

**REVIEW : ISOLASI DAN UJI STABILITAS ENZIM BROMELIN DARI NANAS
(*Ananas comosus* L.)**

Destyalitha Sethya Nathania, Marline Abdassah Bratadiredja

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang km 21 Jatinangor 45363

destyalithasn@gmail.com

ABSTRAK

Bromelin merupakan enzim proteolitik yang terdapat pada tanaman nanas (*Ananas comosus* L.). Bromelin termasuk kedalam kelompok enzim protease sulfhidril yang mampu menguraikan struktur molekul protein menjadi asam-asam amino. Enzim bromelin digunakan di berbagai macam industri dan memiliki banyak kegunaan. Untuk memperoleh enzim bromelin dapat dilakukan beberapa metode isolasi, hasil isolasi enzim bromelin dari buah nanas ini berupa *crude*. Setelah isolasi, *crude* dapat disimpan untuk jangka waktu yang panjang bergantung pada stabilitasnya. Parameter yang diperhatikan untuk menguji stabilitas enzim yaitu aktivitasnya pada suhu dan rentang waktu tertentu. Pada artikel ini disajikan beberapa data stabilitas yang dilakukan oleh beberapa peneliti untuk mengetahui stabilitas enzim bromelin yang diperoleh dari bagian nanas yang berbeda. Stabilitas dari enzim yang diperoleh dari nanas dengan varietas berbeda menunjukkan hasil yang berbeda. Enzim bromelin yang di isolasi dari buah nanas memiliki stabilitas yang baik dengan nilai E_a $313,18 \pm 57,44$ kJ/mol.

Kata Kunci : Nanas, Enzim Bromelin, Isolasi, Stabilitas

ABSTRACT

*Bromelain is a proteolytic enzyme that found in pineapple plants (*Ananas comosus* L). Bromelin belongs to the sulfhydryl protease enzyme group which is capable to cleavage the structure of protein molecules into amino acids. Bromelain enzyme is used in many industries and has many uses. To obtain bromelain enzyme, there are several isolation methods that can be done, the results of enzyme isolation from pineapple is crude enzyme. After isolation, crude can be stored for long periods of time depending on its stability. Parameters that used for stability test is the activity at a certain temperature and time range. In this article presented result of stability test by some researchers to know the stability of different parts of pineapple. The stability result of the enzyme bromelain are different in each pineapple with different varieties. Bromelain enzyme from pineapple fruit has good stability with E_a value $313,18 \pm 57,44$ kJ / mol.*

Keywords: Pineapple, Bromelain Enzyme, Isolation, Stability

Diserahkan: 4 Juli 2018, Diterima 4 Agustus 2018

PENDAHULUAN

Bromelin merupakan enzim protease sulfhidril yang terdapat pada tumbuhan famili *bromeliaceae*. Nanas

merupakan tumbuhan dengan famili *bromeliaceae* yang paling banyak menghasilkan enzim bromelin. Nanas tumbuh di daerah tropis dan subtropis,

termasuk Indonesia, Malaysia, Thailand, Filipina, China, Kenya dan India (Pavan et al., 2012). Buah nanas biasanya dikonsumsi langsung ataupun diolah menjadi buah kalengan. Selain dijadikan makanan, nanas juga dapat digunakan di bidang industri makanan, kosmetik, suplemen makanan, dan obat-obatan. Selain itu limbah dari nanas dapat digunakan sebagai substrat untuk produksi pembuatan metana, etanol, asam sitrat dan senyawa antioksidan (Ketnawa et al., 2012)

Enzim memiliki sifat yang dapat terdenaturasi karena beberapa faktor seperti suhu, pH, dan waktu penyimpanan (Sarkar et al., 2017). pH optimum untuk enzim bromelin biasanya pada rentang 5,5 – 8,0 dan dapat memecah ikatan peptida glycyl, anlyl dan leucyl. Enzim bromelin dapat terinaktivasi pada suhu pasteurisasi dan apabila terjadi denaturasi termal maka tidak dapat kembali menjadi aktif (ireversibel) (Novaes et al., 2015). Kondisi penyimpanan dan pengolahan nanas biasanya dapat mengurangi aktivitas dari bromelin sehingga perlu untuk mengetahui kondisi stabil untuk enzim bromelin.

POKOK BAHASAN

1. Penggunaan bromelin

Enzim bromelin dapat digunakan pada beberapa bidang industri. Pada industri makanan, bromelin digunakan sebagai pelunak daging, bahan pembuatan bir, pengembang, dan hidrolisat protein. Untuk

industri tekstil bromelin digunakan sebagai penyamak kulit, penghilang rambut, pelembut wool dan kulit, dan sebagai formulasi detergen (Ketnawa et al., 2012). Pada bidang kesehatan bromelin dapat menghambat agregasi platelet, sinusitis, trauma pasca operasi, thrombophlebitis, pyelonefritis, angina pectoris, bronkhitis, dan peningkat absorpsi obat seperti antibiotik (Pavan et al., 2012). Bromelin juga dapat menjadi anti tumor, modulator imunitas, membantu proses digestif, meningkatkan penyembuhan luka, dan meningkatkan sirkulasi kardiovaskular (Jutamongkon & Charoenrein, 2010)

2. Cara isolasi dan purifikasi

Isolasi bromelin dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu:

- Sistem miselar terbalik

Pada metode ini protein target akan tertahan dalam misel sedangkan pengotor lain akan berada dalam fase organik. Pada metode ini diperoleh 106% *active recovery* (Hebbar et al., 2008). Kemudian Hemavathi, dkk (2011) melaporkan % *activity recovery* dengan metode ini yaitu sebesar 97,56% (Manzoor et al., 2016).

- Sistem dua fase cairan

Pada sistem ini digunakan dua fase cairan yaitu polimer dan garam (atau polimer lain). Pada ekstraksi dan purifikasi enzim bromelin menggunakan metode ini diperoleh *activity recovery* sebesar 228%, sedangkan *activity recovery* bagian kulit

nanas sebesar 113,54% dan 206% (Manzoor et al., 2016).

- Teknik kromatografi

Beberapa teknik kromatografi dapat dilakukan seperti kromatografi penukar ion, high speed counter-current chromatography, kromatografi afinitas, kromatografi filtrasi gel, dan kromatografi kapiler (Manzoor et al., 2016).

- Filtrasi membran

Digunakan membran filter untuk memurnikan molekul berdasarkan ukurannya. Dengan metode ini diperoleh *active recovery* sebesar 85% (Lopes et al., 2009).

- Metode lain

Metode lain yang dapat digunakan yaitu dengan presipitasi menggunakan amonium sulfat, etanol, PEG, dapat juga digunakan mesoporous silica (Manzoor et al., 2016).

3. Stabilitas bromelin

Uji stabilitas dilakukan untuk meningkatkan kualitas, efikasi, dan keamanan suatu produk. Suatu produk akan diuji pada keadaan yang beragam seperti penggunaan kemasan, dan untuk menentukan ketahanan dengan adanya perubahan fisika, kimia, mikrobiologi, dan toksikologi (Bajaj et al., 2012). Untuk enzim, yang menjadi parameter uji yaitu aktivitasnya. Tirosin digunakan untuk

mendeteksi aktivitas bromelin karena satu unit protease sebanding dengan jumlah enzim yang membebaskan 1 µg tirosin dalam 1 menit (Corzo et al., 2011).

Telah dilakukan beberapa penelitian dalam menentukan stabilitas bromelin yang berasal dari batang dan buah nanas dan disajikan dalam Tabel 1. Untuk laju inaktivasi bromelin pada suhu 40-80°C mengikuti laju orde satu 60°C (Jutamongkon & Charoenrein, 2010). Kemudian Jutamongkon melakukan percobaan penentuan E_a dari buah nanas dan diperoleh nilai E_a yaitu $313,18 \pm 57,44$ kJ/mol dan memiliki persamaan dengan pengujian yang dilakukan oleh Sriwatanapongse et al. (2000) yaitu 326 kJ/mol. Sedangkan dari pengujian yang dilakukan oleh Yoshioka et al. (1991) dalam penentuan nilai E_a bromelin dari batang nanas diperoleh nilai E_a 174,47 kJ/mol kemudian penelitian yang dilakukan oleh Arroyo-Reyna dan Hernandez-Arana (1995) diperoleh nilai E_a sebesar 181 ± 35 kJ/mol. Semakin tinggi nilai E_a menunjukkan semakin tinggi kestabilan pada suhu yang lebih tinggi, sehingga bromelin dari buah nanas lebih stabil dibandingkan dengan bromelin pada batang (Jutamongkon & Charoenrein, 2010).

Tabel 1. Persentase aktivitas bromelin

Bagian	Suhu	Waktu	%Aktivitas	Referensi
Batang	60°C	30 menit	0%	Yoshioka et al., 1991
Batang	60°C	20 menit	50%	Gupta et al., 2007
Buah	60°C	60 menit	50%	Liang et al., 1999
Buah (<i>Bromelia balansae</i> Mez)	37°C	120 menit	100%	Pardo et al., 2000
	45°C	120 menit	80%	
	75°C	60 menit	0%	
Buah (<i>Bromelia antiacantha</i> Bertol)	37°C	180 menit	100%	Valles et al., 2007
	55°C	60 menit	100%	
	60°C	30 menit	80%	
Buah	60°C	150 menit	60%	Poh & Abdul Maji, 2007
	40°C	60 menit	100%	Jutamongkon & Charoenrein, 2010
	50°C	60 menit	83%	
	60°C	8 menit	51%	
	80°C	8 menit	0%	
Buah		8 hari	2.23 U/ml	Mohan et al., 2016
Kulit		8 hari	2.11 U/ml	

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas enzim khususnya enzim bromelin yaitu suhu, pH (asam), proease pada asam lambung, pelarut organik dan zat-zat kimia lain (Xue et al., 2010). Semakin tinggi suhu, semakin banyak molekul dengan energi kinetik bereaksi. Saat melebihi suhu optimum

akan terjadi reaksi biokimia dengan energi yang tinggi sehingga ikatan peptida dan disulfida terganggu dan kinerja enzim menjadi tidak aktif (Sarkar et al., 2017).

SIMPULAN

Enzim bromelin dapat digunakan dalam bidang kesehatan, pangan, tekstil, dan kosmetik. Untuk memperoleh enzim

bromelin dapat dilakukan berbagai metode isolasi dari nanas. Untuk mempertahankan aktivitas enzim bromelin maka perlu diketahui stabilitas enzim bromelin. Nilai Ea menunjukkan tingkat kestabilan dari enzim bromelin. Enzim bromelin yang di isolasi dari buah nanas memiliki stabilitas yang baik dengan nilai Ea $313,18 \pm 57,44$ kJ/mol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Marline Abdassah, M. Si., Apt. selaku pembimbing dan Rizky Abdullah, PhD., Apt. selaku dosen mata kuliah Metodologi Riset dan Biostatistik yang telah membimbing saya untuk membuat review ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arroyo-Reyna, A. & Hernandez-Arana, A., 1995. The thermal denaturation of stem bromelain is consistent with an irreversible two-state model. *BBA*, 1248, pp.123-28.
- Bajaj, S., Singla, D. & Sakhuja, N., 2012. Stability Testing of Pharmaceutical Products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* , II, pp.129-38.
- Corzo, C.A., Waliszewski, K.N. & Welti-Chanes, J., 2011. Pineapple Fruit Bromelain Affinity to Different Protein Substrates. *Food Chemistry*, 133, pp.631-35.
- Gupta, P., Maqbool, T. & Saleemuddin, M., 2007. Oriented immobilization of stem bromelain via the lone histidine on a metal affinity support. *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, 45, pp.78-83.
- Hebbbar, H.U., Sumana, B. & Raghavarao, K.S.M.S., 2008. Use of reverse micellar systems for the extraction and purification of bromelain from pineapple wastes. *Bioresource Technology*, 99, pp.4896-902.
- Jutamongkon, R. & Charoenrein, S., 2010. Effect of Temperature on the Stability of Fruit Bromelain from Smooth Cayenne Pineapple. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 44, pp.943-48.
- Ketnawa, S., Chaiwut, P. & Rawdkuen, S., 2012. Pineapple Wastes: A Potential Source for Bromelain Extraction. *Food and Bioprocess Processing*, 90, pp.385-91.
- Liang, H.H., Huang, H.H. & Kwok, K.C., 1991. Properties of tea-polyphenol-complexed bromelain. *Food Res. Int.* , 32, pp.545-51.
- Lopes, F.L.G. et al., 2009. Concentration by Membrane Separation Processes of a Medicinal Product Obtained from Pineapple Pulp. *Brazilian Arch. Biol. Technology*, 52, pp.457-64.
- Manzoor, Z., Nawaz, A., Mukhtar, H. & Haq, I., 2016. Bromelain: Methods of Extraction, Purification and Therapeutic Applications. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, pp.1-16.
- Mohan, R., Sivakumar, V., Rangasamy, T. & Muralidharan, C., 2016. Optimisation of Bromelain Enzyme Extraction from Pineapple (*Ananas comosus*) and Application in Process Industry. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 12, pp.188-95.
- Novaes, L.C.d.L. et al., 2015. Stability, purification, and applications of bromelain: a review. *Biotechnology Progress*, 27 October. pp.1-34.

- Pardo, M.F. et al., 2000. Purification of balansain I, an endopeptidase from unripe fruits of *Bromelia balansae* Mez (Bromeliaceae). *J. Agr. Food Chem.*, 48, pp.3795-800.
- Pavan, R., Jain, S., Shraddha & Kumar, A., 2012. Properties and Therapeutic Application of Bromelain: A Review. *Biotechnology Research International* , pp.1-6.
- Poh, S.S. & Abdul Majid, F.A., 2011. Thermal Stability of Free Bromelain and Bromelain-Polyphenol Complex in Pineapple Juice. *International Food Research Journal*, 18(3), pp.1051-60.
- Sarkar, S., Ahmed, M., Mozumder, N.H.M.R. & Saeid, A., 2017. Isolation and characterization of bromelain enzyme from pineapple and its utilization as anti-browning agent. *Process Engineering Journal*, 1, pp.52-58.
- Valles, D., Furtado, S. & Cantera, A.M.B., 2007. Characterization of news proteolytic enzymes from ripe fruits of *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae). *Enzyme Microb. Tech.*, 40, pp.409-16.
- Xue, Y. et al., 2010. Chemical modification of stem bromelain with anhydride groups to enhance its stability and catalytic activity. *Journal of Molecular Catalysis*, 63, pp.188-93.
- Yoshioka, S., Izutsu, K.I., Aso, Y. & Takeda, Y., 1991. Inactivation kinetics of enzyme pharmaceuticals in aqueous solution. *Pharm. Res.*, 8, pp.480-84.