

# Optimasi Amobilisasi Bromelin Menggunakan Matriks Pendukung Kitosan

Maliha Sya'bana dan Refdinal Nawfa

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

*e-mail*: refnawfa@chem.its.ac.id

**Abstrak**—Optimasi amobilisasi bromelin dengan matriks pendukung kitosan telah diteliti. Enzim bromelin yang diisolasi dari buah nanas mentah maupun matang diperoleh aktivitas tertinggi pada pengendapan 40% dengan ammonium sulfat jenuh. Kondisi optimum amobilisasi enzim bromelin didapatkan pada konsentrasi kitosan 240,4 mg dan bromelin 10 mg dengan jumlah enzim teramobil 9,5417 mg dan aktivitas dalam 10 mg enzim amobil yang diuji adalah 86,2067 Unit. Uji aktivitas enzim amobil terhadap pengaruh substrat kasein didapatkan aktivitas tertinggi pada kasein 3000 ppm. Uji perulangan enzim amobil dapat digunakan hingga enam kali dengan efisiensi 57,69%.

**Kata Kunci**—Bromelin; amobilisasi; kitosan; kasein; aktivitas; efisiensi.

## I. PENDAHULUAN

Enzim bromelin merupakan kelompok enzim pemecah protein atau disebut juga sebagai enzim protease atau proteolitik yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan famili Bromeliceae (Chaurasiya dan Hebbbar, 2013). Enzim bromelin dapat mengkatalisis penguraian protein menjadi asam amino melalui reaksi hidrolisis, yaitu penguraian dari molekul besar menjadi molekul yang lebih kecil dengan kombinasi air (Maryam, 2009). Kemampuan enzim bromelin dalam memecah protein, diaplikasikan dalam berbagai industri seperti industri makanan dan farmasi, seperti digunakan untuk melunakkan daging, membantu proses pencernaan maupun sebagai agen antibiotik.

Enzim bromelin paling banyak ditemukan dalam buah nanas (*Ananas comosus*), meskipun terdapat juga dalam buah pisang dengan jumlah yang lebih sedikit. Untuk mengisolasi enzim bromelin ini dapat dilakukan dengan salah satu cara yaitu pengendapan menggunakan ammonium sulfat jenuh. Hal ini dikarenakan ammonium sulfat memiliki kelarutan yang tinggi dalam air dan tidak bereaksi dengan protein dan polisakarida, sehingga dapat mengendapkan enzim bromelin. Penelitian Salahudin (2011) menyebutkan enzim bromelin yang diperoleh dari pengendapan ammonium sulfat masih memiliki aktivitas katalitiknya. Hasil isolat enzim bromelin yang diperoleh serta nilai aktivitasnya dipengaruhi dari konsentrasi penambahan ammonium sulfat.

Penelitian mengenai amobilisasi enzim bromelin yang membuat enzim menjadi inaktif telah banyak dilakukan. Amobilisasi enzim ini digunakan karena lebih banyak keuntungan yang diperoleh. Dibandingkan dengan enzim bebas, enzim amobil lebih kuat dan tahan terhadap perubahan lingkungan, bersifat heterogen terhadap substrat sehingga enzim dapat diperoleh kembali, dapat digunakan secara berulang serta penghentian reaksi dapat

dilakukan secara cepat dengan pemisahan enzim amobil dari larutan reaksi (Krajewska, 2004). Salah satu metode amobilisasi enzim yang digunakan yaitu metode *cross linking* (ikat silang). Metode ini sering digunakan karena ikatan enzim dengan matriks pendukung stabil sehingga enzim tidak mudah lepas. Enzim akan terjebak di dalam matriks pendukung dengan mencampurkannya terlebih dahulu sebelum disilangkan menggunakan glutaraldehid sebagai pereaksi bifungsional yaitu pengaktifasi dan pengikatsilang.

Turunan senyawa kitin dapat digunakan sebagai bahan pengamobil enzim. Cara memperoleh kitin relatif mudah dengan mengisolasinya dari kulit udang yang dilakukan dua tahap proses demineralisasi dan deproteinasi. Penghilangan gugus asetil (deasetilasi) pada kitin mengubahnya menjadi kitosan. Kitosan bersifat tidak beracun dan mudah didegradasi. Selain itu, kitosan mempunyai gugus amina hasil deasetilasi yang dapat berikatan dengan pereaksi bifungsional, sehingga kitosan mampu dijadikan matriks pendukung amobilisasi enzim yang baik.

Besarnya penambahan kitosan yang digunakan dalam amobilisasi enzim bromelin untuk mencapai aktivitas enzim optimum belum sepenuhnya diketahui. Sebaliknya, besarnya enzim bromelin yang teramobil untuk mencapai aktivitas optimumnya belum ada keterangan dari penelitian sebelumnya. Apabila diketahui kadar optimum enzim bromelin teramobil, maka dapat diketahui pula bahwa dengan sejumlah tertentu penggunaan kitosan mampu mengamobilisasi sejumlah tertentu enzim bromelin. Dengan demikian, dapat diketahui perbandingan yang sesuai untuk melakukan amobilisasi enzim bromelin dengan matriks pendukung kitosan.

## II. METODOLOGI PENELITIAN

### A. Isolasi Kitin

Kitin diisolasi dari kulit udang yang dikuliti dan dicuci hingga bersih. Kulit udang dikeringkan dibawah sinar matahari dan dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh bentuk serbuk. Kitin diperoleh melalui dua tahap demineralisasi dan deproteinasi yang mengacu dari penelitian Kumari, dkk. (2015) dengan beberapa modifikasi.

#### 1) Demineralisasi

Serbuk kulit udang direndam dalam HCl 1 M dengan perbandingan 1:15 (b/v) selama 2 jam. Residu disaring dan dicuci dengan aquades hingga pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 4 jam.

## 2) *Deproteinasi*

Serbuk kulit udang hasil demineralisasi, direndam dalam NaOH 1 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 18 jam pada suhu ruang. Perendaman dengan NaOH 1 M dilakukan hingga larutan tidak berwarna. Residu disaring dan dicuci dengan aquades hingga pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 4 jam.

## B. *Transformasi Kitin menjadi Kitosan*

Kitin ditambahkan NaOH 50% dengan perbandingan 1:10 (b/v), kemudian diaduk sambil dipanaskan dalam 100°C selama 4 jam. Residu disaring dan dicuci dengan aquades hingga pH netral kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 4 jam.

## C. *Penentuan Kadar Protein*

### 1) *Penentuan Panjang Gelombang Maksimum*

Kadar protein ditentukan menggunakan metode biuret. Larutan stok kasein 5000 ppm yang dibuat dari 500 mg kasein dilarutkan dalam campuran larutan NaOH 0,4 M sebanyak 25 mL dan aquades 75 mL. Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan cara 6 mL kasein 5000 ppm ditambahkan dengan 4 mL reagen biuret, kemudian diaduk dan didiamkan selama 20 menit pada suhu 37°C. Larutan standar kasein diukur absorbansinya pada range panjang gelombang antara 500-600 nm dengan interval 5 nm. Pengukuran absorbansi larutan kasein didahului oleh blanko.

### 2) *Pembuatan Kurva Standar Kasein*

Kurva standar kasein dibuat dari larutan stok kasein 5000 ppm yang dibuat menjadi konsentrasi larutan kasein secara berturut-turut 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750, 2000, 2250, 2500, 2750 dan 3000 ppm. Larutan diaduk dan didiamkan selama 20 menit pada suhu 37°C. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya. Data pengukuran absorbansi dibuat kurva antara konsentrasi terhadap absorbansi dan ditentukan persamaan garis dari regresi linier.

## D. *Isolasi Enzim Bromelin*

Enzim Bromelin diisolasi dari buah nanas yang dihaluskan menggunakan blender, kemudian disaring dan diperas menggunakan kain hingga diperoleh sarinya. Sari buah nanas disentrifugasi selama 25 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan diambil sebanyak 160 mL dan diendapkan dengan menambahkan larutan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  jenuh sebanyak 40 mL (untuk memperoleh fraksi pengendapan 20%), kemudian didinginkan dalam lemari es semalam. Setelah terbentuk endapan, dilakukan sentrifugasi selama 25 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Endapan diambil dan dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Pengendapan diulangi untuk memperoleh fraksi pengendapan 30%, 40%, 50% dan 60%. Enzim ditentukan aktivitas katalitiknya dengan melarutkan 5 mg dalam 10 mL substrat kasein 3000 ppm, kemudian dihomogenkan dengan *shaker* kecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 2 jam. Selanjutnya ditentukan kadar protein menggunakan metode.

## E. *Amobilisasi Enzim Bromelin*

### 1) *Pengaruh Konsentrasi Kitosan terhadap Aktivitas Enzim*

Amobilisasi bromelin dilakukan dengan variasi pada kitosan mulai dari 50, 100, 150, 200 dan 250 mg. Enzim bromelin sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam 3,6 mL larutan buffer fosfat pH 6 dan ditambahkan kitosan dengan lima variasi, kemudian didiamkan selama 15 menit dalam lemari es. Campuran ditambahkan 0,4 mL glutaraldehid 5% dan didiamkan 30 menit pada suhu ruang. Campuran disimpan dalam lemari es selama 18 jam. Enzim amobil yang terbentuk disaring dan dicuci dengan 30 mL aquades. Filtrat air cucian enzim diencerkan hingga 50 mL dan ditentukan kandungan proteinnya (jumlah enzim yang tidak teramobil). Selanjutnya, enzim amobil diambil 10 mg setiap variasi dan diuji aktivitasnya dengan substrat kasein 3000 ppm.

### 2) *Pengaruh Konsentrasi Bromelin terhadap Aktivitas Enzim*

Prosedur dilakukan sama seperti pada amobilisasi variasi kitosan dengan menggunakan konsentrasi kitosan optimum yang diperoleh dari percobaan. Enzim bromelin yang ditambahkan mulai dari 10, 30, 50, 70 dan 90 mg. Setelah enzim amobil terbentuk, kemudian disaring dan dicuci dengan larutan 30 mL aquades. Filtrat air cucian enzim diencerkan hingga 50 mL dan ditentukan kandungan proteinnya (jumlah enzim yang tidak teramobil). Kemudian enzim amobil diambil 10 mg setiap variasi dan diuji aktivitasnya dengan substrat kasein 3000 ppm.

## F. *Pengaruh Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Enzim Bromelin Amobil*

Enzim bromelin yang telah diamobilisasi ditentukan aktivitasnya terhadap pengaruh konsentrasi substrat. Substrat kasein yang ditambahkan yaitu dari 1000, 2000 dan 3000 ppm dan diambil masing-masing sebanyak 10 mL. Enzim bromelin amobil 10 mg dimasukkan ke dalam larutan substrat dan dihomogenkan dengan *shaker* kecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 2 jam. Enzim bromelin amobil dipisahkan dari larutan substrat. Filtrat yang telah dipisahkan ditentukan kadar protein menggunakan metode biuret.

## G. *Pengaruh Perulangan Penggunaan Enzim Bromelin Amobil terhadap Aktivitas Enzim*

Enzim bromelin amobil ditentukan aktivitas katalitiknya terhadap perulangan penggunaannya dengan substrat kasein 3000 ppm 10 mL dengan waktu inkubasi 2 jam. Enzim bromelin amobil 20 mg dimasukkan ke dalam larutan uji pertama kemudian disaring dan dibilas dengan aquades sekali, kemudian dimasukkan ke dalam larutan uji kedua hingga larutan uji keenam dengan perlakuan yang sama. Selanjutnya ditentukan kadar protein terdegradasi dan aktivitas enzim pada setiap perulangan.

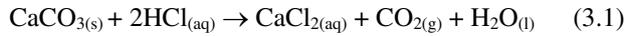
## III. HASIL DAN DISKUSI

### A. *Isolasi Kitin*

Kitin diisolasi dari kulit udang laut yang dikeringkan dibawah sinar matahari dan dihaluskan hingga diperoleh bentuk serbuk, kemudian dilakukan tahapan selanjutnya.

### 1) Demineralisasi

Demineralisasi dilakukan untuk memisahkan kitin dalam kulit udang dari mineral utamanya yaitu  $\text{CaCO}_3$  dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dalam jumlah kecil. Mineral-mineral tersebut akan bereaksi dengan HCl sehingga terlepas dari kulit udang. Pada saat HCl dicampurkan dengan serbuk kulit udang terbentuk gelembung gas seperti busa, karena hasil reaksi diperoleh  $\text{CO}_2$  seperti pada persamaan reaksi 3.1.



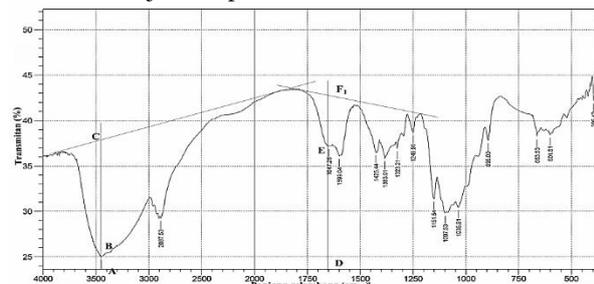
Hasil demineralisasi kulit udang yang telah kering diperoleh serbuk coklat. Setelah dilakukan proses demineralisasi, terjadi pengurangan massa serbuk dari 15 gram menjadi 3 gram.

### 2) Deproteinasi

Deproteinasi dilakukan untuk memisahkan protein yang masih bercampur dengan kitin. Protein dipisahkan dengan melarutkannya menggunakan basa NaOH, sehingga protein akan berikatan membentuk Na-proteinat yang dapat larut. Perendaman dengan NaOH diulangi hingga larutan rendaman bening. Hal ini berfungsi sebagai penghilang warna untuk memperoleh serbuk kitin meskipun terlihat sedikit kecoklatan. Dengan perulangan perendaman NaOH tersebut, maka tidak perlu dilakukan untuk tahap *bleaching*. Proses deproteinasi menyebabkan pengurangan massa serbuk kitin dari 3 gram menjadi 2,5 gram.

### B. Transformasi Kitin menjadi Kitosan

Hasil uji IR kitin yang telah ditransformasi menjadi kitosan ditunjukkan pada Gambar 3.1.



**Gambar 3.1.** Spektra kitosan hasil perulangan deasetilasi dengan panjang  $\text{DF}_1 = 6,7$  cm;  $\text{DE} = 4,7$  cm;  $\text{AC} = 4,9$  cm dan  $\text{AB} = 0,5$  cm.

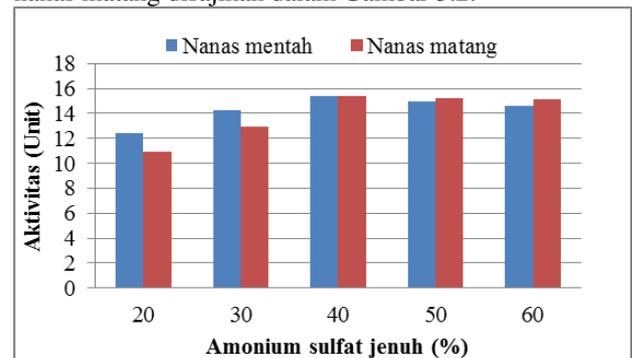
Perhitungan derajat deasetilasi menggunakan metode *baseline*. Berdasarkan spektra IR pada Gambar 3.1 diperoleh %DD sebesar 88,32%. Hasil ini telah mencukupi untuk dikatakan sebagai kitosan karena lebih dari 70%.

### C. Isolasi Bromelin

Enzim bromelin dari buah nanas diisolasi dari nanas mentah dan nanas matang. Kedua nanas diekstrak untuk diambil enzim bromelinnya dan dibandingkan nanas mana yang memiliki aktivitas enzim lebih baik. Pengendapan dengan amonium sulfat jenuh dilakukan secara bertingkat dari 20%, 30%, 40%, 50% hingga 60% dalam ekstrak nanas. Dari pengendapan bertingkat didapatkan beberapa endapan fraksi enzim bromelin yang masih basah. Fraksi enzim bromelin dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Masing-masing fraksi enzim bromelin ditentukan kadar protein enzim dan aktivitas proteolitiknya dalam larutan substrat menggunakan metode biuret.

Besarnya aktivitas enzim dihitung dalam satuan Unit. Pada penelitian ini, definisi untuk 1 Unit aktivitas enzim

yaitu banyaknya  $\mu\text{g}$  protein yang terdegradasi/ menit/ mg enzim. Aktivitas dari fraksi enzim hasil pengendapan amonium sulfat jenuh baik dari nanas mentah maupun nanas matang disajikan dalam Gambar 3.2.



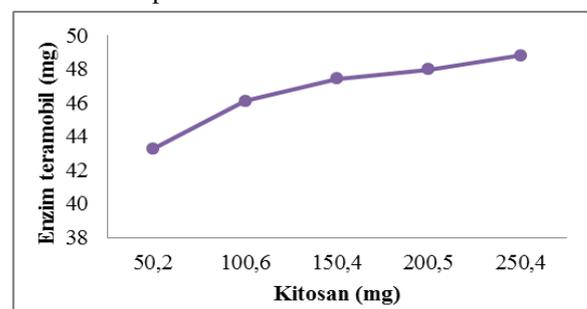
**Gambar 3.2.** Aktivitas fraksi enzim hasil pengendapan amonium sulfat jenuh.

Pada Gambar 3.2, aktivitas enzim tertinggi diamati pada pengendapan amonium sulfat jenuh 40% nanas mentah maupun nanas matang. Dalam penelitian ini aktivitas bromelin dari kedua jenis nanas tersebut tidak berbeda jauh. Keduanya mempunyai aktivitas maksimum pada pengendapan amonium sulfat jenuh 40%. Maka dari itu, untuk melakukan percobaan selanjutnya digunakan enzim dari pengendapan amonium sulfat jenuh 40%.

### D. Amobilisasi Enzim Bromelin

#### 1) Pengaruh Konsentrasi Kitosan terhadap Aktivitas Enzim

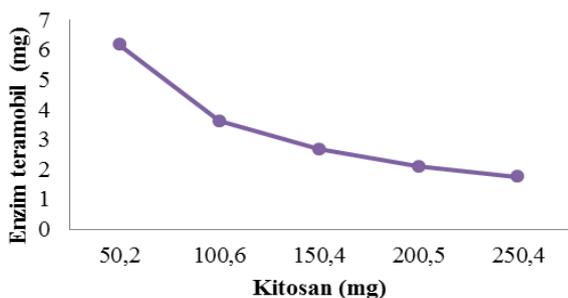
Amobilisasi enzim bromelin dilakukan dengan metode *cross linking*. Enzim akan berikatan silang dengan matriks pendukung kitosan yang diaktifkan oleh pereaksi *cross linking* yaitu glutaraldehid. Gugus aldehid pada glutaraldehid akan berikatan dengan gugus amina pada kitosan dan gugus amino pada enzim, sehingga membentuk formasi kitosan-glutaraldehid-enzim. Kitosan dilakukan lima variasi dengan penambahan jumlah enzim yang sama besar yaitu 50 mg. Dengan dilakukannya variasi tersebut, dapat diketahui pengaruh konsentrasi kitosan terhadap jumlah enzim yang teramobil. Hasil amobilisasi enzim dengan variasi kitosan dilihat pada Gambar 3.3.



**Gambar 3.3.** Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap enzim yang teramobil.

Berdasarkan Gambar 3.3, dapat diketahui semakin banyak kitosan yang diberikan maka semakin meningkat jumlah enzim yang teramobil. Jumlah enzim yang teramobil tersebut merupakan enzim terdapat dalam massa total (dengan matriks kitosan) yang diperoleh, dimana semakin banyak kitosan maka massa total enzim amobil diperoleh semakin besar. Untuk itu pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan massa enzim amobil yang sama besar.

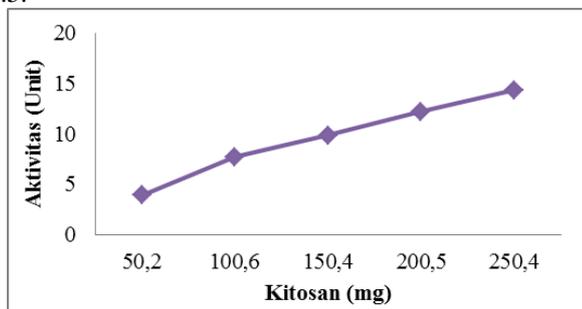
Masing-masing enzim amobil variasi kitosan diambil 10 mg massa totalnya, sehingga diketahui jumlah enzim teramobil per 10 mg seperti ditunjukkan pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4. Jumlah enzim teramobil dalam 10 mg massa total total enzim amobil variasi kitosan.

Jumlah enzim teramobil dalam 10 mg massa totalnya didapatkan hasil yang paling rendah pada kitosan 250,4 mg. Hal ini dikarenakan perlakuan kitosan yang semakin meningkat menghasilkan massa total enzim amobil yang semakin meningkat dengan enzim yang ditambahkan berjumlah sama, sehingga dalam 10 mg massa totalnya jumlah enzim teramobil akan semakin menurun.

Aktivitas enzim diukur dari 10 mg massa total enzim amobil variasi kitosan yang dimasukkan ke dalam substrat. Hasil pengujian aktivitas enzim amobil yang diambil sama banyak 10 mg dapat dilihat pada Gambar 3.5.

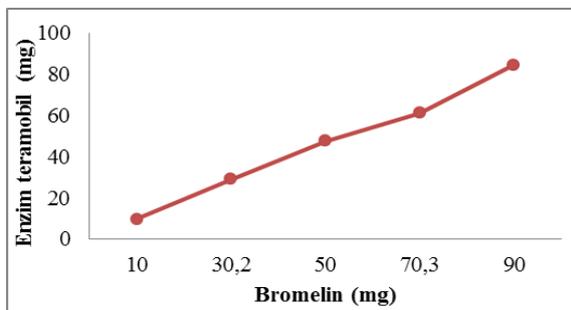


Gambar 3.5. Aktivitas enzim amobil variasi konsentrasi kitosan.

Aktivitas tertinggi enzim amobil terdapat pada perlakuan kitosan 250,4 mg, dimana jumlah enzim teramobil adalah yang paling rendah (dalam 10 mg massa total enzim amobil yang diuji). Sebaliknya pada perlakuan kitosan 50,2 mg diperoleh aktivitas paling rendah. Jumlah enzim teramobil dan aktivitas enzim dapat dihubungkan bahwa semakin tinggi jumlah enzim teramobil maka semakin rendah aktivitasnya. Dalam penelitian Zhu dan Sun (2012) didapatkan jumlah enzim teramobil tinggi menghasilkan aktivitas rendah yang dipengaruhi oleh pereaksi glutaraldehid. Hal tersebut dikarenakan enzim melekat erat dengan konformasi yang tepat sehingga kehilangan fleksibilitas fungsi katalitiknya.

2) Pengaruh Konsentrasi Bromelin terhadap Aktivitas Enzim

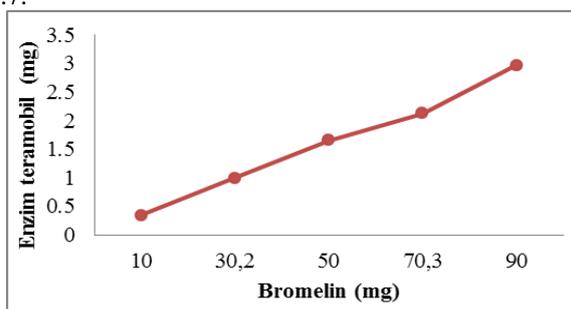
Amobilisasi dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, semakin tinggi jumlah enzim yang ditambahkan, maka akan semakin banyak enzim yang teramobil. Amobilisasi enzim dilakukan dengan kitosan dalam jumlah sama sebanyak 250 mg setiap variasi konsentrasi bromelin. Jumlah enzim teramobil variasi konsentrasi bromelin ditunjukkan pada Gambar 3.6.



Gambar 3.6. Pengaruh konsentrasi bromelin terhadap enzim yang teramobil pada 250 mg kitosan.

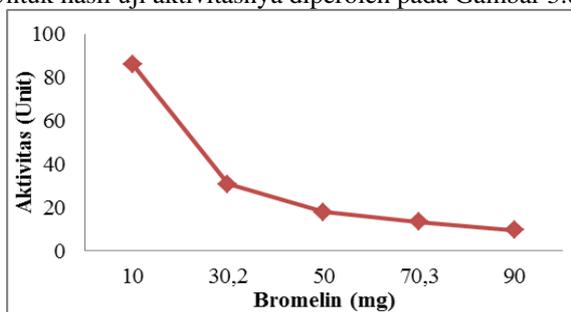
Pada Gambar 3.6 menunjukkan bahwa semakin banyak enzim yang ditambahkan maka akan semakin banyak jumlah enzim yang teramobil. Jumlah enzim yang teramobil tersebut merupakan enzim terdapat dalam massa total (dengan matriks kitosan).

Seperti pada variasi kitosan, pengukuran aktivitas enzim amobil variasi konsentrasi bromelin dilakukan dengan cara mengambil 10 mg massa total enzim amobil dari setiap variasi. Besarnya jumlah enzim teramobil dalam 10 mg massa totalnya disampaikan pada Gambar 3.7.



Gambar 3.7. Jumlah enzim teramobil dalam 10 mg massa total enzim amobil variasi bromelin.

Pada Gambar 3.7, jumlah enzim teramobil dalam 10 mg massa totalnya diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi bromelin akan diperoleh jumlah enzim teramobil juga semakin tinggi. Pada konsentrasi bromelin 90 mg diperoleh jumlah enzim teramobil paling tinggi. Untuk hasil uji aktivitasnya diperoleh pada Gambar 3.8.



Gambar 3.8. Aktivitas enzim amobil variasi konsentrasi bromelin.

Hasil uji aktivitas enzim pada Gambar 3.8 menunjukkan semakin banyaknya konsentrasi bromelin maka aktivitasnya akan semakin menurun. Aktivitas enzim paling tinggi ditunjukkan oleh konsentrasi bromelin 10 mg. Aktivitas enzim amobil dengan perlakuan konsentrasi bromelin 10 mg diperoleh sebesar 86,2607 Unit, sedangkan jumlah enzim yang teramobil didapatkan 9,5417 mg yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Jika aktivitas enzim amobil dikaitkan dengan jumlah enzim teramobil, menunjukkan bahwa semakin rendah enzim yang teramobil maka akan menghasilkan aktivitas yang semakin besar. Dalam

penelitian ini, variasi konsentrasi bromelin yang dilakukan belum mencapai optimal, karena dengan semakin rendahnya konsentrasi bromelin menunjukkan peningkatan aktivitas.

#### E. Pengaruh Perulangan Penggunaan Enzim Bromelin Amobil terhadap Aktivitas Enzim

Keuntungan penggunaan enzim amobil adalah dapat digunakan berulang hingga beberapa kali. Hal ini dikarenakan enzim amobil mudah dipisahkan kembali dari larutan produknya. Enzim bromelin amobil pada penelitian ini digunakan hingga enam kali. Kondisi penggunaan enzim dapat diketahui dengan menentukan efisiensi perulangan sebagaimana Tabel 3.1.

**TABEL 3.1.** EFISIENSI PERULANGAN PENGGUNAAN ENZIM AMOBIL.

Perulangan ke-	Aktivitas (Unit)	Efisiensi (%)
1	74,7327	100
2	71,5705	95,77
3	70,5165	94,36
4	69,4624	92,95
5	46,2731	61,92
6	43,1109	57,69

Berdasarkan Tabel 3.1, enzim bromelin amobil masih baik digunakan hingga enam kali perulangan. Pada perulangan keenam diperoleh aktivitas sebesar 43,1109 Unit dengan efisiensi penggunaannya sebesar 57,69%. Hal ini didasarkan pada penelitian Roosdiana, dkk. (2009) yang menyatakan bahwa perulangan penggunaan enzim amobil dikatakan baik apabila efisiensi penggunaan masih di atas 50%.

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi kitosan dan konsentrasi bromelin berpengaruh terhadap jumlah enzim yang teramobil serta aktivitasnya. Kondisi optimum dari variabel yang dilakukan pada amobilisasi enzim bromelin didapatkan pada konsentrasi kitosan 250,4 mg dan konsentrasi enzim 10 mg dengan total enzim teramobil 9,5417 mg dan aktivitas enzim dalam 10 mg enzim amobil sebesar 86,2067 Unit. Uji aktivitas enzim amobil maksimum pada konsentrasi substrat 3000 ppm dan perulangan penggunaan enzim amobil dapat digunakan hingga enam kali dengan efisiensi 57,69%.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Bapak Drs. Refdinal Nawfa, M.S. selaku dosen pembimbing serta Kepala Laboratorium Mikroorganisme ITS dan Bapak Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D. yang telah memberikan izin menggunakan sarana dan prasarana laboratorium sehingga penelitian ini bisa terlaksana dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chaurasiya, R.S. dan Hebbar, H.U. (2013). Extraction of Bromelain from Pineapple Core and Purification by RME and Precipitation Methods. *Separation and Purification Technology* 111: 90-97.
- [2] Ferdiansyah, V. (2005). Pemanfaatan Kitosan dari Cangkang Udang sebagai Matriks Penyangga pada Imobilisasi Enzim Protease. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- [3] Goldstein, L. dan Menecke, G. (1976). The Chemistry of Enzyme Immobilization. *Applied Biochemistry and Bioengineering Vol.1*. New York: Academi Press.
- [4] Krajewska, B. (2004). Application of Chitin-and Chitosan-based Material for Enzyme Immobilizations: a Review. *Enzyme and Microbial Technology* 35: 126-139.
- [5] Kumari, S., Rath, P., Kumar, A.S.H. dan Tiwari, T.N. (2015). Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Fishery Waste by Chemical Method. *Environmental Technology & Innovation* 3: 77-85.
- [6] Maryam, S. (2009). Ekstrak Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas sativus Schult.*) dan Pemanfaatannya pada Isolasi DNA. *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang.
- [7] Roosdiana, A., Setianingsih, T., Mardiana, D. dan Suratmo. (2009). Characterization of Immobilized Lipase in Aluminosilicate for Lactosyl Palmitate Synthesis. *Indonesia Journal Chemical* 9: 201-205.
- [8] Salahudin, F. (2011). Pengaruh Bahan Pengendap pada Isolasi Enzim Bromelin dari Bonggol Nanas. *Biopropal Industri Vol.02, No.01*.
- [9] Thate, M.R. (2004). Synthesis and Antibacterial Assessment of Water-Soluble Hydrophobic Chitosan Derivatives Bearing Quaternary Ammonium Functionality. *Disertasi*. Louisiana.
- [10] Zhu, J. dan Sun, G. (2012). Lipase Immobilization on Glutaraldehyde-Activated Nanofibrous Membranes for Improved Enzyme Stabilities and Activities. *Reactive & Functional Polymers* 72: 839-845.