

**AKTIVITAS ENZIMATIS BROMELAIN PADA BONGGOL DAN DAGING  
BUAH NANAS (*Ananas comosus* L.) DENGAN VARIETAS NANAS MADU  
DAN NANAS CAYENNE TERHADAP SUBSTRAT KASEIN**

**SKRIPSI**

**Oleh :  
YANUAR RIZALDY  
066120016**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2024**

**AKTIVITAS ENZIMATIS BROMELAIN PADA BONGGOL DAN DAGING  
BUAH NANAS (*Ananas comosus* L.) DENGAN VARIETAS NANAS MADU  
DAN NANAS CAYENNE TERHADAP SUBSTRAT KASEIN**

**SKRIPSI**

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Farmasi (S.Farm) Pada Program Studi Farmasi Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Pakuan**

**Oleh :  
YANUAR RIZALDY  
066120016**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2024**

## HALAMAN PENGESAHAN

**Judul** : **Aktivitas Enzimatis Bromelain Pada Bonggol Dan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus L.*) Dengan Varietas Nanas Madu Dan Nanas Cayenne Terhadap Substrat Kasein**

**Nama** : **Yanuar Rizaldy**

**NPM** : **066120016**

**Program Studi** : **Farmasi**

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui  
Bogor, Oktober 2024**

**Menyetujui,**

**Pembimbing Pendamping**



**Siti Mahyuni, S. Si., M. Sc.**

**Pembimbing Utama**



**apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Farmasi**



**apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.**

**Dekan FMIPA UNPAK**



**Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.**

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana diperguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar, benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Bogor, Oktober 2024



Yanuar Rizaldy

**SURAT PERLIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SURAT  
KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN**

---

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yanuar Rizaldy

NPM : 066120016

Judul Skripsi : Aktivitas Enzimatis Bromelain Pada Bonggol Dan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) Dengan Varietas Nanas Madu Dan Nanas Cayenne Terhadap Substrat Kascin

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi diatas adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau yang dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dan karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Oktober 2024



## HALAMAN PERSEMBAHAN

**“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapat (pahala) dari (kebajikan) yang dikerjakannya dan dia mendapat (siksa) dari (kejahatan) yang diperbuatnya.” (QS. Al – Baqarah : 286)**

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan kesehatan, rahmat dan hidayah, sehingga saya masih diberikan kesempatan untuk menyelesaikan karya sederhana ini, sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar kesarjanaan. Walaupun jauh dari kata sempurna, namun saya bangga telah mencapai titik ini, yang akhirnya karya sederhana ini bisa selesai diwaktu yang tepat.

Terima kasih kepada Orang Tua saya yaitu Bapak Jefrizal dan Ibu Sri Rejeki yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, kasih sayang yang tak pernah putus kepada saya dan banyak mengajarkan kepada saya tentang kehidupan didunia dan di akhirat dan tak lupa pula kepada adik saya yang telah membantu dan menghibur saya dalam penulisan karya sederhana ini, semoga karya sederhana ini menjadi langkah awal untuk membuat kalian bahagia dan bangga. Terima kasih Ayah, Ibu dan Adik tersayang.

Terima kasih kepada dosen pembimbing, Ibu apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm dan Ibu Siti Mahyuni, S.Si., M.Sc atas bimbingannya, arahan, saran, nasihat, semangat, dan doa sehingga karya sederhana ini telah selesai dengan indah. Terima kasih untuk Ibu saya di kampus.

Terima kasih kepada Radit, Dani dan Jepang (GUNDALA) karena selalu memberikan semangat, motivasi, doa, dan dukungan di setiap langkah saya lakukan selama ini. Semoga apa yang kita buat sekecil apapun akan menjadi hasil yang baik yang kita inginkan.

Terima kasih kepada Cecil, Yulia, Rizmul, Dika, Rahtia, Serli atas dukungan, doa serta motivasi, hiburan, dan kerjasamanya selama penelitian, sehingga saya bisa menyelesaikan karya sederhana ini tepat pada waktunya.

Terima kasih kepada Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFAR) atas ilmu yang bermanfaat, dukungan, dan didikan mental sehingga saya bisa sekuat ini dalam menyelesaikan karya sederhana ini.

Sebagian besar karya sederhana ini saya dedikasikan kepada orang-orang yang selalu menanyakan kelulusan saya ucapkan terimakasih karena telah membuat saya termotivasi. Teman-teman yang sedang berjuang meraih gelar dan menyelesaikan skripsi ketika membaca halaman persembahan ini semangat, saya paham ini berat tapi yakinlah ini akan menjadi cerita indah dikemudian hari, harus tetap menjaga kesehatan dan jangan lupa untuk berusaha, karena skripsi tidak akan selesai jika kamu hanya rebahan dan mengeluh.

*Last but not least also, A big thank you to myself for being strong and able to complete this simple work, even though there were so many obstacles and challenges, I was still excited and strong even though it was not easy..*

Akhir kata penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu pengetahuan.

**“ Banyak orang yang takut gagal, sehingga mereka akhirnya tidak bertindak. Padahal tidak bertindak merupakan suatu kegagalan yang jelas telah terjadi”**

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



**Yanuar Rizaldy**, lahir di Jakarta pada tanggal 09 Januari 1999. Penulis putra pertama dari dua bersaudara yang terlahir dari pasangan Bapak **Jefrizal** dan Ibu **Sri Rejeki**. Penulis pertama kali menempuh pendidikan formalnya di Sekolah Dasar Negeri RRI Cisalak dan lulus pada tahun 2011, dilanjut dengan pendidikan tingkat menengah pertama di Sekolah Menengah Pertama Negeri 7 Depok dan lulus pada tahun 2014, kemudian dilanjutkan dengan pendidikan di Sekolah Menengah Kejuruan Kesehatan Annisa lulus pada tahun 2017. Semenjak tahun 2020 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Kabupaten Bogor. Selama perkuliahan, penulis aktif mengikuti organisasi dan kepanitiaan program kerja sehingga menjadi bagian penting dari Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFAR) 2022-2023 yaitu sebagai ketua bidang 2 Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM).

Berkat petunjuk dan pertolongan Allah SWT, usaha dan disertai doa dari kedua orang tua dalam menjalani aktivitas akademik diperguruan Tinggi Universitas Pakuan Bogor, Alhamdulillah Penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan skripsi yang berjudul “**Aktivitas Enzimatis Bromelain Pada Bonggol Dan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) Dengan Varietas Nanas Madu Dan Nanas Cayenne Terhadap Substrat Kasein**”.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa taala yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Aktivitas enzimatis bromelain pada bonggol dan daging buah nanas (*Ananas comosus* L.) dengan varietas nanas madu dan nanas Cayenne terhadap substrat kasein**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi Pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.

Skripsi ini disusun dengan bantuan berbagai pihak, sehingga didapatkan hasil yang maksimal dan lancar pengerjaannya, untuk itu tidak lupa penulis sampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membimbing, menyemangati serta mendoakan saya dalam menyelesaikan skripsi ini, terutama kepada :

1. Ibu apt. Dra. Ike Yulia W., M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Siti Mahyuni, S.Si., M. Sc selaku Dosen Pembimbing Pendamping.
2. Dekan dan Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan
3. Seluruh staff dosen dan karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan;
4. Ayahanda, Ibunda dan Adik tercinta.
5. Teman – teman Himpunan mahasiswa farmasi dan farmasi angkatan 2020.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap karya ini dapat memberi manfaat dan dapat dijadikan referensi bagi pihak yang membutuhkan demi pengembangan ke arah yang lebih baik.

Bogor, Oktober 2024

Penulis

## RINGKASAN

**Yanuar Rizaldy. 066120016. 2024. Aktivitas Enzimatis Bromelain Pada Bonggol Dan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) Dengan Varietas Nanas Madu Dan Nanas Cayenne Terhadap Substrat Kasein. Dibimbing Oleh: Ike Yulia Wiendarlina Dan Siti Mahyuni.**

---

Buah nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan salah satu jenis buah tropis yang terdapat di Indonesia dan mempunyai penyebaran yang merata, memiliki nilai nilai produktivitas dan volume ekspor yang tinggi. Enzim bromelain termasuk dalam golongan enzim protease ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida rantai pendek dan asam amino. Enzim bromelain mempunyai kegunaan lain yaitu untuk menyembuhkan antiinflamasi, artritis, sembelit, infeksi saluran pernafasan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perbedaan kadar enzim bromelain serta menentukan perbandingan aktivitas enzim protease pada bonggol dan daging buah nanas (*Ananas comosus* L.) dengan 2 varietas nanas yaitu madu dan Cayenne. Metode yang digunakan untuk mengetahui nilai absorbansi enzim bromelain dan juga uji aktivitas protease yaitu Spektrofotometri UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil rata-rata kadar enzim bromelain pada bonggol dan daging buah nanas madu masing-masing yaitu 1,0331  $\mu\text{mol/L}$  dan 1,2156  $\mu\text{mol/L}$ , serta bonggol dan daging buah nanas Cayenne yaitu 1,2817  $\mu\text{mol/L}$  dan 1,082  $\mu\text{mol/L}$ . Nilai rata-rata aktivitas enzim protease pada bonggol dan daging buah nanas madu masing-masing yaitu 0,3744 U/mL dan 0,4466 U/mL, serta bonggol dan daging buah nanas Cayenne yaitu 0,4704 U/mL dan 0,3967 U/mL. Daging nanas madu yang memiliki aktivitas protease paling tinggi dibandingkan sampel lain.

**Kata Kunci : Bonggol nanas madu dan Cayenne, Daging nanas madu dan Cayenne, Enzim Bromelain, Aktivitas Protease, Spektrofotometri UV-Vis**

## SUMMARY

**Yanuar Rizaldy. 066120016. 2024. Enzymatic Activity of Bromelain in Pineapple (*Ananas comosus* L.) Hump and Flesh with Honey Pineapple and Cayenne Pineapple Varieties against Casein Substrate  
Supervised by: Ike Yulia Wiendarlina and Siti Mahyuni.**

---

Pineapple fruit (*Ananas comosus* L.) is one type of tropical fruit found in Indonesia and has an even distribution, has a high value of productivity and export volume. Bromelain enzyme belongs to a class of extracellular protease enzymes that can hydrolyze proteins into simpler compounds such as short chain peptides and amino acids. Bromelain enzymes have other uses, namely to cure anti-inflammatory, arthritis, constipation, and respiratory infections. This study aims to determine the difference in bromelain enzyme levels and determine the comparison of protease enzyme activity in pineapple (*Ananas comosus* L.) hump and flesh with 2 pineapple varieties, namely honey and Cayenne. The method used to determine the absorbance value of bromelain enzyme and also the test of protease activity is UV-Vis Spectrophotometry.

The results showed that the average results of bromelain enzyme levels in honey pineapple hump and flesh were 1.0331  $\mu\text{mol/L}$  and 1.2156  $\mu\text{mol/L}$ , respectively, and Cayenne pineapple hump and flesh were 1.2817  $\mu\text{mol/L}$  and 1.082  $\mu\text{mol/L}$ . The average value of protease enzyme activity in honey pineapple hump and flesh is 0.3744 U/mL and 0.4466 U/mL, respectively, and Cayenne pineapple hump and flesh is 0.4704 U/mL and 0.3967 U/mL. Honey pineapple flesh which has the highest protease activity compared to other samples.

**Keywords: Honey and Cayenne pineapple hump, Honey and Cayenne pineapple flesh, Bromelain enzyme, Protease activity, UV-Vis spectrophotometry**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	<b>ii</b>
<b>SURAT PERLIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SURAT KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
2.3 Hipotesis .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Buah Nanas ( <i>Ananas comosus</i> L.).....	4
2.1.1 Morfologi Tanaman .....	4
2.1.2 Kandungan Buah Nanas .....	5
2.1.3 Manfaat Buah Nanas.....	5
2.2 Enzim.....	6
2.2.1 Isolasi Enzim dan Pemurnian Enzim .....	7
2.2.2 Cara Kerja Enzim .....	7
2.2.3 Faktor Aktivitas Enzim .....	8
2.3 Enzim Bromelain pada Tanaman Nanas.....	11
2.4 Substrat Kasein .....	12

2.5	Spektrofotometer UV-VIS .....	13
2.6	Sentrifugasi .....	14
<b>BAB III</b>	<b>BAHAN DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
3.2	Alat dan Bahan Penelitian .....	15
3.2.1	Alat .....	15
3.2.2	Bahan .....	15
3.3	Pembuatan Dapar Fosfat.....	15
3.4	Pembuatan Ekstrak Kasar.....	16
3.4.1	Pembuatan Ekstrak Kasar Bonggol Buah Nanas.....	16
3.4.2	Pembuatan Ekstrak Kasar Daging Buah Nanas.....	16
3.5	Uji Aktivitas Enzim Protease.....	16
3.5.1	Pembuatan Larutan Stok Tirosin 1,10 mM.....	16
3.5.2	Pembuatan Kurva Standar Tirosin .....	16
3.6	Penentuan Aktivitas Ekstrak Protease Kasar .....	17
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>21</b>
4.1	Determinasi Tanaman .....	21
4.2	Hasil Ekstrak Kasar Bonggol Dan Daging Buah Nanas .....	21
4.3	Hasil Penetapan Kadar Tirosin .....	22
4.3.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	22
4.3.2	Pembuatan Kurva Standar Tirosin .....	23
4.4	Hasil Uji Aktivitas Enzim Protease .....	24
4.5	Analisis Data .....	27
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>24</b>
5.1	Kesimpulan.....	24
5.2	Saran .....	24
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>29</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>33</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 1.</b> Buah Nanas Cayenne (A) dan Nanas Madu (B) .....	5
<b>Gambar 2.</b> Pengaruh suhu dengan aktivitas enzim.....	9
<b>Gambar 3.</b> Pengaruh pH lingkungan pada aktivitas enzim .....	9
<b>Gambar 4.</b> Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim.....	10
<b>Gambar 5.</b> Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi substrat.....	11
<b>Gambar 6.</b> Instrumen Spektrofotometer UV-VIS .....	13
<b>Gambar 7.</b> Daging Buah Nanas Madu (A) Bonggol Nanas Madu (B) Daging Buah Nanas Cayenne (C) Bonggol Nanas Cayenne .....	22
<b>Gambar 8.</b> Panjang Gelombang Maksimum.....	22
<b>Gambar 9.</b> Kurva Standar Tirosin.....	23

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 1.</b> Tahap Dalam Pembuatan Kurva Standar Tirosin.....	17
<b>Tabel 2.</b> Tahap Penentuan Aktivitas Protease .....	19
<b>Tabel 3.</b> Hasil Absorbansi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	24
<b>Tabel 4.</b> Hasil Uji Aktivitas Protease (U/mL).....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
<b>Lampiran 1.</b> Rancangan Penelitian .....	34
<b>Lampiran 2.</b> Determinasi Tanaman .....	35
<b>Lampiran 3.</b> Certificate Of Analysis .....	36
<b>Lampiran 4.</b> Perhitungan Bahan .....	38
<b>Lampiran 5.</b> Perhitungan Aktivitas Protease .....	40
<b>Lampiran 6.</b> Hasil Uji Statistik .....	46
<b>Lampiran 7.</b> Dokumentasi Penelitian .....	47



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Tanaman nanas mempunyai kontribusi sebesar 8% dari produksi buah segar dunia, dan Indonesia merupakan negara penghasil nanas terbesar ketiga setelah Thailand dan Philipina, sehingga tanaman nanas mempunyai potensi besar dalam meningkatkan perekonomian Indonesia apabila pemanfaatan tanaman tersebut dilakukan secara maksimal. Tanaman ini mengandung enzim proteolitik yang memiliki efektifitas serupa dengan papain dalam mendegradasi kolagen yaitu enzim bromelain (Hadiati, dkk, 2008). Menurut Rukmana (2007), Nanas atau “*Pineapple*” bukan tanaman asli Indonesia penyebaran nanas di Indonesia pada mulanya hanya sebagai tanaman pengisi di lahan pekarangan, lambat laun meluas dikebunkan di lahan kering (tegalan) di seluruh wilayah nusantara. Buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) merupakan salah satu jenis buah tropis yang terdapat di Indonesia dan mempunyai penyebaran yang merata, memiliki nilai nilai produktivitas dan volume ekspor yang tinggi (Harningtyas, 2016).

Enzim merupakan satu atau beberapa gugus polipeptida (protein) yang berperan sebagai katalis biologi (bio-katalisator) yang mampu mempercepat terjadinya proses reaksi tanpa harus bereaksi dalam suatu reaksi kimia (Wiyati & Tjitraresmi, 2018). Enzim protease adalah salah satu jenis enzim yang berperan dalam hidrolisis protein dan sumber enzim protease adalah nanas. Limbah dari nanas tersebut mengandung protein bromelain yang memiliki efek farmakologi (Ketnawa *et al.*, 2012). Bromelain atau *sistein proteolytic enzymes* adalah protein yang ditemukan dalam tanaman nanas dari keluarga *Bromeliaceae* yang termasuk dalam kelompok enzim protease. Bromelain merupakan salah satu jenis enzim protease sulfhidril yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil (Bala *et al.*, 2012).

Enzim bromelain termasuk dalam golongan enzim protease ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana

seperti peptida rantai pendek dan asam amino. (Salahudin, 2011). Kandungan enzim bromelain tertinggi terdapat pada daging dan bonggol buah nanas yang telah masak yang memiliki aroma manis, kulit hijau kekuningan, daun berwarna hijau segar, mata nanas berkembang dan tidak keras (Supartono, 2004 dan Rahmat, 2016). Manfaat bromelain pada buah nanas yang telah banyak digunakan oleh masyarakat adalah sebagai bahan pengempuk daging (Anam, 2003).

Bromelain banyak digunakan oleh industri pangan contohnya diaplikasikan pada industri roti untuk menghasilkan adonan yang lebih mengembang dan produksi tepung yang tidak beracun (hipoalergenik). (Kong *et al.* 2007; Watanabe *et al.*, 2000), agen pelunak dalam proses hidrolisis miofibril pada daging (Hage *et al.*, 2013), agen anti-pencoklatan untuk menghambat pencoklatan pada buah dan oksidasi fenol (Chaisakdanungull *et al.*, 2007), dalam pembuatan minuman beralkohol, bromelain digunakan untuk mengatur kestabilan bir dan mengurangi pembentukan busa (Benucci *et al.*, 2011), dan produksi hidrolisat protein dari daging ikan (Elavarasan *et al.*, 2014). Bromelain merupakan unsur pokok dari nanas yang penting dan berguna dalam bidang farmasi. Fungsi bromelain mirip dengan papain dan fisin, sebagai pemecah protein.

Menurut penelitian Wuryanti (2004) enzim bromelain kasar hasil isolasi dari bonggol nanas mempunyai unit aktivitas 5,373 U/mL, kadar protein 10,299 mg/mL, aktivitas spesifik 0,521 U/mg. Enzim bromelain selain memiliki kemampuan proteolitik juga memiliki banyak khasiat medis antara lain dapat menghilangkan nyeri, mengatasi radang, mempercepat penyembuhan luka dan memiliki sifat sebagai antibakteri (Cooreman dkk, 1976). Enzim bromelain mempunyai kegunaan lain yaitu untuk menyembuhkan antiinflamasi, artritis, sembelit, infeksi saluran pernafasan, luka atletik (pada kaki), angina, dan trauma penghambatan agregasi platelet, sinusitis, trauma bedah tromboflebitis, bronchitis (Bangun, 2005).

Protein kasein memiliki daerah hidrofobik dan hidrofilik yang bervariasi. Kasein relatif tidak sensitif terhadap panas, dibutuhkan temperatur diatas 120% untuk merusak struktur kasein hingga menjadi tidak larut dalam air dan cukup sensitif terhadap pH asam, maka itu protein kasein akan mengendap pada titik isoelektriknya. Protein kasein mempunyai masa molekul sebesar 106 hingga 109

Dalton. (Phadungath, 2004). Menurut Ahyari (2010) khususnya dalam penelitian biokimia maupun bidang penelitian lainnya yang sama. Kasein digunakan sebagai substrat standart untuk menguji aktivitas enzim protease yang banyak dilakukan di kajian biokimia, menjadi sumber nitrogen pada berbagai medium pertumbuhan bakteri. Hidrolisat kasein atau kasein yang telah diproses oleh enzim diketahui dapat mempunyai fungsi emulsifikasi, pengikatan air dan penciptaan busa dalam makanan (Crowley dkk., 2005).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang Aktivitas Enzimatis Bromelain Pada Bonggol Dan Daging Buah Nanas Dengan Varietas Nanas Madu Dan Nanas Cayenne Terhadap Substrat Kasein yang diharapkan dapat menghasilkan aktivitas enzim bromelain yang optimal pada substrat tersebut.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

1. Menentukan perbedaan kadar enzim bromelain pada bonggol dan daging buah nanas dengan 2 varietas nanas.
2. Menentukan perbandingan aktivitas protease pada bonggol dan daging buah nanas dengan 2 varietas nanas.

## **2.3 Hipotesis**

1. Terdapat salah satu kadar enzim bromelain yang lebih baik pada bonggol dan daging buah nanas pada 2 varietas nanas
2. Terdapat perbedaan aktivitas protease yang lebih baik pada bonggol dan daging buah nanas dengan 2 varietas nanas

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

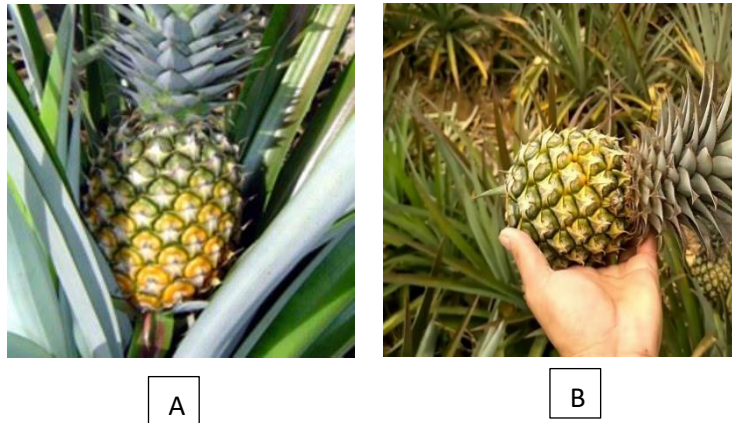
#### **2.1 Buah Nanas (*Ananas comosus* L.)**

##### **2.1.1 Morfologi Tanaman**

Nanas merupakan tanaman herba epifit, termasuk ke dalam famili *Bromeliaceae* lalu gen ananas dan species *ananas comosus*, umumnya memiliki batang pendek. Daunnya panjang dan sempit, umumnya berkumpul di dasar atau merupakan roset, serta memiliki duri. Tanaman nanas buahnya mempunyai kulit yang keras berlapis lilin berwarna hijau dan berwarna kuning jika sudah masak, buahnya berbentuk silinder berdiameter 15-20 cm, berupa buni majemuk, beratnya 1,5-5 kg, daging buah berwarna kuning muda, berair, rasanya asam sampai manis, dan baunya harum (Syamsiah, 2006). Varietas buah nanas yang banyak dibudidayakan di Kecamatan Belik adalah nanas madu. Nanas madu memiliki karakteristik antara lain adalah ukurannya yang kecil, aroma yang harum, warna kulit yang kuning oranye dan rasanya manis asam serta biasa dikonsumsi dalam bentuk buah segar. Nanas mengandung banyak gizi antara lain adalah vitamin C, vitamin A dan antioksidan yang bermanfaat untuk mengurangi penuaan dini, mencegah wasir dan mengurangi serangan jantung (Khomsan, 2009).

Buah nanas madu umumnya dapat dipanen pada umur 12-18 bulan setelah tanam tergantung dari jenis bibit yang digunakan. Nanas madu termasuk ke dalam kelompok nanas Queen yang memiliki rasa manis, beraroma harum dan memiliki warna kulit kuning oranye. Buah nanas madu berukuran kecil dengan diameter 10-16 cm dan memiliki berat 300-600 gram (Rukmana, 1996). Berdasarkan habitus tanaman terutama bentuk daun dan buah, tanaman nanas dibagi menjadi empat jenis salah satunya adalah *Smooth Cayenne*. Nanas *Smooth Cayenne* merupakan varietas nanas yang paling banyak dibudidayakan untuk buah kaleng. Karakteristik yang dimiliki nanas ini sesuai dengan karakteristik industri tersebut yaitu produksinya tinggi, buahnya berukuran besar, berbentuk silindris, berwarna hijau kekuning – kuning, rasanya sedikit asam, dan tidak terdapat duri pada daunnya, sehingga lebih memudahkan pengelolaannya di lapangan. Varietas ini dapat menghasilkan

buah dengan bobot kira-kira 2,5 kg dengan warna daging buah kuning (Ashari, 1995). Varietas ini banyak dijumpai di Indonesia, Philipina, Thailand, Hawaii, Kenya, Mexico, dan Taiwan. Di Indonesia jenis nanas *Smooth Cayenne* dikenal dengan nanas Semarang, Barabai (Lombok) dan Subang (Rukmana, 1996).



**Gambar 1** Buah Nanas Cayenne (A) dan Nanas Madu (B)

Sumber : Tjitrosoepomo, (2009)

### 2.1.2 Kandungan Buah Nanas

Buah nanas segar merupakan sumber vitamin (A, B1, B2, dan C), mineral (kalium, tembaga, kalsium, fosfor, magnesium, natrium, besi, dan mangan dengan substansi kandungan gula 10%, setengahnya berupa sukrosa sisanya glukosa dan fruktosa), sukrosa (gula tebu), enzim bromelain (golongan sulfur yang mengandung enzim proteolitik), asam nikotik, asam organik, karoten, dan serat (Dalimartha & Adrian, 2011).

### 2.1.3 Manfaat Buah Nanas

Buah nanas yang sudah matang sifatnya dingin, sehingga mempunyai beberapa khasiat bagi kesehatan tubuh manusia, antara lain: Menghilangkan rasa haus, mencerna daging (protein) di lambung, menyehatkan limpa, mengurangi produksi asam lambung berlebih, diuretik (peluruh air seni), anti-inflamasi, mengatasi beri-beri, menurunkan demam, mengobati sesak napas, mengobati memar, meningkatkan penyerapan antibiotik, membersihkan jaringan kulit mati (skin debriment), menurunkan berat badan, meringankan nyeri (rheumatoid, bursitis, tendinitis, arthritis), mengobati tekanan darah rendah, menghambat sel kanker (Dalimartha & Adrian, 2011).

Beberapa jenis penyakit yang harus menghindari konsumsi buah nanas yang berlebihan, yaitu penderita kencing manis (diabetes) dan asam urat tinggi. Pada penderita diabetes atau kencing manis tidak dianjurkan mengkonsumsi buah nanas yang sudah matang berlebih, karena buah nanas yang sudah matang mengandung kadar gula yang cukup tinggi sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa darah, sedangkan penderita asam urat tinggi tidak dianjurkan mengkonsumsi buah nanas yang terlalu matang, karena buah nanas yang terlalu matang mengandung kadar alkohol yang cukup tinggi, sehingga dapat menghambat keluarnya asam urat melalui urin. Asam urat yang keluar melalui urin ketika adanya hambatan dapat menimbulkan kekambuhan reumatik gout dan meningkatkan kadar asam urat dalam darah (Dalimartha & Adrian, 2011). Buah nanas yang masih muda rasanya asam mempunyai beberapa manfaat, yaitu: antelmintik (peluruh cacing usus), memacu enzim pencernaan, peluruh haid (emenagog), pencahar, abotivum (menghentikan kehamilan), diuretik, peluruh dahak (mukolitik) (Dalimartha & Adrian, 2011).

Buah nanas tidak bisa dikonsumsi semua orang, karena pada sebagian orang dapat timbul alergi setelah mengkonsumsi buah nanas. Beberapa orang yang mengkonsumsi buah nanas ada yang merasakan keluhan di bagian lambung (mual dan muntah), diare, sesak napas, dan tenggorokan bengkak, sehingga sulit bernapas, denyut jantung cepat, kulit menjadi kemerahan, gangguan haid, kontraksi rahim, dan iritasi pada selaput lendir (Dalimartha & Adrian, 2011).

## **2.2 Enzim**

Enzim merupakan salah satu golongan protein yang banyak terdapat dalam sel makhluk hidup yang berfungsi sebagai katalisator reaksi kimia dalam sistem hidup, saat ini terdapat sekitar lebih dari 2000 jenis enzim yang teridentifikasi, pada sintesis enzim terjadi dalam sel dan sebagian besar enzim diperoleh dari ekstraksi dari jaringan tanpa merusak fungsinya. Reaksi seluler dalam suatu sel dengan tanpa adanya enzim dapat menyebabkan reaksi berjalan dengan sangat lambat (Maryam, 2009).

Secara katalitik enzim dapat menjalankan suatu reaksi hidrolisis, adisi, oksidasi-reduksi, transfer radikal, isomerisasi dan juga pemutusan rantai karbon (Sumardjo, 2008). Reaksi katalisis dengan jumlah enzim dan substrat yang sangat

banyak tidak akan terjadi kesalahan, karena enzim bersifat 100% spesifik dalam mengkatalis reaksi. Enzim dapat mempercepat reaksi kimia tanpa adanya pembentukan produk samping, enzim memiliki tenaga katalitik yang jauh lebih besar dari katalisator sintetik dan aktivitas katalitiknya tergantung pada integritas struktur sebagai protein. Reaksi hidrolisis protein, enzim proteolitik atau protease berperan sebagai katalis dimana terjadi pemecahan atau pemutusan ikatan rantai peptida (peptidase). Peptidase tersebut terbagi menjadi dua macam, yaitu endopeptidase dan eksopeptidase (Maryam, 2009).

### **2.2.1 Isolasi Enzim dan Pemurnian Enzim**

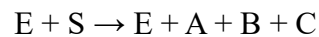
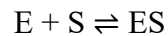
Penelitian pertama mengenai isolasi enzim yang diambil dari ekstrak tumbuhan dan hewan secara intensif dilakukan pada tahun 1920 di Jerman oleh Willstater bersama teman-temannya, dengan menggunakan tanah liat dan aluminium hidroksida sebagai bahan untuk mengadsorpsi enzim. Adsorben yang baik, dapat mengadsorpsi dengan selektif sehingga enzim dapat dibebaskan dari campuran. Adsorben dicuci dengan pelarut yang sesuai, lalu enzim dilarutkan kembali, dan dimurnikan. Pada tahun 1926 Sumner membutuhkan 20 waktu lebih dari sepuluh tahun untuk dapat berhasil mengisolasi dan mengkristalisasi enzim urease yang kenyataannya enzim mempunyai struktur protein (Sumardjo, 2008).

Enzim dapat diisolasi secara ekstraseluler dan intraseluler, enzim yang diisolasi secara ekstraseluler disebut juga eksoenzim yang merupakan enzim yang bekerja di luar sel. Enzim yang diisolasi secara intraseluler disebut juga endoenzim yang merupakan enzim yang bekerja di dalam sel. Isolasi enzim ekstraseluler lebih mudah, karena tidak memerlukan pemecahan sel dan enzim dari sel mudah dipisahkan dari pengotor, serta tidak mudah bercampur dengan bahan sel lainnya (Yuwono, 2008).

### **2.2.2 Cara Kerja Enzim**

Enzim adalah protein yang bermolekul besar, dan substrat adalah senyawa yang dipengaruhi enzim yang bermolekul relatif kecil, sisi aktif pada enzim sebagai tempat menempelnya substrat dan terjadinya reaksi kimia (Sumardjo, 2008). Prinsip kerja enzim, yaitu dimulai dari enzim (E) bergabung dengan substrat (S)

membentuk kompleks enzim substrat (ES), kemudian kompleks enzim substrat terurai menjadi produk yang tidak terikat oleh enzim (A+B+C) dan enzim bebas (E). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



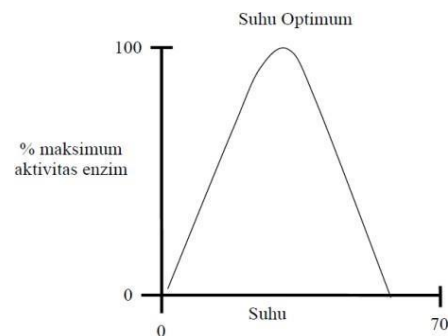
### 2.2.3 Faktor Aktivitas Enzim

Terjadinya perubahan suhu dan pH sangat mempengaruhi kerja enzim, dimana konsentrasi enzim dan kofaktor, konsentrasi substrat dan inhibitor juga mempengaruhi kecepatan reaksi enzim. Faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim sebagai berikut :

#### 2.2.3.1 Suhu

Enzim merupakan senyawa protein yang sangat peka terhadap perubahan suhu, dimana pada kondisi suhu yang tinggi dapat meningkatkan laju reaksi enzim baik yang tidak dikatalisis maupun yang dikatalisis oleh enzim. Peningkatan laju reaksi enzim diikuti dengan perubahan struktur enzim dan hilangnya aktivitas katalitik dari enzim. Enzim mampu mempercepat reaksi kimia secara optimum pada kondisi suhu optimum pula dan pada kondisi suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada enzim, yaitu terjadinya denaturasi enzim. Denaturasi juga dapat terjadi pada suhu rendah (bukan beku atau *chilling*) yang disebut denaturasi dingin (contohnya: laktosa dehidrogenase (LDH), katalase dan *glutamate dehidrogenase*). Pada saat enzim dalam kondisi suhu rendah secara tiba-tiba dapat menyebabkan hilangnya aktivitas enzim yang diekstraksi begitu juga struktur enzim mengalami perubahan. Enzim pada suhu 0°C dalam 24 jam keadaan non-aktif dan aktif kembali pada suhu normal sesuai pada Gambar 2. (Rodwell, 1987).



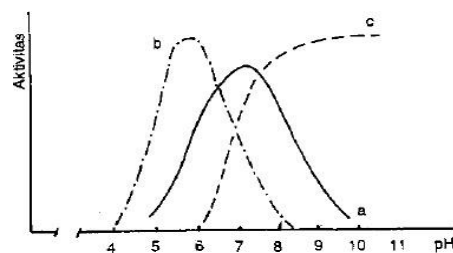


**Gambar 2.** Pengaruh suhu dengan aktivitas enzim

Sumber : Rodwell (1987)

### 2.2.3.2 Eksponen Hidrogen (pH)

Enzim mempunyai konstanta ionisasi pada gugus asam maupun basa, terutama pada gugus terminal hidroksil dan terminal amino, dimana terjadinya perubahan kereaktifan enzim karena adanya perubahan pH lingkungan. pH mempengaruhi struktur protein pada sisi aktif, sehingga enzim dapat berikatan. Perubahan pH lingkungan pada enzim dapat terjadi karena perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks substrat enzim, daya tingkatan, dan perubahan laju reaksi. Aktivitas suatu enzim dapat bekerja secara optimum pada pH optimum, dimana pada kondisi tersebut enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Enzim dapat mengalami denaturasi protein dalam kondisi pH rendah maupun tinggi. Setiap enzim mempunyai daya pH optimum yang berbeda dan bahkan satu jenis enzim pun dapat mempunyai daya pH optimum yang berbeda, karena pH optimum bergantung pada sumber enzim juga, contoh pada enzim pepsinogen yang bekerja secara optimum pada pH sangat asam (rendah), enzim amylase optimum pada pH netral atau sedikit basa dan enzim maltase optimum pada pH basa (tinggi) (Winarno, 1989).



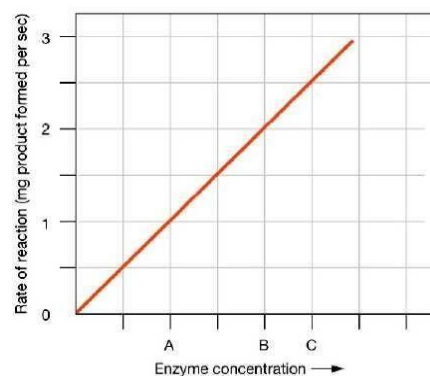
**Gambar 3.** Pengaruh pH lingkungan pada aktivitas enzim

Sumber : Winarno, (1989)

Berdasarkan Gambar 3. Di atas menunjukkan bahwa: (a) kurva hubungan aktivitas enzim dengan pH optimum pada umumnya yang berbentuk seperti lonceng, (b) pH optimum tergantung pada enzim, (c) pada beberapa enzim memiliki aktivitas yang tidak tergantung pada pH.

### 2.2.3.3 Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim yang lebih tinggi dari konsentrasi substratnya dapat mempercepat laju reaksi pada pembentukan produk.



**Gambar 4.** Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim

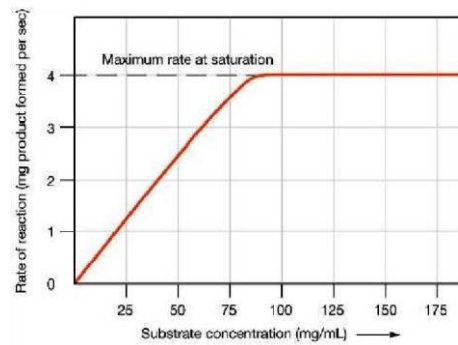
Sumber : Winarno, (1989)

Pada Gambar 4. menunjukkan bahwa laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, dimana semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin tinggi pula laju reaksinya dengan batas konsentrasi tertentu. Hasil hidrolisis substrat pada kondisi konstan saat naiknya konsentrasi enzim, maka penambahan enzim sudah tidak efektif lagi (Winarno, 1989).

### 2.2.3.4 Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat berpengaruh pada laju reaksi awal dalam kondisi konsentrasi enzim konstan, dimana konsentrasi enzim konstan pada saat konsentrasi substrat rendah. Pada Gambar 5. menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi substrat dapat meningkatkan laju reaksi sampai pada batas maksimum laju reaksi, yaitu batas maksimum laju reaksi menunjukkan bahwa enzim dalam kondisi jenuh dengan substrat, sehingga reaksi berjalan konstan. Peningkatan laju reaksi sesuai dengan penambahan konsentrasi substrat. Reaksi dalam kondisi

konstan, maka penambahan konsentrasi substrat tidak dapat meningkatkan laju reaksi lagi, karena tidak ada lagi enzim bebas (Lehninger, 1982).



**Gambar 5.** Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi substrat  
Sumber : Lehninger, (1982)

### 2.3 Enzim Bromelain pada Tanaman Nanas

Sejak tahun 1970 enzim memiliki peran penting dalam bidang kesehatan maupun industri. Enzim merupakan protein yang mampu mempercepat laju reaksi kimia pada suhu dan derajat keasaman yang sesuai dengan kondisi enzim tersebut (Masri, 2014). Enzim bromelain terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas, protein dalam nanas sekitar setengah bagiannya mengandung protease bromelain. Beberapa jenis buah yang mengandung protease, buah nanas inilah yang merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi pada buah yang sudah matang (Wuryanti, 2006).

Enzim bromelain berbentuk serbuk amorf berwarna putih bening sampai kekuning-kuningan, memiliki bau yang khas dan dapat larut sebagian dalam aseton, eter dan  $\text{CHCl}_3$ . Enzim proteolitik masuk ke dalam golongan sulfhidril, selain itu juga mengandung asam fosfat, peroksida, beberapa protease inhibitor dan organik yang dapat mengikat kalsium (Masri, 2014).

Aktivitas spesifik enzim bromelain dalam tanaman nanas tersebut optimum pada suhu  $50^\circ\text{C}$  dan pada pH 6,5-7, ketika suhu di atas  $50^\circ\text{C}$  dan pH tidak sesuai batas optimumnya maka keaktifan dari enzim bromelain tersebut akan menurun (Masri, 2014). Kemurnian atau jumlah enzim bromelain dapat diketahui dengan penentuan aktivitas spesifik dan dinyatakan dalam satuan unit aktivitas enzim per milligram protein total atau U/mg (Kusuma dkk, 2015). Enzim bromelain pada

tanaman nanas mampu mempercepat proses pelepasan lendir pada saat proses fermentasi, serta mampu memecah senyawa protein dan gel, sehingga enzim bromelain tersebut dapat mempercepat waktu proses fermentasi tempe dan menurunkan kadar kafein pada kopi (Oktadina, Argo, & Hermanto, 2013).

Buah nanas yang di konsumsi harus di ketahui efeknya bagi kesehatan tubuh maupun ketika dicampurkan dengan makanan lainnya, sehingga tidak kehilangan manfaat pada buah nanas itu sendiri maupun makanan lainnya, seperti buah nanas yang dicampur dengan makan yang mengandung gelatin, yoghurt, atau keju lunak, enzim bromelain pada buah nanas tersebut dapat menghancurkan protein dalam susu, daging, dan gelatin, sehingga makanan tersebut menjadi berair (Dalimartha & Adrian, 2011).

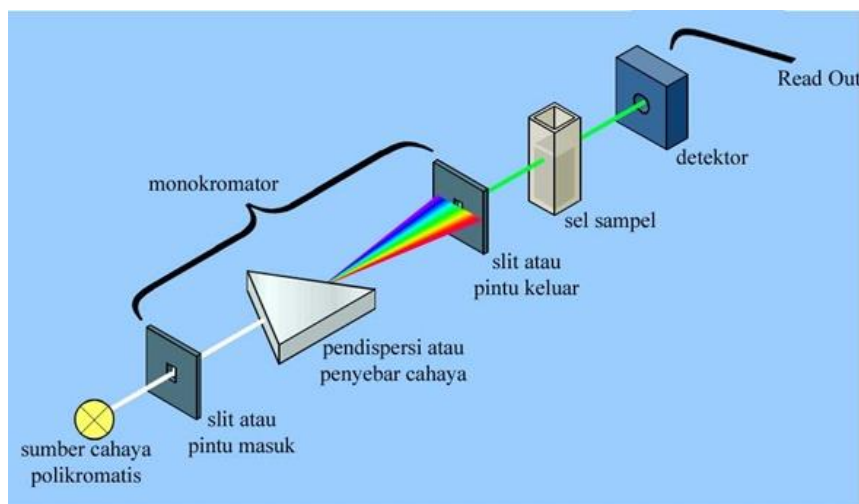
Khasiat enzim bromelain dari buah nanas bagi kesehatan tubuh manusia antara lain: menguraikan protein, antibakteri, mengurangi peradangan (antiinflamasi), menghambat penggumpalan trombosit, menghancurkan trombus yang menyumbat pembuluh darah (aktivitas fibrinolitik), melarutkan dahak pada saluran nafas seperti pneumonia dan bronkhitis, menghambat pertumbuhan sel kanker, membentuk kolagen di kulit, tulang, dan tulang rawan untuk kekuatan tulang, memperlancar buang air besar bagi penderita sembelit, memperbaiki penyakit jantung dan pembuluh darah (kardiovaskuler) (Kumaunang & Kamu, 2011).

#### **2.4 Substrat Kasein**

Sekitar 80% protein susu terdiri dari kasein, yang biasanya merupakan garam kalsium, yang merupakan fosfoprotein paling dominan. Kasein adalah senyawa amfoter yang dapat bereaksi dengan asam dan basa karena muatan positif dan negatif molekulnya. Ketika kasein mencapai titik isoelektrik, muatan positif dan negatif molekulnya sama, dan karena kasein mengalami dehidrasi, kasein dapat dengan mudah mengendap pada titik isoelektriknya. (Winarno, 2007). Kasein menunjukkan kecenderungan untuk berasosiasi dengan protein lain dan juga beberapa ligan, sesuai karakter hidrofobik dari misel dan diketahui kaya akan protein prolin (Yuksel dkk, 2010).

## 2.5 Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer UV-Vis adalah suatu metode analisis instrumental berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan suatu materi. Radiasi elektromagnetik itu sendiri adalah sinar yang datang dengan panjang gelombang UV-Vis pada suatu materi, sedangkan materi adalah suatu molekul atau senyawa kimia. Prinsip kerja dari instrumen spektrofotometer UV-Vis, yaitu suatu radiasi melewati suatu molekul dengan energi yang cukup pada daerah panjang gelombang UV-Vis, maka energi akan diserap dan terjadi transisi elektromagnetik yang memiliki energi lebih tinggi di dalam molekul dari keadaan dasar, sehingga molekul tereksitasi (Maryam, 2009).



**Gambar 6.** Instrumen Spektrofotometer UV-VIS

Sumber : Maryam,2009

Gambar 6. menjelaskan cara kerja instrumen spektrofotometer UV-Vis adalah cahaya dari lampu deuterium maupun wolfram bersifat polikromatis diteruskan melewati lensa menuju ke monokromator dan filter cahaya fotometer, kemudian mengubah cahaya poliromatis menjadi monokromatis. Cahaya pada panjang gelombang tertentu dilewatkan pada sampel, sehingga terdapat cahaya yang diserap dan dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan diterima oleh detektor, kemudian pada detektor menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel.

## 2.6 Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan suatu metode analisis instrumental yang digunakan untuk memisahkan sel atau organel subseluler dan juga untuk pemisahan molekular. Prinsip kerja dari sentrifugasi ini berdasarkan fenomena bahwa partikel yang tersuspensi dalam suatu wadah (dalam bentuk tabung atau lainnya) yang akan mengendap ke dasar wadah tersebut, karena adanya pengaruh gravitasi. Laju pengendapan dapat ditingkatkan dengan cara meningkatkan pengaruh gravisional terhadap partikel, dengan cara menempatkan tabung berisi suspensi partikel ke dalam rotor suatu mesin sentrifugasi, kemudian diputar dengan kecepatan tinggi. Kecepatan proses pengendapan pada suatu partikel atau molekul berdasarkan berat molekul dan bentuk partikel, semakin tinggi berat molekulnya maka kecepatannya semakin tinggi. Gerakan suatu partikel melalui cairan akan dipengaruhi oleh gaya gesekan, partikel yang mempunyai bentuk lebih kompak akan bergerak lebih cepat dalam larutan (Yuwono, 2008).

## **BAB III**

### **BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Juni 2024 bertempat di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, Bogor.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat –alat yang digunakan meliputi peralatan gelas (*Pyrex*®), alat sentrifugasi, pH meter (*Ohaus*), vortex, mikropipet (*Thermo Scientific*®), lemari pendingin, lemari es, aluminium foil, botol vial, neraca analitik, blender, pipet mikro, kain batis, botol semprot, spatula, pisau stainless steel, inkubator, timbangan analitik (*And*®) dan spektrofotometer UV-Vis.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan obyek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol dan daging buah nanas dari varietas nanas madu dan nanas cayenne. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi akuades, tirosin (SIBRK), kasein (SIGMA), kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,2 M, natrium hidroksida (NaOH) 0,2 M, natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 0,5 M, TCA (asam trikloroasetat) 80% (EMSURE®), dan reagen Folin-Ciocalteu.

#### **3.3 Pembuatan Dapar Fosfat**

Dapar fosfat dibuat dengan menimbang kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) sebanyak 3,4 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 125 ml dan dilarutkan dalam akuades sambil dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Diperoleh larutan kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dengan konsentrasi 0,2 M. Larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M dimasukkan dalam gelas ukur 500 ml dan dicek pH-nya dengan menggunakan alat pH meter, kemudian ditambahkan dengan NaOH 0,2 M yang dibuat dengan melarutkan 1 gram NaOH dalam 125 ml akuades sebanyak 10 ml,

kemudian ditambah dengan aquades mendekati 500 ml. Larutan ditambahkan tetes demi tetes NaOH sampai diperoleh pH 7.

### **3.4 Pembuatan Ekstrak Kasar**

#### **3.4.1 Pembuatan Ekstrak Kasar Bonggol Buah Nanas**

Isolasi ekstrak bonggol nanas dilakukan berdasarkan metode Gautam, *et al.* (2010, 67-76). Bonggol nanas yang digunakan pada penelitian ini yaitu nanas yang sudah matang, ditandai dengan warna kulitnya hijau kekuningan. Bonggol nanas dicuci dengan akuades, kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 500 gram, selanjutnya dihomogenisasi dengan menggunakan 100 ml larutan buffer fosfat (pH 7,0) dan kemudian disaring. Ekstrak kasar disentrifugasi selama 25 menit pada 3.500 rpm dan disimpan pada suhu 4°C, selanjutnya supernatan dipisahkan dari endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim bromelain.

#### **3.4.2 Pembuatan Ekstrak Kasar Daging Buah Nanas**

Daging nanas yang digunakan pada penelitian ini yaitu nanas yang sudah matang, ditandai dengan warna kulitnya hijau kekuningan, lalu dicuci dengan akuades, kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 500 gram, selanjutnya dihomogenisasi dengan menggunakan 100 ml larutan buffer fosfat (pH 7,0) dan kemudian disaring. Ekstrak kasar disentrifugasi selama 25 menit pada 3.500 rpm dan disimpan pada suhu 4°C, selanjutnya supernatan dipisahkan dari endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim bromelain.

### **3.5 Uji Aktivitas Enzim Protease**

#### **3.5.1 Pembuatan Larutan Stok Tirosin 1,10 mM**

Larutan standar tirosin 1,10 mM dibuat dengan melarutkan 10 mg tirosin ke dalam 20 mL akuades, setelah itu campuran dihangatkan hingga tirosin larut sempurna. Larutan tirosin selanjutnya dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL. Larutan diencerkan hingga tanda batas dengan menggunakan akuades.

#### **3.5.2 Pembuatan Kurva Standar Tirosin**

Kurva standar tirosin dibuat dengan menggunakan larutan stok tirosin 1,10 mM dengan variasi konsentrasi sesuai dengan Tabel 1. Larutan stok tirosin 1,10



mM dimasukkan masing-masing sebanyak 0,05; 0,1; 0,2 dan 0,4 mL ke beberapa botol vial dengan menggunakan pipet mikro, sedangkan untuk larutan blanko (botol vial a), tidak dilakukan penambahan larutan stok tirosin 1,10 mM. Akuades sebanyak 2,0; 1,95; 1,9; 1,8; dan 1,6 mL berturut-turut dimasukkan ke dalam 5 botol vial, selanjutnya sebanyak 5,0 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,5 M dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan pada masing-masing botol vial yang telah berisi larutan tirosin dan blanko. Masing-masing larutan tersebut dihomogenkan lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu salah satu larutan standar tirosin diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm - 900 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi tertinggi digunakan sebagai gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ), setelah didapatkan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ), semua larutan standar tirosin dan blanko diukur absorbansinya menggunakan spektrometer UV- Vis pada  $\lambda_{maks}$ . Nilai absorbansi yang didapatkan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi, yaitu dengan memplotkan nilai absorbansi terhadap konsentrasi tirosin. Tabel 1 menunjukkan tahap penambahan atau perlakuan dalam pembuatan kurva standar tirosin.

**Tabel 1.** Tahap dalam pembuatan kurva standar tirosin

Penambahan/perlakuan	Standar Blanko	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4
Larutan stok tirosin (mL)	0,0	0,05	0,1	0,2	0,4
Aquades (mL)	2,0	1,95	1,9	1,8	1,6
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (mL)	5	5	5	5	5
Reagen Folin-Ciocalteu (mL)	1	1	1	1	1
Inkubasi pada 37°C	30	30	30	30	30
Konsentrasi tirosin ( $\mu$ M)	0	6,875	13,75	27,5	55,0

### 3.6 Penentuan Aktivitas Ekstrak Protease Kasar

Metode penentuan aktivitas enzim diperoleh dari Anson (dalam Esmelrada, 2008) yang telah dimodifikasi. Dua buah tabung sentrifugasi disiapkan. Tabung 1

digunakan untuk penentuan aktivitas protease sampel (ekstrak protease kasar), sedangkan tabung 2 digunakan untuk larutan blanko. Sebanyak 2,5 mL larutan kasein 0,65% (b/v) di pra-inkubasi pada suhu 37°C selama 4 menit dalam tabung 1, lalu sebanyak 0,5 mL ekstrak protease kasar ditambahkan ke dalam tabung 1, lalu campuran ini divortex dan inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, pada akhir inkubasi reaksi hidrolisis dihentikan dengan menambahkan 2,5 mL larutan TCA 80%, setelah itu campuran divortex dan didiamkan selama 5 menit. Campuran selanjutnya sentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan yaitu endapan dan supernatan. Supernatan yang diperoleh dari tabung 1 ditentukan kadar tirosinnya secara kolorimetrik.

Larutan kasein 0,65% (b/v) sebanyak 2,5 mL dimasukkan ke dalam tabung 2 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit sebagai blanko, lalu 2,5 mL larutan TCA 80% ditambahkan ke dalam tabung 2 dan divortex, ditambahkan 0,5 mL ekstrak protease kasar ke dalam campuran tersebut dan didiamkan selama 5 menit. Campuran selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan supernatan yang diperoleh selanjutnya ditentukan kadar tirosinnya secara kolorimetrik. Larutan blanko ini berfungsi sebagai pengkoreksi kemungkinan adanya tirosin bebas yang bukan merupakan hasil hidrolisis protein selama 30 menit waktu inkubasi dan senyawa lain yang menyerap pada panjang gelombang berdekatan dengan  $\lambda_{maks}$ .

Penentuan kadar tirosin secara kolorimetrik dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Masing-masing sebanyak 1,0 mL supernatan yang didapatkan dari tabung 1 dan tabung 2 ditempatkan dalam tabung baru yang berbeda, setelah itu, ke dalam masing-masing tabung ditambahkan 2,5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5 M lalu divortex serta didiamkan selama 10 menit, selanjutnya campuran ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu lalu dibiarkan selama 30 menit, dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda_{maks}$ . Hasil data absorbansi diplotkan pada kurva standar tirosin untuk mengetahui konsentrasi tirosin hasil hidrolisis yang terdapat pada tabung 1 dan tabung 2. Konsentrasi tirosin dalam sampel yang telah didapatkan selanjutnya digunakan

untuk menentukan kadar tirosin ( $\mu\text{mol}$ ). Tabel 2 menunjukkan tahap penambahan/perlakuan dalam penentuan aktivitas protease.

**Tabel 2** Tahap penentuan aktivitas protease

Penambahan/perlakuan	Tabung 2 (Blanko)	Tabung 1 (Sampel)
Kasein 0,65% (b/v) (telah dipra-inkubasi)	2,5 mL	2,5 mL
Akuades	0,5 mL	-
Ekstrak protease kasar	-	0,5 mL
Diinkubasi pada suhu 37°C	30 menit	30 menit
TCA 80%	2,5 mL <sup>a</sup>	2,5 mL <sup>b</sup>
Didiamkan	5 menit	5 menit
Disentrifugasi 7000 rpm	10 menit	10 menit
Supernatan yang akan ditentukan kadar tirosinnya	1,0 mL	1,0 mL
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,5 M	2,5 mL	2,5 mL
Reagen Folin-Ciocalteu	0,5 mL	0,5 mL

Keterangan : a menunjukkan larutan tersebut dimasukkan sebelum penambahan ekstrak protease kasar, sedangkan b menunjukkan larutan tersebut dimasukkan sesudah penambahan ekstrak protease kasar

Aktivitas protease (U/mL) dinyatakan dalam unit aktivitas, yaitu satu unit (U) dinyatakan sebagai jumlah enzim yang dapat menghidrolisis substrat (kasein) dan menghasilkan warna setara dengan 1  $\mu\text{mol}$  produk tirosin (181 g/mol) setiap menit waktu inkubasi pada kondisi percobaan tersebut.

$$1U (U) = U = \frac{t_i}{t}$$

Keterangan :

$t_i$  = Tirosin hasil hidrolisis ( $\mu\text{mol}$ )

$t$  = Waktu (30 Menit)

Aktivitas protease (U/mL) ditentukan dengan menggunakan rumus yaitu:

$$\text{Aktivitas Protease (U/mL)} = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3}$$

Keterangan :

$V_1$  = total volume yang digunakan dalam uji aktivitas protease sampel (meliputi volume kasein 1%, ekstrak protease kasar dan TCA) (5,5 mL)

$V_2$  = volume sampel ekstrak protease kasar yang digunakan (0,5 mL)

$V_3$  = volume supernatan yang digunakan dalam penentuan kadar tirosin secara kolorimetrik (1 mL)

### **3.7 Analisis Data**

Data yang diperoleh dalam penelitian diolah dengan analisis statistik. Perhitungan statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS untuk perangkat windows. Untuk perbandingan nilai rata-rata,  $5 \times 3$  ulangan, oneway analisis varian (ANOVA) diaplikasikan dan perbedaan dianggap signifikan pada  $P < 0,05$ .

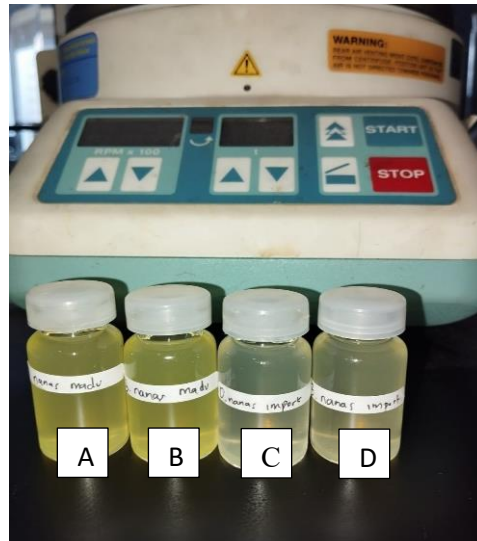
## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1 Determinasi Tanaman**

Buah nanas yang digunakan dalam penelitian ini telah di determinasi di Pusat Penelitian Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Jl. Raya Bogor No. 970, Nanggewer Mekar, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor Jawa Barat, Indonesia. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan ialah Buah Nanas (*Ananas comosus L.*) dari suku *Bromeliaceae*. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang akan digunakan sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan baku tanaman. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

### **4.2 Hasil Ekstrak Kasar Bonggol Dan Daging Buah Nanas**

Pada penelitian ini ekstrak enzim diisolasi dari bagian daging dan bonggol buahnya. Nanas yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanas yang telah masak. Menurut Hartadi (1980) diacu dalam Herdyastuti (2006) distribusi bromelain pada nanas tidak merata dan tergantung pada umur tanaman. Kandungan bromelain pada jaringan yang umurnya belum tua terutama yang bergetah sangat sedikit bahkan kadang-kadang tidak ada sama sekali. Sampel daging dan bonggol buah nanas digunakan sebanyak 500 gram selanjutnya dihomogenisasi menggunakan blender dengan ditambahkan 100 ml buffer fosfat kemudian disaring dengan kertas saring kemudian ekstrak kasar di sentrifugasi selama 25 menit pada rpm 3.500 dan didapatkan hasil supernatan masing-masing dari bonggol dan daging sebanyak 10 mL. Ekstrak protease kasar disimpan pada lemari es pada suhu 4°C untuk meminimalkan denaturasi enzim. Hasil ekstrak protease kasar bonggol dan daging nanas ditunjukkan pada Gambar 7 di bawah ini.

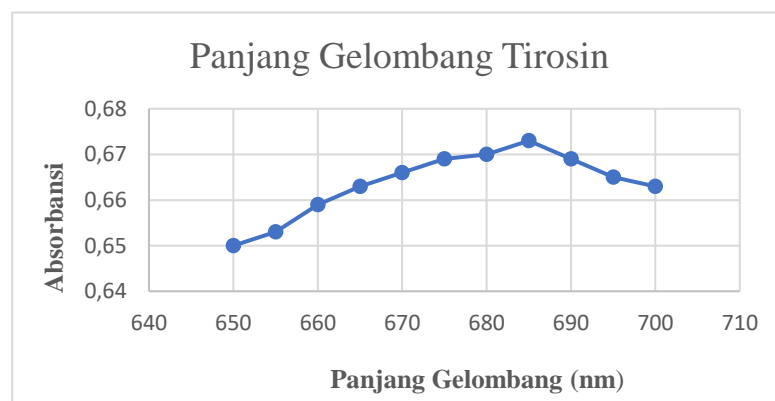


**Gambar 7.** Daging buah nanas madu (A) Bonggol nanas madu (B) Daging buah nanas Cayenne (C) Bonggol nanas Cayenne (D)

### 4.3 Hasil Penetapan Kadar Tirosin

#### 4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar tirosin dan pembuatan kurva standar tirosin sebelum melakukan uji aktivitas ekstrak protease kasar. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan standar tirosin  $27,5 \mu\text{M}$  dari panjang gelombang 500 nm hingga 900 nm, panjang gelombang yang memberikan absorbansi tertinggi digunakan sebagai panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) tirosin yang didapatkan yaitu 685 nm dengan absorbansi 0,673. Spektrofotometri UV-Vis pada penentuan panjang gelombang maksimum ditunjukkan pada Gambar 8.

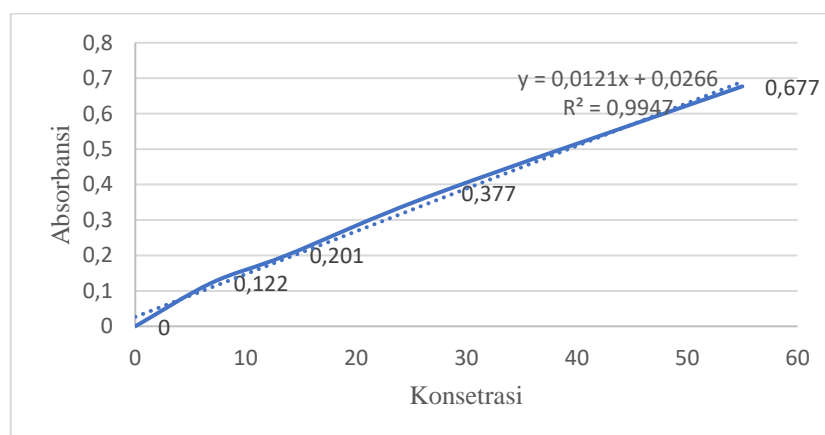


**Gambar 8.** Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum yang digunakan pada saat analisis untuk mendapatkan serapan yang maksimum digunakan blanko untuk kalibrasi sebagai larutan pembanding dalam analisis, larutan yang akan digunakan untuk membuat titik nol konsentrasi dari grafik kalibrasi. Pada penelitian kali ini didapat panjang gelombang maksimum yang digunakan adalah 685 nm.

#### 4.3.2 Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Pembuatan kurva standar tirosin, konsentrasi standar divariasikan menjadi 6,875; 13,75; 27,5 dan 55,0  $\mu\text{M}$  dengan menggunakan panjang gelombang 680nm, setiap kenaikan konsentrasi maka nilai absorbansi semakin tinggi. Persamaan regresi linier kurva standar tirosin adalah  $0,0121x + 0,0266$ , kurva deret standar tirosin dikatakan linear bila nilai R (Koefisien korelasi) nilainya mendekati 1. Penentuan kurva kalibrasi ini untuk menentukan apakah sampel tersebut mengandung senyawa asam amino dengan dibandingkan dengan standar tirosin yang diuji yaitu tirosin. Dikatakan memiliki kandungan asam amino bila absorbansi yang dihasilkan dari sampel masuk rentang deret standar tirosin. Hasil penelitian kurva deret standar tirosin didapat nilai  $R^2$  yaitu 0,9947 hasil deret standar bisa dilihat dari hasil grafik, nilai  $R^2$  yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linear sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat. Kurva standar tirosin dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Kurva Standar Tirosin

#### 4.4 Hasil Uji Aktivitas Enzim Protease

Uji aktivitas protease ini bertujuan untuk menentukan aktivitas protease efektivitas enzim protease dalam menghidrolisis protein yaitu tirosin dan menghasilkan asam amino. Dalam uji aktivitas protease, jumlah asam amino (tirosin) hasil hidrolisis digunakan untuk menentukan aktivitas protease ekstrak bonggol dan daging buah nanas. Semakin besar asam amino dihasilkan dari reaksi pemecahan protein maka protease tersebut memiliki aktivitas yang tinggi atau semakin banyak pula molekul protein yang dipecah menjadi monomer penyusunnya (Yusriah dan Kuswyasari, 2013). Tirosin yang terbentuk dipisahkan dari protein enzim dan sisa substrat dengan melakukan sentrifugasi, setelah itu supernatan yang dihasilkan dapat ditentukan konsentrasinya ( $\mu\text{M}$ ) tirosin secara kolorimetrik pada  $\lambda$  maks (685 nm) dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dalam kondisi basa. Nilai absorbansi pada bonggol nanas madu, daging buah nanas madu, bonggol nanas cayenne dan daging buah nanas cayenne dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Absorbansi Menggunakan Spektrofotometri UV

Sampel	Pengulangan	Absorbansi	Rata-rata Abs ( $\bar{x}$ ) $\pm$ SD
Bonggol nanas madu	Simplo	0,607	0,626 $\pm$ 0,0207
	Duplo	0,623	
	Triplo	0,648	
Daging buah nanas madu	Simplo	0,702	0,7153 $\pm$ 0,0135
	Duplo	0,715	
	Triplo	0,729	
Bonggol nanas cayenne	Simplo	0,712	0,7463 $\pm$ 0,0392
	Duplo	0,738	
	Triplo	0,789	
Daging buah nanas cayenne	Simplo	0,627	0,6497 $\pm$ 0,0230
	Duplo	0,649	
	Triplo	0,673	



Nilai absorbansi didapatkan pada bonggol nanas madu sebesar  $0,626 \pm 0,0207$ , daging buah nanas madu  $0,7153 \pm 0,0135$ , bonggol nanas cayenne  $0,7463 \pm 0,0392$  dan pada daging buah nanas cayenne sebesar  $0,6497 \pm 0,0230$ . Nilai absorbansi yang didapatkan lalu dikorelasikan terhadap kurva standar tirosin. Banyaknya molekul tirosin ( $\mu\text{mol}$ ) selanjutnya dihitung dengan mengkonversikan konsentrasi tirosin hasil hidrolisis ( $\mu\text{M}$ ). Pada penelitian ini kondisi basa dicapai dengan penambahan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5 M. Hasil pengujian aktivitas ekstrak protease kasar bonggol nanas madu, daging buah nanas madu, bonggol nanas cayenne dan daging buah nanas cayenne ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Uji Aktivitas Protease (U/mL)

Sampel	Rata-rata Abs $\pm$ SD	Rata-rata kadar ( $\mu\text{mol}$ ) $\pm$ SD	Rata-rata aktivitas Protease (U/mL)
Bonggol nanas madu	$0,626 \pm 0,0207$	$1,0331 \pm 0,0428_{(a)}$	0,3744
Daging buah nanas madu	$0,7153 \pm 0,0135$	$1,2156 \pm 0,0279_{(b)}$	0,4466
Bonggol nanas cayenne	$0,7463 \pm 0,0392$	$1,2817 \pm 0,0809_{(c)}$	0,4704
Daging buah nanas cayenne	$0,6497 \pm 0,0230$	$1,082 \pm 0,0475_{(a)}$	0,3967

Hasil pengujian aktivitas ekstrak protease kasar bonggol nanas madu, daging buah nanas madu, bonggol nanas cayenne dan daging buah nanas cayenne ditunjukkan pada Tabel 4. Hasil uji aktivitas protease ekstrak protease kasar bonggol nanas madu, daging buah nanas madu, bonggol nanas cayenne dan daging buah nanas cayenne menunjukkan bahwa memiliki nilai rata-rata aktivitas protease yang besarnya berturut-turut 0,3744 Unit/mL; 0,4466 Unit/mL; 0,4704 Unit/mL dan 0,3967 Unit/mL. Aktivitas keempat sampel yang terbukti memiliki aktivitas protease dari aktivitas tertinggi ke aktivitas rendah berturut-turut yaitu bonggol

nanas cayenne, daging buah nanas madu, daging buah nanas cayenne dan bonggol nanas madu.

Reaksi enzim protease terhadap aktivitas protease dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk pH, suhu, dan substrat. Protease dapat diklasifikasikan menjadi tiga golongan berdasarkan pH optimumnya yaitu protease basa, protease netral, dan protease asam. Protease basa dan netral biasanya diproduksi oleh bakteri seperti *Bacillus*, sedangkan protease asam diproduksi oleh jamur seperti *Mucor* dan *Endothia*. Suhu juga mempengaruhi aktivitas protease, enzim protease memiliki suhu optimum yang berbeda-beda, dan aktivitasnya dapat menurun jika suhu melebihi atau mengurangi suhu optimum. Aktivitas protease juga dipengaruhi oleh jenis substrat yang digunakan, enzim protease dapat menghidrolisis berbagai jenis protein dan peptida, tetapi aktivitasnya dapat berbeda-beda tergantung pada jenis substrat.

Buah nanas selain terdapat enzim bromelain juga terdapat enzim ananain dan comosin di dalamnya, tetapi dari ketiganya memiliki sifat yang berbeda. Enzim bromelain merupakan enzim proteolitik yang efektif dalam menghidrolisis protein, terutama kolagen, aktivitasnya dipengaruhi oleh suhu, pH dan konsentrasi. Ananain juga merupakan enzim proteolitik yang mirip dengan bromelain tetapi memiliki aktivitas yang lebih rendah, aktivitasnya juga dipengaruhi oleh suhu, pH dan konsentrasi. Comosin merupakan enzim proteolitik yang memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan bromelain dan ananain, aktivitasnya dipengaruhi juga oleh suhu, pH, dan konsentrasi, secara keseluruhan enzim bromelain memiliki aktivitas yang paling tinggi dan digunakan dalam berbagai aplikasi, sementara enzim ananain dan comosin memiliki aktivitas yang lebih rendah dan digunakan dalam aplikasi yang lebih terbatas.

Uji aktivitas enzim dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas protease pada ekstrak bromelin (Naiola & Widhyastuti 2007). Penentuan aktivitas enzim bromelin dilakukan dengan cara Kunitz termodifikasi dan metode yang digunakan untuk analisis aktivitas enzim adalah metode spektrofotometri (Supartono 2004). Metode ini didasarkan atas hidrolisis enzimatis oleh enzim yang teruji dari larutan substrat kasein 0,65% dalam buffer fosfat 0,05M selama 20 menit,

dilanjutkan dengan menghentikan aktivitas enzim dan pengendapan dari substrat yang tidak terhidrolisis menggunakan pereaksi asam Trichloroasetat (TCA) 0,11 M. TCA bersifat asam, berfungsi untuk menghentikan aktivitas enzim, serta dapat menggumpalkan atau mengendapkan kasein. Menurut Lehninger (1982: 247) jika enzim direaksikan dengan asam kuat maka rantai polipeptidanya akan terpotong sehingga terjadi konformasi struktur yang dapat menyebabkan aktivitas katalitiknya hilang.

Hasil hidrolisis terlarut kemudian ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 685 nm, sebagai kontrol yaitu ekstrak enzim bromelin dari buah nanas yang dinonaktifkan dengan pemanasan selama 5 menit. Hasil analisis dinyatakan dalam satuan unit aktivitas protease yang didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1  $\mu\text{mol}$  material yang larut dalam pereaksi asam TCA 0,11 M pada kondisi percobaan (Kurniawan 2008: 41).

#### **4.5 Analisis Data**

Berdasarkan hasil uji anova atau sidik ragam terdapat nilai signifikansi (sig.) sebesar 0,00 lebih kecil dari nilai taraf nyata ( $\alpha$ ) sebesar 0,05 maka keputusan yang di ambil yaitu tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  artinya terdapat pengaruh sampel terhadap aktivitas protease, kemudian di uji lanjut Duncan untuk melihat perbedaan.

Berdasarkan Uji Lanjut Duncan untuk faktor sampel menunjukkan bahwa bonggol nanas madu dengan daging nanas cayenne memberikan pengaruh yang sama atau tidak berbeda nyata terhadap aktivitas protease, daging nanas madu dan bonggol nanas cayenne memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai aktivitas protease sedangkan untuk blanko memberikan pengaruh yang berbeda terhadap nilai absorbansi, dan dapat dinyatakan bonggol nanas cayenne memiliki aktivitas yang terbaik karena memiliki aktivitas yang besar dibandingkan sampel lainnya.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kadar enzim bromelain yang didapatkan pada bonggol nanas madu yaitu 1,0331  $\mu\text{mol/L}$ , daging nanas madu yaitu 1,2156  $\mu\text{mol/L}$ , bonggol nanas cayenne yaitu 1,2817  $\mu\text{mol/L}$  dan daging nanas cayenne yaitu 1,082  $\mu\text{mol/L}$ .
2. bonggol nanas cayenne memiliki nilai aktivitas protease lebih baik dibandingkan dengan bonggol nanas madu, daging buah nanas madu, dan daging buah nanas cayenne dengan nilai aktivitas protease pada bonggol nanas madu yaitu 0,3744 Unit/mL, daging nanas madu 0,4466 Unit/mL, bonggol nanas cayenne 0,4704 Unit/mL dan daging nanas cayenne 0,3967 Unit/mL.

#### **5.2 Saran**

Perlu penelitian lebih lanjut dengan variasi pengaruh pH dan suhu inkubasi terhadap aktivitas protease pada sampel bonggol nanas madu, daging buah nanas madu, bonggol nanas cayenne dan daging buah nanas cayenne.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahyari, Agus. 2010. *Manajemen Produksi Perencanaan Sistem Produksi*. Edisi Empat. Yogyakarta: BPFE
- Ali, Khomsan. 2009. *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta : Kompas. h 122-5.
- Anam, C., N, S. Rahayu, dan M, Baedowi. 2003. *Aktivitas Enzim Bromelin terhadap Mutu Fisik Daging*. Seminar Nasional dan Pertemuan Tahunan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PAPTI). Yogyakarta.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta : UI Press. Hal 11
- Bala, M., Ismail, N. A., Mel, M., Jami, M. S., Mohd Salleh, H., & Amid, A. (2012). Bromelain production: Current trends and perspective. *Archives Des Sciences*.
- Bangun, A. P. (2005). *Menangkal Penyakit dengan Jus Buah dan Sayuran*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Benucci, I., Liburdi, K., Maria, A., Garzillo, V., Esti, M., 2011. Bromelain from pineapple stem in alcoholic – acidic buffers for wine application. *Food Chem. 124*, 1349– 1353.
- Chaisakdanungull, C., Theerakulkait, C., Wrolstad, R.D., 2007. Pineapple Juice and Its Fractions in Enzymatic Browning Inhibition of Banana (Musa (AAA Group) Gros Michel). *J. Agric. Food Chem. 55*, 4252–4257.
- Cooreman. W.M., S. Scharpe, J. Demeester, and A. Lauwers. 1976. *Bromelain, Biochemical and Farmakologis properties*. Pharm. Acta Helv. 4:73-97
- Crowley, P., O'Brien, C., Slattery , H., Chapman, D., Arendt, E., dan Stanton, C. 2005. *Functional Properties of Casein Hydrolysates in Bakery Applications*. 2(1): 131-137
- Dalimartha, S., & Adrian, F. (2011). *Khasiat Buah dan Sayur. In Khasiat Buah dan Sayur* (pp. 62-66). Jakarta: Penebar Swadaya.
- Elavarasan, K., Kumar, V.N., Shamasundar, B.A., 2014. Antioxidant and Functional Properties of Fish Protein Hydrolysates from Fresh Water Carp (Catla catla) as Influenced by the Nature of Enzyme. *J. Food Process. Preserv. 38*, 1207–1214.
- Esmelrada, W., 2008, *Optimasi Kultur pada Proses Fermentasi Kecap*, Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor

- Gautam *et al.* 2010. Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant. *Thai J. Pharm. Sci.* vol 34(1):1.
- Hadiati, Sri dkk. 2008. *Budidaya Nanas*. Solok: Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika
- Hage, D.S., Anguizola, J.A., Bi, C., Li, R., Matsuda, R., Pfaunmiller, E., Vargas, J., Zheng, X., 2013. Pharmaceutical and biomedical applications of affinity chromatography: recent trends and developments. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 69, 93–105
- Harningtyas, R. C. 2016. *Parameter Fisik dan Kimia Potongan Buah Nenas (Ananas comusus (L) Merr.) yang Diolah Dengan Dehidrasi Osmosis Dilanjutkan Pengeringan Dalam Atmosfir Terkendali*. Skripsi. Program Study Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Hartadi H, Reksohadiprodjo S, Lebdosukojo S, dan Tillman AD. 1980. *Tabel-tabel dari Komposisi Bahan Makanan Ternak untuk Indonesia*. Yogyakarta (ID): Gajah Mada University
- Herdyastuti N. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang Nanas (*Ananas comusus L.merr*). *Berk. Penel. Hayati* vol. 12: 75–77.
- Ketnawa, S., Chaiwut, P., & Rawdkuen, S. (2012). Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction. *Food and Bioproducts Processing*. Vol. 90: 385-391
- Kong, X., Zhou, H., Qian, H., 2007. Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. *Food Chem.* 102, 759–763.
- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kulit Nenas (*Anenas comusus*). *Jurnal Ilmiah Sains*, Vol. 11 (No. 2), 198-201.
- Kurniawan K. 2008. *Produksi, Identifikasi dan Karakterisasi Protease Ekstrasel dari Bacillus subtilis M 10* (Skripsi) Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Kusuma, I. A., Laksmiwati, A. A., Arsa, M., & Ratnayani, K. (2015). Perbandingan Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Bromelin Buah Nanas yang Diisolasi dengan Beberapa Jenis Garam Pengendap. *Jurnal Kimia* 9 (2), 139-146.
- Lehninger, A. L. (1982). *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: Erlangga.

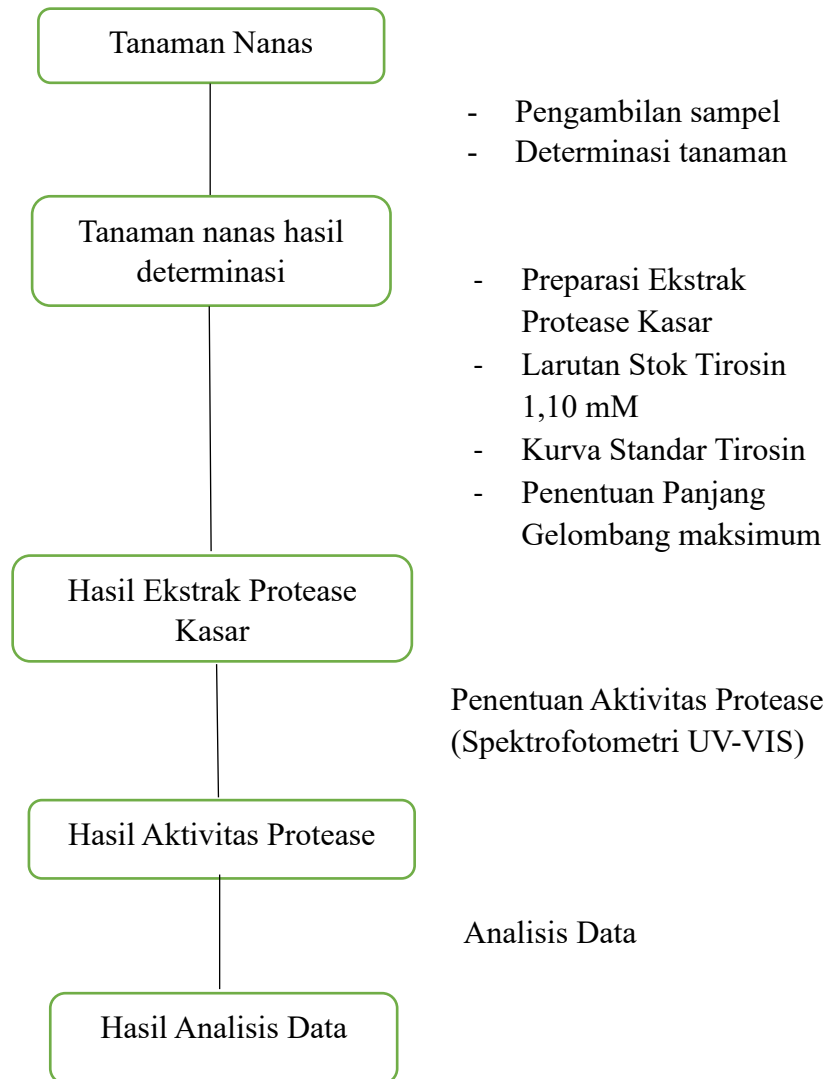
- Maryam, Siti. 2009. *Ekstrak Enzim Bromelin dari Buah Nanas (Ananas sativus Schult.) dan Pemanfaatannya pada Isolasi DNA*. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Semarang
- Masri, M. (2014). *Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (Ananas comosus) pada Variasi Suhu dan pH*. biogenesis 121, Vol: 2 (No: 2), 119-125.
- Naiola E & N Widhyastuti. 2007. Semi Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Protease *Bacillus sp*. *Berk. Penelitian Hayati* (13): 51-56
- Oktadina, F. D., Argo, B. D., & Hermanto, M. B. (2013). Pemanfaatan Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) untuk Penurunan Kadar Kafein dan Perbaikan Citarasa Kopi (*Coffea Sp*) dalam Pembuatan Kopi Bubuk. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* Vol: 1 (No: 3), 265-273.
- Phadungath. C. May. 2004. Caein micelle structure: a concise review. Songklanakar. *J. Sci. Tehnol.* 27 (1): 201-12.
- Rahmat, Deni., Ratih, Dian., Bathini, Meilda A., 2016. Peningkatan Aktifitas Antimikroba Ekstrak Nanas (*Ananas comosus* L.Merr) dengan Pembentukan Nanopartikel. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol 1 No 5.
- Rukmana, R. 2007. *Nenas Budidaya dan Pasca Panen*. Kanisius. Yogyakarta. Hal 60.
- Rukmana, R. 1996. *Nanas Budidaya dan Pascapanen*. Jakarta. Pustaka Dian.
- Rodwell, V. W. (1987). *Harper's Review of Biochemistry*. Jakarta. In EGC Kedokteran.
- Sumardjo, D. (2008). *Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. In Pengantar Kimia (pp. 398-420). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Supariono. 2004. Karakterisasi Enzim Protease Netral dari Buah Nanas Segar. *Jurnal MIPA Universitas Negeri Semarang*. 27 (2): 134-142
- Syamsiah. 2006. *Taksonomi Tumbuhan Tinggi*. Makassar: Universitas Negeri Makassar.
- Tjitrosoepomo G. 2009. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Watanabe, M., Watanabe, J., Sonoyama, K., Tanabe, S., 2000. *Novel method for producing hypoallergenic wheat flour by enzymatic fragmentation of the constituent allergens and its application to food processing*. Biosci. Biotechnology, Biochem. 64, 2663–2667.

- Winarno, F. G. (1989). *Enzim Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F. G dan I. E. Fernandez. 2007. *Susu dan Produk Fermentasinya*. M-Brio Press. Bogor.
- Wiyati, P. I., & Tjitraresmi, A. (2018). *Karakterisasi, Aktivasi, dan Isolasi Enzim Bromelin dari Tumbuhan Nanas (Ananas sp.)*. *Farmaka*, 16(2), 179–185.
- Wuryanti. (2004). Isolasi dan penentuan aktivitas spesifik enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus L.*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 3(7):84
- Wuryanti. (2006). Amobilisasi Enzim Bromelin dari Bonggol Nanas dengan Bahan Pendukung (Support) Karagenan dari Rumput Laut (*Euchema cottonii*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, Vol: IX (No. 3).
- Yuksel, Z., E. Avci and Y.K. Erdem. 2010. Characterization of Binding Interactions Between Green Tea Flavanoids and Milk Proteins. *J. Food Chemistry*. 121: 450-456
- Yusriah dan N D, Kuswytasari. 2013. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap aktivitas Protease *Penicillium sp.* *Jurnal Sains dan Seni Pomits* Vol. 2, No.1.
- Yuwono, T. (2008). *Biologi Molekular*. Jakarta: Penerbit Erlangga.



# LAMPIRAN

## Lampiran 1 Rancangan Penelitian



## Lampiran 2. Determinasi Tanaman



### DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie Jl. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340  
Surel: [dit-pki@brin.go.id](mailto:dit-pki@brin.go.id) Laman: [www.brin.go.id](http://www.brin.go.id)

Nomor : B-497/IL.6.2/IR.01.1/9/2024 30 April 2024  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Yanuar Rizaldy**  
NPM : 066120016  
Universitas Pakuan

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Nanas	<i>Ananas Comosus L.</i>	Bromeliaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,  
Badan Riset dan Inovasi Nasional



Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BRIN, silakan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

## Lampiran 3. Certificate Of Analysis

### 1. Kasein

**Sigma-Aldrich**

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA  
 Website: www.sigmaaldrich.com  
 Email USA: techserv@sial.com  
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

**Certificate of Analysis**

Product Name: Casein from bovine milk - technical grade

Product Number: C7078  
 Batch Number: BCCG8142  
 Brand: SIGMA  
 CAS Number: 9000-71-9  
 Quality Release Date: 16 MAR 2022

Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Off White	Off White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Loss on Drying	≤ 12.0 %	11.1 %
Nitrogen Content	13.50 - 15.00 %	14.70 %

*Dr. R. Schwenninger*

Dr. Reinhold Schwenninger  
 Quality Assurance  
 Buchs, Switzerland CH

### 2. Tirosin

**T C I**

**Certificate of Analysis**

06/02/2021 (JST)  
 TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.  
 4-10-1 Nihonbashi-Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023 Japan

Chemical Name: L-(+)-Tyrosine	Lot: SIBRK	
Product Number: T0550		
CAS RN: 60-18-4		

Tests	Results	Specifications
Appearance	White powder	White to Almost white powder to crystal
Optical purity(LC)	100.0 ee%	min. 98.0 ee%
Purity(Nonaqueous Titration)	99.7 %	min. 98.5 %
Solubility in 1mol/L HCl	almost transparency	almost transparency

TCI Lot numbers are 4-5 characters in length. Characters listed after the first 4-5 characters are control numbers for internal purpose only.  
 The contents of the specifications are subject to change without advance notice. The specification values displayed here are the most up to date values. There may be cases where the product labels display a different specification, however, the product quality still meets the latest specification.

**Customer Service:**  
 TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD  
 Tel: +81-3-5640-8878  
 Fax: +81-3-5640-8902  
 E-mail: globalbusiness@TCIchemicals.com

*Takuya Nishioka*  
 Takuya Nishioka  
 Quality Assurance Department Manager

## 3. Asam Trikloroasetat



## Certificate of Analysis

1.00807.0100 Trichloroacetic acid for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur  
Batch K54031707

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (alkalimetric)	≥ 99.5	%	100.1	%
Identity (IR-spectrum)	passes test		passes test	
Appearance	colorless, deliquescent crystals		passes test	
Appearance of solution (200 g/l; water)	clear and colorless		passes test	
In water insoluble matter	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%
Chloride (Cl)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Nitrate (NO <sub>3</sub> )	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Phosphate (PO <sub>4</sub> )	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 200	ppm	≤ 200	ppm
Heavy metals (as Pb)	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Cu (Copper)	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Fe (Iron)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Readily carbonisable substance	passes test		passes test	
Sulfated ash (600 °C)	≤ 300	ppm	≤ 300	ppm

Date of release (DD.MM.YYYY) 16.02.2022  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 30.09.2024

Dr. Sebastian Lips  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

#### Lampiran 4. Perhitungan Bahan

1. Pembuatan Larutan stok Tirosin 1,10 mM (Mr = 181)

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,0011 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{181} \times \frac{1000}{50} = 9,955 \text{ gram atau } 10 \text{ mg}$$

2. Pembuatan Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5M

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,5 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{102} \times \frac{1000}{100} = 5,3 \text{ gram}$$

3. Pembuatan Larutan NaOH 0,2 M

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{40} \times \frac{1000}{100} = 0,8 \text{ gram}$$

4. Pembuatan Larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{136} \times \frac{1000}{100} = 2,72 \text{ gram}$$

5. Konsentrasi Standar Tirosin

Larutan Stok Tirosin 1,10mM

$$\frac{\text{Sampel larutan tirosin}}{Mr \text{ Tirosin}} = \frac{0,01 \text{ g}}{181} = 0,000005 \text{ mol}$$

$$\frac{0,000005 \text{ mol}}{0,05 \text{ L}} = 0,0011 \text{ mol/L}$$

- Volume yang dipipet 0,05 mL

$$0,05 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,00005 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,000000055 \text{ mol}$$

$$\frac{0,000000055 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,00006875 \text{ M}$$

$$= 0,006875 \text{ mM}$$

$$= 6,875 \mu\text{M}$$

- Volume yang dipipet 0,1 mL

$$0,1 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,0001 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,00000011 \text{ mol}$$

$$\frac{0,00000011 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,00001375 \text{ M}$$

$$= 0,01375 \text{ mM}$$

$$= 13,75 \text{ } \mu\text{M}$$

- Volume yang dipipet 0,2 mL

$$0,2 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,0002 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,00000022 \text{ mol}$$

$$\frac{0,00000022 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,0000275 \text{ M}$$

$$= 0,0275 \text{ mM}$$

$$= 27,5 \text{ } \mu\text{M}$$

- Volume yang dipipet 0,4 mL

$$0,4 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,0004 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,00000044 \text{ mol}$$

$$\frac{0,00000044 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,000055 \text{ M}$$

$$= 0,055 \text{ mM}$$

$$= 55 \text{ } \mu\text{M}$$

## 6. Larutan Deret Standar Tirosin

Lar Stok tirosin 1,10 mM

- Konsentrasi 6,875  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 6,875 \text{ } \mu\text{M} = 0,05 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 13,75  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 13,75 \text{ } \mu\text{M} = 0,1 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 27,5  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 27,5 \text{ } \mu\text{M} = 0,2 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 55  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 55 \text{ } \mu\text{M} = 0,4 \text{ mL}$$

### Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Protease

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{\text{Volume akhir}}{\text{Volume awal}} = \frac{5}{1} = 5 \text{ mL}$$

$$V_{\text{total}} = V_t = 5 \text{ mL} = 5 \times 10^{-3} \text{ L}$$

$$Y = 0,0121(b) x + 0,0266 (a)$$

$$R^2 = 0,9947$$

#### Blanko

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,126 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,1034}{0,0121} \times 5 = 8,5454 \times 5 = 42,727 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin Blanko} = [\text{Blanko}] \times V_t = 42,727 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 0,2136 \mu\text{mol}$$

#### 1. Bonggol nanas madu

##### 1) Simplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,607 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,5844}{0,0121} \times 5 = 48,2975 \times 5 = 241,4875 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [S1] \times V_t = 241,4875 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,2074 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,2074 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 0,9938 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar bonggol nanas madu

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{0,9938 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0331 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V1}{V2 \times V3} = \frac{0,0331 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,3641 \text{ U/mL}$$

##### 2) Duplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$



$$X = \frac{0,623 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6004}{0,0121} \times 5 = 49,6198 \times 5 = 248,099 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 248,099 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,2405 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,2405 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,0269 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar bonggol nanas madu

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{0,9909 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0330 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0330 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,363 \text{ U/mL}$$

### 3) Triplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,648 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6254}{0,0121} \times 5 = 51,6860 \times 5 = 258,43 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 258,43 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,2922 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,2922 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,0786 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar bonggol nanas madu

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,0786 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0360 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0360 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,396 \text{ U/mL}$$

## 2. Daging nanas madu

### 1) Simple

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,702 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6794}{0,0121} \times 5 = 56,1488 \times 5 = 280,744 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 280,744 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,4037 \mu\text{mol}$$

$$\begin{aligned} \mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} &= \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko} \\ &= 1,4037 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol} \\ &= 1,1901 \mu\text{mol} \end{aligned}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar daging nanas madu

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,1901 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0397 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0397 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4367 \text{ U/mL}$$

## 2) Duplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,715 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6924}{0,0121} \times 5 = 57,2231 \times 5 = 286,1155 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 286,1155 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,4306 \mu\text{mol}$$

$$\begin{aligned} \mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} &= \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko} \\ &= 1,4306 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol} \\ &= 1,217 \mu\text{mol} \end{aligned}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar daging nanas madu

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,217 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0406 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0406 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4466 \text{ U/mL}$$

## 3) Triplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,729 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,7064}{0,0121} \times 5 = 58,3802 \times 5 = 291,901 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 291,901 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,4595 \mu\text{mol}$$

$$\begin{aligned} \mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} &= \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko} \\ &= 1,4595 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol} \end{aligned}$$

$$= 1,2459 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar daging nanas madu

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,2459 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0415 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0415 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4565 \text{ U/mL}$$

### 3. Bonggol nanas cayenne

#### 1) Simplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,712 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6894}{0,0121} \times 5 = 56,9752 \times 5 = 284,876 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [S1] \times V_t = 284,876 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,4244 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,4244 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,2108 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar bonggol nanas cayenne

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,2108 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0404 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0404 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4444 \text{ U/mL}$$

#### 2) Duplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,738 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,7154}{0,0121} \times 5 = 59,1240 \times 5 = 295,62 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [S1] \times V_t = 295,62 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,4781 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,4781 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,2645 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar bonggol nanas cayenne

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,2645 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0422 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0422 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4642 \text{ U/mL}$$

### 3) Triplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,789 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,7664}{0,0121} \times 5 = 63,3388 \times 5 = 316,694 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 316,694 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,5835 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,5835 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,3699 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar bonggol nanas cayenne

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,3699 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0457 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0457 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,5027 \text{ U/mL}$$

## 4. Daging buah nanas cayenne

### 1) Simplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times \text{fp}$$

$$X = \frac{0,627 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6044}{0,0121} \times 5 = 49,9504 \times 5 = 249,752 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 249,752 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,2488 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,2488 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,0352 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar daging buah nanas cayenne

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,0352 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0345 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0345 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,3795 \text{ U/mL}$$

## 2) Duplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,649 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6264}{0,0121} \times 5 = 51,7686 \times 5 = 258,843 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 258,843 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,2942 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,2942 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,0806 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar daging buah nanas cayenne

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,0806 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0360 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0360 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,396 \text{ U/mL}$$

## 3) Triplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,673 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6504}{0,0121} \times 5 = 53,7521 \times 5 = 268,7605 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times V_t = 268,7605 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,3438 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,3438 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,1302 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar daging buah nanas cayenne

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,1302 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0377 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0377 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4147 \text{ U/mL}$$

## Lampiran 6. Hasil Uji Statistik

### Uji ANOVA

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hasil

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.097 <sup>a</sup>	6	.016	669.655	.000
Intercept	.371	1	.371	15413.819	.000
Sampel	.096	4	.024	999.899	.000
Ulangan	.000	2	.000	9.166	.009
Error	.000	8	2.408E-5		
Total	.468	15			
Corrected Total	.097	14			

a. R Squared = ,998 (Adjusted R Squared = ,997)

### Uji Duncan

#### Hasil

Duncan<sup>a,b</sup>

Sampel	N	Subset			
		1	2	3	4
Blanko	3	.000000			
Bonggol nanas madu	3		.176000		
Daging nanas cayenne	3		.184433		
Daging nanas madu	3			.207533	
Bonggol nanas cayenne	3				.218533
Sig.		1.000	.068	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2,41E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b. Alpha = 0,05.

**Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian**

