

# **PROSIDING**

*Seminar Nasional*  
**Teknologi Pengelolaan Limbah IX**



**Tema Seminar:**  
**“Clean Technology” Untuk Pengelolaan  
Limbah dan Lingkungan**

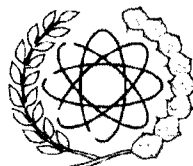
**Diselenggarakan pada:**

**Rabu 5 Oktober 2011**

**Gedung Graha Widya Bhakti DRN  
PUSPIPTEK Serpong Tangerang Selatan**

**Diterbitkan Tanggal : 30 Desember 2011**

**Diselenggarakan Oleh :**



**BATAN**



**UNTIRTA**

# PROSIDING

*Seminar Nasional*  
**Teknologi Pengelolaan Limbah IX**



**Tema Seminar:**  
**“Clean Technology” Untuk Pengelolaan  
Limbah dan Lingkungan**

**Rabu 5 Oktober 2011**  
**Gedung Graha Widya Bhakti DRN**  
**PUSPIPTEK Serpong Tangerang Selatan**

**Diselenggarakan Oleh :**



**BATAN**



**UNTIRTA**

## KATA PENGANTAR


Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas karunia-Nya Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pengelolaan Limbah IX dapat diterbitkan. Seminar dengan tema "*Clean Technology* untuk Pengelolaan Limbah dan Lingkungan" telah dilaksanakan pada tanggal 5 Oktober 2011 di Gedung Graha Widya Bhakti, Kawasan PUSPIPTEK Serpong – Tangerang.

Seminar ini diselenggarakan sebagai media sosialisasi hasil penelitian di bidang pengelolaan limbah radioaktif dan non radioaktif. Seminar Nasional Teknologi Pengelolaan Limbah IX dijadikan sebagai media tukar menukar informasi dan pengalaman, ajang diskusi ilmiah, peningkatan kemitraan di antara peneliti dengan praktisi, penimbul dengan pengelola limbah, mempertajam visi pembuat kebijakan dan pengambil keputusan, serta peningkatan kesadaran kolektif terhadap pentingnya pengelolaan limbah yang handal.

Prosiding ini memuat karya tulis dari berbagai hasil penelitian mengenai pengelolaan limbah radioaktif, industri dan lingkungan. Makalah dikelompokkan menjadi lima kelompok, yaitu Kelompok Teknologi Proses, Keselamatan dan Lingkungan, Manajemen dan Informasi Limbah, Dekontaminasi dan Dekomisioning, serta Kelompok Penyimpanan dan Transportasi. Makalah-makalah tersebut berasal dari para peneliti di lingkungan BATAN, BAPETEN, Universitas Indonesia, Universitas Negeri Yogyakarta dan Institut Pertanian Bogor.

Semoga penerbitan prosiding ini dapat digunakan sebagai data sekunder dalam pengembangan penelitian di masa akan datang, serta dijadikan bahan acuan dalam pengelolaan limbah. Akhir kata kepada semua pihak yang telah membantu, kami ucapkan terima kasih.

Kepala  
Pusat Teknologi Limbah Radioaktif  
Badan Tenaga Nuklir Nasional

  
Dr. R. Hani Umbara

## SUSUNAN EDITOR

Ketua	:	Ir. Herlan Martono, MMSc.	-	BATAN
Anggota	:	1. Prof. Ir. Zainus Salimin, M.Si.	-	BATAN
		2. Drs. Gunandjar, SU	-	BATAN
		3. Dr. Syahrir	-	BATAN
		4. Dr. Budi Setiawan	-	BATAN
		5. Heni Suseno, M.Si.	-	BATAN
		6. Ir. Sucipta, M.Si	-	BATAN
		7. Dr. Yus Rusdian Ahmad	-	BAPETEN
		8. Dr. Thamzil Las	-	UIN Syarif Hidayatullah
		9. Ir. Soesaptri Oediyani, M.Eng	-	FT UNTIRTA
		10. Dra. Erlina Yustanti, M.Si	-	FT UNTIRTA

## SUSUNAN PANITIA

### Pengarah

Pembina : Dr. Djarot S. Wisnubroto - BATAN  
Penanggung Jawab : Drs. R. Heru Umbara – BATAN

### Penyelenggara

Ketua : Hendra Adhi Pratama, M.Si - BATAN  
Wakil Ketua : Irwan Santoso, ST., M.Si - BATAN  
Sekretaris : Lestari Widowati, SE. - BATAN  
Anggota : Drs. Heru Santosa, MT. - BATAN  
Ir. Suryanto - BATAN  
Mas'udhi, SST. - BATAN  
Gustri Nurliati, S.Si. - BATAN  
Jaka Rachmadetin, S.Si. - BATAN  
Budi Arisanto, A.Md. - BATAN  
Suparno, A.Md. - BATAN  
Mardini - BATAN  
Imam Sasmito - BATAN  
M. Cecep Cepi Hikmat, SST. - BATAN  
Sukismanto Widodo, S. Sos. - BATAN  
Adi Wijayanto, A.Md. - BATAN  
Staf Pendukung : Suhartono, A.Md. - BATAN  
Muh. Muhyidin Farid, SST. - BATAN  
Sariyadi - BATAN  
Yuli Purwanto, A.Md. - BATAN  
Aji Suprayoga, A.Md. - BATAN  
Rusfarni Idrus - BATAN

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
SUSUNAN PANITIA .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
1 Urgensi Amandemen Terhadap Peraturan Pemerintah Nomor 26 Tahun 2002 Tentang Keselamatan Pengangkutan Zat Radioaktif .....	1
<b>Nanang Triagung Edi Hermawan</b>	
2 Kajian Tentang NSS 9/08 dan INFCIRC/225 Rev 4/99 Terkait Penentuan Tingkat Keamanan Alam Pengangkutan Zat Radioaktif .....	13
<b>Togap Marpaung</b>	
3 Analisis Perhitungan Transmutasi Limbah Aktinida Minor: Kajian Awal <i>Small-Scale Accelerator Driven System</i> Berbasis Reaktor Kartini .....	21
<b>Edi Triyono B.S, Syarip</b>	
4 Penggunaan <i>Computer Code</i> Origen 2 untuk Estimasi Perhitungan Radionuklida pada Komponen Reaktor Riset Triga Mark II .....	33
<b>Mulyono Daryoko, Nurokhim</b>	
5 Optimalisasi Pendinginan Bahan Bakar Nuklir Bekas Reaktor Serbaguna Siwabessy di Kolam Penyimpanan Sementara .....	39
<b>Kuat Heriyanto, Nurokhim</b>	
6 Peran Sampel Lingkungan Sebagai Alat Bukti dalam Penegakan Hukum Terkait Masalah Lingkungan Hidup .....	51
<b>Lilin Indrayani</b>	
7 Pengolahan Limbah Radioaktif Terpadu dari PLTN .....	57
<b>Husen Zamroni, Pungky Ayu Artiani</b>	
8 Sistem Kedaruratan Nuklir Irlandia .....	67
<b>Akhmad Khusyairi</b>	
9 Dasar-Dasar Penentuan Tindakan Keamanan dalam Pengangkutan Zat Radioaktif .....	75
<b>Togap Marpaung</b>	
10 Pengelolaan Sumber Radioaktif Terbungkus Bekas dari Industri di Pusat Teknologi Limbah Radioaktif .....	87
<b>Bung Tomo, Irwan Santoso, Suhartono</b>	

11	Perubahan Komposisi Bahan Pembentuk Gelas Terhadap Karakteristik Gelas Limbah .....	97
	<b>Aisyah</b>	
12	Imobilisasi Limbah <i>Sludge</i> Radioaktif dari Dekomisioning Fasilitas Pemurnian Asam Fosfat Menggunakan Bahan Matriks <i>Synroc</i> .....	111
	<b>Gunandjar</b>	
13	<i>Glass Frit</i> dan Polimer untuk Solidifikasi Limbah Cair Aktivitas Rendah Skala Industri .....	125
	<b>Herlan Martono</b>	
14	Aktivitas Bromelain pada Limbah padat Pengalengan Nenas dan Pengaruh Semipurifikasi .....	133
	<b>Charlena, Aisyah Girinda, Rifan</b>	
15	Pengolahan Limbah Cair dari Kegiatan Praktikum Analisis Spot Test dengan Koagulasi Menggunakan Polialuminium Klorida .....	141
	<b>Eti Rohaeti, Trie Nenny Febriyanti, Irmanida Batubara</b>	
16	Denitrifikasi Limbah Radioaktif Cair yang Mengandung Asam Nitrat dengan Proses Biooksidasi .....	149
	<b>Zainus Salimin, Jaka Rachmadetin</b>	
17	Imobilisasi Limbah <i>Sludge</i> Radioaktif Hasil Dekomisioning Fasilitas PAF-PKG Menggunakan Bahan Matriks <i>Synroc</i> dengan Proses Sintering .....	159
	<b>Endang Nuraeni, Gunandjar</b>	
18	Imobilisasi Limbah <i>Sludge</i> Radioaktif dari Dekomisioning Fasilitas Pemurnian Asam Fosfat dengan Matriks Campuran Bitumen dan Pasir .....	171
	<b>Mirawaty, Gunandjar</b>	
19	Potensi <i>Yeast</i> pada Pengurangan Konsentrasi Uranium dalam Limbah Organik TBP-Kerosin yang Mengandung Uranium .....	183
	<b>Defi Oriza Satife, Anna Rahmawati, M. Yazid</b>	
20	Imobilisasi <i>Alumino Siliko Phospat</i> Jenuh Uranium Menggunakan Polimer Epoksi .....	193
	<b>Yuli Purwanto, Aisyah</b>	
21	Karakterisasi Bakteri Toleran Uranium dalam Limbah Uranium Fase Organik TBP-Kerosin .....	197
	<b>Mirna Windiya Jayanti, Bernadetta Octavia, Moch Yazid</b>	

22	Konsep Pengelolaan Limbah Radioaktif Program Dekomisioning Reaktor Riset .....	211
	<b>Sutoto, Suwardiyono</b>	
23	Inventarisasi Paket Limbah Olahan untuk Penyimpanan Akhir dalam <i>Disposal Demo Plant</i> .....	217
	<b>Heru Sriwahyuni</b>	
24	Pengembangan Metode Drastic untuk Analisis Tingkat Kerentanan ( <i>Vulnerability</i> ) Pencemaran Air Tanah Caion Lokasi <i>Landfill Tenorm</i> .....	225
	<b>Moekhamad Alfiyan</b>	
25	Pemilihan Tapak Potensial untuk Penyimpanan Lestari Limbah Radioaktif di Pulau Jawa dan Sekitarnya .....	233
	<b>Sucipta, Budi Setiawan, Dadang Suganda, Arimuladi Setyo Purnomo</b>	
26	Sorpsi Radionuklida Cs-137 Oleh Batulempung Formasi Daerah Subang Sebagai Wilayah Potensial untuk Penyimpanan Lestari Limbah Radioaktif .....	251
	<b>Budi Setiawan</b>	
27	Konsep Desain Fasilitas <i>Demo-Plant</i> Penyimpanan Limbah Radioaktif Dekat Permukaan ( <i>Near Surface disposal</i> ) di Kawasan Nuklir Serpong .....	257
	<b>Dewi Susilowati, Sucipta, Dadang Suganda</b>	
28	Karakterisasi Kapang Toleran Uranium pada Limbah Cair Tributyl Fosfat (TBP) – Kerosin yang Mengandung Uranium .....	265
	<b>Dwi Slamet SR, Anna Rahmawati, M. Yazid</b>	
29	Potensi Ancaman Emisi Udara Sistem Kelistrikan Sumatera .....	273
	<b>Edwaren Liun</b>	
30	Penyerapan Limbah Uranium dalam Rafinat Menggunakan Resin Penukar Anion dengan Pengkompleks Karbonat dan Imobilisasi Menggunakan Polimer Poliester Tak Jenuh .....	283
	<b>Wati</b>	
31	Model Sebaran Panas Air Kanal Pendingin Instalasi Pembangkit Listrik Ke Badan Air Laut .....	293
	<b>Chevy Cahyana</b>	
32	Radioekologi Kelautan di Semenanjung Muria : Studi distribusi dan Prilaku Radionuklida Ra-226, Ra-228 dan K-40 di Perairan Pesisir .....	303.
	<b>Wahyu Retno Prihatiningsih, Sumi Hudiyo PWS</b>	



33	Rona Awal Lingkungan Calon Tapak PLTN Studi Kasus Muntok, Kab. Bangka Barat .....	311
	<b>Lilin Indrayani</b>	
34	Pengolahan Limbah Boron-10 dari Operasi PLTN Tipe PWR dengan Teknik Solidifikasi <i>Hyper Cement</i> .....	317
	<b>Subiarto, Cahyo Hari Utomo</b>	

## AKTIVITAS BROMELAIN PADA LIMBAH PADAT PENGALENGAN NENAS DAN PENGARUH SEMIPURIFIKASI

Charlena<sup>1</sup>, Aisjah Girinda<sup>2</sup>, Rifani<sup>2</sup>

1. Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor
2. Departemen Biokimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor

### ABSTRAK

**AKTIVITAS BROMELAIN PADA LIMBAH PADAT PENGALENGAN NENAS DAN PENGARUH SEMIPURIFIKASI.** Nenas mengandung bromelin yang merupakan senyawa fitokimia yang memiliki banyak khasiat medis. Untuk pengembangan produk bromelin masa diperluas beberapa informasi mengenai kandungan bromelin limbah padat pengalengan nenas dari kultivar *smooth cayenne*, *bogor queen*, and *red queen*. Perlu diketahui hubungan tingkat kematangan dengan kandungan bromelin serta pengaruh semipurifikasi melalui pengendapan, dialisis dan liofilisasi pada nenas *Smooth cayenne* matang 100%. Kandungan bromelin nenas kultivar *Smooth cayenne* pada tingkat kematangan yang berbeda, tidak berbeda nyata. Aktivitas spesifik bromelin paling tinggi nenas *Smooth cayenne* terdapat pada tingkat kematangan 0% dengan nilai aktivitas 1.9628 unit/mg. Semakin bertambah tingkat kematangan, semakin rendah aktivitas spesifik bromelin, untuk tingkat kematangan 50% dan 100% secara berturut-turut 0.9683 unit/mg, dan 0.7345 unit/mg. Selanjutnya kandungan bromelin nenas beberapa kultivar (*Smooth cayenne*, *Queen bogor* dan *Liar*) pada tingkat kematangan penuh (100%), tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ). Nilai aktivitas spesifik bromelin pada kultivar nenas *Smooth cayenne*, *Queen bogor* dan *Liar* secara berturut-turut adalah 0.7345 unit/mg, 0.5894 unit/mg, dan 0.5712 unit/mg. Pemekatan protein nenas dengan pengendapan amonium sulfat 70% menghasilkan peningkatan kemurnian bromelin sebesar 4.4 kali lipat. Dialisis menghasilkan peningkatan kemurnian bromelin sebesar 3.7 kali lipat dan liofilisasi dihasilkan peningkatan kemurnian bromelin sebesar 3.0 kali lipat.

Kata kunci: aktivitas bromelain, nenas, semipurifikasi

### ABSTRACT

**ACTIVITY OF BROMELAIN CONTENT IN SOLID WASTE OF CANNING PINEAPPLE AND EFFECT OF SEMIPURIFICATION.** Pineapple contains bromelain, phytochemical compounds that are useful for many medical uses. To develop bromelain production the information about solid waste potential from pineapple canning industry, effect of the fruit maturity level of pineapple kinds of *smooth cayenne*, *bogor queen*, and *red queen*, and effect after of semipurification through precipitation, dialysis, and freeze drying must be obtained. Bromelain content in *smooth cayenne* cultivar at different maturity level was not significantly different. Similarly, the enzyme concentration from total protein which was estimated from specific activity value was not significantly different as well. The highest bromelain specific activity of *smooth cayenne* was at 0% maturity level. The higher maturity level gives the lower the bromelain specific activity. For maturity level of 50 and 100%, the specific activity was 0.9683 and 0.7345 unit/mg, respectively. Bromelain content of the cultivars at full maturity level was not significantly different. The enzyme concentration was also not significantly different. Bromelain specific activity value of *Smooth Cayenne*, *Bogor Queen*, and *Red Queen* were 0.7345, 0.5894, and 0.5712 unit/mg, respectively. Ammonium sulphate 70% precipitation of pineapple protein gave bromelain purity improvement up to 4.4 times fold. Dialysis produced bromelain purity improvement up to 3.7 times fold. In freeze drying, the purity improvement was 3.0 times fold.

Keyword: aktivitas bromelain, pineapple, semipurification

### PENDAHULUAN

Nenas merupakan salah satu jenis buah-buahan tropis famili Bromeliaceae yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi dan sebagai komoditas ekspor terutama dalam bentuk buah olahan dalam kaleng. Dari proses pengalengan, limbah yang dihasilkan cukup banyak berupa tangkai, mahkota, dan kelopak buah nenas yang dapat mencapai 30-40% [1]. Limbah

pengalengan nenas ini apabila dibuang ke lingkungan akan menimbulkan bau busuk yang dapat mencemari lingkungan disekitarnya. Guna menghindari dampak pencemaran limbah, maka limbah padat pengalengan nenas dapat dipakai sebagai sumber bahan baku produksi bromelain. Buah nenas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, Magnesium, Besi, Natrium, Kalium, Dekstrosa, Sukrosa (gula tebu), dan enzim bromelain. Bromelin berkhasiat

antiradang Bromelain dapat mengatasi radang, menghilangkan nyeri, mempercepat penyembuhan luka, membantu pencernaan, meningkatkan penyerapan obat, meningkatkan imunitas, meningkatkan mutu kardiovaskuler dan sirkulasi, dan antitumor [2]. Bromelain juga dapat membantu melunakkan makanan di lambung, mengganggu pertumbuhan sel kanker, menghambat agregasi platelet, dan mempunyai aktivitas fibrinolitik [3].

Bromelain adalah kumpulan enzim protease dalam ekstrak kasar buah nenas yang merupakan satu dari tiga enzim proteolitik (bromelain, papain, dan fisin) yang kadarnya dapat diketahui dari pengukuran aktivitas bromelain terhadap substratnya. Berdasarkan spesifitas proteolitiknya, bromelain digolongkan menjadi endopeptidase karena mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan peptida di bagian tengah rantai peptida.

Berdasarkan tinjauan keberadaan gugus bermuatan pada posisi tertentu serta gugus tak bermuatan dan gugus nonpolar yang dapat berkontribusi terhadap spesifitas substrat, bromelain tergolong tiol proteinase karena memiliki residu sistein pada tapak aktifnya. Secara umum, golongan ini diaktivasi oleh senyawa pereduksi seperti sistein, HCN, dan dihambat oleh senyawa pengoksidasi. pH optimumnya adalah pada kisaran netral. Herdyastuti N (2006) [4] melaporkan bahwa aktivitas enzim tertinggi bekerja pada pH 7. Saat berada dibawah atau diatas pH tersebut, aktivitas mengalami penurunan. Spesifitas asam amino bromelain adalah cenderung asam amino basa dan aromatik. Di Indonesia, selama ini bromelain dari limbah padat pengalengan nenas belum dimanfaatkan dengan optimum. Pemanfaatan nenas menghasilkan limbah pengalengan buah nenas yang potensial untuk produksi bromelain. Terkait dengan potensi bromelain yang sangat baik untuk dikembangkan, maka diperlukan informasi mengenai potensi kandungan bromelain limbah pengalengan nenas, tingkat kematangan mana yang paling banyak mengandung bromelain serta bagaimana hubungan tingkat kematangan dengan kandungan bromelain pada nenas Smooth Cayenne. Nenas kultivar ini tergolong sangat baik untuk pengalengan karena bagian buah yang dapat diambil untuk dikalengkan paling besar, yaitu mencapai 60% [5]. Perbandingan kandungan bromelain

antarkultivar nenas yang banyak ditanam di Indonesia juga perlu diketahui. Penelitian ini bertujuan menentukan kandungan bromelain pada limbah padat pengalengan nenas (mahkota, kulit, dan batang) pada 3 (tiga) tingkat kematangan buah nenas. Selanjutnya, perlu ditentukan kandungan bromelain antarkultivar nenas yang banyak ditanam di Indonesia pada tingkat kematangan penuh. Selain itu, penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh semipurifikasi pada rendemen dan tingkat kemurnian

## METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah akuades bebas ion (air demineralisasi) yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Balai Penelitian Agroklimat, limbah padat pengalengan nenas (mahkota, kulit dan batang) Smooth cayenne, Queen bogor dan Liar didapatkan dari kebun percobaan IPB Pasirkuda Ciomas Bogor, kasein,  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$  (*ammonium sulphate*),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (*pottasium di-hydrogen phosphate*),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (*di-pottasium hydrogen phosphate*), NaOH, HCl, sistein (*L-cysteine hydrochloride monohydrate*), tirosin, EDTA (*ethylene diaminetetra acetic acid*), TCA (*tri chloroacetic acid*),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , pereaksi folin-Ciocalteu.

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas pyrex, pisau, stopwatch, tabung mikro 1,5 ml (Axygen), mikropipet ukuran 200  $\mu\text{l}$  dan 1000  $\mu\text{l}$  (Gilson, Pipetman), sarung tangan karet, blender (Miyako, tipe kuat), kain blacu, neraca analitik (Ohaus, tipe Adventurer), sudip, pHmeter (Hanna, tipe pH213 Microprocessor), penangas air (Memmert, tipe WB-10), spektrofotometer UV (Genesys 10), spektrofotometer Vis (Spectronic 21), pengaduk magnetik dengan pemanas (Thermolyne, tipe Cimarec 2), sentrifus (Sigma, tipe Kubota 1-13), sentrifus berpendingin (Jouan, tipe CR 3i), pengocok vortex, lemari pendingin (Mitsubishi, tipe MR 14764), mesin *Freeze Dryer* (Edwards, tipe Modulyo).

### Tata kerja

Limbah padat pengalengan nenas seperti mahkota, kulit, dan batang nenas dipotong-potong dan ditambahkan akuades bebas ion (dingin) lalu diblender. Filtrat

yang didapatkan didinginkan terlebih dahulu lalu disentrifus. Terhadap ekstrak kasar nenas ditentukan kadar protein dengan Metode Wargburg-Christian. Selain itu juga dilakukan penentuan asam nukleat, aktivitas bromelain dan aktivitas spesifik bromelain. Untuk mengetahui hubungan tingkat kematangan dengan aktivitas spesifik bromelain pada nenas Smooth Cayenne, dilakukan uji aktivitas spesifik pada tiga jenis kematangan (0, 50, dan 100%). Aktivitas bromelain beberapa kultivar nenas pada tingkat kematangan nenas 100% diukur pada ketiga jenis kultivar. Aktivitas diukur setelah pemekatan protein dengan pengendapan amonium sulfat. Semipurifikasi bromelain dilakukan pada cv. Smooth Cayenne dengan tingkat kematangan 100%. Tahapan semipurifikasi meliputi ekstraksi, pemekatan dengan pengendapan amonium sulfat, dialisis, dan liofilisasi.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan. Untuk aktivitas bromelain dengan tingkat kematangan nenas pada cv. Smooth Cayenne, perlakuan yang diamati adalah tingkat kematangan eksternal dengan interval 50% dan sebagai ulangan adalah buah nenas. Sampel yang digunakan adalah Smooth Cayenne 0%, Smooth Cayenne 50%, dan Smooth Cayenne 100%. Kemudian jika terdapat bukti ada ragam yang berbeda nyata dari hasil analisis sidik ragam akan dilakukan uji lanjut dengan Uji Perbandingan Berganda Duncan (DMRT) taraf 5% untuk melihat perbedaan antarperlakuan. Untuk aktivitas bromelain dari 3 (tiga) kultivar nenas pada tingkat kematangan nenas 100%, perlakuan adalah kultivar nenas pada tingkat kematangan 100% dan sebagai ulangan adalah buah nenas. Sampel yang digunakan adalah Smooth Cayenne 100%, Queen Bogor 100%, Queen Merah 100%. Kemudian jika terdapat bukti ada ragam yang berbeda nyata dari hasil analisis sidik ragam akan dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ, *Honest Significance Difference*) dengan taraf 5% untuk melihat perbedaan antarperlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HUBUNGAN TINGKAT KEMATANGAN DENGAN AKTIVITAS BROMELAIN PADA NENAS CV. SMOOTH CAYENNE

#### Aktivitas Bromelain

Aktivitas enzim protease dinyatakan dalam satuan unit/ml. Satu unit protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk menghidrolisis satu mikromol ekivalen tirosin. Dengan demikian, nilai aktivitas dapat mencerminkan jumlah enzim.

Berdasarkan hasil percobaan aktivitas bromelain pada tingkat kematangan 0% merupakan nilai aktivitas paling tinggi seperti yang terlihat pada Tabel 1. Akan tetapi berdasarkan analisis ragam ANOVA yang diolah dengan piranti lunak program SAS, diperoleh P perlakuan tidak lebih kecil dari  $\alpha$  ( $\alpha = 0,05$ ) artinya tidak ditemukan cukup bukti untuk menyatakan ada perbedaan yang nyata nilai aktivitas bromelain antartingkat kematangan buah.

**Tabel 1** Aktivitas bromelain limbah padat pengalengan nenas Smooth Cayenne pada tingkat kematangan 0%, 50% hingga 100%

Tingkat Kematangan	Aktivitas (unit/ml)
0%	7.80 ± 3.53
50%	4.68 ± 3.96
100%	5.05 ± 3.24

Balls *et al.* (1941) diacu dalam Brances (1995) [6] menyatakan tidak terjadi pengurangan bromelin dalam pematangan nenas, walaupun ada hanya dalam jumlah yang sangat sedikit. Beda halnya dengan laporan Tisseau (1976) diacu dalam Brances (1995) [6] yang menyatakan terjadi penghilangan bromelin pada buah nenas yang sudah matang. Hasil yang senada juga didapatkan oleh Moora & Caygill pada tahun 1979 [8] yang melaporkan terjadi pengurangan sekitar setengahnya.

Pengurangan bromelin pada nenas yang telah matang juga didukung dari hasil Diaz *et al.* (1983) [9] yang melakukan pengukuran aktivitas pada beberapa varietas dengan rerata pengurangan sebesar 75% atau tersisa sebesar 0,25 kali.

Adapun hasil yang didapatkan dalam penelitian ini cenderung mengarah kepada pendapat Balls *et al.* [13] yaitu tidak terjadi

pengurangan bromelin pada saat buah nenas telah matang, walaupun ada sangat sedikit.

#### Aktivitas Spesifik Bromelain

Berdasarkan hasil percobaan, seperti terlihat pada Tabel 2, aktivitas spesifik bromelain paling tinggi terdapat pada nenas cultivar Smooth Cayenne yang tingkat kematangannya 0% atau masih di fase awal pemasakan dengan nilai aktivitas 1.96 unit/mg. Akan tetapi berdasarkan uji ragam nilai tengah, diketahui aktivitas spesifik bromelain tidak dipengaruhi secara nyata oleh tingkat kematangan buah pada taraf  $\alpha$  0.05. Meskipun begitu, nilai F hitung dari perlakuan tingkat kematangan yang didapatkan bisa dikatakan tidak terlalu jauh dengan nilai taraf 0.05, yaitu 0.0783. Hal ini berarti aktivitas spesifik bromelain dapat dipengaruhi secara nyata oleh tingkat kematangan buah pada taraf  $\alpha$  0.0784. Selanjutnya, berdasarkan uji lanjut dengan Uji Perbandingan Berganda Duncan (DMRT) taraf 5 % diketahui bahwa aktivitas spesifik nenas tingkat kematangan 0% masih dalam grup Duncan yang sama dengan respons dari nenas dengan tingkat kematangan 50%. Adapun aktivitas spesifik nenas tingkat kematangan 50% juga terdapat dalam grup Duncan yang sama dengan respons dari nenas dengan tingkat kematangan 100%. Perbedaannya, aktivitas spesifik nenas tingkat kematangan 0% tidak dalam grup Duncan yang sama dengan respons dari nenas dengan tingkat kematangan 100% (respons pada kedua taraf berbeda nyata dengan perlakuan).

**Tabel 2** Aktivitas spesifik bromelain limbah padat pengalengan nenas Smooth cayenne pada tingkat kematangan 0%, 50% hingga 100%

Tingkat Kematangan	Aktivitas Spesifik (unit/mg)	Grup Duncan (akibat perlakuan)
0%	1.96 ± 0.84	A
50%	0.97 ± 0.40	A B
100%	0.73 ± 0.29	B

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama adalah tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Tingginya aktivitas spesifik bromelin pada tahap awal pemasakan buah (tingkat kematangan 0%) diduga kuat untuk menjamin ketersediaan asam amino untuk

mendukung kondisi pemasakan buah [10]. Jumlah relatif protease yang besar di awal masa pemasakan juga diduga untuk mendukung perubahan tekstur buah supaya dapat menjadi lebih lunak pada saat buah masak penuh sehingga mendukung kedapatmakanan buah masak oleh hewan yang pada akhirnya membantu penyebaran alami tumbuhan. Selain itu, jumlah protease yang tinggi mengarahkan hewan herbivora untuk tidak memakan buah yang masih belum masak [2].

Berdasarkan hasil pengamatan, besar aktivitas spesifik nenas pada tingkat kematangan penuh adalah sebesar  $0.43 \pm 0.24$  kali dari besar aktivitas spesifik awal (Tabel 2)

### PENENTUAN AKTIVITAS BROMELAIN BEBERAPA VARIETAS NENAS PADA TINGKAT KEMATANGAN 100%

#### Aktivitas Bromelain

Berdasarkan hasil percobaan seperti terlihat pada Tabel 3, aktivitas bromelain paling tinggi dari kultivar nenas dengan tingkat kematangan yang sama (100%) adalah pada nenas Queen Bogor dengan nilai aktivitas 8.93 unit/ml. Berdasarkan uji ragam nilai tengah, diperoleh bahwa aktivitas bromelain tidak dipengaruhi secara nyata ( $P > 0.05$ ) oleh kultivar nenas. Meskipun begitu, nilai F hitung dari perlakuan tingkat kematangan yang didapatkan bisa dikatakan tidak terlalu jauh dengan nilai taraf 0.05 yaitu 0.0783. Hal ini berarti aktivitas spesifik bromelain dapat menjadi berbeda secara nyata pada taraf  $\alpha$  7.84% atau 0.0784.

**Tabel 3.** Aktivitas limbah padat pengalengan nenas dari cv. Smooth Cayenne, Queen Bogor dan Queen Merah pada tingkat kematangan luar 100%

Kultivar	Aktivitas (unit/ml)
Smooth Cayenne	6.63 ± 3.43
Queen Bogor	8.93 ± 2.67
Queen Merah	3.40 ± 1.58

#### Aktivitas Spesifik

Aktivitas spesifik bromelain paling tinggi dari kultivar nenas dengan tingkat kematangan yang sama (100%) adalah pada nenas Smooth Cayenne dengan nilai aktivitas spesifik sebesar 0.73 unit/mg

(Tabel 4). Nilai-nilai ini tidak terlalu berbeda nyata baik seperti yang terlihat ataupun secara statistik. Dengan demikian, berdasarkan uji ragam nilai tengah, aktivitas spesifik bromelain tidak dipengaruhi secara nyata ( $P > 0.05$ ) oleh kultivar nenas.

**Tabel 4** Aktivitas spesifik limbah padat pengalengan nenas dari cultivar Smooth Cayenne, Queen Bogor, dan Liar pada tingkat kematangan luar 100%

Kultivar	Aktivitas Spesifik (unit/mg)
Smooth Cayenne	0.73 ± 0.29
Queen Bogor	0.59 ± 0.18
Queen Merah	0.57 ± 0.36

**Semipurifikasi Bromelain dari Homogenat Limbah Padat Pengalengan Nenas**

Semipurifikasi bromelain dilakukan pada nenas Smooth Cayenne dengan tingkat kematangan 100% karena secara umum, pemanfaatan nenas dilakukan pada saat nenas matang. Tahapan semipurifikasi meliputi ekstraksi, pemekatan dengan pengendapan amonium sulfat, dialisis dan liofilisasi. Hasil dari percobaan terangkum dalam Tabel 5.

Nilai tingkat kemurnian didapatkan dari membandingkan aktivitas spesifik setelah perlakuan dengan nilai aktivitas spesifik larutan asal (ekstrak kasar) dalam bentuk nisbah. Selanjutnya, persen hasil adalah persen perbandingan jumlah aktivitas yang didapatkan dari perlakuan yang dihindangkan terhadap jumlah aktivitas larutan asal (ekstrak kasar). Pemekatan protein nenas dengan pengendapan amonium sulfat 70% menghasilkan peningkatan

kemurnian bromelain sebesar 4,4 kali yang dengan persen hasil sebesar 49,1%. Nilai tersebut berarti hanya kurang lebih setengah dari protein yang terkandung dalam ekstrak kasar yang dapat terendapkan dengan penambahan amonium sulfat.

Pada pemekatan protein dengan pengendapan amonium sulfat, penurunan persentase hasil diduga karena masih ada protein yang belum terendapkan. Efek yang terjadi akibat penambahan amonium sulfat dalam larutan protein adalah penurunan tingkat kelarutan protein, bukan penghilangan. Jadi masih terdapat kemungkinan ada protein yang tidak terendapkan. Hal ini berarti konsentrasi amonium sulfat 70% kurang baik dalam mendapatkan persentase hasil yang tinggi.

Berdasarkan nilai kemurnian, nilai kemurnian bromelin yang didapatkan naik sebesar 4,4 kali yang berarti banyak protein non bromelin yang tidak terendapkan. Selain itu, pengendapan mampu memisahkan protein dengan pengotor misalnya asam nukleat.

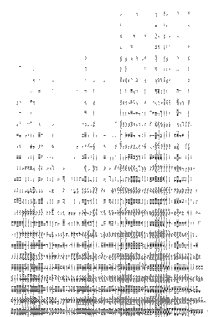
**Pengurangan Kandungan Asam Nukleat**

Pengendapan protein dengan amonium sulfat selain efektif untuk mengkonsentrasikan protein, berfungsi pula menghilangkan pengotor, dalam hal ini asam nukleat. Asam nukleat sebagai pengotor akan menambah viskositas larutan protein yang dapat mengganggu proses pemurnian selanjutnya[11].

Asam nukleat tidak terendapkan oleh penambahan amonium sulfat seperti halnya yang terjadi pada molekul protein. Dengan begitu, asam nukleat akan tertinggal di supernatan setelah larutan protein yang telah ditambahkan amonium sulfat disentrifus.

**Tabel 5** Semipurifikasi bromelain dari limbah padat Smooth Cayenne matang 100%

Tahap Purifikasi	Volume (mL)	Aktivitas Proteolitik (U/mL)	Aktivitas Total (Unit)	Kadar Protein (mg/mL)	Total Protein (mg)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)	Hasil (%)	Tingkat Kemurnian (n-kali)
Ekstrak kasar	25.0	1.68	41.90	6.73	168.18	0.25	100	0.0
Pengendapan	2.0	10.28	20.56	9.49	18.98	1.08	49,1	4,4
Dialisis		5,64	11,29	6,09	12,17	0,93	27,0	3,7
Liofilisasi	10.0	0.81	8.09	1.08	10.79	0.75	19.3	3.0



Berdasarkan hasil pengamatan, yang terangkum dalam Tabel 6, pengurangan kandungan asam nukleat terbesar didapatkan pada sampel Smooth cayenne dengan nilai pengurangan sebesar 82,51%. Adapun nilai pengurangan asam nukleat dari kultivar Queen Bogor dan Liar hampir sama yaitu 66,07% dan 64,97%. Masih terdapatnya sejumlah asam nukleat di suspensi endapan protein hasil pemekatan dengan amonium sulfat diduga dikarenakan ada asam nukleat yang terjerap pada molekul protein sehingga ikut terbawa dalam endapan.

**Dialisis**

Tahapan selanjutnya, larutan protein yang diperoleh dari pengendapan dengan amonium sulfat 70% didialisis. Dialisis dilakukan untuk menghilangkan garam amonium sulfat dari tahapan pengendapan dan juga kemungkinan keberadaan ion logam yang mengganggu aktivitas proteolitik. Dialisis menghasilkan peningkatan kemurnian bromelain sebesar 3,7 kali lipat dengan persentase hasil 27,0%. Dengan hasil ini, tidak didapatkan peningkatan kemurnian bila dibandingkan dengan tingkat kemurnian yang telah diperoleh pada tahapan sebelumnya yaitu pengendapan protein dengan amonium sulfat (kemurnian 4,4 kali). Penurunan nilai tingkat kemurnian diduga disebabkan ada bromelain yang rusak/terdenaturasi akibat autodeteriorasi yang berpeluang besar terjadi pada protease dalam larutannya. Enzim yang inaktif tetap akan terdeteksi sebagai protein sehingga penurunan nilai aktivitas spesifik mengingat aktivitas spesifik adalah nisbah aktivitas enzimatis terhadap kadar protein. Adapun penurunan persentase hasil pada tahapan selanjutnya dalam sebuah rangkaian pemurnian merupakan gejala yang normal.

**Liofilisasi**

Larutan protein hasil dialisis diliofilisasi. Larutan protein ditempatkan dalam erlenmeyer sehingga luas permukaannya meningkat. Luas permukaan ini menjadi area evaporasi air. Suhu -50°C menyediakan kondisi stabil terhadap materi biologis. Es yang terbentuk dari air sebagai pelarut dalam larutan protein menyublim dan terpompa keluar dari erlenmeyer

Dari tahapan ini, dihasilkan peningkatan kemurnian bromelain sebesar 3,0 kali lipat dengan persen hasil sebesar 19,3%. Pada hasil liofilisasi terjadi yang sama dengan hasil dialisis, yaitu penurunan kemurnian terhadap tahapan sebelumnya (dialisis). Berdasarkan hasil ini, diduga penurunan disebabkan protein yang tidak terkoleksi serta kerusakan protein. Dengan demikian, hasil pengamatan ini memberikan informasi kemungkinan kerusakan yang terjadi pada sampel hasil liofilisasi.

**Evaluasi Tahapan Semipurifikasi**

Secara keseluruhan, dari hasil-hasil tersebut di atas terlihat bahwa pengendapan protein dengan amonium sulfat menghasilkan peningkatan kemurnian yang paling besar, tingkat kemurnian pada tahapan selanjutnya (dialisis dan liofilisasi), dalam penelitian ini, seperti yang terilustrasikan dalam Gambar 1, lebih rendah dibandingkan tingkat kemurnian dengan pengendapan amonium sulfat. Semipurifikasi merupakan kegiatan berurutan sehingga sebuah tahapan akan berpengaruh ke tahapan selanjutnya. Persen hasil dari pengendapan amonium sulfat yang tidak tinggi (49,1%) berpengaruh ke tahapan selanjutnya, yaitu hasil yang terlalu rendah. Sehubungan dengan hal tersebut, semakin kecilnya hasil pada tahapan semipurifikasi merupakan suatu kewajaran.

**Tabel 6.** Pengurangan kandungan asam nukleat melalui pengendapan protein

Pengendapan Protein pada Kultivar	Volume (mL)	Kadar Asam Nukleat (ug/mL)	Total (ug)	Pengurangan (%)
<b>Sebelum pengendapan</b>				
Smooth Cayenne	25	1686.58	42164.59	
Queen Bogor	25	1352.58	33814.56	
Queen Merah	25	700.34	17508.54	
<b>Setelah pengendapan</b>				
Smooth Cayenne	10	737.62	7376.16	82.51
Queen Bogor	10	1147.38	11473.81	66.07
Queen Merah	10	613.26	6132.55	64.97

Pada pemekatan protein dengan pengendapan amonium sulfat, penurunan persen hasil diduga karena masih ada protein yang belum terendapkan. Efek yang terjadi akibat penambahan amonium sulfat dalam larutan protein adalah penurunan tingkat kelarutan protein, bukan penghilangan. Jadi masih terdapat kemungkinan ada protein yang tidak terendapkan. Hal ini berarti konsentrasi amonium sulfat 70% kurang baik dalam mendapatkan persen hasil yang tinggi.

Berdasarkan nilai kemurnian, nilai kemurnian bromelain yang didapatkan naik sebesar 4,4 kali yang berarti banyak protein non-bromelain yang tidak terendapkan. Selain itu, pengendapan mampu memisahkan protein dengan pengotor misalnya asam nukleat.

Persen hasil dan tingkat kemurnian dalam pengendapan dengan amonium sulfat, merupakan dua nilai yang tidak bisa seiring sejalan, oleh karena itu kedua nilai harus dikompromikan. Jika bahan sumber enzim bernilai tinggi atau sulit didapatkan maka biasanya difokuskan untuk mendapatkan hasil sebesar-besarnya tanpa terlalu memperhatikan tingkat kemurnian. Dengan begitu, tingkat kemurnian dikorbankan untuk mendapatkan hasil yang tinggi. Sebaliknya, apabila bahan sumber enzim cukup berlimpah maka hasil dapat dikorbankan untuk mendapatkan tingkat kemurnian yang tinggi [12].

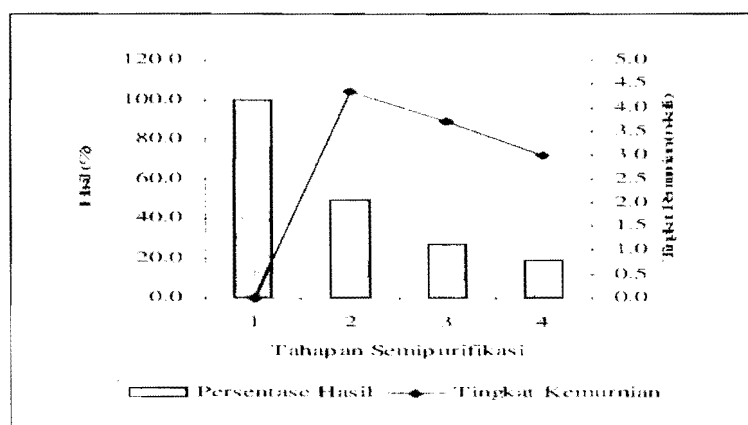
Perlakuan-perlakuan setelah tahapan pengendapan amonium sulfat adalah bukan perlakuan yang akan meningkatkan

nilai kemurnian secara mencolok pada bromelain melainkan sebatas penghilangan pengotor (dialisis) dan juga pelarut (liofilisasi). Kenyataannya disebabkan faktor waktu proses yang lebih panjang, memberikan peluang lebih besar terjadinya kerusakan bromelain (terdegradasi ataupun terdenaturasi) selama proses semipurifikasi. Peningkatan nilai kemurnian secara mencolok lebih dimungkinkan didapatkan dengan fraksinasi isolat protein seperti kromatografi kolom.

Penentuan kadar protein tidak membedakan protein bromelain yang aktif dengan yang sudah inaktif. Kedua jenis protein itu dianggap sama saja, yaitu molekul protein. Sementara itu, perbedaan aktif-inaktif terlihat dari hasil uji aktivitas enzim. Bila pada sampel sudah terdapat banyak enzim yang rusak, maka aktivitasnya rendah. Di lain sisi, kadar protein tidak banyak berubah kecuali pengurangan jumlah dari yang tidak terkoleksi. Akibatnya, pada perhitungan aktivitas spesifik sampel hasil purifikasi, didapatkan hasil yang rendah.

Penurunan hasil juga terjadi pada persentase hasil dari masing-masing tahapan semipurifikasi. Hal ini berarti, semakin panjang tahapan perlakuan, jumlah enzim yang didapatkan semakin rendah.

Panjangnya tahapan pemurnian juga menambah peluang terjadinya endapan protein yang tidak terkoleksi, seperti menempelnya endapan protein pada alat-alat kaca sehingga memuat nilai tingkat kemurnian menurun.



Gambar 1. Persen hasil dan tingkat kemurnian bromelain dari tahapan semipurifikasi (1 = ekstrak kasar, 2 = pemekatan, 3 = dialisis, 4 = liofilisasi)



## KESIMPULAN

Kandungan bromelain nanas cultivar Smooth Cayenne pada tingkat kematangan yang berbeda nyata (berbeda nyata). Sementara itu konsentrasi enzim (dari total protein) yang berbeda dari nilai aktivitas spesifik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $\alpha > 5$ ). Aktivitas spesifik bromelain paling tinggi ditunjukkan oleh nanas Smooth Cayenne pada tingkat kematangan penuh. Semakin bertambah tingkat kematangan, semakin rendah aktivitas spesifik bromelain. Selanjutnya kandungan bromelain ketiga cultivar nanas (Smooth Cayenne, Queen Bogor, dan Queen merah) pada tingkat kematangan penuh (100%), tidak berbeda nyata. Konsentrasi enzim dari total protein yang dituga dari nilai aktivitas spesifik juga berbeda nyata ( $\alpha > 0,05$ ). Nilai aktivitas spesifik bromelain pada kultivar nanas Smooth Cayenne, Queen Bogor dan Liar secara berturut-turut adalah 0,7345 , 0,5894 , dan 0,5712 unit/mg. Pemekatan protein nanas dengan pengendapan amonium sulfat 70% menghasilkan peningkatan kemurnian bromelain sebesar 4,4 kali lipat. Dialisis menghasilkan peningkatan kemurnian bromelain sebesar 3,7 kali lipat dan liofilisasi menghasilkan peningkatan kemurnian bromelain sebesar 3,0 kali. Semakin panjang tahapan perlakuan, jumlah enzim yang didapatkan semakin rendah. Perlakuan yang bersifat tidak memisahkan (fraksinasi) isolat protein yang telah didapatkan cenderung menurunkan persentase hasil dan juga tidak meningkatkan tingkat kemurnian.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Pusat Pengkajian Buah-buahan Tropikal Institut Pertanian Bogor yang telah memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. DIAPARI D., Studi degradasi enzim bromelain dalam rumen ternak domba. [Tesis] Bogor: Program Studi Ilmu Ternak Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 1997
2. MAURER HR. BROMELAIN: biochemistry, pharmacology and medical use. *CMLS. Cell Mol Life Sci* 58:1234-1245.

3. KURNIAWAN F. Sari buah nanas kaya manfaat: Alternatif meningkatkan nilai ekonomis hasil panen. Sinar Tani. Edisi 13. BPTP Sumatera Selatan. 2008.
4. IERDYASTUTI N. Isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar enzim bromelin dari batang nanas (*Ananas comusus L. merr.*). *Berk.Penel.Hayati*: 12 (1):75-77, 2006
5. CORONEI RE, VERHEIJ EW. Buah-buahan yang dapat dimakan. PROSEA. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. 1991
6. BRANCHES I, MIRANDA M. Industrial production of bromelain from remaining portions of pineapple. Braga: University of the Minho, 1995.
7. TISSEAU R. *Proteolytic activity of pineapple used for canning and its waste products.* *Fruits*, 31 (6) 373-378. dalam Branches, Ines & Mário Miranda 1995. *Industrial production of Bromelain from Remaining portions of Pineapple* Braga: University of the Minho, 1976.
8. MOORE DJ, CAYGILL IC. Proteolytic activity of Malaysian pineapples. *Trop.Sci* 21:97-102, 1979.
9. DIAZ RN. Some characteristics of the chemical composition and general quality of the Red Spanish and PR 1-67 pineapple varieties. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 67:507-513, 1983.
10. MAGGY, T. *Protease*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, 1992.
11. CHAPLIN MF, BUCKE C. *Enzyme Technology*. Great Britain: Cambridge University Press, 1990.
12. SCOPES RK. Protein purification: principles and practice. Ed ke-2 New York: Springer Verlag, 1987.
13. BALLS, A K, THOMPSON, R R & KIES, M W. *Bromelin properties and commercial production. Industrial and Engineering Chemistry*, 950:953 dalam Branches, Ines & Mário Miranda 1995. *Industrial production of Bromelain from Remaining portions of Pineapple*. Braga: University of the Minho, 1941.
- 14.

Feb 2005]

