

## PENGARUH BAHAN PENGENDAP PADA ISOLASI ENZIM BROMELIN DARI BONGGOL NANAS

*(The Effect of Settling Agent on Bromelain Enzyme Isolation from Pineapple Core)*

**Farid Salahudin**

Baristand Industri Pontianak, Jl. Budi Utomo No. 41 Pontianak

E-mail : farid.salahudin@yahoo.com

**ABSTRACT.** *Pineapple is one of the most potential agricultural commodities from West Kalimantan. Pineapple is the promising source of protease enzyme which is called bromelaine enzyme. The aim of this research was to obtain the best technology of bromelain enzyme isolation. The variable in this research were the concentration of ammonium sulphate and ethanol which their degrees were 20, 40, 60 and 80%. Enzyme isolate was tested the activity of protease enzyme with the modification of lowry method. The technology of enzyme isolation with ammonium sulfat 80% is can produced the best of enzyme isolate with 0,61% rendement and the enzyme activity is 12.500 U/ml.*

**Keywords :** *activity, bromelain, enzyme, isolation*

### 1. PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus*) merupakan tanaman buah berupa semak dengan ukuran tanaman yang relatif rendah . Tanaman yang termasuk dalam famili *Bromiliaceae* ini berasal dari Brazil dan tersebar ke berbagai negara setelah Colombus datang ke Brazil. Berdasarkan habitus tanaman, terutama bentuk daun dan buah dikenal 4 jenis nanas yaitu *Cayenne*, *Queen*, *Spanish* dan *Abacaxi*. Jenis nanas yang banyak ditanam di Indonesia adalah jenis *Cayenne* dan *Queen*, sedangkan jenis *Spanish* banyak dikembangkan di India, Mexico, Puerto Rico dan Malaysia (Anonim, 2000). Buah nanas sangat luas pemanfaatannya terutama untuk makanan dan minuman baik dalam bentuk segar maupun kalengan.

Selain pemanfaatan di bidang pengolahan pangan nanas juga mengandung enzim protease yang biasa disebut dengan enzim bromelin. Enzim ini banyak digunakan dalam industri tata boga sebagai pengempuk daging dan industri kosmetika serta industri farmasi. Industri kosmetika mulai menggunakan bahan-

bahan alami dalam produk perawatannya seperti enzim bromelin. Industri farmasi juga telah menggunakan enzim bromelin dalam produk-produknya terutama dalam produk anti inflamasi (Anonim, 2000).

Enzim adalah protein yang berperan sebagai katalis biologi (*bio-katalisator*). Suatu enzim pada dasarnya akan mengkatalisis setiap reaksi di dalam sel hidup. Seperti *Escherichia coli* paling tidak memiliki 3.000 enzim yang berbeda dan sel eukariotik memiliki sekitar 50.000 jenis enzim. Enzim memiliki sistem pengaturan yang spesifik seperti pengaturan aktif dan inaktif yang dipengaruhi oleh kofaktor. Jenis kofaktor sangat spesifik untuk enzim tertentu yang dapat berupa unsur anorganik seperti besi (Fe) dan Tembaga (Cu) atau unsur organik seperti FAD dan NAD (Anonim, 2002).

Bila dilakukan analisis ternyata komposisi kimia enzim yang masih aktif maupun yang sudah tidak aktif adalah sama. Oleh karena itu untuk mengukur keaktifan suatu enzim perlu dilakukan reaksi enzim dengan substratnya dan diukur laju rekasinya. Karena kondisi

reaksi antara suatu enzim dengan enzim yang lain yang berbeda-beda maka *Enzyme Commission of International Union of Biochemistry* mengusulkan suatu definisi satuan enzim. Satu satuan (unit) dari suatu enzim adalah jumlah enzim tersebut yang mampu mengkatalisis perubahan 1  $\mu\text{mol}$  substrat per menit pada kondisi tertentu. Bila substratnya merupakan suatu senyawa polimer seperti protein atau pektin, maka 1  $\mu\text{mol}$  substrat diganti 1 mikro ekivalen gugus penting senyawa tersebut. Hal ini berarti bahwa bila substratnya sebuah molekul protein, maka satuan enzim didasarkan pada mikro ekivalen karboksil bebas (amino bebas) yang terbentuk per menit (Winarno, 1982).

Pemanfaatan enzim semakin luas sehingga membutuhkan teknik yang lebih maju untuk penggunaannya. Salah satu teknik yang dikembangkan yaitu mengimmobilisasi enzim agar dapat disimpan lama. Enzim yang terimmobilisasi ini secara fisik dan kimia tidak bebas bergerak sehingga dapat diatur kapan kontak dengan substrat. Teknik immobilisasi enzim ini dapat dilakukan secara fisik maupun kimiawi. Cara fisik adalah teknik immobilisasi tanpa melibatkan ikatan kovalen. Teknik ini biasanya menggunakan enzim yang diadsorpsi dalam suatu matriks atau menggunakan perangkap gel atau pengkapsulan. Cara kimiawi melibatkan paling sedikit satu ikatan kovalen antara residu dua atau lebih enzim yang sejenis namun reaksi ini bersifat irreversibel (Winarno, 1982).

Enzim bromelin adalah enzim yang terdapat pada tumbuhan famili *Bromiliceae* baik dari buah, batang maupun daunnya. Enzim ini termasuk dalam golongan enzim protease ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida rantai pendek dan asam amino (Nalola dan Widhyastuti, 2002). Pada perombakan protein oleh enzim bromelin terjadi pemutusan ikatan peptida dengan disisipi komponen air yaitu  $-H$  dan  $-OH$  sehingga rantai protein terputus (Glider and Hargrove, 2002).

Kemampuan merombak protein ini maka enzim bromelin mulai banyak digunakan di industri pangan, kosmetika, penyamaan kulit dan farmasi. Kebutuhan enzim protease dunia semakin meningkat dengan semakin berkembangnya teknologi berbasis bioteknologi yang salah satunya menggunakan enzim protease. Penelitian untuk menghasilkan enzim protease semakin meningkat dengan memanfaatkan mikroba seperti bakteri, yeast dan fungi. Menurut Nalola dan Widhyastuti (2002) bakteri penghasil enzim protease dapat diisolasi dari beberapa makanan hasil fermentasi seperti tape, tempe, oncom, kecap dan ragi tape. Selain dari makanan hasil fermentasi bakteri penghasil enzim protease juga dapat diisolasi dari tanah (Akhdiya, 2003).

Seperti fisin dan papain enzim bromelin merupakan enzim protease sulfhidril. Perbedaannya yaitu fisin dan papain merupakan protein sedangkan bromelin merupakan glukoprotein. Kandungan glukosa dalam enzim bromelin memungkinkan untuk mengalami presipitasi oleh pelarut polar seperti etanol. Selain itu bromelin juga mudah diendapkan dengan mengurangi air bebas dalam filtrat buahnya. Salah satu bahan yang mampu mengikat air bebas yaitu garam amonium sulfat. Sifat amonium sulfat yang sangat larut dalam air dan tidak bereaksi dengan enzim ini membuat garam ini dapat digunakan dalam isolasi bromelin (Winarno, 1982).

Pemanfaatan enzim bromelin semakin meningkat terutama dengan digunakannya enzim bromelin dalam obat anti inflamasi dan peluruh sel-sel mati. Beberapa penelitian untuk mengisolasi enzim bromelin telah dilakukan seperti menggunakan garam ammonium sulfat dan aseton. Selain teknik pengendapan dengan garam enzim bromelin juga dapat diisolasi menggunakan teknik *reserve micelles*. Teknik ini menggunakan mikro kolom yang dilengkapi dengan filter tiga tingkat dan dapat memisahkan antara fase berat dan fase ringan (Fileti et.al., 2009).

Kalimantan Barat adalah salah satu penghasil buah nanas yang potensial dengan produksi buah pada tahun 2004

berjumlah 5.885 ton (Anonim, 2005). Sebagian besar jenis nanas yang ditanam di Kalbar adalah jenis queen dan dijual dalam bentuk segar sehingga harganya sangat fluktuatif. Selama ini belum dikembangkan pemanfaatan nanas untuk diambil enzimnya sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan enzim bromelin.

## 2. METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol nanas jenis *queen*, amonium sulfat, buffer asetat, etanol, kertas saring, aquades dan lain-lain. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat ekstraktor, alat sentrifuge, gelas piala, gelas ukur, neraca analitik, pipet ukur, penyaring dan lain-lain.

### Prosedur Penelitian

Prosedur isolasi enzim bromelin dari bonggol nanas diawali dengan penghancuran bonggol nanas hingga menjadi bubur (*juicing*) kemudian bubur nanas disaring dengan penyaring dan kertas saring dan ditambahkan bahan pengendap berupa alkohol dan amonium sulfat. Pengendapan dilakukan selama 1 malam pada suhu 4°C setelah itu disentrifugasi selama 5 menit pada suhu 4°C kemudian diendapkan kembali selama 1 malam suhu 4°C dan disentrifugasi kembali selama 5 menit pada

suhu 4°C setelah itu ditambah buffer asetat dan disaring dengan kertas saring untuk selanjutnya dikeringkan pada suhu rendah.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan dua perlakuan yaitu konsentrasi ammonium sulfat (AS) dan alkohol (AL) dengan masing-masing konsentrasi : 20, 40, 60, 80%. Isolat enzim diuji aktivitasnya dengan metode Lowry yang dimodifikasi dan ditimbang untuk diperoleh data rendemen. Data rendemen dan aktivitas enzim dibandingkan untuk diketahui pengaruh konsentrasi dan bahan pengendapnya terhadap enzim bromelin yang dihasilkan.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter rendemen merupakan parameter untuk mengetahui prosentase produk yang dihasilkan dari bahan baku sedangkan aktivitas enzim protease merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu enzim dalam merombak protein. Uji ini menggunakan prinsip absorbansi protein terlarut dalam pereaksi Folin Ciocalteu dan sebagai bahan standardnya yaitu Bovine Serum Albumin (BSA). Nilai absorbansi yang besar menunjukkan bahwa aktivitas enzim semakin besar (Meloan and Pomeranz, 1973). Data rendemen dan aktivitas enzim bromelin yang dihasilkan dalam penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen dan Aktivitas Enzim

| Bahan Pengendap                                 | Konsentrasi (%) | Rendemen (gram) | Persen rendemen (%) | Aktivitas enzim (U/mL) |
|-------------------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------|------------------------|
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 20              | 2,6698          | 0,613               | 8.900                  |
|                                                 | 40              | 2,4910          | 0,615               | 2.900                  |
|                                                 | 60              | 2,5564          | 0,609               | 1.000                  |
|                                                 | 80              | 2,5017          | 0,610               | 12.500                 |
| C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH                | 20              | 1,5156          | 0,379               | 0                      |
|                                                 | 40              | 1,4732          | 0,373               | 0                      |
|                                                 | 60              | 1,5221          | 0,376               | 0                      |
|                                                 | 80              | 1,5085          | 0,377               | 0                      |

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan jenis bahan pengendap mempengaruhi rendemen enzim bromelin yang diperoleh. Enzim bromelin

merupakan enzim protease yang berupa glukoprotein. Adanya bagian glikosida membuat enzim bromelin dapat diendapkan dengan mengurangi air bebas.

Salah bahan yang dapat mengikat air bebas tanpa bereaksi terhadap enzim adalah ammonium sulfat. Selain dengan mengikat air bebas bahan yang mengandung glikosida juga dapat diendapkan dengan pelarut polar seperti alkohol (Winarno, 1982).

Amonium sulfat mempunyai sifat yang sangat mudah larut dalam air dan tidak bereaksi dengan protein. Oleh karena itu dari Table 1 terlihat bahwa perlakuan bahan pengendap ammonium sulfat menghasilkan rendemen enzim bromelin yang lebih besar dibandingkan perlakuan dengan alkohol. Hal ini disebabkan ammonium sulfat dapat larut sempurna dengan air sehingga air bebas menjadi berkurang dan enzim terendapkan. Sedangkan alkohol hanya mampu mengikat gugus glikosida sehingga kurang mampu mengurangi air bebas.

Perlakuan konsentrasi bahan pengendap relatif tidak mempengaruhi jumlah rendemen enzim. Bahan pengendap ammonium sulfat dalam beberapa konsentrasi menghasilkan rendemen 0,609 – 0,615%. Sedangkan perlakuan dengan alkohol menghasilkan rendemen pada kisaran 0,373 – 0,379%. Parameter rendemen belum dapat digunakan untuk menentukan keberhasilan proses isolasi karena belum diketahui aktivitas isolat enzim yang dihasilkan. Oleh karena itu diperlukan uji aktivitas enzim terhadap isolat enzim yang diperoleh.

Satu satuan (unit) dari suatu enzim adalah jumlah enzim tersebut yang mampu mengkatalisis perubahan 1  $\mu$ mol substrat per menit. Satu Unit enzim bromelin berarti satu enzim bromelin yang mampu mengkatalisis perubahan protein menjadi senyawa peptida dan asam amino dalam waktu satu menit. Semakin besar nilai aktivitas enzim protease semakin besar jumlah enzim yang aktif dalam mengkatalisis reaksi perombakan protein (Winarno, 1982).

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan bahan pengendap amonium sulfat mampu menghasilkan isolat enzim yang memiliki aktivitas. Sedangkan perlakuan bahan pengendap alkohol tidak dapat menghasilkan isolat enzim yang

memiliki aktivitas. Perlakuan alkohol dapat menghasilkan isolat enzim namun sudah tidak memiliki aktivitas. Hal ini disebabkan pada proses pelarutan alkohol dalam filtrat buah nanas timbul panas yang membuat enzim rusak (inaktif). Proses timbulnya panas pada saat pelarutan alkohol dalam filtrat nanas terjadi karena reaksi pemutusan ikatan hidrogen antar molekul air dan terbentuknya ikatan hidrogen baru antara molekul air dan alkohol yang bersifat eksotermis. Keaktifan enzim pada suhu 60°C tinggal 20% sehingga isolat enzim yang diperoleh kehilangan aktivitasnya. Selain itu alkohol mempunyai gugus polar yang mampu menggumpalkan glikosida sehingga terjadi denaturasi senyawa yang mengandung gugus glikosida seperti enzim bromelin (Winarno, 1982).

Amonium sulfat merupakan garam yang memiliki kelarutan dalam air yang sangat tinggi sehingga dapat mengendapkan enzim bromelin tanpa bereaksi dengan protein dan polisakarida. Hal ini menyebabkan isolasi enzim menggunakan bahan amonium sulfat dapat menghasilkan isolat enzim yang masih memiliki aktivitas protease. Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi amonium sulfat berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Perlakuan terbaik yaitu konsentrasi 80% yang dapat menghasilkan isolat enzim sebesar 0,61% dengan aktivitas enzim 12.500 U/mL. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya isolat enzim protease yang dihasilkan dalam penelitian termasuk paling besar. Sebagai perbandingan beberapa isolat enzim protease dari *Bacillus firmus* 11,259 U/mL, *Actinomyces* 106,45 U/mL (Ahdiya, 2003)

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian dapat disimpulkan bahwa bahan pengendap paling baik dalam isolasi enzim bromelin adalah ammonium sulfat dengan konsentrasi 80% yang menghasilkan rendemen 0,61% dan aktivitas enzim 12.500 U/ml.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya Alina, 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Buletin Plasma Nutfah*. Volume 9. No. 2, Tahun 2003.
- Anonim, 2005, *Kalbar Dalam Angka*. Badan Pusat Statistik, Kalimantan Barat.
- Anonim, 2002. *Kamus Istilah Pangan dan Nutrisi*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Anonim, 2000. *Nanas (Teknologi Tepat Guna Pertanian)*. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendaya gunaan dan Pemasarakatan Ilmu Pengetahuan dan Tenologi, Jakarta.
- Fileti, Ana Maria Frattini; Fischer, Gilvan Anderson; Santana, José Carlos Curvelo; Tambourgi, Elias Basile. 2009. Batch and Continuous Extraction of Bromelain Enzyme by Reversed Micelles. *Brazilian Archives of Biology and Technology*.
- Glider V. William and Hargrove S. Mark, 2002. *Using Bromelain in Pinnapple Juice to Investigate Enzyme Function*. Association for Biology Laboratory Education.
- Meloan, C.E and Pomeranz, Y. 1973. *Food Analysis Laboratory Experiments*. The AVI Publishing Company, New York.
- Nalola dan Widhyastuti, 2002. Isolasi, Seleksi dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Berita Biologi*, Volume 6, No. 3.
- Winarno, F.G., 1982. *Kimia Pangan dan Gizi*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.