—136.
- Toha, A.H. 2001. *Biokimia Metabolisme Biomolekul*. Cetakan kesatu. Alfabeta. Bandung. p. 83—84.
- Wikipedia. 2007. Pectin. (<http://www.jgames.co.uk.htm>). [diakses 8 Mei 2008].