

**KONSENTRASI HAMBAT MINUMUM ENZIM BROMELIN DARI KULIT
DAN BONGGOL NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr) TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

**MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF BROMELIN ENZYME FROM
THE SKIN AND CORE OF PINEAPPLE (*Ananas comosus* (L.) Merr) AGAINST
*Staphylococcus aureus***

Desi Sagita^{1,*}, Barmi Hartesi², Kurnia Fitri³, Lufita³

¹ Program Studi Farmasi, Universitas Adiwangsa, Jambi, Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

³ Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu, Jambi, Indonesia

Corresponding author email: daisyfarmasi@gmail.com

ABSTRAK

Enzim bromelin adalah enzim proteolitik yang memiliki kemampuan menghidrolisis protein sehingga bisa berperan sebagai antibakteri. Enzim bromelin dapat diisolasi dari kulit, buah, bonggol Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi enzim bromelin dari kulit dan bonggol buah Nanas dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Bromelin diisolasi dengan cara ekstraksi dengan buffer pospat, dipurifikasi dengan ammonium sulfat 60%. Uji aktivitas antibakteri enzim bromelin dari kulit dan bonggol Nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan secara invitro menggunakan difusi cakram dengan mengukur zona hambat. Konsentrasi enzim bromelin yang digunakan adalah 1 %, 2%, 3% dan 4% dengan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif. Enzim bromelin dari kulit dan bonggol Nanas pada konsentrasi 4% menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat masing masing 19,23 mm dan 18,30 mm. Konsentrasi hambat minimum enzim bromelin dari kulit dan bonggol Nanas adalah 1% dengan zona hambat masing-masing 11,45 mm dan 12,24 mm. Enzim bromelin dari kulit dan bonggol Nanas memberikan aktivitas yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Bromelin; Konsentrasi Hambat Minimum; Presipitasi Amonium Sulfat.

ABSTRACT

*The Bromelains are proteolytic enzymes that have the ability to hydrolyze proteins so they can act as antibacterial. Bromelain enzymes can be isolated from the peel, fruit, and stem of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr). The purpose of this study was to*

obtain the concentration of bromelain enzymes from the peel and stem of Pineapple in inhibiting the growth of Staphylococcus aureus. Bromelain was isolated by extraction with phosphate buffer, purified with 60% of ammonium sulfate. Antibacterial activity tests of bromelain enzymes from the peel and stem of pineapple against Staphylococcus aureus were carried out in vitro using disc diffusion by measuring clear zones. The bromelain enzyme concentration used was 1%, 2%, 3% and 4% with chloramphenicol antibiotics as a positive control. The results showed that bromelain enzymes from peel and stem of pineapple at 4% concentration inhibited the growth of Staphylococcus aureus with inhibition zones of 19.23 mm and 18.30 mm respectively. The minimum inhibitory concentration of bromelain enzymes from peel and stem of pineapple was 1% with inhibition zones of 11.45 mm and 12.24 mm respectively. Bromelain enzymes from the peel and stem of pineapple provide the same activity in inhibiting the growth of Staphylococcus aureus bacteria.

Keywords : *Bromelain; minimum inhibition concentration; ammonium sulfate precipitation*

PENDAHULUAN

Buah Nanas mengandung vitamin A dan C, kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa, dan enzim bromelin. Enzim ini terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas (Fajarna, Putri, and Sulaiha 2021). Dari hasil penelitian, diketahui bahwa Nanas memiliki kandungan bromelin yang tinggi baik pada kulit, daging buah, ataupun di bonggol Nanas (Pavan *et al.* 2012). Enzim bromelin merupakan enzim proteolitik yang dapat memutuskan ikatan peptida dalam protein menjadi asam amino sederhana. Bromelin merupakan komponen utama dari enzim proteolitik sulfhidril. Bromelin juga mengandung peroksidase, asam fosfatase, sebagian inhibitor protease dan mampu berikatan dengan kalsium (Tochi *et al.* 2008). Bromelin terdapat dalam buah maupun limbah nanas. Buah nanas yang muda memberikan jumlah bromelin yang

lebih banyak dari pada yang matang (Masri 2014). Enzim ini stabil pada rentang pH 4.5-9.8 (Tochi *et al.* 2008, Bhattacharyya 2008). Aktivitas bromelin optimum pada suhu 50 °C dan aktivitas nya menurun jika berada pada suhu diatas suhu 50 °C. Bromelin akan memberikan konformasi yang baik dengan aktivitas maksimal jika berada pada pH 6.5-7 (Masri 2014). Enzim bromelin mempunyai pH optimum yang berbeda jika berasal dari sumber yang berbeda. Enzim bromelin yang diisolasi dari kulit Nanas memiliki pH optimum yang berbeda dibandingkan enzim bromelin yang diisolasi dari bonggol Nanas.

Secara konvensional bromelin digunakan sebagai pengempuk daging. Secara farmakologi, bromelin digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti agregasi platelet, antiinflamasi, fibrinolisis, induksi sitokin, mengobati luka bakar dan

antibakteri (Bhattacharyya 2008, Nadzirah *et al.* 2013). Bromelin dapat diserap dengan baik di saluran pencernaan tanpa kehilangan aktivitas biologinya dan tidak memberikan efek negatif pada kesehatan setelah penggunaan jangka panjang (Nadzirah *et al.* 2013, Bhattacharyya 2008).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit dan bonggol buah Nanas, dapar fosfat pH 7.0, amonium sulfat (Emsure®), aquadest, bakteri uji *Staphylococcus aureus*, Na₂CO₃, KH₂PO₄, NaOH (Emsure®), Ammonium sulfat (Merck®), membrane dialisa selofan, DMSO (Dimethyl Sulfoksida), media Nutrient Broth (Merck®) dan media Mueller Hinton Agar (Difco®). Bovine Serum Albumin (BSA).

Tahapan Penelitian

1. *Pembuatan ekstrak kasar bonggol dan kulit nanas*
 Sebanyak 1 kg Bonggol dan kulit Nanas dicuci dengan aquadest, dipotong-potong dan diblender dengan buffer fosfat, untuk kemudian di saring. Filtrate yang diperoleh disentrifuse 4000 rpm 10 menit.
2. *Pengendapan dengan ammonium sulfat*
 Filtrat dari bonggol dan kulit Nanas dipurifikasi dengan metode presipitasi ammonium sulfat. Pengendapan dilakukan dengan cara menambahkan ammonium sulfat

sedikit demi sedikit ke dalam ekstrak kasar bromelin sehingga jenuh sambil diaduk menggunakan magnetik stirrer selama 24 jam pada suhu 4°C. Campuran di sentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan ekstrak kasar enzim dari sisa-sisa jaringan Nanas. Hasil sentrifugasi akan didapatkan supernatan dan pelet yang merupakan ekstrak kasar enzim bromelin.

3. *Dialisis ekstrak kasar bromelin*

Pellet yang merupakan ekstrak kasar bromelin di dresuspensikan dengan dapar fosfat (pH 7,0), kemudian di dialisis selama 16 jam. Hasil dialysis disentrifugasi kembali sehingga didapatlah endapan yang berupa ekstrak kasar bromelin yang dimurnikan sebagian (parsial purified).

4. *Penentuan kadar protein dengan metode Lawry*

Larutan sampel sebanyak 0,125 mL ditambah dapar fosfat pH 7,0 sampai dengan 0,5 mL dan ditambahkan 0,7 ml Reagen Lowry kemudian di vortex dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Campuran ditambah 0,1 mL Folin Ciocalteu's di vortex lalu diinkubasi pada suhu 25 °C selama 10 menit. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum BSA kemudian kadar protein ditentukan dengan regresi linier terhadap kurva standar BSA.

5. *Pengujian antibakteri ekstrak bromelain*

Pengujian antibakteri ekstrak kasar bromelin dengan metode difusi cakram. Konsentrasi larutan ekstrak kasar bromelin yang digunakan adalah 1%, 2%, 3%, dan 4%), kontrol positif (+) cakram kloramfenikol, dan kontrol negatif (-) dapar fosfat. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri diamati dengan adanya zona bening di sekitar cakram, kemudian diukur diameter zona hambat tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit dan bonggol nanas *Ananas comosus* L (merr). Proses determinasi sampel dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA, Universitas Padjajaran, Bandung. Pengekstrasian bromelin dari kulit dan bonggol nanas menggunakan pelarut buffer pospat pH 7 bertujuan untuk menjaga kestabilan enzim. Bromelin memiliki aktivitas optimum pada pH 5-7 (Masri 2014).

Stabilitas enzim bromelin dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, pH (asam), protease pada asam lambung, pelarut organik dan zat-zat kimia (Nathania and Bratadiredja 2018). 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, Corzo, Waliszewski, and Welte-Chanes 2012). Bromelin diisolasi dari kulit dan bonggol nanas mentah, dikarenakan kandungannya yang tinggi dibandingkan nanas masak (Masri 2014).

Proses purifikasi bromelin dilakukan dengan pengendapan ammonium sulfat sampai titik jenuh. Ammonium sulfat dapat mengendapkan kandungan bromelin lebih murni dan dapat menghasilkan enzim yang memiliki aktivitas yang tinggi. Metode ini sering dipakai untuk purifikasi protein. Hal ini dikarenakan garam ammonium memiliki harga yang murah dan tidak larut (Nadzirah *et al.* 2013, Manzoor *et al.* 2016, Sari *et al.* 2018). Pada penelitian ini jumlah garam ammonium sulfat yang terpakai sebanyak 60%.

Enzim bromelain dari buah nanas dapat diekstraksi 2.8 kali lebih murni jika menggunakan ammonium sulfat dengan saturasi 40-60% (Devakate *et al.* 2009). Hal ini dikarenakan jumlah garam tersebut telah mencapai titik jenuh yang menyebabkan protein sudah berada pada titik isoelektriknya. Garam ammonium sulfat ini berfungsi untuk mengendapkan protein, dikarenakan adanya persaingan antara garam dan protein untuk mengikat air. Ammonium sulfat akan lebih kuat mengikat air dibandingkan protein dikarenakan ammonium sulfat memiliki densitas muatan yang lebih besar sehingga air yang terikat dengan

protein menurun. Hal ini menyebabkan gaya tarik menarik antara garam dan molekul protein lebih kuat dibandingkan dengan gaya tarik menarik antara protein dengan air. Sehingga protein akan mengendap dari larutan (Wingfield 2016, Sari *et al.* 2018).

Proses dialisa protein menggunakan membran semipermeabel dimana protein akan tertahan dalam membrane dan molekul dengan ukuran lebih kecil dari protein akan keluar melalui pori-

pori membran. Proses Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Lowry, menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan larutan standar Bovine Serum Albumin (BSA) (Wuryanti 2004). Larutan ini merupakan golongan enzim protein sulfhidril yang memiliki residu sulfidril (sistein) pada sisi aktifnya sama seperti enzim bromelin yang memiliki asam amino sistein pada sisi aktifnya (Ali, Milala, and Gulani 2015).

Tabel 1. Kadar protein enzim bromelin pada pengendapan ammonium sulfat 60% dengan metode Lawry

No	Sampel	Kadar protein ($\mu\text{g/mL}$)
1	Bonggol nanas	50.93
2	Kulit Nanas	45.73

Dari Table 1 terlihat bahwa kadar bromelin banyak terkandung pada bonggol nanas. Wuryanti, (2004) melaporkan bahwa besarnya unit aktivitas ekstrak kasar enzim bromelin dari bonggol nanas adalah 5,373 U/mL (Wuryanti 2004). Peneliti lain juga mendapatkan kadar protein Enzim bromelin dari ekstrak bonggol nanas yang di presipitasi dengan ammonium sulfat 60% adalah 37,214 $\mu\text{g/ mL}$ (Masri 2014) dan sebesar 37,785 $\mu\text{g/mL}$ protein enzim bromelin dari ekstrak batang nanas (Nurhidayah, Masriany, and Masri 2013).

Aktivitas antibakteri dari enzim bromelin diujikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Peneliti lain membuktikan bahwa jus buah nanas dan papaya mampu menghambat pertumbuhan

bakteri enteric (D.S and M.D 2013). Jus segar buah nanas baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* dan *Salmonella parathypi* B (D.S and M.D 2013). Ekstrak buah nanas juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Nurnaningsih and Laela 2022) dan *Streptococcus beta-hemolyticus* (Ujiani and Marhamah 2019). Enzim bromelin dapat sebagai antimikroorganisme pada karies dengan konsentrasi 10% (Al-Falah, Prihatiningrum, and Nugroho 2022). Ekstrak kasar (crude) bromelin yang diisolasi dari buah nanas juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus spp Corynebacterium spp*, *Bacillus subtilis* dan *Streptococcus pyogenes* (Ali, Milala, and Gulani 2015).

Tabel 2. Diameter zona hambat kulit dan bonggol nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Jenis sampel	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)			Hasil
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Kulit Nanas	1%	12.75	8.85	12.75	11.45±0.225
Bonggol Nanas	1%	12.35	12.13	12.25	12.24±0.10
Kulit Nanas	2%	14.95	11.4	13.5	13.28±0.178
Bonggol Nanas	2%	14.25	14.35	14.23	14.27±0.06
Kulit Nanas	3%	15.3	18.1	14.95	16.11±0.172
Bonggol Nanas	3%	16.2	16	16.35	16.18±0.17
Kulit Nanas	4%	19.65	18.85	19.2	19.23±0.040
Bonggol Nanas	4%	18.35	18.3	18.25	18.30±0.05
Kontrol Kloramfenikol 0.03%		21.45	21.4	21.35	21.30±0.10
Kontrol negatif		0	0	0	0

Ekstrak bromelain dari bonggol nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang berbeda dibandingkan ekstrak bromelain dari kulit nanas seperti yang terlihat pada Table 2. Kemampuan enzim bromelain menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan enzim ini menghidrolisis beberapa ikatan peptida yang ada pada dinding sel bakteri. Enzim bromelin mengganggu ikatan peptide pada peptidoglikan membrane sel bakteri menyebabkan ketidakstabilan gaya elektrostatis membrane (Liliany *et al.* 2018). Selain itu adanya enzim protease lainnya yang terdapat pada ekstrak kasar (*crude bromelain*) seperti glukosidasae, peroksidase, selulase dan protease lainnya juga ikut membantu proses penghambatan pertumbuhan mikroba (Bhattacharyya,2008).

KESIMPULAN

Enzim bromelin dari kulit dan bonggol Nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 1 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih Universitas Adiwangsa Jambi, Universitas Jenderal Achmad Yani, STIKES Harapan Ibu Jambi dan semua pihak yang terkait dengan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

Al-Falah, Johan, Berlian Prihatiningrum, and Raditya Nugroho. 2022. "Perbandingan Efektivitas Enzim Bromelain Dan Enzim Papain Terhadap Degradasi Jaringan Karies Dentin Sebagai Agen Chemo-Mechanical Caries

- Removal Comparison of the Effectiveness of Bromelain and Papain Enzymes on the Degradation of Dentinal Caries Tissue A.” *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran* 34(1): 58–65.
- Ali, Ali Abdulrahman, Mohammed Adamu Milala, and Isa Adamu Gulani. 2015. “Antimicrobial Effects of Crude Bromelain Extracted from Pineapple Fruit (*Ananas Comosus* (Linn .) Merr .).” *Advances in Biochemistry* 3(1): 1–4.
- Bhattacharyya, B. K. 2008. “Bromelain: An Overview.” *Natural Product Radiance* 7(4): 359–63.
- Corzo, Carlos A., Krzysztof N. Waliszewski, and Jorge Welti-Chanes. 2012. “Pineapple Fruit Bromelain Affinity to Different Protein Substrates.” *Food Chemistry* 133(3): 631–35.
- D.S, Bansode, and Chavan M.D. 2013. “Evaluation of Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Papaya and Pineapple Fruit Juices Against Selected Enteric Pathogens.” *international Journal of Pharma and Bio Science* 4(2): 1176–84.
- Devakate, R V, V V Patil, S S Waje, and B N Thorat. 2009. “Purification and Drying of Bromelain.” *Separation and Purification Technology* 64(3): 259–64.
- Fajarna, Farah, Safridha Kemala Putri, and Sulaiha. 2021. “Uji Perasan Bonggol Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) Sebagai Antikoagulan.” *Jurnal Serambi Konstruktivis* 3(3): 14–21.
- Liliany, Dewi et al. 2018. “ Enzymatic Activity of Bromelain Isolated Pineapple (*Ananas Comosus*) Hump and Its Antibacterial Effect on *Enterococcus Faecalis* .” *Scientific Dental Journal* 2(2): 39.
- Manzoor, Zoya, Ali Nawaz, Hamid Mukhtar, and Ikram Haq. 2016. “Bromelain: Methods of Extraction, Purification and Therapeutic Applications Human and Animal Health.” *Brazilian archives of Biology and Technology* 59: 1–16.
- Masri, Mashuri. 2014. “Isolasi Dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin Dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas Comosus*) Pada Variasi Suhu Dan PH.” *Biogenesis* 2(2): 119–25.
- Nadzirah, K. Z., S. Zainal, A. Noriham, and I. Normah. 2013. “Efficacy of Selected Purification Techniques for Bromelain.” *International Food Research Journal* 20(1): 43–46.
- Nathania, Destyalitha Sethya, and Marline Abdassah Bratadiredja. 2018. “Isolasi Dan Uji Stabilitas Enzim Bromelin Dari Nanas (*Ananas Comosus* L.)” *Jurnal Farmaka* 16(1): 374–79.
- Nurhidayah, Masriany, and Mashuri Masri. 2013. “Isolasi Dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin Dari Ekstrak Kasar Batang Nanas (*Ananas Comosus*)

- Berdasarkan Variasi PH.” *Biogenesis* 1(2): 116–22.
- Nurnaningsih, Hera, and Dewi Sodja Laela. 2022. “Efektivitas Berbagai Konsentrasi Enzim Bromelain Dari Ekstrak Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr) Terhadap Daya Antibakteri *Streptococcus Mutans* Secara *In Vitro*.” *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students* 6(2): 74.
- Pavan, Rajendra, Sapna Jain, Shraddha, and Ajay Kumar. 2012. “Properties and Therapeutic Application of Bromelain: A Review.” *Biotechnology research international* 2012: 976203.
- Sari, A. A., S. Setiasih, S. Hudiyono, and E. Saepudin. 2018. “Isolation and Purification of Bromelain from Pineapple Core (*Ananas Comosus* [L.] Merr) by Ammonium Sulfate and Ethanol Precipitation.” *AIP Publishing*: 1–5.
- Sarkar, Shampa et al. 2017. “Isolation and Characterization of Bromelain Enzyme from Pineapple and Its Utilization as Anti-Browning Agent Mineral Extraction from Plant Leaves, Specially Moringa View Project Isolation and Characterization of Bromelain Enzyme from Pineapple and Its Uti.” *Process Engineering Journal* 1: 52–58.
- Tochi, Bitange Nipa, Zhang Wang, Shi Ying Xu, and Wenbin Zhang. 2008. “Therapeutic Application of Pineapple Protease (Bromelain): A Review.” *Pakistan Journal of Nutrition* 7(4): 513–20.
- Ujiani, Sri, and Marhamah Marhamah. 2019. “Efektivitas Ekstrak Nanas (*Ananas Comosus*(L.) Pada Pertumbuhan *Streptococcus Beta-Hemolitycus*.” *Jurnal Kesehatan* 10(3): 390.
- Wingfield, Paul T. 2016. “Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate.” *Current Protocols in Protein Science* 13(1): 1–10.
- Wuryanti. 2004. “Isolasi Dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin Dari Bah Nanas (*Ananas Comosus* L .).” *J.Kim.Sains & Apl* VII(3): 78–82.