

ISOLASI DAN PENENTUAN AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM BROMELIN DARI BUAH NANAS (*Ananas comosus L.*)

Wuryanti

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam UNDIP
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang Semarang 50275

ABSTRAK

Bromelin merupakan enzim proteolitik yang terdapat pada tanaman nanas (Ananas comosus L.). Telah dilakukan isolasi dan penentuan aktivitas spesifik enzim bromelin dari buah nanas. Pada penelitian ini bromelin diisolasi dengan metoda ekstraksi, lalu ditentukan aktivitas unit dengan substrat kasein dan penentuan kadar protein dengan metoda Lowry menggunakan spektrofotometer. Hasil isolasi merupakan ekstrak kasar enzim bromelin dengan aktivitas spesifik 0,521 U/mg.

Kata kunci: enzim, bromelin, aktivitas spesifik.

ISOLATION AND UNIT ACTIVITY DETERMINATED OF THE BROMELIN ENZYME FROM PINEAPPLE (*Ananas comosus L.*)

ABSTRACT

Bromelain is proteolytic enzyme contained in pineapple (Ananas comosus L.) Isolation and unit activity determined of the bromelain enzyme from fruits had been done. In the research bromelain was isolated from pineapple by extraction method, it was determined the unit activity with casein substrat and protein contain by lowry method with spectrofotometer. Result isolation is crude bromelain enzyme with spesifik activity 0.521 U/mg.

Key words: enzyme, bromelain, specific activity

PENDAHULUAN

Enzim merupakan unit protein fungsional yang berperan mengkatalisis reaksi-reaksi dalam metabolisme sel dan reaksi-reaksi lain dalam tubuh. Spesifikasi enzim terhadap substratnya teramat tinggi dalam mempercepat reaksi kimia tanpa produk samping (Lehninger, 1982).

Enzim tersusun dari protein, fungsi katalis dari enzim ini ditentukan oleh bentuk strukturnya. Adapun jenis-jenis struktur protein adalah sebagai berikut:

1. Struktur primer

Struktur primer protein tersusun oleh asam-asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida.

2. Struktur sekunde

Struktur sekunder merupakan gabungan dari beberapa struktur primer. Bentuk dari struktur sekunder ini bisa berupa α heliks

atau β sheet. Struktur sekunder protein distabilkan oleh ikatan hidrogen antara gugus karbonil dengan gugus amida yang berdekatan.

3. Struktur tersier

Struktur tersier merupakan gabungan dari struktur sekunder yang mengalami pelipatan-pelipatan. Struktur ini distabilkan oleh ikatan hidrofob yang disebabkan kemampatan strukturnya.

4. Struktur kwartener

Struktur kwartener merupakan gabungan dari unit-unit protein. Struktur kwartener dapat tersusun oleh unit-unit protein yang sama ataupun oleh unit-unit protein yang berbeda (Conn, et. al., 1967).

Jenis-jenis ikatan kimia yang menstabilkan struktur enzim adalah ikatan peptida, ikatan

hidrogen, ikatan hidrofob, ikatan elektrostatis dan ikatan disulfida (Conn, *et. al.*, 1967).

Protein yang mempunyai fungsi sebagai enzim adalah bentuk tersier. Pada struktur tersier mempunyai sisi katalitik yang merupakan sisi pengikatan enzim dengan substrat membentuk kompleks. Tempat pengikatan enzim adalah spesifik untuk substrat tertentu. Efektivitas katalitik suatu enzim didapat dari gabungan pengikatan yang khusus dan gugus-gugus katalitik. Gugus-gugus katalitik dapat berupa gugus karbonil, gugus amida, gugus hidroksil dan lain sebagainya (Mc Gilvery, *et.al.*, 1996).

Aktivitas dari enzim dalam mengkatalis reaksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya adalah:

1. Konsentrasi enzim

Pada suatu konsentrasi substrat tertentu kecepatan reaksi enzimatik bertambah pada saat bertambahnya konsentrasi enzim.

2. Konsentrasi substrat

Pada saat konsentrasi enzim konstan bertambahnya konsentrasi substrat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik. Pada konsentrasi tertentu tidak terjadi peningkatan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat ditambah.

3. Suhu

Pada suhu rendah reaksi kimia berlangsung lambat, pada suhu tinggi secara umum reaksi kimia berlangsung cepat. Pada suhu optimum kecepatan reaksi enzimatik adalah maksimum. Pada suhu melewati suhu optimumnya dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga menurunkan kecepatan reaksi.

4. Derajat Keasaman (pH)

Struktur enzim dipengaruhi oleh pH lingkungannya. Enzim dapat bermuatan positif, negatif atau bermuatan ganda (zwitter ion). Pengaruh perubahan pH

lingkungan berpengaruh pada aktivitas sisi aktif dari enzim.

5. Inhibitor

Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Inhibitor dapat membentuk kompleks dengan enzim baik pada sisi aktif enzim maupun bagian lain dari sisi aktif enzim. Terbentuknya kompleks enzim inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim terhadap substratnya (Poedjiadi, 1994)

Banyak varietas nanas ((Pineapple, *Ananas comosus L*) yang termasuk dalam family bromeliaceae mengandung enzim proteolitik yang disebut bromelin (Hui,1992). Enzim ini menguraikan protein dengan jalan memutuskan ikatan peptida dan menghasilkan protein yang lebih sederhana (Sumarno,1989). Enzim bromelin terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas. Sekitar setengah dari protein dalam nanas mengandung protease bromelin. Di antara berbagai jenis buah, nanas merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi dalam buah yang masak (Donald, 1997).

Bromelin bonggol nanas memiliki sifat karakteristik (Mantell *et. al.*, 1985; Reed, 1966; Anonim, 2000) sebagai berikut:

- a. Berat molekul: 33 500
- b. Titik isoelektrik: pH 9,55
- c. Derajat Keasaman (pH) optimum: 6-8
- d. Suhu optimum: 50 °C
- e. Aktivitas spesifik: 5-10 U/mg protein.
- f. Warna: putih sampai kekuning-kuningan dengan bau khas.

Bromelin merupakan unsur pokok dari nanas yang penting dan berguna dalam bidang farmasi dan makanan (Donald, 1997). Fungsi bromelin mirip dengan papain dan fisin, sebagai pemecah protein. Pada akhir-akhir ini enzim bromelin lebih banyak digunakan untuk penjernihan bir

(“chillpoofing bir”) dan pengempukan daging (Anonim, 2000). Selain itu enzim bromelin sering pula dimanfaatkan sebagai bahan kontrasepsi KB untuk memperjarang kehamilan. Ibu-ibu yang sedang mengandung tidak dianjurkan makan nanas karena dapat mengakibatkan keguguran (Harianto, 1996).

Kegunaan lain dari bromelin adalah untuk memperlancar pencernaan protein, menyembuhkan arthritis, sembelit, infeksi saluran pernafasan, luka atletik (pada kaki), angina, dan trauma (Wirakusumah, 1999)

Untuk menentukan cara isolasi enzim, pertamanya perlu mengetahui lokasi enzim di dalam sumbernya. Enzim dari jasad hidup dibagi menjadi dua macam yaitu enzim ekstraseluler dan intraseluler (Anonim, 2000). Selanjutnya yang perlu diperhatikan adalah jenis enzim serupa yang berasal dari sumber yang berbeda maka berbeda pula jumlah dan aktivitas katalitik enzim walaupun katalisasi reaksinya sama. Sebagian besar waktu yang dibutuhkan dalam isolasi enzim adalah digunakan dalam uji aktivitas dengan ukuran/porsi yang berbeda-beda. Sangat dianjurkan uji aktivitas dengan cepat agar lebih akurat (Paul, *et. al.*, 1985).

Aktivitas enzim tergantung pada kondisi seperti suhu, pH dan konsentrasi. Jika perlu secara khusus dan selalu menggunakan kondisi yang sama dalam membandingkan aktivitas enzim (Paul, *et. al.*, 1985). Aktivitas enzim sering digunakan dalam satuan unit (U) yaitu jumlah enzim yang mengkatalisis 1 mikromol substrat per menit pada kondisi tertentu. Sedangkan kemurnian enzim dinyatakan dalam aktivitas spesifik yaitu jumlah unit aktivitas per miligram protein (Winarno, 1986).

METODE PENELITIAN

1. Isolasi Enzim

Buah nanas dibersihkan, dipotong-potong kemudian dihomogenisasi dengan bufer fosfat pH 7,5 dingin sedikit-sedikit sebanyak 1: 1. Larutan yang diperoleh disentrifugasi pada 3000

g selama kira-kira 15 menit pada suhu 15 °C. Selanjutnya supernatan dipisahkan dari endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim bromelin.

2. Penentuan unit aktivitas enzim.

Sebanyak 2,5 mL substrat ditambah dengan larutan enzim yang telah diencerkan 10 kali. Diinkubasi pada suhu 37 °C kira-kira 10 menit, larutan TCA 1 M ditambahkan sebanyak 3 mL. Campuran reaksi diinkubasi pada suhu 37 °C kira-kira 40 menit, lalu disentrifugasi 3000 rpm kira-kira 20 menit. Setelah disentrifugasi supernatan dibaca serapannya pada lambda 290 nm dengan spektrofotometer UV-Vis simadzu.

3. Penentuan Kadar Protein dengan Metoda Lowry

Larutan enzim sebanyak 0,3 mL ditambah 2 mL reagen Lowry C dikocok pelan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Campuran ditambah reagen Lowry D dengan cepat kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dengan sesekali dikocok. Larutan diukur absorbansinya pada gelombang optimum BSA kemudian kadar protein ditentukan dengan regresi linier terhadap kurva standar BSA.

4. Penentuan spesifik aktivitas enzim.

Spesifik aktivitas ditentukan dengan menentukan unit aktivitas enzim dibagi dengan kadar protein enzim.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi enzim dilakukan dengan metode ekstraksi. Tujuan ekstraksi adalah untuk mengeluarkan enzim dari dalam sel-sel jaringan buah nanas. Perlu diperhatikan bahwa untuk memperoleh enzim yang berkemampuan/aktivitas bagus bahan/sumber harus dipilih yang memenuhi persyaratan. Selama proses berlangsung diusahakan suhu dijaga agar tidak melebihi 10 °C dan perlu ditambah larutan penyangga dengan pH 7,5, pada saat pemblenderan yang merupakan ekstraksi secara fisik. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan enzim kasar dari

sisa-sisa jaringan nanas. Hasil sentrifugasi akan didapat endapan yaitu sisa-sisa jaringan nanas dan supernatan merupakan enzim kasar bromelin. Ekstrak kasar umumnya mempunyai aktivitas yang rendah karena enzim ini masih merupakan campuran dari beberapa enzim dan kemungkinan masih mengandung senyawa-senyawa yang bukan enzim.

Unit aktivitas enzim bromelin ditentukan dengan menggunakan substrat kasein dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 290 nm dengan spektrofotometer UV-Vis simadzu. Panjang gelombang digunakan 290 nm karena pada penentuan panjang gelombang maksimum pada tirosin didapat bahwa panjang gelombang maksimumnya 290 nm. Unit aktivitas untuk ekstrak kasar enzim bromelin dari buah nanas adalah 5,373 U/mL.

Penentuan kadar protein digunakan metoda Lowry dengan menggunakan larutan standart protein kasein. Metoda ini dapat mengukur kandungan protein sampel yang rendah. Warna biru yang terjadi oleh pereaksi Folin Ciocalteu disebabkan reaksi antara protein dengan ion kupri (Cu^{++}) dalam larutan alkalis dan terjadi reduksi garam fosfomolibdat fosfotungstat oleh tirosin dan triptopan yang ada pada protein. Karena kandungan kedua macam asam amino tersebut bervariasi pada berbagai macam protein, maka intensitas warna yang ditimbulkan per miligram proteinpun berbeda (Sudarmadji, 1984).

Warna biru yang dihasilkan setelah percampuran antara sampel, Lowry C dan larutan folin ciocalteu terjadi akibat adanya reaksi antara protein dengan ion kupri (Cu^{++}) dalam larutan alkalis, reduksi antara garam fosfomolibdat fosfotungstat oleh tirosin dan triptopan pada protein.

Hasil serapan yang diukur pada panjang gelombang 760 nm sebagai panjang gelombang maksimum untuk kasein sebagai larutan standar protein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

kadar protein enzim kasar bromelin dari buah nanas adalah 10,299 mg/mL. Kemurnian suatu enzim ditentukan oleh harga dari spesifik aktivitasnya. Terlihat disini bahwa unit aktivitas ekstrak kasar yang didapat rendah yaitu 5,373 U/mL dan kandungan proteinnya 10,299 mg/mL protein sehingga spesifik aktivitasnya adalah 0,521 U/mg.

KESIMPULAN

Enzim bromelin kasar hasil isolasi dari buah nanas mempunyai:

1. Unit aktivitas 5,373 U/mL,
2. Kadar protein 10,299 mg/mL
3. Aktivitas spesifik 0,521 U/mg.

UCAPAN TERIMA KASIH:

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Drs. Damin Sumardjo, Sdr. Ratnawati, S.Si dan Bapak Ismiyanto, M.Si yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian maupun penulisan artikel ini. Semoga budi baik beliau terbalas oleh-Nya.

DAFTAR PUSTAKA

- Lehninger., 1982., *Dasar-Dasar Biokimia*, Erlangga: Jakarta., hlm 248-249.
- Conn, E.E., and Stumpf, P.K., 1967, *Outlines of Biochemistry*, second edition, John Willey and Sons, inc., United States of America, p.87-88.
- Poejiadi, A, 1994, *Dasar-dasar Biokimia*, UI Press. Jakarta, hlm.158-166.
- Goldstein, M.C.G., 1996, *Biokimia Suatu Pendekatan Fungsional*, Airlangga University Press.
- Hui, Y.H., 1992, *Encyclopedia of food science and technology*, Volume 3 John Wiley and Sons Inc.: New York, p. 1747.
- Sumarno, 1989, *Skripsi S1*, Jurusan Kimia FMIPA UI, Depok.
- Donald, K.T.,1997, *Fruit and vegetabel Juice Processing Technology*, 2nd, The AUI publishing, p.180.
- Mantell, S.H., Matthew, J.A., and McKee, R.A., 1985, *Principles of plant Biotechnology: An*

introduction To Genetic Engineering In Plants, Blackweell Scien Publication: London, p. 120.

Anonim, 2000, *Biochemical And Reagents*, SIGMA USA, p. 179.

Hariato, E., 1996, *Nanas Swadaya*; Jakarta, hlm. 85.

Wirakusumah dan Emma. S., 1999, *Buah dan sayur untuk terapi*, cetakan V, Penebar Semangat, Jakarta. Hlm. 66, 67, 68.

Paul, N.C., Robert, P. dan Ovellette, 1985, *Biotechnology*, Technomic Publishing co. Inc, Lancater-Basel, p.534, 553.

Winarto, F.G., 1986, *Enzim Pangan*, Gramedia, Jakarta, hlm.12.

Sudarmadji, S., 1984, *Prosedure Analisa untuk analisa bahan pangan dan pertanian*, edisi ketiga, penerbit Liberty, Yogyakarta, hal. 55-58.