

**Isolasi Dan Karakterisasi Bromelain Bonggol Nanas Dari Limbah Industri
(*Ananas comosus* L. Merr.)**

***Isolation and characterization Bromelain from Waste of Pineapple Core
(*Ananas comosus* L. Merr.)***

Mulyani, Laida, N.^{1*} Larasati, Veny², Handayani, Dwi³, Herlina⁴

^{2,3}*Program Studi pendidikan dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya,
Jalan Palembang-Prabumulih KM 32, Ogan ilir-Sumatera Selatan, Indonesia*

^{1,4}*Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sriwijaya, Jalan Palembang-Prabumulih KM 32, Ogan ilir-Sumatera
Selatan, Indonesia*

*Corresponding author e-mail: laidanetimulyani@yahoo.com

ABSTRAK

Limbah bonggol nanas (*Ananas comosus* L. Merr.) belum dimanfaatkan secara optimal padahal telah diketahui bahwa bonggol nanas mengandung enzim bromelain. Bromelain merupakan enzim kelompok protease sulfhidril yang menguraikan protein menjadi asam amino. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi bromelain dari bonggol nanas. Enzim ini diekstraksi dari bonggol nanas untuk menghasilkan ekstrak kasar bromelain. Isolasi bromelain dilakukan dengan pengendapan dan dilanjutkan dengan dialisis. Pada tahapan karakterisasi bromelain dilakukan penentuan berat molekul, kadar protein dan aktivitas terhadap protease. Hasil fraksinasi dengan presipitasi amonium sulfat menunjukkan aktivitas spesifik tertinggi adalah 1011,98 U/mg pada konsentrasi 40-60% amonium sulfat. Karakterisasi bromelain menunjukkan berat molekul bromelain adalah 23,69 dan 24,72 kD dengan kadar protein 2,78 mg/mL, dan aktivitas proteasenya yaitu 2833,33 U/mL. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bonggol nanas mengandung enzim bromelain yang memiliki aktivitas protease.

Kata kunci: Bromelain, bonggol nanas, pemurnian, karakterisasi

Corresponding Author: Mulyani, Laida, N.

Address: Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sriwijaya, Jalan Palembang-Prabumulih KM 32, Ogan ilir-Sumatera Selatan,
Indonesia

Email: laidanetimulyan@yahoo.com

ABSTRACT

Waste of pineapple stem (*Ananas comosus* L. Merr.) has not been optimally utilized, although it is known that pineapple contain bromelain enzym. This research aimed to isolation and characterization bromelain from pineapple stem. Enzim was extracted from pineapple stem to produce crude enzym of bromelain. Isolation bromelain was done by amonium sulphate precepitation and continued by dialysis. Characterization to determined molecular weight, protein content and protease activity. The result of fractionation by amonium precipitation showed the highest specific activity on amonium sulphate 40-60% fraction 1011,98 U/mg. Caharacterization of purified bromelain showed that molecular weight of bromelain is 23,69 dan 24,72 kD with proteint content 2,78 mg/mL and protease activity is 2833,33 U/mL. This study concluded that the pineapple stem has bromelain enzym with the protease activity.

Keywords: Bromelain, pineapple stem, purification, characterization

PENDAHULUAN

Bromelain merupakan salah satu kandungan terpenting pada nanas yang biasa digunakan sebagai tanaman obat. Bromelain merupakan suatu enzim proteolitik yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis dari protein. Bagian nanas yang mengandung bromelain dan telah digunakan sebagai tanaman obat yaitu pada bagian buah dan batangnya (Kelly,1996). onggol nanas juga memiliki kandungan bromelain tinggi setelah dagingnya bahkan aktivitaspesifiknya lebih tinggi dibandingkan dengan bromelain pada buah nanas. Hal ini telah didukung oleh penelitianyang dilakukan oleh Ratnawati (2001) mengenai isolasi, karakterisasi enzim bromelain dari kulit, buah, bonggol serta amobilisasi

enzim bromelain dari bonggol nanas. Berdasarkan hasil karakterisasi fraksi bromelain pada penelitian Ratnawati (2001) menunjukkan bahwa bromelain pada bonggol nanas memiliki aktivitas spesifik yang lebih besar daripada buah nanasMenurut penelitian Mulyono dkk. (2013) kandungan unit bromelain dalam 100 gram buah dan bonggol nanas Palembang tidak jauh berbeda yaitu pada buah terdapat 81,008 unit sedangkan pada bonggol terdapat 65,61 unit.

Penelitian mengenai bromelain dari nanas telah banyak dilakukan namun penelitian mengenai bromelain dari limbah bongggol nanas masih sangat jarang dilakukan. Salah satu masalah yang dihadapi industri pengolahan nanas antara lain adalah mengenai

pengolahan limbah kulit dan bonggol nanas. Ekstraksi dan pemurnian bromelain dari limbah bonggol nanas akan meningkatkan nilai guna dari bonggol nanas menjadi suatu produk *high value* bromelain yang dapat dikomersialisasi. Penelitian ini sekaligus dapat bermanfaat untuk mengurangi masalah penanganan limbah pada industri pengolahan nanas. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan ekstraksi, pemurnian dan karakterisasi bromelain dari limbah bonggol nanas.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sentrifugator (Beckman J2-HS[®]), sentrifugator (Beckman J2-21[®]), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S[®]), membran dialisis, peralatan SDS-PAGE (Bio-Rad[®]), *slab gel dryer* (LKB Bromma[®]), timbangan analitik (Ohaus[®]), timbangan analitik 100 g (Sartorius[®]), vortex (Certomat[®]), *water bath* (Grant[®]), gelas beaker (Rasotherm[®]), erlemeyer (Duran[®]), labu takar (Pyrex[®]), gelas ukur

(Pyrex[®]), *hot plate* (Robusta[®]), *dual action shaker* (Lab Line[®]).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bonggol nanas, amonium sulfat (Merck[®]), NaCl (Merck[®]), akuades (Sakura), barium diklorida (Merck[®]), natrium karbonat (Merck[®]), folin-ciocalteau (Sigma-Aldrich[®]), HCl (Sigma-Aldrich[®]), *coomassie brilliant blue* (Sigma-Aldrich[®]), amonium persulfat (Wako[®]), N,N metil bis akrilamida (Wako[®]), merkaptotanol (Bio Rad[®]), *bovine serum albumin* (Sigma-Aldrich[®]), NaOH (Merck[®]), buffer sampel (Bio-Rad[®]), marker protein (Promega[®]).

Metode

Ekstraksi dan Pemurnian Bromelain

Bonggol nanas diperoleh dari PT. Great Giant Pineapple di Lampung Tengah. Sebanyak 70 gram bonggol nanas diblender dengan penambahan 70 mL larutan *buffer* fosfat dingin 0,05 M pada pH 7,0 dan disaring. Filtrat yang diperoleh dari bonggol nanas disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 10 menit pada 4°C. Kemudian

supernatan dan disimpan pada suhu 4°C (Ali *et al.*, 2015).

Sebanyak 50 mL ekstrak kasar yang dari sebelumnya ditambahkan amonium sulfat dengan konsentrasi Fraksi 1 (0–20%) dengan pegadukan menggunakan magnetik selama 45 menit dan disimpan selama 3 jam pada suhu 4°C. Tahap selanjutnya yaitu disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit pada 4°C. Hasil sentrifugasi akan diperoleh supernatan dan endapan, dilakukan pengambilan endapan dan dilarutkan dengan *buffer* fosfat 0,05 M dengan pH 7,0. Supernatan diukur volumenya dan dilanjutkan ke tahap Fraksi 2 (20 – 40%), Fraksi 3 (40 –60%), Fraksi 4 (60 – 90%) (Herdyastuti, 2006; Gautam *et al.*, 2010).

Endapan bromelain hasil fraksinasi dari fraksi 1, fraksi 2, fraksi 3, dan fraksi 4 dimurnikan dengan dialisis. Bromelain yang diperoleh dari hasil fraksinasi dituang ke dalam membran dialisis dan dimasukkan dalam gelas beaker yang mengandung 0,02 M PBS (*phospahte buffer saline*) pH 7,0. Dialisis dilakukan selama 24 jam, pada 4 jam pertama setiap 1 jam

dilakukan pergantian *buffer*. Proses dialisis dikatakan selesai apabila bromelain telah terbebas dari garam amonium sulfat yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih ketika *buffer* hasil dialisis ditambahkan dengan BaCl₂. (Ratnawati, 2001; Gautam *et al.*, 2010; Sari, 2012).

Karakterisasi Bromelain

Penentuan Berat Molekul dengan SDS-PAGE

Sebanyak 25 µl sampel ditambahkan dengan 25 µl *buffer* sampel kemudian campuran tersebut dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. 5 µl *marker* protein dan 3 µl sampel dimasukkan ke dalam gel poliakrilamid (15% gel pemisah dan 4% gel penahan). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 150volt selama 1 jam. Berat molekul sampel dapat ditentukan dengan cara menghitung nilai Rf pada pita protein dan dibuat kurva standar antara log BM dengan Rf dari protein standar sehingga didapatkan persamaan garis yang akan digunakan untuk menentukan nilai BM sampel (Dewi, 2006).

Penentuan Kadar Protein Bromelain

Sampel bromelain 0,2 mL ditambahkan dengan 1 mL reagen Lowry C kemudian dikocok dan dibiarkan $\pm$ 10 menit. Reagen Lowry D 0,1 mL ditambahkan dan didiamkan selama $\pm$ 30 menit pada suhu kamar dengan sesekali dikocok. Serapannya dibaca pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer UV-Vis kemudian kadar protein ditentukan dengan regresi linier terhadap kurva standar BSA (Ratnawati, 2001). Larutan standar yang digunakan yaitu *bovine serum albumin* (BSA) dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 dan 150 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian larutan standar BSA ditambahkan reagen Lowry seperti pada prosedur sampel bromelain (Ratnawati, 2001; Rahmayanti, 2014).

Uji Aktivitas Protease

Untuk absorbansi sampel, sebanyak 0,5 mL kasein 1% yang telah dilarutkan dalam *buffer* tris HCl 0,05 M pH 8,0 diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL enzim bromelain dan diinkubasi selama 15

menit pada suhu 37°C. Tambahkan TCA 10%, dikocok dengan *vortex* dan didinginkan selama 30 menit. Sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit, diambil endapannya dan diukur pada panjang gelombang 280 nm. Untuk kontrol yang digunakan yaitu 0,5 mL enzim bromelain diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 1 mL TCA 10%, dikocok dengan *vortex* dan didinginkan selama 30 menit. Tambahkan 0,5 mL kasein 1% setelah didinginkan, dikocok dengan *vortex* dan didinginkan kembali selama 30 menit. Sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit, diambil endapannya dan diukur pada panjang gelombang 280 nm. Aktivitas protease dapat dihitung menggunakan rumus berikut ini pada Persamaan 1:

$$\text{Aktivitas} = \frac{As - Ak}{0,001} \times \frac{1}{T} \times$$

$$P \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

As = absorbansi sampel

Ak = absorbansi kontrol

T = waktu inkubasi

P = pengenceran enzim

HASIL DAN PEMBAHASAN

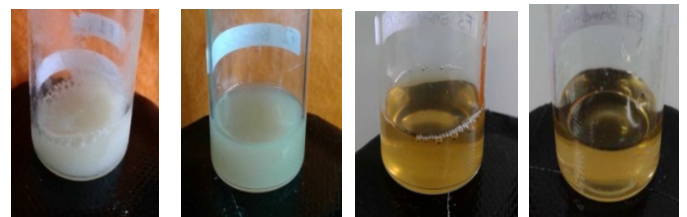
Ekstraksi dan Pemurnian

Bromelain

Ekstraksi bertujuan untuk mendapat ekstrak kasar bromelain dari bonggol nanas. Ekstraksi dilakukan dengan 0.05 M *buffer* fosfat pH 7,0 untuk mempertahankan aktivitas enzimnya (Masri, 2014). Ekstrak kasar bromelain selanjutnya dimurnikan dengan metode fraksinasi amonium sulfat dan dilanjutkan dengan dialisis. Proses fraksinasi dengan garam bertujuan untuk memekatkan larutan sehingga diperoleh larutan pekat yang mengandung endapan enzim bromelain. Pemilihan amonium sulfat sebagai garam yang digunakan pada proses fraksinasi karena kelarutannya yang tinggi dalam air sehingga memiliki daya pengendapan yang tinggi terhadap protein, tidak bereaksi dengan enzim sehingga tidak mengubah bentuk dan fungsi enzim (Haris, 1989).

Fraksinasi bromelain dengan amonium sulfat dilakukan dengan konsentrasi bertingkat yaitu dengan konsentrasi fraksi 1 (0–20%), fraksi 2 (20–40%), fraksi 3 (40–60%), fraksi 4 (60–90%), untuk mengetahui

konsentrasi garam yang paling efektif untuk mengendapkan bromelain (Nugraha, 2012). Pada tiap fraksi setelah penambahan amonium sulfat dilakukan pengadukan untuk mempercepat kelarutan garam pada ekstrak kasar sehingga seluruh bagian ekstrak homogen (Puspita, 2007). Selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk mendapatkan endapan yang mengandung bromelain (Suhartono, 1989). Pengambilan endapan dilakukan dengan proses resuspensi endapan dengan *buffer* fosfat.



(a) (b) (c) (d)
Gambar 1. Bromelain dari proses fraksinasi amonium sulfat., fraksi 1 (a) fraksi 2 (b) fraksi 3 (c) dan fraksi 4 (d)

Dari hasil fraksinasi dengan amonium sulfat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi amonium semakin banyak bromelain yang diendapkan, hal ini ditunjukkan dengan hasil resuspensi endapan hasil setrifuguasi

yang menunjukkan semakin pekat dengan meningkatnya konsentrasi garam yang digunakan. Selanjutnya pada tiap fraksi hasil fraksinasi dilakukan dialisis bertujuan untuk menghilangkan garam dan komponen pengganggu lainnya (Dennison, 2003). Bromelain dari beberapa fraksi hasil fraksinasi dengan garam amonium sulfat dimasukkan ke dalam membran dialisis yang bersifat semipermeabel. Perbedaan konsentrasi garam di dalam dan di luar membran akan menyebabkan garam amonium sulfat dengan konsentrasi yang tinggi di dalam membran akan berdifusi keluar (Nelson and Cox, 2004). Ukuran dari membran dialisis yang digunakan yaitu 12,4 kDa sehingga dapat menahan molekul bromelain. Menurut penelitian yang dilakukan Ramalingam *et al.*(2012) berat molekul bromelain yaitu 20–30 kDa sehingga membran dialisis dapat menahan bromelain di dalam membran.

Proses dialisis berlangsung selama 24 jam dan setiap 1 jam pada 4 jam pertama dilakukan pergantian *buffer* karena garam yang ditambahkan pada

proses fraksinasi tidak dapat hilang dengan satu kali proses dialisis dan agar tidak terjadi penumpukan garam amonium sulfat dalam *buffer* (Rohishoh, 2012). Proses dialisis selesai ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih BaSO_4 , yang merupakan hasil reaksi pengendapan amonium sulfat dan BaCl_2 yang ditambahkan pada *buffer* dialisis. Berdasarkan pengamatan, menunjukkan proses dialisis pada hasil fraksinasi bonggol nanas telah selesai setelah 5 kali pergantian *buffer* karena tidak ada lagi endapan putih yang terbentuk setelah ditambahkan BaCl_2 . Selanjutnya dilakukan analisis untuk karakterisasi bromelain hasil pemurnian.

Karakterisasi Bromelain

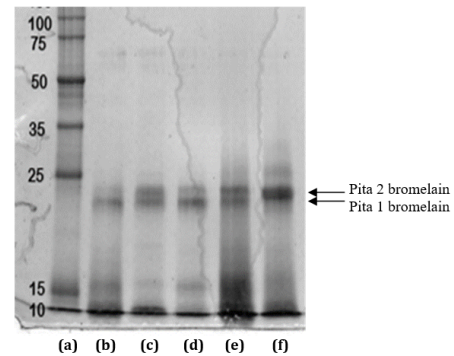
Penentuan Berat Molekul dengan SDS-PAGE

Hasil penentuan berat molekul dengan SDS-PAGE dilakukan untuk mengetahui tingkat kemurnian bromelain yang diperoleh dari hasil fraksinasi dan dialisis dan juga dapat digunakan untuk menentukan bobot molekul (Bintang, 2010). Elektroforegram SDS-PAGE ditunjukkan pada gambar 3. Sumur a

merupakan *marker protein* yang sudah diketahui berat molekulnya yaitu 10 – 225 kDa. Sumur b merupakan ekstrak kasar bromelain yang berasal dari bonggol nanas yang terdapat beberapa pita-pita, hal ini menunjukkan pada ekstrak kasar bromelain yang masih belum murni. Sumur c, d, e dan f secara berurutan merupakan hasil proses dialisis yang sebelumnya telah difraksinasi dengan amonium sulfat fraksi 1 (0 –20%), fraksi 2 (20 –40%), fraksi 3 (40 – 60%), fraksi 4 (60 –90%). Pada sumur c, d,e dan f memiliki 2 pita protein yang terdapat diantara 15 – 25 kDa, 2 pita protein ini merupakan pita protein dari bromelain yang memiliki perbedaan bobot molekul. Berikut ini adalah hasil analisis SDS-PAGE yang terlihat pada Gambar 6.

Berdasarkan penelitian Bresolin *et al.* (2013) terdapat 2 pita bromelain diantara 20 – 30 kDa. Berat molekul bromelain dapat diukur dengan cara membandingkan nilai mobilitas relatifnya (Rf) dari marker dan bromelain hasil pemurnian menggunakan suatu kurva standar yang menunjukkan antara logaritma berat molekul dengan mobilitas

marker. Hasil perhitungan berat molekul bromelain dapat dilihat pada tabel 1.



Gambar 2. Hasil Analisis SDS-PAGE. Marker Protein (a) ekstrak kasar bromelain (b) fraksi 1 (c) fraksi 2 (d) fraksi 3 (e) dan fraksi 4 (f)

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ramalingam *et al.*(2012) menunjukkan bahwa terdapat dua pita bromelain yang memiliki berat molekul berbeda diantara 20 – 30 kDa Perbedaan ukuran berat molekul pita 1 pada fraksi 4 dengan fraksi lainnya kemungkinan tingginya konsentrasi garam mengakibatkan perubahan konformasi struktur dari enzim yang menyebabkan perbedaan muatan sehingga migrasinya berbeda.

Tabel 1. Hasil penentuan berat molekul bromelain

Jenis Bromelain	BM (kDa)
-----------------	----------

	Pita 1	Pita 2	dengan <i>folin ciocalteu</i> dan
Ekstrak kasar bromelain	21,77	24,72	menghasilkan senyawa kompleks yang memberikan warna biru. Kadar protein ditentukan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva standar Bovine serum Albumin (BSA). Berdasarkan kurva standar BSA diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 2,066x + 0,138$. Substitusi absorbansi pada persamaan regresi linier menghasilkan kadar protein dari masing-masing hasil fraksinasi amonium sulfat yang telah didialisis dapat dilihat pada tabel 2.
Bromelain fraksi 1	21,77	24,72	
Bromelain fraksi 2	21,77	24,72	
Bromelain fraksi 3	21,77	24,72	
Bromelain fraksi 4	23,69	24,72	

Penentuan Kadar Protein

Bromelain

Penentuan kadar protein pada bromelain hasil pemurnian dilakukan dengan metode *Lowry* untuk mengetahui seberapa banyak protein yang berhasil diisolasi melalui metode yang telah dilakukan (Nugraha, 2012). Metode *Lowry* bekerja berdasarkan reaksi pembentukan tembaga monovalen (Cu^+) dan reaksi reduksi oleh *folin ciocalteu*. Reaksi pertama, larutan Na_2CO_3 yang dilarutkan pada NaOH akan menciptakan suasana basa sehingga ion tembaga divalen (Cu^{2+}) membentuk suatu kompleks dengan ikatan peptida pada bromelain yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen Cu^+ . Kedua yaitu berdasarkan reaksi reduksi oleh *folin ciocalteu* (fosfomolibdat dan fosfotungstat) dimana tirosin dan triptofan pada protein akan bereaksi

Tabel 2. Kadar protein hasil dialiisis fraksi

Jenis Bromelain	Rata-rata absorpsi	Kadar Protein (mg/mL)
Ekstrak kasar bromelain	0,406	12,938
Bromelain fraksi 1 (0 – 20%)	0,2725	1,295
Bromelain fraksi 2 (20 – 40%)	0,309	1,649
Bromelain fraksi 3 (40 – 60%)	0,734	11,526
Bromelain fraksi 4 (60 – 90%)	0,425	2,78

Tabel 2 menunjukkan hasil penentuan kadar protein dari beberapa fraksi setelah melalui proses dialisis. Fraksi 1 dengan konsentrasi ammonium sulfat 0 – 20% memiliki kadar protein yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak kasar bromelain hal ini dikarenakan konsentrasi garam yang diperlukan untuk mengendapkan protein masih relatif kecil, sehingga hanya sedikit endapan protein yang dihasilkan. Peningkatan konsentrasi garam menunjukkan peningkatan kandungan protein yang berhasil di endapkan. Sementara penurunan kadar protein pada fraksi 4 disebabkan oleh sebagian besar protein telah terendapkan pada fraksi-fraksi sebelumnya (Nugraha, 2012). Sehingga dapat disimpulkan bahwa kandungan bromelain tertinggi dari hasil dialisis berada pada fraksi 3 namun tingkat kemurnian protein lebih tinggi pada fraksi 4 berdasarkan elektroforegram hasil SDS PAGE.

Uji Aktivitas Protease

Uji aktivitas protease pada bromelain hasil dialisis dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas

protease pada bromelain yang telah diekstraksi dan dimurnikan. Metode pengujian aktivitas protease berdasarkan reaksi hidrolisis enzimatis oleh bromelain terhadap kasein sebagai substrat (Maryam, 2009). Bromelain yang terdapat dalam larutan akan memutuskan ikatan polipeptida pada larutan kasein menjadi ikatan yang lebih pendek yaitu oligopeptida dan asam-asam amino. Asam amino yang terbentuk harus dipisahkan *trichloro acetic acid* (TCA) yang menyebabkan produk yang mengandung peptida dan asam amino akan larut dan protein yang tidak terhidrolisis akan mengendap (Megiandari, 2009). Aktivitas protease ditentukan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 280 nm. Penambahan asam kuat akan menyebabkan rantai polipeptida pada bromelainterpotong sehingga konformasi struktur yang menyebabkan aktivitas katalitiknya hilang (Maryam, 2009). Hasil penentuan aktivitas protease dan aktivitas spesifik bromelain pada ekstrak kasar dan beberapa fraksi yang telah didialisis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil penentuan aktivitas protease dan aktivitas spesifik bromelain bonggol nanas

Jenis Bromelain	Aktivitas Protease (U/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
Ekstrak kasar bromelain	3970	306,89
Bromelain fraksi 1 (0 – 20%)	144,66	111,71
Bromelain fraksi 2 (20 – 40%)	817,33	495,65
Bromelain fraksi 3 (40 – 60%)	4840	419,92
Bromelain fraksi 4 (60 – 90%)	2813,33	1011,98

Hasil penentuan aktivitas protease pada tabel 4 menunjukkan bahwa aktivitas protease yang tinggi berada pada fraksi 3 dan 4. Penentuan aktivitas protease dipengaruhi oleh kadar bromelain dalam sampel. Semakin tinggi kadar bromelain yang aktif menunjukkan jumlah enzim yang mengkatalisis hidrolisis substrat

kasein semakin tinggi, sehingga konsentrasi produk hidrolisis yang akan terukur oleh spektrofotometeri juga semakin tinggi dan akhirnya nilai aktivitas protease yang terhitung juga semakin besar. (Nugraha, 2012). Meskipun demikian dari hasil ini belum dapat disimpulkan bahwa fraksi 3 mengandung bromelain tertinggi, karena bisa jadi pada fraksi 3 terdapat protein non enzim, dan enzim non target sehingga aktivitasnya menjadi tinggi. Oleh karena itu diperlukan penentuan aktivitas spesifik.

Aktivitas spesifik ini merupakan nisbah aktivitas protease terhadap kadar protein. Aktivitas spesifik dari bromelain menunjukkan ukuran kemurnian bromelain. Nilai aktivitas spesifik paling tinggi adalah bromelain pada fraksi 4 yang menunjukkan bahwa tingkat kemurnian enzim tertinggi pada fraksi 4. Hal ini menunjukkan konsentrasi garam yang digunakan untuk dialisis pada fraksi 4 mampu memisahkan protein non enzim (Wijaya, 2002). Tingginya aktivitas ini juga menunjukkan bahwa enzim yang diperoleh dari hasil pemurnian adalah

enzim yang ditargetkan. Mutiah (2005) menyatakan bahwa nilai dari aktivitas spesifik akan meningkat setelah dilakukan pemurnian pada enzim dan menjadi maksimum dan konstan jika enzim telah berada dalam keadaan murni (Mutiah, 2005). Hasil ini sesuai dengan hasil yang diperoleh dari penelitian ini, dimana terjadi peningkatan aktivitas spesifik dari ekstrak setelah pemurnian. Konsentrasi garam terbaik yang dapat digunakan untuk pemurnian bromelain adalah 60-90% yang ditunjukkan dengan nilai aktivitas spesifik yang tinggi, hal ini juga didukung dengan elektroforgram SDS PAGE yang menunjukkan minimnya pita pengotor.

Berdasarkan hasil pemurnian dan karakterisasi bromelain dari limbah nanas, menunjukkan bahwa penelitian ini dapat diterapkan dalam mengatasi permasalahan yang dihadapi oleh industri nanas. Limbah bonggol nanas yang berlimpah tersebut dapat dimanfaatkan secara optimal untuk menghasilkan produk yang memiliki nilai ekonomi lebih tinggi yaitu sebagai sumber enzim bromelain yang potensial. Bromelain telah banyak digunakan dalam

aplikasi terapeutik yang dikaitkan dengan efek farmakologisnya sebagai antithrombik, mengurangi penggumpalan dari plateles (antiplatelet), pembentukan plak di arteri dan pembekuan dalam darah. Semua efek ini membantu dalam pengobatan penyakit kardiovaskular (Bhattacharya 2008).

KESIMPULAN

Ekstrak kasar bromelain yang diperoleh dari bonggol nanas berhasil dimurnikan dengan menggunakan metode fraksinasi amonium sulfat yang dilanjutkan dengan proses dialisis pada konsentrasi optimum garam pada 60-90% sehingga diperoleh bromelain dengan berat molekul 23,69 dan 24,72 kDa, kadar proteinya yaitu 2,78 mg/mL, aktivitas proteasenya yaitu 2833,33 U/mL, dan aktivitas spesifik yang menyatakan kemurnian enzimnya yaitu 1011,98 U/mg. Hasil ini dapat diterapkan untuk mengatasi permasalahan limbah pada industri nanas. Peneliti selanjutnya dapat dilanjutkan untuk melakukan eksplorasi potensi bromelain sebagai antiinflamasi dan melakukan formulasi bromelain sebagai salah satu komersialisasi

limbah bonggol nanas menjadi suatu produk *high value*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih pada Universitas sriwijaya yang telah membantu mendanai penelitian ini melalui program Hibah Penelitian PNBPN Sains teknologi dan Seni. Laboratorium BBRC ITB, bapak Dr. Khomaini Hasan, Dr. Elfahmi dan rekan-rekan di fakultas kedokteran dan fakultas MIPA yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ahmed, H. 2005, *Principles and reaction of protein extraction: Purification and characterization*, CRC Press, London, UK
2. Ali, A.A., Milala, M.A. & Gulani, I.A. 2015, Antimicrobial effect of crude bromelain extracted from pineapple fruit (*Ananas comosus* (Linn.) Merr), *Science Publishing Group*, **3(1)**: 1 -4.
3. Audies, A. 2015. 'Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi', *Skripsi*, S.K.G., Jurusan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.
4. Bartholomew, D.P., Paull, R.E. & Rohrbach, K.G. 2003, *The pineapple: Botany, production and uses*, CABI Publishing, New York, USA.
5. Bartolome, A.P., Pilar, R. & Fuster, C. 1995, Pineapple fruit : Morphological characterictic, chemical compotition and sensory analysis of red spanish and smooth cayanne cultivars, *Article in food chemistry*, **53(1)**:75-79.
6. Bhattacharyya, B.K. 2008, Bromelain: An overview, *natural product radiance*, **7(4)**: 359 -363.
7. Bintang, M. 2010, *Biokimia: Teknik penelitian*, Erlangga, Jakarta, Indonesia.
8. Bolag, D. & Edelstein, S.1991, *Protein methods*, Wiley Liss

- John Wiley and Sons Inc. Publication, New York, USA.
9. Boyer, R. 1993, *Modern experimental biochemistry*, The Benjamin Cummings, California, USA.
10. Buadonpri, W., Wichitnithad, W., Rojsitthisak, P. & Towiwat, P. 2009, Synthetic curcumin inhibits carrageenan induced paw edema in rats, *Journal Health Research*, **23(1)**:11–16.
11. Campbell, N.A., Reece, J.B. & Mitchell, L.W. 1999, *Biologi*, edisi ke-5, Erlangga, Jakarta, Indonesia.
12. Coligan, J. 1996, *Current protocols in protein science*, John Wiley and sons Inc, Hoboken, New Jersey.
13. Copeland, R. 1994, *Methods for protein analysis: A practical guide laboratory protocol*, Chapman and Hall, London, England.
14. Corwin, E.J. 2008, *Buku saku patofisiologi corwin*, Aditya Media, Jakarta, Indonesia.
15. Davis, L., Kuehl, M. & Battey, M. 1994, *Basic methods: Molecular biology*, elsevier science publishing, New York, USA.
16. Debnath, P., Dey, P., Chandra, A. & Bhakta, T. 2012, A survey on pineapple and its medicine value, *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, **1(1)**:24– 29.
17. Dennison, C. 2003, *A guide to protein isolation*, Springer Science Business Media, Pietermaritzburg, South Africa.
18. Dhandayuthapani, S. 2011, Bromelain induced apoptosis in GI-101A breast cancer cells, *Journal Medical Food*, **15(4)**:344– 349.
19. Dewi, W. 2006, ‘Pemurnian dan pencirian protease dari isolat bakteri W-1 yang dihasilkan oleh tauco hitam’, *Skripsi*, S.Si., Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
20. Fouz, N., Amid, A. & Has-Yun, Y.Z. 2013, Cytokinetic study of MCF-7 cells treated with commercial and recombinant bromelain, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **14(11)**:6709– 6714.

21. Gautam, S.S., Mishra, S.K., Dash, V., Goyal, A.K. & Rath, G. 2010, Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant, *Thai J Pharm Sci*, **34**:67–76.
22. Hames, B. & Hooper, N. 2000, *Biochemistry: The instant notes*, Spingerr-Verlag New York Inc., New York, USA.
23. Harbone, J. 1987, *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, Penerbit ITB, Bandung, Indonesia.
24. Harris. 1989, *Protein purification methods: A practical approach*, IRL Press, New York, USA.
25. Herdyastuti, N. 2006, Isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar enzim bromelain dari batang nanas (*Ananas comosus* L.merr), *Berkas Peneitian*, **12**: 75-77.
26. Kee, J.L.& Hayes,E.R. 1995,*Farmakologi pendekatan proses keperawatan*, EGC, Jakarta, Indonesia.
27. Kelly, G.S. 1996, Bromelain: A literature review and discussion of its therapeutic application, *Alternative Medicine Review*, **1(4)**: 243–256.
28. Koolman, J. & Roehm, K.H. 2005, *Color atlas of biochemistry*, 2ndedition, Thieme Stuttgart, New York, USA.
29. Mansjoer, S. 1997, Efek antiradang minyak atsiri temu putih (*Curcuma zedoaria*Rosc. Zingiberaceae) terhadap udem buatan pada kaki tikus putih betina galur wistar, *Majalah Farmasi Indonesia*, **8(1)**: 35–41.
30. Maryam, S. 2009, ‘Ekstrak enzim bromelain dari buah nanas (*Ananas sativus*Schult.) dan pemanfaatan pada isolasi DNA’, *Skripsi*, S.Si., Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Semarang, Indonesia.
31. Masri, M. 2014, Isolasi dan pengukuran aktivitas enzim bromelain dari ekstrak kasar bonggol nanas (*Ananas comosus*) pada variasi suhu dan pH, *Jurnal Ilmiah Biologi*, **2(2)**: 119–125.
32. Megiandari, A. 2009, ‘Isolasi dan pencirian enzim protease keratinolitik dari usus biawak

- air', *Skripsi*, S.Si., Jurusan Kimia, Fakultas Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
33. Mickelson, R. & Corton, E. 2004, *Bioanalytic chemistry*, John Wiley and Sons Inc., Hoboken, New Jersey.
 34. Moran, L., Scrimgeour, K., Horton, H., Ochs, R. & Rawn, J.D. 1994, *Biochemistry*, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
 35. Mulyono, N., Rosmeilia, E., Moi, J.G., Valentine, B.O. & Suhartono, M.T. 2013, Quantity and quality of bromelain in some Indonesian pineapple fruits, *International Journal Applied Biology Pharmaceutical Technology*, **4(2)**: 235 –240.
 36. Mutiah, D. 2005, 'Ultrafiltrasi, presipitasi bertingkat dan kromatografi penukar ion sebagai tahap pemurnian enzim protease *Bacillus megaterium* MS-961', *Skripsi*, S.TP., Jurusan Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
 37. Mutschler, E. 1999, *Dinamika obat : Buku ajar farmakologi dan toksikologi*, Edisi ke-5, ITB, Bandung, Indonesia.
 38. Nelson, D.L. & Cox, M.M. 2004, *Lehninger principles of biochemistry*, 4th edition, W.H Fressman and Company, New York, USA.
 39. Pandey, S.N. & Chadha, A. 2009, *A textbook of botany : Plant anatomy and economic botany*, Vikas Publishing House PVT LTD, New Delhi, India.
 40. Price, S.A. & Lorraine, M.W. 2006, *Patofisiologi : Konsep klinis proses– proses penyakit*, edisi ke-6, EGC, Jakarta, Indonesia.
 41. Purwanto, M. 2014, Perbandingan analisa kadar protein terlarut dengan berbagai metode spektroskopi UV–Visible, *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*, **7(2)**: 64– 71.
 42. Puspita, E. 2007, 'Studi karakterisasi kitosanase dari isolat *Bacillus licheniformis* MB-2', *Skripsi*, S.TP., Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas

- Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
43. Rachmania, R., Wahyudi, P., Wardani, A. & Insani, D. 2016, Profil berat molekul enzim protease buah nanas (*Ananas comosus* L.Merr) dan papaya (*Carica papaya* L.) menggunakan Metode SDS-PAGE, *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, **13(1)**: 52 – 65.
 44. Rahmayanti, A. 2014, 'Ekstraksi kolagen dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) serta aplikasinya untuk skrining dan karakterisasi kolagenase bakteri asal Indonesia', *Tesis*, M.Si., Jurusan Ilmu pangan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
 45. Ramalingam, C., Srinath, R. & Islam, N.N. 2012, Isolation and characterization of bromelain from pineapple (*Ananas Comosus*) and comparing its antibrowning activity on apple juice with commercial antibrowning agents, *Elixir International Journal*, **45**: 7822 – 7826..
 46. Ratnawati. 2001, 'Isolasi, karaterisasi enzim bromelain dari kulit, buah, bonggol, serta amobilisasi enzim bromelain dari bonggol nanas (*Ananas comosus* L)', *Skripsi*, S.Si., Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Diponogoro, Semarang, Indonesia.
 47. Rohishoh, N. 2012, 'Produksi dan pemurnian enzim pektinase (Poligalakturonase) bakteri *Pseudomonas stutzeri*', *Skripsi*, S.Si., Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga Surabaya, Indonesia.
 48. Rowe , R.C., Paul, J.S. & Sian, C.O. 2006, *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5thedition, Pharmaceutical Press, London, England.
 49. Salunkhe, D.K. & Kadam, S.S. 1995, *Handbook of fruit science and technology: Production, compotition, storage, and processing*, Madison Avenue, New York, USA.
 50. Santoso, S. 2007, *Menguasai statistik di era informasi dengan SPSS 15*, PT Elex MediaKomputindo Gramedia, Jakarta, Indonesia.

51. Sari, F. 2012, 'Purifikasi parsial dan karakterisasi Endoglukanase dari *Trichoderma viride* T051 pada fermentasi menggunakan substrat dedak' Padi, *Skripsi*, S.Si., Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
52. Sharma, A., Bist, R. & Poonam. 2013, A natural way to cancer prevention and therapy, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, **4(1)**: 9 – 22.
53. Slamet, S., Haryono, B. & Suhardi. 1981, *Analisa bahan makanan dan pertanian*, Pusat Antar Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
54. Steenis, V. 2006, *Flora untuk sekolah di indonesia*, Pradaya Paramita, Jakarta, Indonesia.
55. Suhartono, M.T. 1989, *Enzim dan bioteknologi*, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
56. Sumardjo, D. 2008, *Pengantar kimia: Buku panduan kuliah mahasiswa kedokteran dan program strata I fakultas bioeksakta*, EGC, Jakarta, Indonesia.
57. Sunarjono, H. 2008, *Berkebun 21 jenis tanaman buah*, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.
58. Supartono. 2004, Karakterisasi enzim protease netral dari buah nanas segar, *Jurnal MIPA Universitas Negeri Semarang*, **27(2)**: 134 – 142.
59. Tjay, T.H. & Rahardja, K. 2007, *Obat-obat penting : Khasiat, penggunaan, dan efek-sampingnya*, PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta, Indonesia.
60. Walidah, C. 2014, 'Uji efek antiinflamasi ekstrak etil asetat lumut hati *Mastigophora diclados* secara in vivo', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia.
61. Wilson, K. & Walker, J. 2000, *Principles and techniques of practical biochemistry*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

62. Wuryati, 2004. Isolasi dan penentuan aktivitas spesifik enzim bromelain dari buah nanas (*Ananas comosus* L), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, **8(3)**:83-87
63. 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.
64. Zulfahmi, M., Pramono, Y.M.& Hintono, A. 2013, Pengaruh marinasi ekstrak kulit nenas (*Ananas Comocus* L. Merr) pada daging itik tegal betina afkir terhadap kualitas keempukan dan organoleptik, *Jurnal Pangan dan Gizi*, **4(8)**: 19 – 26.