

AMOBILISASI ENZIM BROMELIN YANG DIISOLASI DARI BATANG NANAS DENGAN MENGGUNAKAN KARAGENAN

Maureen Kumaunang dan Andris Tabaga

²*Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi Manado*

ABSTRAK

Kumaunang, M. dan Tabaga, A. 2011. Amobilisasi enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas dengan menggunakan karagenan.

Telah dilakukan penelitian untuk menentukan aktivitas enzim bromelin amobil yang diisolasi dari batang nanas. Bromelin adalah enzim yang diisolasi dari nanas yang tergolong kelompok enzim protease sulfhidril. Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengamobilisasi enzim bromelin yang diisolasi dari batang buah nanas; (2) menentukan aktivitas enzim bromelin dari batang buah nanas sebelum dan setelah diamobilisasi. Isolasi enzim bromelin dilakukan dengan menggunakan metode pengendapan dengan amonium sulfat. Amobilisasi enzim bromelin dilakukan dengan cara penjebakan menggunakan karagenan. Penentuan aktivitas enzim dilakukan dengan menentukan aktivitasnya pada temperatur dan pH optimum menggunakan metode Bradford. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh temperatur optimum enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas, adalah 65 °C dengan aktivitas sebelum diamobilisasi sebesar 1,239 unit/menit dan sesudah diamobilisasi memiliki aktivitas sebesar 0,982 unit/menit; sedangkan pH optimum enzim bromelin adalah 6,5 dengan aktivitas sebelum diamobilisasi sebesar 0,907 unit/menit dan sesudah diamobilisasi memiliki aktivitas sebesar 2,758 unit/menit.

Kata kunci : amobilisasi, bromelin, nanas, karagenan

ABSTRACT

Kumaunang, M. and Tabaga, A. 2011. Amobilization of bromelain enzyme isolated from pineapple stem using caragenin.

A research was done to determine immobilization bromelin activity isolated from pineapple stem. Bromelin is an enzyme that isolated from pineapple which a group of sulphhydryl protease enzyme. The objectives of this research were to amobilize bromelien enzyme isolated from pineapple stem and to determine bromelien enzyme activity before and after amobilization. Isolation of bromelien enzyme was done using sulphat ammonium presipitation method. Bromelien enzyme amobilization was done by traping it using caragenan. Determination of enzyme activity were evaluated by determine its activity on optimum temperature and pH. Base on the result, optimum temperature of bromelien enzyme isolated from pineapple stem is 65 °C with activity before amobilization is 1,239 unit/minutes and after amobilization is 0,982 unit/minutes; although optimum pH of bromelien enzyme is 6,5 with activity before amobilize is 0,907 unit/minutes and after amobilization its activity is 2,758 unit/minutes.

Keywords : immobilization, bromelain, pineapple, caragenan

PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) merupakan jenis buah yang mempunyai sifat yang mudah rusak dan busuk sehingga penyimpanannya tidak tahan lama. Menurut Raina (2011), buah nanas mengandung gizi cukup tinggi dan lengkap, seperti vitamin (A, B12, C dan E), biotin, kalium, iodium, sulfur, klor, kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, dektrosa, sukrosa (gula tebu), saponin, flavonoida, dan polifenol. Pemanfaatan tanaman nanas oleh masyarakat pada umumnya hanya terbatas pada daging buahnya saja. Padahal beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bagian nanas yang lain seperti batang, bonggol, dan kulitnya telah terbukti mengandung enzim bromelin.

Bromelin adalah enzim yang diisolasi dari nanas yang tergolong kelompok enzim protease sulfhidril.

Secara umum enzim sebagai biokatalis mempunyai sifat tidak stabil terhadap lingkungan. Secara teknik, sulit untuk memperoleh kembali enzim yang masih aktif dari campuran reaksi untuk dapat digunakan kembali. Dengan demikian maka stabilitas enzim sebagai biokatalis perlu ditingkatkan. Untuk meningkatkan stabilitas enzim dilakukan dengan cara modifikasi. Salah satu modifikasi yang dapat dikembangkan adalah teknik amobilisasi. Amobilisasi enzim adalah suatu proses di mana pergerakan molekul enzim ditahan pada tempat tertentu dalam suatu ruang

(rongga) reaksi kimia yang dikatalisisnya. Proses ini dapat dilakukan dengan cara mengikat molekul enzim tersebut pada suatu bahan tertentu melalui pengikatan kimia atau dengan menahan secara fisik dalam suatu ruang (rongga) bahan pendukung atau dengan cara gabungan dari kedua cara tersebut (Susanto dkk., 2003; Sebayang, 2006).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk amobilisasi enzim bromelin, di antaranya oleh Sebayang (2006) yang melakukan penelitian tentang amobilisasi enzim bromelin dari bonggol nanas, serta Prawesti (2009) yang telah melakukan penelitian tentang amobilisasi enzim dari sari nanas. Sejauh ini belum ada literatur tentang aktivitas enzim bromelin dari batang nanas yang diamobilisasi. Oleh karena itu hendak diteliti aktivitas enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas sebelum dan setelah diamobilisasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang nanas segar, asam asetat glasial, natrium asetat, natrium hidroksida, amonium sulfat, reagen Bradford, gelatin, dan karagenan.

Isolasi Enzim Bromelin

Pengendapan dengan Amonium Sulfat

Batang nanas dibersihkan, dicuci, dan dipotong kecil-kecil lalu ditimbang sebanyak 1.200 g. Sari buah dikumpulkan dari batang nanas segar dengan homogenisasi menggunakan 200 mL larutan bufer natrium asetat pH (6,5), kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dari batang disebut sebagai ekstrak kasar enzim bromelin (Gautam dkk., 2010). Presipitasi ekstrak kasar enzim bromelin dilakukan dengan penambahan amonium sulfat sebanyak 60%, sambil diaduk menggunakan pengaduk magnetik, selama 45 menit dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4 °C. Setelah diinkubasi, disentrifugasi pada 3500 rpm selama 25 menit. Endapan yang dihasilkan, dicuci dengan 10 mL buffer natrium asetat 0,1 M pada kisaran pH 6 – 6,5, dan disimpan pada 4 °C untuk diukur kadar proteinnya dan analisis lanjutan.

Penentuan Kadar Protein Enzim Bromelin

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode *Bradford*. Sebanyak 50 µL ekstrak amonium sulfat enzim bromelin ditambahkan dengan 2,5 mL *reagent Bradford*. Absorbansi dibaca pada λ 595 nm. Kadar protein ditentukan dengan membandingkan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan kurva standar gelatin.

Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin (Gautam dkk., 2010)

Penentuan Temperatur Optimum

Sebanyak 0,5 mL gelatin ditambahkan dengan 0,5 mL buffer asetat dan 0,5 mL ekstrak enzim bromelin, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada berbagai temperatur untuk menentukan temperatur optimum. Temperatur yang digunakan adalah 50, 55, 60, 65, 70, 75, dan 80 °C. Reaksi dihentikan dengan pemanasan pada air mendidih selama 10 menit. Absorbansi dibaca pada λ 595 nm. Kadar protein ditentukan dengan membandingkan absorbansi enzim bromelin dengan kurva standar gelatin.

Penentuan pH Optimum

Sebanyak 0,5 mL gelatin ditambahkan dengan 0,5 mL buffer asetat dan 0,5 mL ekstrak enzim bromelin, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada berbagai nilai pH untuk menentukan pH optimum. Variasi nilai pH yang digunakan adalah 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0. Reaksi dihentikan dengan pemanasan pada air mendidih selama 10 menit. Absorbansi dibaca pada λ 595 nm. Kadar protein ditentukan dengan membandingkan absorbansi enzim bromelin dengan kurva standar gelatin.

Satu unit aktivitas didefinisikan sebagai jumlah enzim bromelin yang dibutuhkan untuk menghidrolisis substrat gelatin per satuan waktu pada kondisi percobaan.

Amobilisasi Enzim Bromelin Batang Nanas (Sebayang, 2006)

Amobilisasi enzim bromelin dilakukan sebagai berikut:

- Ke dalam gelas piala pertama dimasukkan 20 mL enzim bromelin dan 5 mL NaCl 0,85%. Campuran diaduk pelan-pelan dan dibiarkan selama 3 menit pada suhu 37°C (Campuran 1).
- Ke dalam gelas piala kedua dimasukkan 3,5 g karagenan dan 80 mL larutan NaCl 0,85%. Panaskan sampai suhu 80 °C sambil diaduk hingga larutan menjadi homogen. Lalu, dibiarkan hingga suhu turun sampai 55 °C (Campuran 2).

Campuran 1 dan 2 dicampurkan sampai homogen, lalu dibiarkan dingin pada suhu kamar selama 10 menit dan pada suhu 4 °C selama 30 menit sampai terbentuk gel. Untuk menambah kekerasan gel direndam dalam larutan KCl 0,3 M dingin selama 24 jam pada suhu 4 °C. Selanjutnya, gel dipotong kecil-kecil. Gel yang sudah dipotong-potong dicuci dengan aquades, dan disimpan pada suhu 4 °C. Selanjutnya dilakukan penentuan temperatur dan pH optimum menggunakan prosedur yang sama dengan penentuan

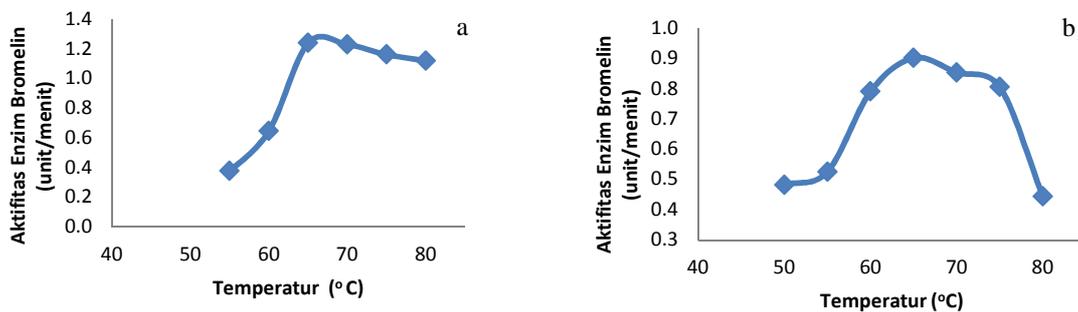
temperatur dan pH optimum sebelum enzim diamobilisasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Temperatur Optimum

Kadar protein enzim bromelin yang diperoleh dalam penelitian ini, adalah 0,288% (m/v). Temperatur berhubungan erat dengan energi aktivasi dan kestabilan enzim. Stauffer (1989) menyatakan bahwa reaksi enzimatik dipengaruhi oleh temperatur. Peningkatan temperatur dapat menyebabkan peningkatan kecepatan reaksi dan secara bersamaan meningkatkan aktivitas enzim. Pada temperatur di bawah temperatur

optimum enzim, aktivitas enzim meningkat seiring peningkatan temperatur. Sedangkan pada peningkatan temperatur di atas temperatur optimum, aktivitas tidak meningkat lagi tetapi cenderung menurun. Dalam penelitian ini, temperatur optimum enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas sebelum dan sesudah diamobilisasi adalah 65 °C (Gambar 1a), dengan aktivitas sebelum diamobilisasi sebesar 1,239 unit/menit, sedangkan setelah diamobilisasi sebesar 0,982 unit/menit. Hasil ini mendukung hasil penelitian Harrach dkk., (1988) bahwa temperatur optimum enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas, adalah 65 °C.



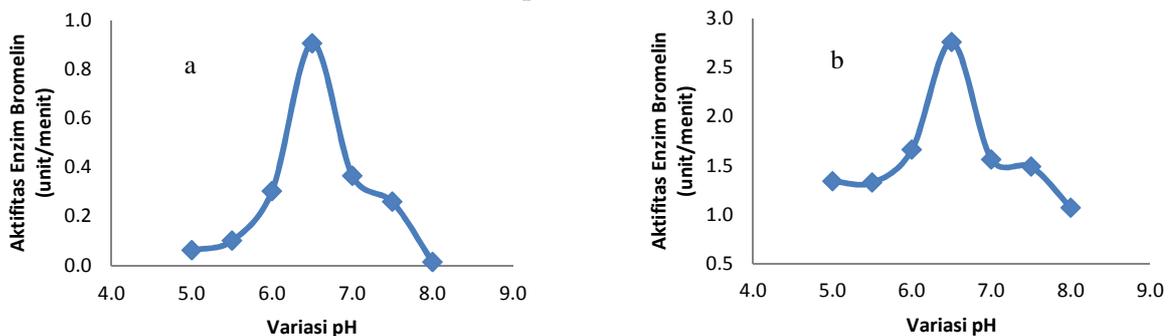
Gambar 1. Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim, a. Sebelum diamobilisasi; b. Setelah diamobilisasi

Berdasarkan Gambar 1, terlihat bahwa pada temperatur 70–80 °C, baik sebelum diamobilisasi maupun setelah diamobilisasi, terjadi penurunan aktivitas enzim bila dibandingkan dengan aktivitas enzim pada 65 °C. Menurut Gong (1980), kenaikan temperatur di atas temperatur optimum enzim tidak berpengaruh besar terhadap aktivitas enzim, tetapi lebih berpengaruh terhadap kestabilan struktural enzim. sehingga diduga terjadi denaturasi enzim pada rentang temperatur 70–80 °C. Kenaikan temperatur yang lebih tinggi lagi dapat merusak struktur enzim sehingga fungsi kerja enzim dapat berkurang bahkan hilang. Selain itu, terlihat pula bahwa aktivitas enzim bromelin amobil (Gambar 1b) mengalami penurunan bila dibandingkan dengan aktivitasnya sebelum diamobilisasi (Gambar 1a). Penurunan aktivitas pada

temperatur optimum yang sama dengan sebelum enzim diamobilisasi menunjukkan bahwa struktur enzim amobil lebih stabil dibandingkan dengan strukturnya sebelum diamobilisasi (Gong, 1980; Sebayang, 2006).

pH Optimum

Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh pH. pH optimum adalah pH saat aktivitas enzim maksimal. pH tersebut merupakan pH saat gugus pemberi atau penerima proton yang berperan penting pada sisi katalitik enzim atau pengikat substrat berada dalam tingkat ionisasi yang diinginkan, sehingga substrat lebih mudah berinteraksi dengan sisi katalitik enzim (Nielsen dkk., 1999). Kurva pengaruh pH terhadap aktivitas enzim bromelin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim bromelin, a. Sebelum diamobilisasi; b. Setelah diamobilisasi

Berdasarkan Gambar 2, peningkatan aktivitas enzim dimulai dari pH 5,0 – 6,5. Dalam penelitian ini, diperoleh pH optimum enzim bromelin sebelum maupun sesudah diamobilisasi adalah pH 6,5 dengan nilai aktivitas berturut-turut sebesar 0,907 unit/menit dan 2,758 unit/menit. Hasil ini mendukung hasil yang ditemukan oleh Harrach dkk. (1998), yang menunjukkan bahwa temperatur optimum enzim bromelin dari batang nanas adalah 6,5. Selain itu, berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa pH optimum enzim bromelin setelah diamobilisasi sama seperti pH optimum enzim bromelin sebelum diamobilisasi, namun aktivitas enzim bromelin setelah diamobilisasi lebih tinggi bila dibandingkan sebelum diamobilisasi. Sebayang (2006) menyatakan bahwa adanya peningkatan aktivitas pada pH optimum baik terhadap enzim bebas maupun enzim amobil dapat dikaitkan dengan adanya perubahan ionisasi gugus ionik enzim pada sisi aktif akibatnya konformasi enzim lebih efektif dalam mengikat dan mengubah substrat menjadi produk. Walaupun pH optimum dari kedua bentuk enzim sama namun aktivitas bentuk teramobilisasi sedikit lebih tinggi dibanding bentuk bebas. Penurunan aktivitas enzim sama seperti penentuan pH sebelum diamobilisasi, yakni dari pH 7,0 – 8,0. Hal ini disebabkan oleh faktor lingkungan di sekitar sisi aktif enzim mengalami kekurangan jumlah proton dan terjadi peningkatan pKa (Nielsen dkk., 1999).

KESIMPULAN

Enzim bromelin dari batang buah nanas dapat diamobilisasi dengan menggunakan karagenan. Temperatur optimum enzim bromelin dari batang buah nanas, adalah 65 °C dengan aktivitas sebelum diamobilisasi sebesar 1,239 unit/menit dan sesudah diamobilisasi memiliki aktivitas sebesar 0,982 unit/menit; sedangkan pH optimum enzim bromelin

adalah 6,5 dengan aktivitas sebelum diamobilisasi sebesar 0,907 unit/menit dan sesudah diamobilisasi memiliki aktivitas sebesar 2,758 unit/menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Gautam, S. S., Mishra, S., Dash, V., Amit, K. & Rath, G. 2010. Cooperative study or extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant, *Thai J. Pharm. Sci.* 34: 67-76.
- Gong, C. S. 1990. Purification and propetirs of glucose isomerase of *Actinoplanes missourinensis*, *Biotech.bioeng*, 22, 833-845.
- Harrach, T., K. Eckert, H. R. Maurer, I. Machleidt, W. Machleidt, and R. Nuck. 1998. Isolation and characterization of two forms of an acidic bromelain stem proteinase, *J. Protein Chem.* 17(4): 351-61.
- Nielsen, J. E., Beier, L., Otzen, D., Borchert, T. V., Frantzen, H. B., Andersen, K. V., & Svendsen, A. (1999), Electrostatics in the active site of an α -amylase, *Eur. J. Biochem.*, 246: 816-824.
- Prawesti, Y. D. H. 2009. Penggunaan Enzim Bromelin Amobil dari Buah Nanas (*Ananas comosus*) untuk Pengurangan Kandungan Protein Air Limbah Pabrik Tahu. [Skripsi]. Institut Teknologi Surabaya. Surabaya.
- Raina, M. H. 2011. *Ensiklopedia Tanaman Obat Untuk Kesehatan*. Absolute, Yogyakarta
- Sebayang, F. 2006. Pengujian Stabilitas Enzim Bromelin yang Diisolasi dari Bonggol Nanas Serta Imobilisasi Menggunakan Kappa Karagenan. *J. Sains Kimia.* 10 (1): 20-26.
- Stauffer, C. E. 1989. *Enzyme Assays for Food Scientists*, AVI Publisher.
- Susanto, H., Budiyono, Sumantri, I., & Ariyanti, N. 2003. Amobilisasi Enzim dengan Menggunakan Membran Mikrofiltrasi. <http://eprints.undip.ac.id/21989/2/582-ki-ft-04-a.pdf>. [26 Mei 2011].