

ARTIKEL ILMIAH

UJI DAYA Hambat ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR ENZIM
BROMELIN DARI BONGGOL NANAS TERHADAP *Lactobacillus*
acidophilus

NOVALIA ERISKA DYAS ANGGRAINI

NIM 15.103

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

YAYASAN PUTERA INDONESIA

MALANG

Pembimbing,



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

UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR ENZIM BROMELIN DARI BONGGOL NANAS TERHADAP *Lactobasillus*

acidhopilus (Ananas comosus (L) Merr)

Antibacterial Bromelin Enzyme Effect from Pineapple Strain on
Lactobasillus acidhopilus

Novalia Eriska Dyas Anggraini, Nur Candra Eka Setiawan

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Karies gigi adalah sebuah penyakit infeksi yang merusak gigi. Upaya pengendalian aktivitas *Lactobacillus acidhopilus* adalah dengan bahan antibakteri, salah satunya Bonggol nanas. Bonggol 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 bonggol 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 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 pengujian kadar protein diperoleh hasil 13,141µg/mL, hasil unit aktivitas enzim bromelin 4,652µg/mL dan daya hambat ekstrak kasar bromelin dari bonggol nanas tidak terdapat zona hambat diduga enzim bromelin terdenaturasi oleh suhu yang tidak terkontrol sehingga tidak adanya aktivitas antibakteri. Perlu adanya penelitian daya hambat terhadap bakteri karies gigi penghasil asam laktat dengan enzim bromelin.

Katakunci : Antibakteri, Bonggol nanas, Enzim bromelin, karies gigi, *Lactobasillus acidhopilus*.

ABSTRACT

Dental caries is an infectious disease that damages the tooth. Efforts to control the activity *Lactobasillus acidhopilus* is with antibacterial ingredients, one of the pineapple. Pineapple cobs contain bromelin enzymes that can lower the bacterial surface tension on bacterial cell walls. The aim of this research is to know the antibacterial inhibition of crude extract of bromelin enzyme from pineapple bob into *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 bromeline enzyme with phosphate buffer coating and sedimentation of bromelin with ammonium sulfate 60%. Further testing of protein content, activity unit, and inhibitory test with 100% concentration of concentration method. The result of the test of protein content obtained by result 13,14137312µg / mL, the result of activity unit of bromelin enzyme 4,652173913µg / mL and The inhibitory effect of bromelin crude extract from pineapple hump is no inhibitory zone, it is thought that bromelain enzyme is denatured by uncontrolled temperature so that there is no antibacterial activity. It is necessary to investigate the inhibitory effect on bacterial caries of lactic acid-producing teeth with bromelin enzyme.

Keywords: Antibacterial, Pineapple bulb, Bromelin enzyme, Dental caries, *Lactobasillus acidhopilus*.

PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus*) merupakan tanaman buah berupa semak dengan ukuran tanaman yang relatif rendah. Tanaman yang termasuk dalam *Bromeliaceae* ini berasal dari Brazil dan tersebar ke berbagai negara setelah Colombus datang ke Brazil. Menurut Murniati (2010), buah nanas mempunyai berbagai macam kandungan gizi yaitu protein, lemak, karbohidrat, fosfor, kalori, zat besi, vitamin (A, B). Selain itu terdapat juga kandungan magnesium, kalsium, natrium, vitamin (C, B2), kalium, sukrosa (gula tebu), dan enzim bromelin (Dalimartha dan Adrian, 2013).

Enzim bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi molekul yang lebih kecil. Enzim bromelin dapat diperoleh dari tanaman nanas dari tangkai, kulit, daun, buah, inti buah nanas, maupun batang dalam jumlah yang berbeda. Terutama pada inti atau bonggol nanas ini biasanya sering dihiraukan oleh masyarakat sehingga menjadi

suatu limbah. Konsentrasi bromelin yang terdapat pada bonggol nanas lebih tinggi dibanding pada daging buah nanas (Deni Rahmat *et All*).

Enzim bromelin memiliki manfaat yang sangat banyak bagi kehidupan manusia yaitu dapat mendegradasi kolagen daging, sehingga dapat mengempukkan daging (Utami, 2010), kemudian pada pengolahan VCO yaitu enzim bromelin menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana pada santan (Edawati, 2005). Sedangkan pada bidang kesehatan enzim bromelin dapat mengurangi rasa sakit dan pembengkakan karena luka atau operasi, mengurangi radang sendi, menyembuhkan luka bakar, serta meningkatkan fungsi paru-paru pada penderita infeksi saluran pernapasan (Kumaunang dan Kamu, 2011). Selain itu bromelin memiliki sifat antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri karies gigi bakteri *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi 100% pada penelitian (Anisa audies, 2015).

Faktor yang mempengaruhi terjadinya karies gigi salah satunya

adalah bakteri. *Streptococcus muntans* dan *Lactobacillus acidophilus* dianggap sebagai bakteri utama yang dianggap sebagai bakteri utama penyebab karies. *Lactobacillus acidophilus* memiliki peran penting karena kemampuan melekat pada enamel melalui pelikel saliva dan sebagai bakteri penghasil asam sehingga menciptakan lingkungan asam yang akan beresiko terjadinya gigi berlubang (Forssten *et All*, 2010). Pencegahan harus dilakukan untuk menghindari terjadinya karies, yang dilakukan sedini mungkin. Tujuan Pencegahan karies gigi dengan menurunkan jumlah bakteri karsinogenik. Maka perlu dilakukan pencegahan dengan adanya antibakteri dari enzim bromelin. 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). Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan uji daya hambat antibakteri enzim bromelin dari ekstrak kasar bonggol nanas terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

METODE PENELITIAN

Penelitian uji daya hambat antibakteri ekstrak kasar bonggol nanas terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan penelitian Eksperimental.

Alat dan Bahan

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

Bahan yang digunakan adalah bonggol nanas dari daerah kediri, aquadest, amonium sulfat 60%, buffer fosfat pH 7, reagen braford, gelatin, casein, tirosin, dan Trikloroasetas (TCA), de Man Rogrosa Sharep Broth (MRSB), de Man Rogrosa Sharep Agar (MRSA).

TAHAP PENELITIAN

Adapun tahapan penelitian sebagai berikut :

1. Determinasi tanaman nanas dilaksanakan di Materia Medika Batu, Jawa Timur.
2. Pembuatan ekstrak kasar enzim bromelin dengan memblender bonggol nanas dan ditambahkan sedikit demi sedikit buffer fosfat pH 7 didiamkan selama 24 jam. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm diambil supernatan dan ditambahkan amonium sulfat 60% didiamkan selama 24 jam pada suhu 4⁰C, disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm diambil endapan enzim bromelin.
3. Pengujian Unit Aktivitas
Sebanyak 2,5 mL substrat ditambah dengan larutan enzim bromelin. 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 protein

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

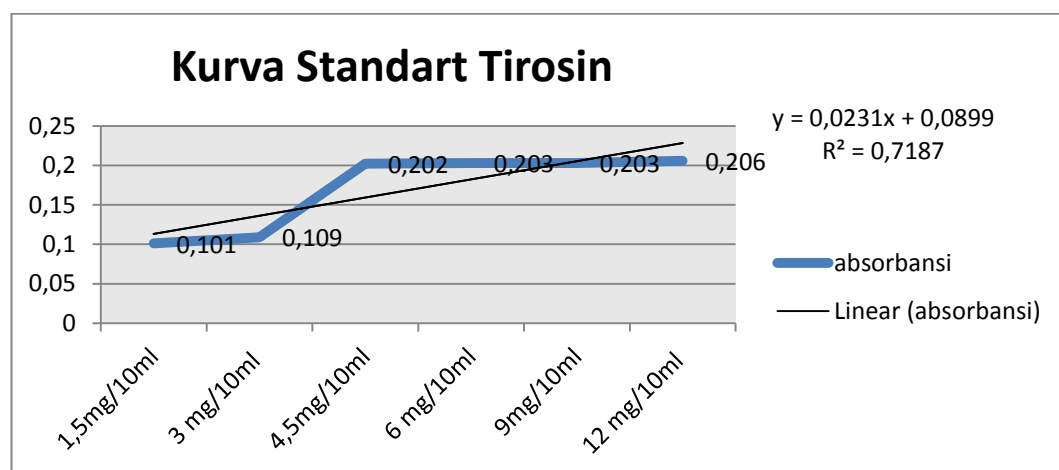
Disiapkan 3 cawan petri dituangkan media MRSA sebanyak 25 mL kemudian suspense bakteri

Lactobasillus acidopilus sebanyak 0,5 ml diinokulasi kedalam cawan petri. Dibiarkan media sampai memadat. Pada setiap lempeng MRSA yang telah diinokulasi bakteri Lactobasillus acidopilus 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 dengan suhu 37°C selama 24 jam.

Dilakukan 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.

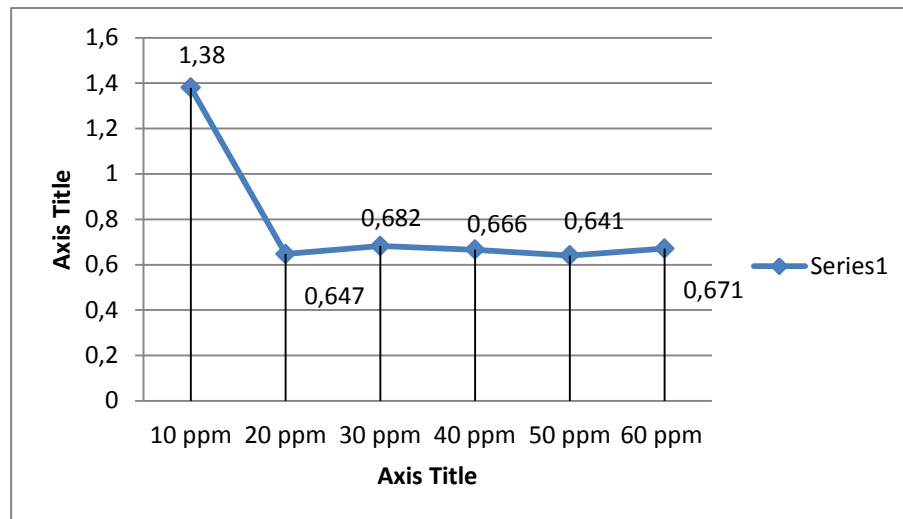


Gambar 1. Hasil kurva standart Tirosin

Bedasarkan kurva standart dari Tirosin didapatkan nilai $y = 0,0012x + 0,0165$ maka diperoleh unit aktivitas enzim bromelin dari bonggol nanas adalah 4,652173913.

Adapun Hasil Kadar Protein Enzim bromelin Penentuan kadar

protein dengan metode braford terhadap kadar protein enzim bromelin dari ekstrak bonggol nanas.adapun kadar protein yang terendapkan dapat dilihat pada gambar 4.2



Gambar 2. Kurva standart gelatin

Bedasarkan perbandingan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan persamaan linier kurva standart gelatin dihasilkan kadar protein 13,14137312 $\mu\text{g/mL}$.

Dilakukan pengujian zona hambat bakteri terhadap ekstrak kasar enzim bromelin dihasilkan

Replikasi	Diameter Zona Hambat (nm)			
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	EnzimBromelin	Media
Replikasi 1	0	0	0	0
Replikasi 2	0	0	0	0
Replikasi 3	0	0	0	0
Rata-rata	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 pembuatan ekstrak kasar enzim bromelin, pengujian unit aktivitas, penentuan kadar protein bromelin, dan pengujian terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidhopillus*. 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.

Pada penelitian ini proses pembuatan ekstrak kasar bromelin bonggol nanas dari daerah Kediri, Jawa Timur dimulai dengan proses pengupasan buah nanas, pemisahan bonggol nanas dari buah nanas, dan pemotongan bonggol nanas menjadi bentuk yang lebih kecil yang bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga bonggol nanas mengalami kontak langsung dengan pelarut semakin besar. Pelarut yang digunakan adalah buffer fosfat pH 7 merupakan pelarut yang mampu digunakan dalam ekstraksi bromelin untuk mempertahankan agar kondisi sel tetap optimum dan dapat mencegah denaturasi bromelin selama proses ekstraksi. Suhu dingin 4⁰C digunakan dengan tujuan mencegah proses denaturasi bromelin memperlambat terjadinya reaksi enzimatik yang dapat merusak bromelin.

Bonggol nanas yang sudah dipotong kecil-kecil kemudian dicampur dengan buffer fosfat pH 7 dan dihomogenkan dengan blender. Proses homogenisasi bertujuan untuk mengeluarkan enzim dari sel-sel jaringan buah nanas. Campuran bonggol nanas dan buffer fosfat

yang sudah dihomogenkan kemudian disaring menggunakan kertas saring. Penyaringan bertujuan untuk memisahkan cairan yang berisis enzim dengan sisa jaringan tanaman. Kemudian sari buah nanas didiamkan selama 24 jam pada suhu 4⁰C agar enzim mengendap. Endapan enzim dipisahkan dengan sentrifugasi 4000 rpm selama 15 menit. Sentrifugasi dilakukan untuk mendapatkan supernatan bebas sel sehingga sel akan mengendap karena adanya gaya gravitasi, sedangkan enzim akan tetap berada pada supernatan (Bintang, 2010).

Hasil sentrifugasi sari buah nanas akan terbentuk endapan dan supernatan. Diambil supernatan dan ditambahkan amonium sulfat 60%. Proses dengan penambahan amonium sulfat ini disebut dengan presipitasi protein enzim bromelin. Presipitasi protein dilakukan dengan menambahkan amonium sulfat yang merupakan salah satu cara pemurnian protein melalui proses pengendapan garam. Penggunaan amonium sulfat didasarkan pada sifat kelarutannya yang tinggi, tidak merusak struktur protein, dan harganya relatif murah. Pengendapan dilakukan dengan

amonium sulfat pada konsentrasi 60% dikarenakan pengendapan tertinggi terjadi pada konsentrasi tersebut, pada hal ini konsntrasi 60% mencapai titik isoelektrik protein yang diinginkan. Pengendapan terjadi karena adanya persainangan antara garam dan protein untuk mengikat air (Masri, 2014). Untuk mendapatkan endapan enzim yang telah terpisahkan dari larutan hasil endpan maka dilakukan sentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Hasil endapan dilakukan pengujian Unit aktivitas, Kadar protein bromelin dan pengujian daya hambat bakteri dari ekstrak kasar enzim bromelin.

Unit aktivitas enzim bromelin ditentukan dengan menggunakan substrat kasein dengan menggunakan substrat kasein dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 290 nm dengan Spektrofotometer UV. Penentuan panjang gelombang digunakan 290 nm karena penentuan panjang gelombang maksimum pada tirosin. Berdasarkan kurva standart dari Tirosin didapatkan persamaan regresi $y = 0,0231x + 0,0899$ maka siperoleh unit aktivitas enzim bromelin dari bonggol nanas adalah

4,652 $\mu\text{g/mL}$. Sedikitnya Unit Akitivitas ini kemungkinan dipengaruhi oleh protein yang terdenaturasi dikarena suhu yang tidak stabil.

Enzim bromelin adalah enzim yang diekstrak dari buah nanas (*ananas comosus*). Bromelin merupakan golongan sufrihidil 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 pepetida termasuk arginin dan tirosin (Hajrawati, 2006, 8).

Ekstrak enzim bromelin diukur kadar proteinya dengan membandingkan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan kurva standart gelatin. Kadar protein enzim bromelin dari ekstrak kasar bonggol nanas diukur dengan menggunakan spektrofotometer. spektrofotometer akan menentukan kadar protein secara kuanitatif maupun kualitatif dengan mengukue transmittan

ataupun absorbansi. Berdasarkan perbandingan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan persamaan linier kurva standart gelatin dihasilkan kadar protein 13,141 µg/mL. Hal ini jauh berbeda dengan penelitian Mashari 2010 dengan kadar protein sebesar 37,214 µg/mL. Faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya protein disebabkan karena perbedaan lingkungan, suhu optimum, dan cara pengolahan. Pada penelitian mashri 2010 ditambahkan buffer fosfat 10 ml setelah terjadi endapan dengan amonium sulfat sehingga menjaga stabilitas pH yang disimpan.

Pada penelitian daya hambat ekstrak kasar bromelin dari bonggol nanas terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dari stok kultur Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Penelitian menggunakan satu perlakuan dan kelompok negatif. Kelompok perlakuan dari konsentrasi ekstrak kasar enzim bromelin yaitu 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 kelompok perlakuan yang diberikan pada zona koloni, yang kemudian diukur dengan jangka sorong dalam diameter atau satuan milimeter (Bagus setiawan, 2016).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji daya hambat ekstrak enzim bromelin pada bonggol nanas enunjukan bahwa ekstrak enzim bromelin dari bonggol nanas tidak dapat menghambat bakteri *Lactobacillus acidophilus* dikarenakan rata-rata zona hambat yang diperoleh dari beberapa perlakuan tersebut adalah 0 mm. Hal ini kemungkinan senyawa enzim bromelin yang terdapat di bonggol nanas tidak mengalami proses permurnian enzim sehingga enzim murni dari bonggol nanas masih tercampur dari beberapa kandungan lain. Nanas memiliki kandungan air 90% dan kaya akan kalium, kalsium, iodium, sulfur dan klor selain itu juga kaya asam, biotin, vitamin B12, vitamin E, serta enzim bromelin (Kurniawan 2008). Selain itu enzim juga dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya suhu saat melakukan ekstraksi enzim. Pada

penelitian ini isolasi enzim bromelin saat perlakuan sentrifugasi suhu 4⁰C yang tidak terkontrol sehingga memungkinkan enzim terdenaturasi. Hal tersebut mengakibatkan konsentrasi enzim bromelin rendah sehingga ekstrak kasar enzim bromelin tidak menghasilkan aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Daya hambat ekstrak kasar bromelin dari bonggol nanas tidak terdapat zona hambat diduga enzim bromelin terdenaturasi oleh suhu yang tidak terkontrol sehingga tidak adanya aktivitas antibakteri.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih dipersembahkan kepada untuk Akademi Farmasi Putra Indonseia Malang.

Daftar Rujukan

Audies, Annisa. 2015. Effectifeness 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.

Masri, Mashuri. 2014. Isolasi dan Pengukuran Aktifitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) pada Variasi Suhu dan Ph.

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.

Thomas TD, Pritchard GG. 1987. Proteolytic enzymes from dairy starter cultures.

Wuryanti. Isolasi dan penentuan aktivitas spesifik enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus L.*). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 2004; 3(7): 84