

REVIEW: KARAKTERISASI, AKTIVITAS DAN ISOLASI ENZIM BROMELIN DARI TUMBUHAN NANAS (*Ananas sp.*)

Pramesthi Indah Wiyati, Ami Tjitraesmi
Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran
Jalan Raya Bandung Sumedang, Km. 21, Jatinangor, 45363
e-mail: pramesthiindahwiyati@gmail.com

ABSTRAK

Bromelin merupakan enzim yang berupa ekstrak kasar, diperoleh dari batang, buah, mahkota bunga, inti dan kulit nanas. Varietas *Ananas fitzmuelleri* merupakan varietas nanas yang memiliki kandungan bromelin tertinggi diantara spesies lainnya. Bromelin merupakan enzim pencernaan protein (proteinase) atau dapat disebut juga enzim proteolitik yang dapat mempercepat reaksi hidrolisis dari protein. Selain sebagai proteinase, bromelin juga memiliki berbagai macam aktivitas seperti anti-inflamasi, anti kanker, anti bakteri, anti jamur, efek terhadap koagulasi darah dan fibrinolisis, dan perannya dalam pembedahan. Isolasi bromelin dari nanas dapat dilakukan dengan cara ekstraksi dengan larutan buffer fosfat, air destilasi, buffer natrium sitrat, atau buffer fosfat sitrat.

Kata kunci: Bromelin, Nanas, Isolasi Enzim.

ABSTRACT

Bromelain is a crude enzyme extract, obtained from stems, fruits, flower crowns, cores and skin of pineapple. Ananas fitzmuelleri is the pineapple varieties that contain the highest bromelain among other species. Bromelin is a protein-digesting enzyme (proteinase) or called a proteolytic enzyme that can catalysis the hydrolysis reaction of proteins. Aside from being a proteinase, bromelin also has a variety of activities such as anti-inflammatory, anti-cancer, anti-bacterial, anti-fungal, effects on blood coagulation and fibrinolysis, and its role in surgery. Isolation of bromelin from pineapple can be done by extracting with phosphate buffer solution, distilled water, sodium citrate buffer, or phosphate citrate buffer.

Keywords: Bromelain, Pineapple, Isolation Enzyme.

Diserahkan: 4 Juli 2018, Diterima 4 Agustus 2018

PENDAHULUAN

Nanas merupakan buah yang berasal dari keluarga Bromeliaceae, dikenal pula sebagai ratu buah karena rasanya yang istimewa (Baruwa, 2013). Buah nanas sangat mudah rusak dan musiman. Buah yang matang mengandung gula, asam sitrat, asam malat, vitamin A dan B, dan bromelin (Hossain, et al., 2015). Bromelin merupakan gabungan dari

berbagai proteinase yang berikatan erat dengan senyawa-senyawa lain disekitarnya (Taussig & Batkin, 1988). Bromelin merupakan enzim pencernaan protein (proteinase) atau dapat disebut juga enzim proteolitik yang dapat mempercepat reaksi hidrolisis dari protein, enzim ini berupa ekstrak kasar (*crude extract*) yang dapat diperoleh dari batang, buah, mahkota bunga, inti dan kulit nanas. Enzim

bromelin banyak pula digunakan sebagai penjernih bir dan pengempuk daging. Dalam bidang kesehatan, bromelin dapat digunakan untuk mengurangi inflamasi, dan pembengkakan yang dapat menyebabkan nyeri sendi, meredakan nyeri, dan mati rasa (Bhattacharyya, 2008). Enzim ini juga menunjukkan berbagai aktivitas fibrinolitik, antiedema, antitrombotik, dan anti inflamasi *in vitro* dan *in vivo* (Taussig & Batkin, 1988). Karena banyaknya manfaat yang dihasilkan dari enzim ini maka dibuatlah *review* jurnal ini yang berisi tentang berbagai aktivitas enzim bromelin dan cara isolasinya.

I. SUMBER BROMELIN

Bromelin merupakan enzim yang berasal dari tumbuhan keluarga Bromeliaceae, dan beberapa penelitian menyatakan bahwa kandungan bromelin terbanyak terdapat pada tumbuhan nanas. Suatu penelitian dilakukan oleh Omotoyinbo dan Sanni (2017) yang

bertujuan untuk mengetahui varietas nanas yang memiliki kandungan bromelin terbanyak. Varietas nanas yang diuji banding merupakan varietas yang umum dipasaran dan varietas yang terdapat di wilayah Nigeria.

Pada tabel 1, ditunjukkan konsentrasi protein pada berbagai bagian tumbuhan dari varietas *Ananas fitzmuelleri*, *Ananas comosus*, dan *Ananas erectifolius*. Karena bromelin merupakan enzim yang susunan utamanya berupa protein sehingga konsentrasi protein menunjukkan banyaknya bromelin yang terkandung pada setiap bagian dari tiap varietas nanas. Pengujian konsentrasi protein dilakukan setelah langkah pemurnian. Langkah pemurnian terdiri dari sentrifugasi dan presipitasi etanol 70%, perbedaan dari kedua langkah pemurnian ini yaitu pada sentrifugasi akan dihasilkan ekstrak kasar dari bromelin sedangkan presipitasi dengan etanol 70% akan didapatkan bromelin yang lebih murni.

Tabel 1 Konsentrasi Protein pada Berbagai Spesies Nanas

Spesies	Bagian Tumbuhan	Langkah Pemurnian	Konsentrasi Protein (µg/ml)
<i>Ananas fitzmuelleri</i> (Agric)	Mahkota bunga	Sentrifugasi	1,44
		Presipitasi etanol 70%	1,07
	Inti buah	Sentrifugasi	1,63
		Presipitasi etanol 70%	0,67
	Daging buah	Sentrifugasi	1,33
		Presipitasi etanol 70%	0,11
	Kulit buah	Sentrifugasi	1,48
		Presipitasi etanol 70%	0,74
<i>Ananas comosus</i> (Lokal)	Mahkota bunga	Sentrifugasi	1,29
		Presipitasi etanol 70%	0,85
	Inti buah	Sentrifugasi	0,96

Spesies	Bagian Tumbuhan	Langkah Pemurnian	Konsentrasi Protein (µg/ml)
<i>Ananas erectifolius</i> (Erec)	Daging buah	Presipitasi etanol 70%	0,62
		Sentrifugasi	1,11
	Kulit buah	Presipitasi etanol 70%	0,41
		Sentrifugasi	1,07
		Presipitasi etanol 70%	0,67
	Mahkota bunga	Sentrifugasi	1
		Presipitasi etanol 70%	0,85
	Inti buah	Sentrifugasi	1,18
		Presipitasi etanol 70%	1,37
	Daging buah	Sentrifugasi	1,18
		Presipitasi etanol 70%	1,15
	Kulit buah	Sentrifugasi	0,96
		Presipitasi etanol 70%	0,59

Sumber: Omotoyinbo dan Sanni (2017).

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa konsentrasi protein terbanyak pada setiap bagian tumbuhan baik yang disentrifugasi atau yang telah dilanjutkan dengan proses presipitasi dengan alkohol 70% terdapat pada varietas *Ananas fitzmuelleri*, diikuti oleh *Ananas comosus* dan *Ananas erectifolius*.

II. KARAKTERISASI BROMELIN

Kerja bromelin sebagai enzim tentunya dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu. Sehingga untuk mengetahui karakteristik dari enzim bromelin, perlu ditentukan pula kondisi optimum enzim bromelin dalam melakukan aktivitasnya.

Beberapa penelitian menentukan suhu dan pH optimum dengan cara melihat aktivitas bromelin sebagai protease atau pencernaan protein pada variasi suhu dan pH. Pengaruh suhu pada aktivitas bromelin berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Martin, et al. (2014), aktivitas enzim

bromelin kasar meningkat dengan meningkatnya suhu sampai mencapai 50°C, dan akan menurun dengan cepat dan untuk bromelin yang murni, aktivitas akan meningkat hingga mencapai suhu 60°C, dan akan mulai menurun setelahnya.

Pengaruh pH pada aktivitas enzim berdasarkan penelitian Martin, et al. (2014), menunjukkan adanya kenaikan aktivitas ekstrak bromelin kasar hingga mencapai pH 7,0 dan akan sedikit aktivitas penolakan pada pH 10. Sedangkan untuk ekstrak bromelin yang telah dimurnikan aktivitasnya naik hingga pH 8. Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian Valles, et al. (2007) dan Ketnawa, et al. (2012) yang menganalisis dua varietas dari *Ananas comosus*, yang menjelaskan bahwa aktivitas enzim yang tinggi berada pada rentang pH 6,5 hingga 8,0 dan untuk aktivitas maksimum enzim berada disekitar pH 7,0.

III. AKTIVITAS BROMELIN

Banyaknya kegunaan bromelin baik dalam kehidupan sehari-hari sebagai pengempuk daging dan dalam bidang kesehatan memunculkan berbagai penelitian terhadap aktivitas bromelin diantaranya yaitu:

3.1 Anti-inflamasi

Bromelin dapat menurunkan regulasi tingkat ekspresi Cyclooxygenase-2 (COX-2) dan Prostaglandin E2 (PGE-2) dalam sel mikroglia murine dan garis sel leukemia monositik manusia (Desser, et al., 1994). Bromelin pula mengaktifkan mediator inflamasi termasuk interleukin (IL)-1 β , IL-6, interferon (INF)- γ dan *tumor necrosis factor* (TNF)- α dalam makrofag tikus dan sel mononuclear darah perifer manusia (Engwerda, et al., 2001; Engwerda, et al., 2001; Barth, et al., 2005). Dengan demikian, bromelin menurunkan sebagian besar mediator inflamasi dan telah menunjukkan peran yang signifikan sebagai agen anti-inflamasi (Rathnavelu, et al., 2016; Salas, 2008).

3.2 Anti kanker

Bromelin telah terbukti secara selektif menginduksi apoptosis dalam sel tumor oleh peningkatan regulasi ekspresi p53 dan inisiasi jalur apoptosis mitokondria melalui peningkatan ekspresi Bax dan pelepasan sitokrom C (Tysnes, et al., 2001). Selain itu, bromelain menurunkan aktivitas regulasi kelangsungan hidup sel,

sehingga memicu apoptosis sel yang telah mati pada tumor (Mantovani, et al., 2008)

3.3 Anti bakteri

Suplementasi bromelin melindungi hewan terhadap diare yang disebabkan oleh enterotoksin bakteri dari *Eschericia coli* dan *Vibrio cholera* (Mynott, et al., 1997). Bromelin bertindak sebagai anti-adhesi dengan memodifikasi situs reseptor dan mempengaruhi jalur sinyal sekresi usus (Chandler & Mynott, 1998; Mynott, et al., 1996)

3.4 Anti jamur

Bromelin sebagai anti jamur bertindak dengan menstimulasi fagositosis dan menghambat semburan pernapasan *Candida albicans* ketika diinkubasi dengan tripsin secara *in vitro* (Brakebusch, et al., 2001).

3.5 Efek terhadap koagulasi darah dan fibrinolysis

Bromelin mempengaruhi koagulasi darah dengan meningkatkan kemampuan serum fibrinolitik dan menghambat sintesis fibrin, protein yang terlibat dalam pembekuan darah (Lozt-Winter, 1990). Studi *in vitro* dan *in vivo* telah menunjukkan bahwa bromelin adalah agen fibrinolitik yang efektif karena merangsang konversi plasminogen menjadi plasmin, sehingga meningkatkan fibrinolisis dengan mendegradasi fibrin (De-Guili & Pirotta, 1978; Taussig & Batkin, 1988).

3.6 Peran dalam pembedahan sebagai analgesik

Pemberian bromelin sebelum operasi dapat mengurangi jumlah hari untuk penghilangan rasa sakit secara total dan peradangan pasca operasi (Tassman, et al., 1964; Tassman, et al., 1965). Pengujian menunjukkan bahwa bromelin mungkin efektif dalam mengurangi pembengkakan, memar, dan nyeri pada wanita yang mengalami epistomi (Howat & Lewis, 1972). Saat ini, bromelin digunakan untuk mengobati peradangan akut dan cedera olah raga (Brien, et al., 2004).

IV. ISOLASI BROMELIN

Proses isolasi dilakukan untuk mendapatkan ekstrak kasar dari enzim bromelin. Untuk proses isolasi bromelin dapat dilakukan dengan berbagai metode yaitu metode (1) setiap bagian yang berbeda dicampur dengan pelarut *buffer* fosfat 0,01 M pH 7,0 dengan perbandingan antara *buffer* dengan daging dan inti buah 1:1 (b/v), untuk kulit nanas 2:1 (b/v) sedangkan untuk mahkota bunga 3:1 (b/v), lalu disaring dengan kain keju sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang didapatkan disentrifugasi pada kecepatan 6000g selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh (bromelin kasar) dikumpulkan dan dibekukan pada suhu -4°C (suhu penyimpanan) (Omotoyinbo & Sanni, 2017).

Proses isolasi bromelin juga dapat dilakukan dengan ekstraksi menggunakan

pelarut lain seperti air destilasi, *buffer* natrium sitrat, dan *buffer* fosfat sitrat. Metode (2) ekstraksi bromelin dengan air destilasi dilakukan dengan mencampur sampel dan air destilasi (1:1 b/b) dengan *blender* larutan disaring dengan kain muslin untuk menghilangkan bagian seratnya hingga didapatkan filtrat, filtrat yang didapatkan disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C dan diambil supernatannya. Supernatan yang mengandung ekstrak kasar bromelin dapat disimpan pada suhu -20°C (Sarkar, et al., 2017).

Metode (3) ekstraksi dengan *buffer* natrium sitrat dilakukan dengan mengeringkan terlebih dahulu sampel pada suhu 55°C selama beberapa jam dengan menggunakan *cabinet drier* terutama jika sampel berupa buah dan batang. Setelah dikeringkan sampel ambil sebanyak 10 g dan di-*blender* dengan 90 ml *buffer* natrium sitrat dingin dan disaring menggunakan kain muslin dan didapatkan filtrat. Filtrat disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit dan diambil supernatannya, dan dapat disimpan pada suhu -20°C (Srinath, et al., 2012).

Metode (4) ekstraksi dengan *buffer* fosfat sitrat, 10 g sampel yang telah dikeringkan direndam dengan 90 ml larutan *buffer* fosfat sitrat 0,1 M pH 6,5 selama 10 menit lalu disaring. Filtrat disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit,

diambil supernatannya dan dapat disimpan pada suhu -20°C (Sarkar, et al., 2017).

KESIMPULAN

Bromelin didapatkan dari ekstrak tumbuhan nanas, untuk mendapatkan enzim ini dapat dilakukan dengan cara isolasi dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pada hasil penelitian beberapa sumber menunjukkan bahwa bromelin dapat digunakan sebagai anti-inflamasi, anti kanker, anti bakteri, anti jamur, efek terhadap koagulasi darah dan fibrinolisis, dan perannya dalam pembedahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Barth, H., Guseo, A. & Klein, R., 2005. In vitro study on the immunological effect of bromelain and trypsin on mononuclear cells from humans. *Eur J Med Res*, Volume 10, pp. 325-331.
- Baruwa, O., 2013. Profitability and Constraints of Pineapple Production in Osun State, Nigeria. *Journal of Horticultural Research*, 21(2), pp. 59-64.
- Bhattacharyya, B., 2008. Bromelain: An Overview. *Natural Product Radiance*, 7(4), pp. 359-363.
- Brakebusch, M. et al., 2001. Bromelain is an accelerator of phagocytosis, respiratory burst and Killing of *Candida albicans* by human granulocytes and monocytes. *Eur J Med Res*, Volume 6, pp. 193-200.
- Brien, S. et al., 2004. Bromelain as a treatment for osteoarthritis: a review of clinical studies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(3), pp. 251-257.
- Chandler, D. & Mynott, T., 1998. Chandler DS, Mynott TL. Bromelain protects piglets from diarrhoea caused by oral challenge with K88 positive enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Gut*, Volume 43, pp. 196-202.
- De-Guili, M. & Pirotta, F., 1978. Bromelain: interaction with some protease inhibitors and rabbit specific antiserum. *Drugs under Experimental and Clinical Research*, Volume 4, pp. 21-23.
- Desser, L., Rehberger, A. & Paukovits, W., 1994. Proteolytic enzymes and amylase induce cytokine production in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Cancer Biother*, Volume 9, pp. 253-263.
- Engwerda, C., Andrew, D., Ladhams, A. & Mynott, T., 2001. Bromelain modulates T cell and B cell immune responses in vitro and in vivo. *Cell Immunol*, Volume 210, pp. 66-75.
- Engwerda, C., Andrew, D., Murphy, M. & Mynott, T., 2001. Bromelain activates murine macrophages and natural killer cells in vitro. *Cell Immunol*, Volume 210, pp. 5-10.
- Hossain, M., Akhtar, S. & Anwar, M., 2015. Nutritional Value and Medicinal Benefits of Pineapple. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(1), pp. 84-88.
- Howat, R. & Lewis, G., 1972. The effect of bromelain therapy on episiotomy wounds—a double blind controlled clinical trial. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth*, 79(10), pp. 951-953.

- Ketnawa, S., Chaiwut, P. & Rawdkuen, S., 2012. Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction. *Food Bioprod. Process*, Volume 90, pp. 385-391.
- Lozt-Winter, H., 1990. On the pharmacology of bromelain: an update with special regard to animal studies on dose-dependent effects. *Planta Medica*, 56(3), pp. 249-253.
- Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A. & Balkwill, F., 2008. Cancer-related inflammation. *Nature*, Volume 454, pp. 436-444.
- Martins, B. et al., 2014. Characterization of Bromelain from Ananas Comosus Agroindustrial Residues Purified by Ethanol Fractional Precipitation. *Chemical Engineering Transactions*, Volume 37, pp. 781-786.
- Mynott, T., Guandalini, S., Raimondi, F. & Fasano, A., 1997. Bromelain prevents secretion caused by *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* enterotoxins in rabbit ileum in vitro. *Gastroenterology*, Volume 113, pp. 175-184.
- Mynott, T., Luke, R. & Chandler, D., 1996. Oral administration of protease inhibits enterotoxigenic *Escherichia coli* receptor activity in piglet small intestine. *Gut*, Volume 38, pp. 28-32.
- Omotoyinbo, O. & Sanni, D., 2017. Characterization of Bromelain from Parts of Three Different Pineapple Varieties in Nigeria. *Journal of BioScience*, 5(3), pp. 35-41.
- Rathnavelu, V. et al., 2016. Potential role of bromelain in clinical and therapeutic applications. *Biomed Rep*, 5(3), pp. 283-288.
- Salas, C., 2008. Plant Cysteine Proteinases: Evaluation of the Pharmacological Activity. *Phytochemistry*, 69(12), pp. 2263-2269.
- Sarkar, S., Ahmed, M., Mozumder, N. & Saeid, A., 2017. Isolation and characterization of bromelain enzyme from pineapple and its utilization as anti-browning agent. *Process Engineering Journal*, Volume 1, pp. 52-58.
- Srinath, R., Ramalingam, C. & Islam, N., 2012. Isolation and characterization of Bromelain from pineapple (*Ananas Comosus*). *Elixir Food Science*, Volume 45, pp. 7822-7826.
- Tassman, G., Zafran, J. & Zayon, G., 1964. Evaluation of a plate proteolytic enzyme for the control of inflammation and pain. *Journal of Dental Medicine*, Volume 19, pp. 73-77.
- Tassman, G., Zafran, J. & Zayon, G., 1965. A double-blind crossover study of a plant proteolytic enzyme in oral surgery. *The Journal of Dental Medicine*, Volume 20, pp. 51-54.
- Taussig, S. & Batkin, S., 1988. Bromelain, the Enzyme Complex of Pineapple (*Ananas comosus*) and Its Clinical Application: an update. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(2), pp. 191-203.
- Tysnes, B. et al., 2001. Bromelain reversibly inhibits invasive properties of glioma cells. *Neoplasia*, Volume 3, pp. 469-479.
- Valles, D., Furtado, S. & Cantera, A., 2007. Characterization of new proteolytic enzymes from ripe fruits of *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae). *Enzyme Microb. Technol.*, Volume 40, pp. 409-413.