

AKTIVITAS ENZIM BROMELIN KASAR BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGAN BUAH NANAS

Crude Bromelain Enzyme Activities Based on Maturity Level of Pineapple

*Detris Poba, Ijirana dan Jamaludin Sakung

Pendidikan Kimia/FKIP – Universitas Tadulako, Palu – Indonesia 94118

Received 03 September 2019, Revised 04 October 2019, Accepted 16 November 2019

doi: [10.22487/j.24775185.2019.v8.i4.pp236-241](https://doi.org/10.22487/j.24775185.2019.v8.i4.pp236-241)

Abstract

Utilization of pineapple is always focused on consumption for fresh fruit and animal feed. many people do not know the other benefits of pineapple. The presence of protease enzymes in it, increasing its utilization. The enzyme is bromelain, which can be obtained by isolating it from pineapple. For this reason, the aim of this study is to isolate the crude bromelain enzyme based on the maturity level of pineapple and then test its proteolytic activity. Pineapple was blended, then the filtrate was deposited, then centrifuged to obtain crude bromelain which is dried by the drying method and tested for its activity using milk substrate. The results showed that old pineapple is the best level of maturity and the sun is the best drying method with proteolytic activity of 0.053 and 0.056 MCU/mg respectively. Its optimum activity is pH 5.8 and 55 °C.

Keywords: Maturity level, proteolytic enzyme, bromelain, pineapple

Pendahuluan

Nanas merupakan tanaman yang tumbuh di beberapa negara tropis dan subtropis termasuk Filipina, Thailand, Malaysia, Kenya, India, China dan Indonesia (Medina & Gracia, 2005). Indonesia memproduksi tanaman nanas sebanyak 349038 ton dan khususnya di Sulawesi Tengah produksi buah nanas sebanyak 2042 ton (BPS, 2016). Produksi dalam jumlah demikian banyak, tidak dapat mengimbangi pemanfaatan yang masih terbatas pada konsumsi buah segar. Pada akhirnya, pemanfaatannya hanya di kalangan masyarakat dan belum diolah secara industri. Jika disimpan dalam waktu yang lama, buah nanas akan mudah rusak dan busuk.

Pada hal bagian utama yang bernilai ekonomi dari tanaman nanas adalah buahnya. Buah nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan, bahan pakan ternak, dan bahan baku industri. Selain itu, buah nanas mengandung kandungan gizi yang baik untuk sistem pencernaan dan membantu dalam memelihara bobot ideal serta nutrisi yang seimbang (Hossain, 2015; Kumar, dkk., 2016).

Adapun kandungan gizinya terdapat pada Tabel 1. Selain nutrisi, mineral dan vitamin, dalam buah nanas juga terdapat bromelain yang merupakan enzim proteolitik (Dubey, dkk., 2012; Ketnawa, dkk., 2011). Enzim ini mempunyai sifat menghidrolisa protein dan banyak digunakan sebagai pengempuk daging,

sebagaimana enzim papain pada tanaman pepaya (Ismanto & Basuki, 2017). Enzim bromelain juga banyak diaplikasikan dalam bidang kedokteran, farmasi, industri tekstil, dan kosmetik (Hossain, 2015; Kumar dkk., 2016; Sharma, 2015; Ogunmefun, dkk., 2018; Yuris & Siow, 2014).

Tabel 1. Kandungan gizi dalam 100 gram nanas

Kandungan Gizi	Jumlah
Nutrisi	
Air	87.20 g
Energi	190.00 kJ
Protein	0.55 g
Lipid total	0.13 g
Karbohidrat	11.80 g
Sukrosa	4.59 g
Glukosa	1.76 g
Fruktosa	1.94 g
Mineral	
Kalsium (Ca)	13.00 mg
Besi (Fe)	0.25 mg
Magnesium (Mg)	12.00 mg
Fosforus (P)	9.00 mg
Kalium (K)	125.00 mg
Natrium (Na)	1.00 mg
Seng (Zn)	0.08 mg
Tembaga	0.081 mg
Mangan (Mn)	1.59 mg
Vitamin	
Vitamin C	16.9 mg
Vitamin B-6	0.11 mg
Vitamin A	5.25 mg
Vitamin K	1.22 µg

Sumber data: *USDA Nutrient Database*. 2015

Berdasarkan uraian di atas, enzim bromelain banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan dan non-pangan. Hal ini memungkinkan

*Correspondence

Detris Poba

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako
e-mail: detrispoba@gmail.com

Published by Universitas Tadulako 2019

untuk dilakukannya isolasi enzim bromelin pada buah nanas dengan harapan dapat meningkatkan nilai ekonomi bagi masyarakat petani nanas. Kendala yang dihadapi untuk mengisolasi bromelin kasar dari buah nanas adalah penentuan teknik isolasi yang mudah untuk diterapkan. Berbagai teknik pemisahan dilakukan untuk memperoleh enzim bromelin dari buah nanas. seperti ekstraksi dan isolasi. Pemisahan yang diharapkan adalah pemisahan yang ekonomis dan lebih aman.

Penelitian menunjukkan, bromelin kasar dapat diekstrak dari limbah buah nanas (mahkota, bagian tengah, kulit) kemudian diuji aktivitas enzimnya pada sampel protein (Lakshminarasimaiah, dkk., 2014). Hasil uji aktivitasnya memperlihatkan aktivitas bromelin berkurang jika disimpan dalam waktu yang lama. Penyimpanan 1 – 2 hari dapat dilakukan pada kondisi suhu yang dingin (4°C). Ekstraksi bromelin yang diendapkan dengan etanol, juga memperlihatkan sebagian besar aktivitas proteolitiknya pada pH 8 hingga suhu 60°C (Martins, dkk., 2014). Ekstrak nanas yang dimurnikan menunjukkan aktivitas hemolitik yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam industri farmasi (Philip, dkk., 2016).

Penelitian lainnya dilakukan dengan cara mengisolasi enzim bromelin kasar dari buah nanas. Hasil isolasi dan purifikasi secara parsial dari limbah batang buah nanas menunjukkan aktivitas spesifik proteolitiknya tiga kali lebih tinggi (1.14 U/mg) dari pada sampel komersial bromelin (0.38 U/mg) yang memiliki jumlah protein total lebih tinggi (1.60 mg/mL) (Bresolin, dkk., 2013). Nanas (batang dan kulit) diblender untuk dapat memisahkan padatan dari cairan. Disentrifugasi untuk mendapatkan supernatannya. Kemudian diuji aktivitas proteolitiknya terhadap substrat azocasein. Pada pH 9 masing-masing aktivitas proteolitik bromelin kasar dari batang dan kulit nanas adalah 2.7 U/mg dan 3.1 U/mg (Campos, dkk., 2019).

Tulisan ini dimaksudkan untuk mengurai isolasi enzim bromelin kasar dengan tingkat kematangan yang berbeda pada berbagai metode pengeringan. Oleh karena bromelin dipengaruhi oleh beberapa faktor, maka bromelin yang diisolasi juga perlu ditetapkan kondisi optimum yang mempengaruhinya.

Metode

Baskom, parut dan blender, talang, oven, blower, neraca digital, water bath, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, spatula, pengaduk, pH meter, gelas kimia, corong, pipet volum, rak tabung dan tabung reaksi.

Aquades, susu bubuk dancow, bufer fosfat, serta nanas.

Penentuan Isolasi Enzim Bromelin Kasar pada Beberapa Metode Pengeringan

Buah nanas tua dikupas, dicuci, lalu diparut. Hasil parutan disaring menggunakan kain saring. Filtratnya didiamkan hingga terbentuk endapan kemudian endapan tersebut disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 2000 rpm, setelah itu ditempatkan pada talang untuk selanjutnya dilakukan pengeringan sinar matahari, pengovenan pada suhu 40°C, serta blower. Perlakuan diulangi sampai 3 kali (triplo) sehingga jumlah perlakuan adalah 9 perlakuan. Setiap perlakuan diuji aktivitas bromelinnya menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas proteolitik} = \frac{1}{E \times t} \quad (\text{satuannya MCU/mg}).$$

Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar Berdasarkan Tingkat Kematangan

Buah nanas muda, tua, serta masak dikupas, dicuci, lalu diparut. Hasil parutan disaring menggunakan kain saring. Filtrat didiamkan hingga terbentuk endapan. Masing-masing endapan di sentrifugasi kemudian dikeringkan pada metode pengeringan dengan aktivitas tertinggi yang telah diperoleh pada perlakuan sebelumnya. Perlakuan yang sama dilakukan untuk uji aktivitas bromelinnya.

Penentuan Suhu Optimum

Larutan susu dengan kepekatan 12 % sebanyak 10 mL di masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan enzim bromelin kasar sebanyak 1.5 mL. Lalu mengatur kerja enzim pada pH 6 dan suhu yang dikehendaki yaitu 40, 45, 50, 55, dan 60°C. Perlakuan yang sama dilakukan sebanyak 3 kali. Reaksi dihentikan pada saat terbentuk gumpalan. Penentuan waktu terjadinya gumpalan menggunakan *stop watch*.

Mencatat waktu yang diperlukan hingga menggumpal. Selanjutnya menghitung aktivitas enzim bromelin kasar sesuai dengan rumus penentuan aktivitas proteolitik pada perlakuan sebelumnya.

Penentuan pH Optimum

Pada penentuan pH optimum, digunakan suhu optimum pada perlakuan sebelumnya. Untuk menentukan pH optimum enzim bromelin kasar dalam susu, pH yang digunakan adalah pada rentang pH 5.8; 6; dan 7. Larutan susu dibuat dengan menggunakan larutan buffer yang terdapat pada lampiran. Perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali. Perlakuan yang sama dilakukan untuk uji aktivitas enzim bromelin.

Kondisi optimum yang diperoleh merupakan enzim bromelin kasar dari nanas dengan tingkat kematangan dan metode pengeringan tertentu.

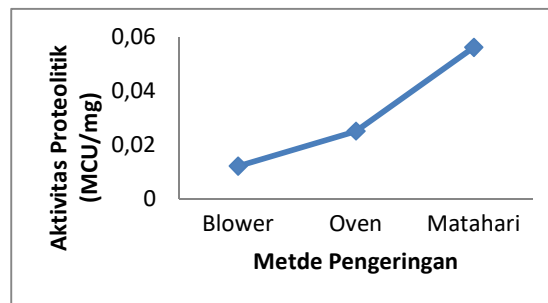
Hasil dan Pembahasan

Penentuan Metode Pengeringan Terbaik

Pengeringan merupakan proses mengurangi kadar air dari material (dalam hal ini residu nanas hasil sentrifugasi) sampai batas kadar air yang ditentukan. Enzim bromelin kasar yang diisolasi dari buah nanas dapat dikeringkan dengan menggunakan metode pengeringan seperti blower, oven, serta sinar matahari. Setelah proses pengeringan, maka akan diuji aktivitas proteolitik dari enzim bromelin kasar terhadap larutan susu. Adapun aktivitas enzim bromelin kasar berdasarkan metode pengeringan disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa metode pengering blower mulai menunjukkan aktivitas proteolitiknya sebesar 0.012 MCU/mg. Aktivitas proteolitik semakin

meningkat pada metode pengering oven yaitu sebesar 0.025 MCU/mg. hingga metode pengeringan dengan menggunakan sinar matahari menunjukkan aktivitas proteolitik tertinggi enzim bromelin kasar sebesar 0.056 MCU/mg. Pengering sinar matahari cukup mudah dan murah untuk digunakan walaupun membutuhkan waktu yang lama. Dengan pemanasan suhu yang rendah yaitu suhu rata-rata kota palu sebesar 30°C (BMKG, 2010) tidak akan merusak aktivitas enzim bromelin kasar, sehingga sisi aktif enzim bromelin kasar dapat berikatan dengan substrat. Dibandingkan pengovenan pada suhu 40°C serta blower pada suhu 50°C. Oleh sebab itu aktivitasnya akan lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan yang menggunakan blower dan oven.

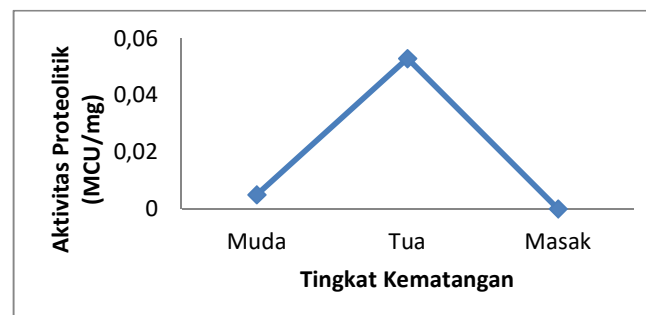


Gambar 1. Hubungan antara metode pengeringan yang dipakai dengan aktivitas proteolitik enzim bromelin

Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar Berdasarkan Tingkat Kematangan

Tingkat kematangan sangat berpengaruh terhadap aktivitas proteolitik enzim bromelin kasar dari buah nanas. Namun, kandungan enzim bromelin dalam buah nanas tidak mempengaruhi aktivitas enzim bromelin. Semakin matang buah nanas maka kandungan enzim bromelinnya akan semakin banyak. Tetapi sebaliknya, aktivitasnya semakin berkurang pada tingkat kematangan tertentu. Aktivitas proteolitik yang dihasilkan akan berbeda-beda sesuai dengan yang

diperlihatkan oleh Gambar 2. Dari grafik pada Gambar 2 terlihat bahwa semakin matang buah nanas maka keaktifannya akan bertambah. Namun pada tingkat kematangan tertentu (masak) enzim bromelin tidak menunjukkan aktivitasnya. Nanas muda memperlihatkan aktivitas proteolitik sebesar 0.005 MCU/mg. aktivitas proteolitik enzim bromelin kasar pada nanas tua naik drastis sebesar 0.048 MCU/mg menjadi 0.053 MCU/mg kemudian aktivitasnya menurun pada nanas masak yang hingga menit ke 30 tidak menunjukkan penggumpalan substrat.



Gambar 2. Hubungan antara tingkat kematangan yang dipakai dengan aktivitas proteolitik enzim bromelin

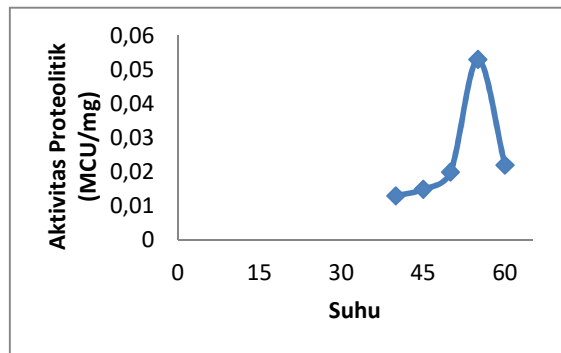
Hal ini membuktikan bahwa nanas tua menghasilkan enzim bromelin yang bekerja paling aktif. Dibandingkan nanas muda dan nanas masak. Terbukti bahwa pada tingkat kematangan tertentu (masak) keaktifannya akan berkurang. Dalam hal ini enzim ikut terpakai dalam pembentukan senyawa tertentu. enzim terpakai dalam senyawa tersebut sehingga sebagian enzim akan rusak. akibatnya keaktifannya berkurang. Buah nanas yang masih muda dan buah nanas tua mengandung enzim bromelin lebih sedikit dibandingkan buah nanas masak dengan kandungan yang lebih banyak namun tidak menunjukkan aktivitas yang tinggi.

Suhu Optimum

Pengaruh suhu terhadap enzim ternyata agak kompleks. misalnya suhu yang tinggi dapat mempercepat pemecahan dan menurunnya aktivitas enzim. Namun. semakin tinggi suhu (dalam batas optimum) semakin aktif pula enzim tersebut (Silvestre, dkk., 2012). Hasil analisis aktivitas enzim bromelin kasar pada berbagai suhu ditunjukkan pada Gambar 3.

Terlihat bahwa pengukuran suhu reaksi yang ditunjukkan oleh aktivitas enzim bromelin kasar dari buah nanas tua pada suhu 40°C aktivitasnya adalah 0.013 MCU/mg dan terjadi peningkatan setiap pengukuran suhu sebesar 5°C. pada suhu 55°C kondisi optimum tercapai yaitu sebesar 0.053 MCU/mg. Suhu ini menunjukkan penggumpalan susu yang sangat cepat. dimana enzim bromelin sebagai protease bekerja pada saat terjadi penggumpalan susu. Pada kondisi ini terjadi tumbukan yang cepat antara molekul-molekul protein dan enzim bromelin. sehingga enzim akan bekerja secara optimal.

Suhu optimum yang tercapai terjadi saat penurunan aktivitas proteolitik enzim bromelin kasar pada pengukuran suhu 60°C. yaitu 0.022 MCU/mg yang mengindikasikan keaktifan enzim bromelin kasar mulai berkurang. Pada suhu ini keadaan sisi aktif enzim tidak dapat lagi bekerja terhadap substrat. Setelah suhu dinaikkan di atas suhu optimal energi sistem menjadi sangat tinggi. sehingga ikatan peptida dan ikatan disulfida terganggu. akibatnya menonaktifkan enzim (Martins, dkk., 2014)

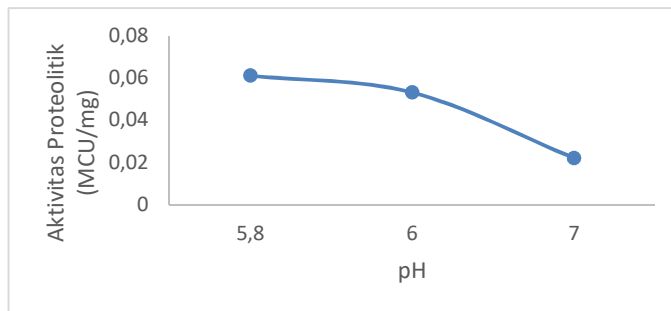


Gambar 3. Hubungan antara pengaruh suhu dengan aktivitas proteolitik enzim bromelin

pH Optimum

Pengaruh pH terhadap enzim bromelin kasar dari buah nanas tua dapat dilihat pada Gambar 4. Pengaruh pH rendah atau pH tinggi

dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yang akibatnya dapat menurunkan aktivitas proteolitik enzim.



Gambar 4. Hubungan antara pH dan aktivitas proteolitik enzim bromelin

Aktivitas proteolitik dari enzim bromelin kasar mencapai titik optimumnya pada pH 5.8 sebesar 0.061 MCU/mg dimana terjadi penurunan aktivitas setelah pH di naikan yaitu pada pH 6 sebesar 0.053 MCU/mg dan menurun secara terus menerus hingga pH 7 yaitu 0.022 MCU/mg.

Penelitian ini korespon dengan hasil penemuan bahwa enzim bromelin akan aktif pada pH 3 – 8 (Manzoor, dkk., 2016). Penelitian ini menunjukkan pH optimal enzim bromelin adalah 5.8 artinya terjadi aktivitas maksimum. Sehingga di luar lingkungan tersebut aktivitasnya akan menurun (Ngozi, dkk., 2010).

Pada pH asam kondisi optimum enzim bromelin kasar bekerja secara aktif. hal ini dikarenakan sistein yang merupakan asam amino pada enzim bromelin memiliki gugus SH yang bersifat asam. sehingga konsentrasi ion H^+ pada substrat akan meningkat akibatnya ion-ion H^+ yang tinggi mampu berikatan dengan ion $-COO^-$ sehingga membentuk gugus $-COOH$.

Protein yang ada pada susu awalnya merupakan suatu bentuk kuaterner. karena adanya pengaruh katalis dari enzim sehingga molekul air akan lebih cepat bereaksi dengan protein. hal ini ditunjukkan dengan adanya gumpalan yang ada pada larutan susu. Oleh sebab itu. kondisi tersebut menunjukkan bahwa pada protein susu terjadi perubahan konformasi. (Poedjiadi, 1994).

Seperti protein pada umumnya. struktur ion enzim dapat tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif. ion negatif. atau ion bermuatan ganda (zwitter ion). Keadaan ini akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat.

Asam amino dalam keadaan basa. akan mengakibatkan konsentrasi ion OH^- yang tinggi akan mengikat H^+ yang berada pada $-NH_3^+$ akibatnya larutan akan semakin bertambah basa. sebaliknya dengan konsentrasi ion H^+ yang tinggi dalam asam amino asam $-COO^-$ akan mampu berikatan dengan ion H^+ sehingga terbentuk asam $-COOH$ mengakibatkan larutan bertambah asam. (Poedjiadi, 1994).

Kesimpulan

Matahari merupakan metode pengeringan terbaik dimana nanas tua merupakan tingkat kematangan dengan aktivitas proteolitik tertinggi. Adapun suhu optimum enzim bromelin terdapat pada suhu reaksi $55^\circ C$ yaitu sebesar 0.053 MCU/mg dan pH optimum enzim bromelin terdapat pada pH 5.8 yaitu sebesar 0.061 MCU/mg.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada pihak yang telah membantu dalam proses penelitian hingga pada akhirnya dapat menghasilkan sebuah tulisan.

Referensi

- Bresolin, I. R. A. P., Bresolin, I. T. L., Silveira, E., Tambourgi, E. B., & Mazzola, P. G. (2013). Isolation and purification of bromelain from waste peel of pineapple for therapeutic application. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(6), 971–979.
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2016). *Statistik tanaman buah-buahan dan sayuran tahunan*. Jakarta : Badan Pusat Statistik.
- BMKG. (2010). Prakiraan cuaca sulawesi tengah. Retrieved from <https://www.bmkg.go.id/cuaca/prakiraan-cuaca-indonesia.bmkg?Prov=29&NamaProv=Sulawesi%20Tengah>.
- Campos, D. A., Coscueta, E. R., Valetti, N. W., Pastrana-Castro, L. M., Teixeira, J. A., Picó, G. A., & Pintado, M. M. (2019). Optimization of bromelain isolation from pineapple byproducts by polysaccharide complex formation. *Food Hydrocolloids*, 87(January), 792–804.
- Medina, C., De La, J., & García, H. S. (n.d.). (2015) *Pineapple post-harvest operations*. Meksiko: Post-harvest Compendium:
- Dubey, R., Reddy, S., & Murthy, N. Y. S. (2012). Optimization of activity of bromelain. *Asian Journal of Chemistry*, 24(4), 1429–1431.
- Hossain, F. M. (2015). Nutritional value and medicinal benefits of pineapple. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(1), 84 – 88.
- Ismanto, A., & Basuki, R. (2017). Pemanfaatan ekstrak buah nanas dan ekstrak buah pepaya sebagai bahan pengempuk daging ayam. *Jurnal Peternakan Akademik*, 6(2), 60–69.
- Ketnawa, S., Chaiwut, P., & Rawdkuen, S. (2011). Extraction of bromelain from pineapple peels. *Food Science and Technology International*, 17(4), 395–402.
- Kumar, K., Chandra, S., & Kumar, V. (2016). Medico-nutritional importance and value added products of pineapple – A review. *South Asian Journal of Food Technology and Environment*, 2(1), 290–298.
- Lakshminarasimaiah, N., Vibhuti, R. B., & Ghosh, B. (2014). Extraction of Bromelain from pineapple waste. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(6), 763–766.
- Manzoor, Z., Nawaz, A., Mukhtar, H., & Haq, I. (2016). Bromelain: methods of extraction. purification and therapeutic applications. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59(Jan/Dec), 1 – 16.
- Martins, B. C., Rescolino, R., Coelho, D. F., Zanchetta, B., Tambourgi, E. B., & Silveira, E. (2014). Characterization of bromelain

- from ananas comosus agroindustrial residues purified by ethanol factional precipitation. *Chemical Engineering Transactions*, 37(June), 781–786.
- Ngozi, A., Romanus, I. I., Azubuikwe, A. C., Eze, T., Egwu, O. A., & Collins, O. N. (2010). Presence of coliform producing extended spectrum beta lactamase in sachet-water manufactured and sold in Abakaliki Ebonyi State Nigeria. *International Research Journal Microbiology*, 1(2), 32–36.
- Philip, M. Kizhakedathil, J., Sinha, P., Mahuwala, A. A., & Subramanian. S. (2016). In-vitro hemolytic and clot buster activity of the extracts of ananas comosus (pineapple). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 41(2), 239–243.
- Poedjiadi. (1994). *Dasar-dasar biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Sharma, S. P. (2015). A study on nutritional efficacy of pineapple juice in the treatment of bronchial asthma. *International Journal of Scientific and Research Publication*, 5(1), 1–4.
- Silvestre, M. P. C., Carreira, R. L., Silva, M. R., Corgosinho, F. C., Monteiro, M. R. P., & Morais, H. A. (2012). Effect of pH and temperature on the activity of enzymatic extracts from pineapple peel. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1824–1831.
- Ogunmefun, T. O., Asoso, S. O., Olatunji, P. B., & Ogundele, M. O. (2018). Nutritional values, chemical compositions and antimicrobial activities of fruit juice from pineapple (ananas comosus l.) and coconut (cocos nucifera l.) blends. *Journal of Food Science and Nutrition*, 1(2), 40–46.
- Yuris, A., & Siow, L. F. (2014). A comparative study of the antioxidant properties of three pineapple (ananas comosus l.) varieties. *Journal of Food Studies*, 3(1), 40–56.