

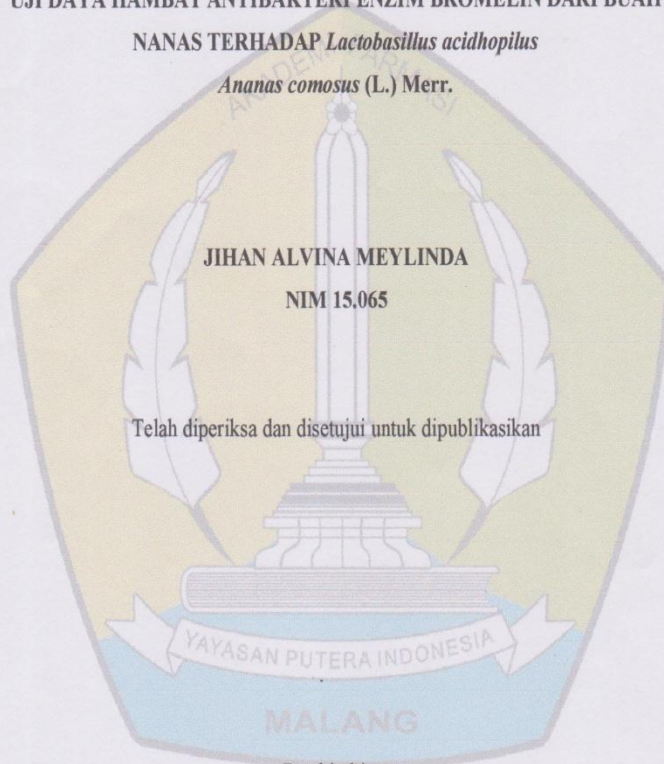
ARTIKEL ILMIAH

UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI ENZIM BROMELIN DARI BUAH
NANAS TERHADAP *Lactobacillus acidophilus*
Ananas comosus (L.) Merr.

JIHAN ALVINA MEYLINDA

NIM 15,065

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan



Pembimbing,

Nur Candra Eka Setiawan, S.Si., S.Pd., M.Pd.

UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI ENZIM BROMELIN DARI BUAH NANAS TERHADAP *Lactobasillus acidhopilus Ananas comosus (L.) Merr.*

Test Of Antomacterial Procees Of Bromeline Enzyme From Powder Fruits On *Lactobasillus acidhopilus Ananas comosus (L.) Merr.*

Jihan Alvina Meylinda, Nur Eka CandraSetiawan

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Karies gigi adalah sebuah penyakit infeksi yang merusak gigi. Salah satu penyebab terjadinya karies gigi adalah bakteri *Lactobasillus acidhopilus*. *Lactobasillus acidhopilus* adalah dengan bahan antibakteri, salah satunya buah nanas. Buah nanas memiliki kandungan enzim bromelin yang dapat menurunkan tegangan permukaan bakteri pada dinding sel bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri ekstrak kasar enzim bromelin dari buah nanas terhadap *Lactobasillus acidhopilus*. Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental dan tempat penelitian di Laboratotrium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Dalam penelitian ini metode yang digunakan isolasi enzim bromelin dengan diparut dan diblender menggunakan peralut buffer fosfat dan pengendapan enzim bromelin dengan amonium sulfat 60%. Selanjutnya dilakukan pengujian kadar protein, unit aktivitas, dan uji daya hambat dengan metode sumuran konsentrasi 100%. Hasil penelitian kadar protein diparut 12,382 µg/mL dan diblender 12,537 µg/mL. Unit aktivitas diblender 7,391 µg/mL dan diparut 7,608 µg/mL. uji daya hambat ekstrak kasar enzim bromelin diparut dan diblender tidak terdapat daya hambat pada sekitar area sumuran dikarenakan bakteri *Lactobasillus acidhopilus* merupakan gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan dan lapisan dinding sel yang menghasilkan enzim proteolitik sehingga enzim bromelin tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobasillus acidhopilus*. Perlu adanya penelitian daya hambat terhadap bakteri karies gigi penghasil asam laktat dengan enzim bromelin.

Kata kunci : Antibakteri, buah nanas, enzim bromelin, *Lactobasillus acidhopilus*, karies gigi.

ABSTRACT

Dental caries is an infectious disease that damages teeth. One of the causes of dental caries is *Lactobacillus acidophilus* bacteria. *Lactobasillus acidhopilus* is an antibacterial ingredient, one of which is pineapple. Pineapple fruit contains enzyme bromelin which can reduce the surface tension of bacteria on bacterial cell wall. This study aims to determine the antibacterial inhibition of crude extract of bromelin enzyme from pineapple to *Lactobasillus acidhopilus*. This research is an experimental research and research place in Microbiology Laboratory of Pharmacy of Putra Indonesia Malang. In this study the method used is isolation of bromelin enzyme by shredded and blended using phosphate buffer coating and deposition of bromelin enzyme with ammonium sulphate 60%. Further testing of protein content, activity unit, and inhibitory test with 100% concentration of concentration method. The results of the study of protein content grated 12.382 µg / mL and blended 12,537 µg / mL. Activity unit blended 7,391 µg/ mL and shredded 7,608 µg / mL. inhibitory test of crude extract of bromelin enzyme grated and blended there is no inhibition power around the area of the well because the bacterium *Lactobasillus acidhopilus* is a gram positive that has a layer of peptidoglycan and cell wall layers that produce proteolytic enzymes so that enzyme bromelin can not inhibit the growth of *Lactobasillus acidhopilus* bacteria. It is necessary to investigate the inhibitory effect on bacterial caries of lactic acid-producing teeth with bromelin enzyme..

Keywords: Antibacterial pineapple fruit, bromelin enzyme, *Lactobacillus acidophilus*, dental caries.

PENDAHULUAN

Buah nanas, nenas atau ananas (*Ananas comosus*) adalah sejenis tumbuhan tropis yang berasal dari Brasil, Bolivia dan Paraguay. Buahnya dalam bahasa Inggris disebut *pineapple* karena bentuknya yang seperti pohon pinus. Buah nanas memiliki kandungan yang sangat baik bagi kesehatan. Menurut beberapa penelitian buah nanas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium dan enzim *Bromelain*.

Enzim bromelin merupakan hasil isolat enzim dari buah dan batang buah nanas. Jumlah enzim bromelin pada kulit, mahkota, dan daun nanas lebih sedikit dari pada batang dan buah nanas. Enzim bromelin termasuk kedalam golongan enzim protease yang mampu memecah protein rantai panjang menjadi fragmen protein yang lebih kecil bahkan sampai bentuk asam amino (Ali dkk, 2015).

Enzim bromelin bagi kesehatan manusia dapat mengurangi rasa sakit, mengurangi radang sendi, serta menyembuhkan luka bakar, dan

peningkatan aksi antibiotik, anti inflamasi, dan antibakteri.

Pencegahan pada karies gigi salah satunya menggunakan bahan herbal yang memiliki kandungan anti bakteri, enzim bromelin juga dapat mempengaruhi dengan menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri yang sering dijumpai pada gigi manusia ialah bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* adalah bakteri yang menghasilkan asam, dapat merusak gigi dengan cara membentuk biofilm, dan mensintesis protein dan karbohidrat.

Pencegahan pada karies gigi salah satunya menggunakan bahan herbal yang memiliki kandungan anti bakteri, enzim bromelin juga dapat mempengaruhi dengan menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Lactobacillus acidophilus*. Selain itu bromelin memiliki sifat adhesi yakni dapat menurunkan tegangan permukaan bakteri dengan cara menghidrolisis protein saliva dan gliko protein yang merupakan mediator bakteri untuk melekat pada permukaan gigi (Rakhmanda, 2008). Maka, pencegahan harus dilakukan sedini mungkin. Tujuan pencegahan

karies gigi dengan menurunkan jumlah bakteri karsiogenik. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan uji daya hambat ekstrak kasar enzim bromelin buah nanas dengan variasi metode terhadap bakteri *Lactobasillus acidhophilus*.

METODE PENELITIAN

Penelitian uji daya hambat ekstrak kasar enzim bromelin buah nanas dengan variasi metode terhadap bakteri *Lactobasillus acidhophilus* merupakan penelitian Eksperimental.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah sentrifuge, gelas ukur, neraca analitik, pipet ukur, beaker gelas, gelas ukur penyaring, labu ukur, inkubator, autoklaf, cawan petri, pipet volume, bunsen, erlenmeyer, spektrofotometer, oven, jarum ose, vortex, bor ukuran 9mm, tabung reaksi, pH meter.

Bahan yang digunakan adalah buah nanas dari kediri, amonium sulfat 60%, buffer fostatpH 7, kertas saring, reagen Brafood, TCA (asam trikloro asetat), kasein, gelatin ,MRSB (*de Man*

Rogosa Sharpe Agar), MRSB (*de Man Rogosa Sharpe Beoth*), aquadest.

TAHAPAN PENELITIAN

Adapun tahapan penelitian sebagai berikut

1. Determinasi tanaman nanas dilaksanakan di Meteria Medika Batu, Jawa Timur.
2. Pembuatan ekstrak kasar enzim bromelin dengan cara diblender 500gram dan diparut 500gram kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit buffer fosfat pH 7 didiamkan selama 24 jam. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm diamsbil supernatan. Supernatan ditambahkan amonium sulfat 60% didiamkan selama 24 jam. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm di ambil residu yang disebut enzim bromelin.
3. Pengujian unit aktifitas.

Sebanyak 2,5 mL substrat ditambah dengan larutan enzim. Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37⁰C. Ditambahkan larutan TCA 1 M .Diinkubasi selama 40 menit pada suhu 37⁰C. Disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm kira-kira 20 menit. Dihasilkan supernatant

kemudian pengujian aktivitas enzim dengan spektrofotometer pada gelombang 290 nm.

4. Penentuan kadar enzim bromelin

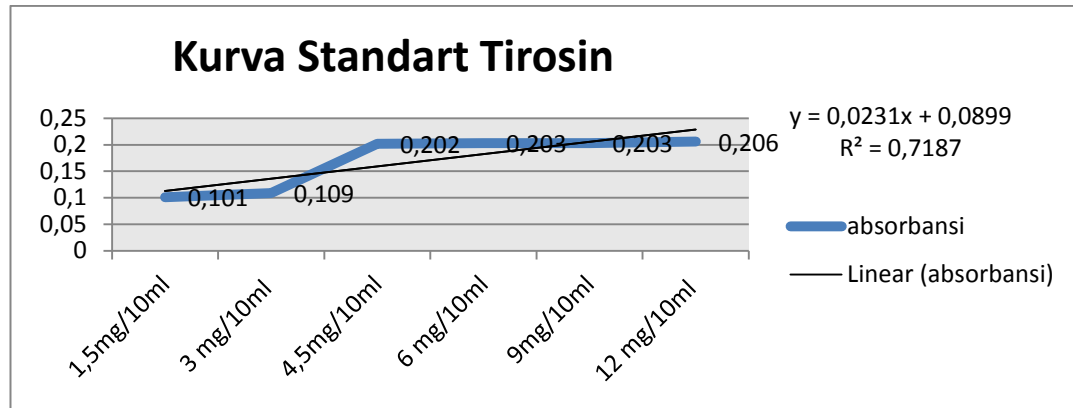
Kadar protein ditentukan dengan membandingkan absorbansi ekstrak kasar enzim bromelin kurva standar gelatin. Ditimbang gelatin sebanyak 10 mg. Kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades steril diperoleh larutan stok 1000 ppm. Larutan baku induk 1000 ppm dilakukan pengenceran dengan 5 ml dari larutan baku induk dilarutkan dalam 45 ml aquadest. Dari larutan stok konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm Dilakukan pengukuran standart protein dengan 0,05 ml seri larutan standart ditambahkan reagen braford Kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit Larutan dibaca absorbansinya pada λ 595 nm. Diambil dari ekstrak kasar enzim bromelin 0,5 ml ditambahkan dengan reagen braford 2,5 ml. Divortek dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit. Larutan dibaca absorbansinya pada λ 595 nm.

5. Uji Aktifitas Bakteri Metode Sumuran

Disiapkan 3 cawan petri dituangkan media MRSA sebanyak 25 mL kemudian suspense bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 0,5 ml diinokulasi kedalam cawan petri. Dibiarkan media sampai memadat. Pada setiap lempeng MRSA yang telah diinokulasi bakteri *Lactobacillus acidophilus* dibuat 3 lubang sumuran dengan diameter 8 mm menggunakan borer steril. Dimasukan pada masing-masing lubang sumuran konsentrasi 100%. Media yang sudah diberi perlakuan dimasukan dalam incubator dengansuhu 37⁰C selama 24 jam. Dilakuakan pengamatan dan pengukuran zona hambat diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan 5 kali pengulangan.

HASIL PENELITIAN

Unit aktivitas enzim bromelin ditentukan dengan menggunakan substrat kasein dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 290 nm dengan Spektrofotometer UV.

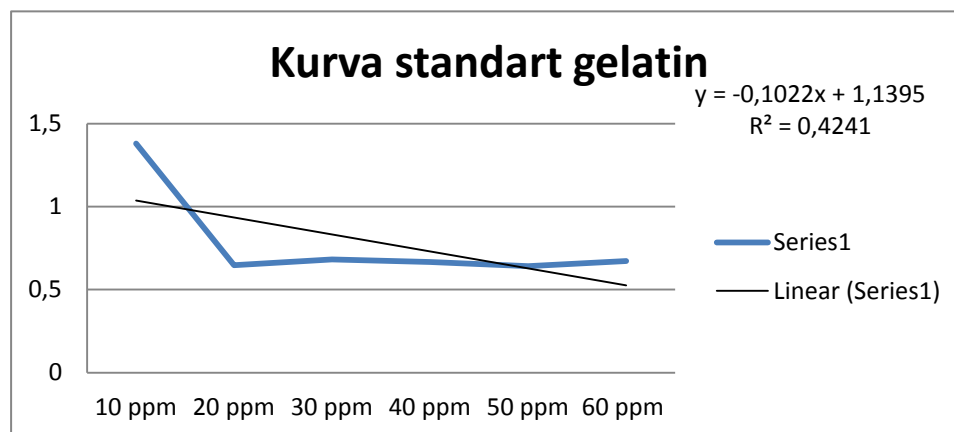


Gambar 1. Hasil kurva standart Tirosin

Bedasarkan kurva standart dari Tirosin didapatkan nilai $y = 0,023x + 0,089$ maka diperoleh unit aktivitas enzim bromelin dari buah nanas diblender 12,382 $\mu\text{g/mL}$ dan diparut 12,537 $\mu\text{g/mL}$. Adapun Hasil Kadar Protein Enzim bromelin

Penentuan kadar protein dengan metode braford terhadap kadar protein enzim bromelin dari ekstrak buah nanas. adapun kadar protein yang terendapkan dapat dilihat pada gambar

Gambar 2. Kurva standart gelatin



Bedasarkan perbandingan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan persamaan linier kurva standart gelatin dihasilkan kadar protein

kasar enzim bromelin dihasilkan

diparut 12,382 µg/mL dan diblender 12,537 µg/mL.

Dilakukan pengujian zona hambat bakteri terhadap ekstrak

Replikasi	Diameter Zona Hambat (nm)				Media
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Enzim Bromelin (diblender)	Enzim Bromelin (diparut)	
Replikasi 1	0	0	0	0	0
Replikasi 2	0	0	0	0	0
Replikasi 3	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0

Keterangan : *Kontrol positif = Media dengan bakteri ditambahkan supernatan

*Kontrol negatif = Media dengan bakteri

* Enzim bromeli dengan konsentrasi 100 %

* media MRSA tanpa bakteri

PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan melalui beberapa tahap yakni dilakukan pengujian unit aktivitas, penentuan kadar protein bromelin, dan pengujian terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Pengujian unit aktivitas dan penentuan kadar protein menggunakan pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan Spektrometer UV-Vis. Sedangkan pada daya hambat dilakukan pengujian terhadap zona bening yang terbentuk pada sekitar area sumuran dengan jangka sorong.

Isolasi enzim dilakukan dengan metode ekstraksi. Tujuan ekstraksi adalah untuk mengeluarkan enzim dari dalam selsel jaringan buah nanas. Enzim bromelin merupakan enzim protease yang berupa glukoprotein. Selama proses berlangsung diusahakan suhu dijaga agar tidak melebihi 4°C agar enzim tidak rusak dan perlu ditambah larutan penyangga buffer fosfat dengan pH 7 pada saat pemblenderan dan diparut yang merupakan ekstraksi secara fisik. Kemudian diendapkan selama 24 jam, setelah itu dilakukan sentrifugasi selama 15

menit dengan 4000 rpm 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.

Hasil supernatan dari enzim kasar bromelin diendapkan menggunakan amonium 60% dilakukan untuk mengendapkan enzim protease pada ekstrak kasar enzim bromelin. Menurut (Farid, 2011) pengendapan yang paling baik yaitu menggunakan amonium sulfat 60%. Pengendapan ini dilakukan karena pada konsentrasi 60% mencapai titik isoelektrik protein yang diinginkan. Pengendapan dengan amonium sulfat 60% dilakukan selama 24 jam dengan suhu 4°C. Untuk mendapatkan endapan enzim yang telah terpisahkan dari larutan hasil endapan tersebut, maka dilakukan sentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Hasil sentrifugasi didapatkan residu yang merupakan enzim kasar bromelin dan supernatan sisa – sisa pengendapan dengan amonium sulfat. Hasil endapan dilakukan pengujian Unit aktifitas

Kadar protein bromelin dan uji daya hambat bakteri dari ekstrak kasar enzim 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. a enzim bromelin dari buah nanas diblender 12,537 µg/mL dan diparut 12,382 µg/mL. Berdasarkan penelitian Wuryanti, 2004 buah nanas memiliki unit aktivitas ekstrak kasar adalah 5,373 U/mL. Hal ini jauh berbeda dari peneliti sebelumnya dikarenakan dari sumber yang berbeda maka berbeda pula jumlah dan aktivitas katalitiknya walaupun katalisisasi reaksinya sama. Enzim bromelin adalah enzim yang diekstrak dari buah nanas (*Ananas comosus*). Bromelin merupakan golongan sulfhidril yang mengandung enzim proteolitik. Enzim bromelin menghidrolisis protein yang mengandung ikatan peptida menjadi

asam amino yang sederhana. Dalam penelitian ini substrat yang digunakan yaitu gelatin. Gelatin merupakan protein yang mengandung 19 asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida termasuk arginin dan tirosin (Hajrawati, 2006.)

Ekstrak enzim bromelin sendiri diukur kadar proteinnnya dengan perbandingan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan kurva standart gelatin. Kadar protein enzim bromelin buah nanas diukur menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer akan menentukan kadar protein secara kuanitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmitan atau absorbansi.

Berdasarkan perbandingan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan linier kurva standart gelatin diahlikan kadar protein antara buah nanas yang diblender 12,382 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan diparut 12,537 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini kadar protein yang dihasilkan tidak jauh berbeda karena metode diblender ada penambahan air pada saat pemblenderan fungsi air sendiri sebagai menarik zat aktif pada nanas dari pada hasil yang diparut.

Pada penelitian uji daya hambat ekstrak kasar bromelin dari buah nanas terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidhopillus* dari stok kultur Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Penelitian menggunakan dua perlakuan yaitu buah yang diblender dengan kosentrasi 100% dan buah yang diparut dengan kosentrasi 100% kelompok negatif pada penelitian ini menggunakan larutan ekstrak kasar enzim bromelin sebelum ditambahkan amonium sulfat. Uji daya hambat bakteri dapat diketahui sebagai pembentukan zona hambat pada setiap perlakuan yang diberikan pada zona koloni yang kemudian diukur dengan jangka sorong dalam diameter atau satuan millimeter (Bagus setiawan, 2016)

Enzim Bromelin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan desin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Enzim Bromelin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Halini

menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ali, 2015).

Hasil penelitian menunjukan bahwa uji daya hambat ekstrak enzim bromelin pada buah nanas dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif tidak dapat memperlihatkan terbentuknya daya hambat bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Dikarenakan bakteri ini pada kondisi netral yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme tertentu dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0 – 8,0 (Buckle et al. (2007). *Lactobacillus acidophilus* merupakan gram positif dan memiliki lapisan peptidoglikan banyak terkandung dalam membran. Peptidoglikan merupakan polimer besar yang disusun oleh N-asetilglukosamin (AGA), asam N-asetilmuramat (AAM) dan satu peptida yang terdiri dari empat asam amino yang saling berikatan dengan lapisan lainnya, sehingga membentuk suatu ikatan silang yang kuat menutupi seluruh sel. Salah satu penyusun asam amino dari peptidoglikan adalah asam teikoat. Asam teikoat mempunyai muatan

negatif yang dapat membatasi substansi yang akan masuk ke dalam sel.

Pemilihan pertumbuhan media bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan media selektif kurang tepat pada pengujian daya hambat dari enzim dikarenakan media de ManRogosa Sharpe Agar (MRSa). Komposisi: protein dari kasein 10,0 gr/L, ekstrak daging 8,0 gr/L, ekstrak khamir 4,0 gr/L, D (+) glukosa 20,0 gr/L, dipotassium hydrogen fosfat 2,0 gr/L, Tween 80 gr/L, diammonium hidrogen sitrat 2,0 gr/L, sodium asetat 5,0 gr/L, magnesium sulfat 0,2 gr/L, mangan sulfat 0,04 gr/L, agar-agar 14,0 gr/L.

Beberapa strain bakteri asam laktat diketahui mempunyai sistem proteolitik sehingga memungkinkan mereka tumbuh pada substrat yang kaya akan protein seperti susu (Kwok dan De Vos , 1994). Bakteri asam laktat memiliki kemampuan menghasilkan enzim proteolitik disekitar dinding sel, membran sitoplasma, atau didalam sel (Thomas dkk,1987). *Lactobacillus acidophilus* selama proses fermentasi selain memanfaatkan peptida atau asam amino bebas untuk

pertumbuhannya juga mampu menghidrolisis kasein dengan menggunakan protease yang disekresikan di sekitar permukaan dinding selnya (Thomas dan Pritchard, 1987). Sehingga daya hambat dari ekstrak kasar enzim bromelin tidak menghasilkan zona bening dikarenakan enzim bromelin merupakan enzim protease sementara dinding sel bakteri *Lactobacillus acidophilus* mengandung enzim protease. Maka perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang berapa bakteri karies gigi dengan ekstrak kasar enzim bromelin dari buah nanas.

KESIMPULAN

Daya hambat ekstrak kasar bromelin dari buah nanas tidak terdapat zona hambat dikarenakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada dinding sel menghasilkan enzim protease sehingga enzim protease dari bromelin tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dipersembahkan kepada untuk

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

DAFTAR PUSTAKA

- Audies, Annisa. 2015. Effectiveness Test Of Antibacterial Extract Pineapple Peel (*Ananas comosus. L*) On The Growth Of *Streptococcus mutans* Cause Dental Caries. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas, Padang.
- Branen AL. 1993. Introduction to use of antimicrobials. In: Davidson, P.M, Branen AL (eds). Antimicrobials in Food. 2nd ed, Revised and Expanded. Marcel Dekker, New York.
- Forrest, G.J., Aberle, H.B. Hendrick, M.D. Judge and R.A. Merkel. 1975. Principles of Meat Science. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Jawetz., et al. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23th Ed.* Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC
- Kwok J, De Vos WM. 1994. The Proteolytic System of Lactic Acid Bacteria. In: Genetics and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria. Ed Gasson and De Vos. Black Academic & Professional. Glasgow.
- Masri, Mashuri. 2014. Isolasi dan Pengukuran Aktifitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) pada Variasi Suhu dan Ph.

- Rakhmanda, Adi Putra. 2008. Perbandingan Efek AntiBakteri Jus Nanas (*Ananas comosus L.merr*) Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap *Stertococcus muntans*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Samaranayake Laksman. 2006. *Essential Microbiology for Dentistry*. 3rd ed. Churchill Livingstone:Elsevier.2006: 255, 267
- Setiawan, Bagus. 2016. Daya Hambat Konsentrasi Enzim Bromelin Dari Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus (L.) Merr*) Terhadap *Streptococcus sanguinis*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanudin, Makassar.
- Wuryanti. Isolasi dan penentuan aktivitas spesifik enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus L.*). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 2004; 3(7): 84
- Thomas TD, Pritchard GG. 1987. Proteolytic enzymes from dairy starter cultures. Fed. Eur. Microbiol. Soc. Microbiol. Rev. 46:245.