

**AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM BROMELAIN KASAR  
MAHKOTA BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr.)**

**SKRIPSI**

diajukan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana (S1)  
pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univesitas Al-Ghifari

**Oleh:**

**NURUL FATIMAH**

**D1A140887**



**UNIVERSITAS AL-GHIFARI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**JURUSAN FARMASI**

**BANDUNG**

**2018**

## LEMBAR PENGESAHAN

**JUDUL** : **AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM BROMELAIN  
KASAR MAHKOTA BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.)  
Merr.)**

**PENYUSUN** : **NURUL FATIMAH**

**NIM** : **D1A140887**

Setelah membaca skripsi ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami telah memenuhi persyaratan ilmiah sebagai suatu skripsi



Bandung, Oktober 2018

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Nyi Mekar Saptarini, M.Si., Apt.

Irma Erika Herawati, M.Si., Apt.

## KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr.Wb.

Puji serta syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas berkat rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas hasil skripsi yang berjudul **”Aktivitas Dan Stabilitas Enzim Bromelain Kasar Mahkota Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)”**.

Adapun penulis hasil skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Al-Ghifari, Bandung.

Dalam penyusunan hasil skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penulis dapat menyelesaikan hasil skripsi, terutama kepada

1. Bapak Dr. H Didin Muhafidin, S.I.P.,M.Si. selaku Rektor Universitas Al-Ghifari Bandung.
2. Bapak Ardian Baitariza, M.Si.,Apt selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Jurusan Farmasi Universitas A-Ghifari.
3. Ibu Ginayanti Hadisoebroto, M.Si.,Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Jurusan Farmasi Universitas Al-Ghifari.

4. Orang tua tersayang, Bapak Ayi Saepuloh & Ibu Yati Karyati, serta R.Rukky Muhamad Nugraha yang telah memberikan do'a restu, dukungan moral dan materil.
5. Ibu Dr. Nyi Mekar Saptarini, M.Si., Apt. selaku pembimbing I dan ibu Irma Erika Herawati, M.Si., Apt.selaku pembimbing II yang selalu membimbing , memberi dukungan, dan mendampingi hingga selesai skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Jurusan Farmasi Universitas Al-Ghifari khususnya angkatan 2014 terima kasih untuk kebersamaannya, motivasi, dan semangat selama ini.
7. Teman seperjuangan Siti Nurjanah terimakasih atas kerjasamanya dalam bentuk pikiran, kekompakan dan kebaikan kalian hingga selesainya skripsi ini.
8. Teman-teman dekat Rina, Iswan, Mizani, Anisa, Ulfah, Netti, dan Risna terima kasih sudah selalu mendukung dan memberikan semangat. Serta semua pihak yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan dari skripsi ini. Harapan dari penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi rekan-rekan mahasiswa-mahasiswi dan pembaca.

Bandung, Oktober 2018

Penulis

## ABSTRAK

Bromelain merupakan jenis enzim protease sulfhidril yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino. Enzim bromelain merupakan enzim proteolitik yang terdapat pada tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) . Pengolahan buah nanas selalu meninggalkan limbah. Umumnya limbah nanas berupa batang, mahkota buah, kulit, dan bonggol yang belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian aktivitas dan stabilitas enzim bromelain kasar dari mahkota buah nanas perlu dilakukan karena merupakan salah satu alternatif pemanfaatan limbah nanas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap stabilitas enzim bromelain kasar. Enzim bromelain diekstraksi dari mahkota buah nanas untuk menghasilkan ekstrak kasar bromelain, melalui pengendapan dengan etanol 96% (1:4). Pada penelitian ini dilakukan dua variasi kondisi yaitu, suhu ruang dan suhu 40°C RH 75% dengan variasi lama penyimpanan adalah 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, dan 42 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim bromelain kasar mengalami penurunan aktivitas. Semakin lama waktu penyimpanan maka aktivitas ekstrak bromelain kasar semakin menurun. aktivitas ekstrak bromelain kasar pada suhu ruang hari ke-0 adalah 100% dengan aktivitas sebesar 7,718 UI/mL setelah penyimpanan hari ke-42 menjadi 3,92% dengan aktivitas sebesar 0,303 UI/mL. aktivitas pada suhu 40°C RH 75% hari ke-0 adalah 7,718 UI/mL setelah hari ke 42 menjadi 0%.

**Kata kunci :** Mahkota buah nanas, Enzim bromelain, suhu, stabilitas, aktivitas, lama penyimpanan

## ABSTRACT

*Bromelain is a type of protease enzyme sulphhydryl capable of hydrolyzing peptide bonds on proteins into smaller molecules of amino acids. Bromelain is proteolytic enzyme contained in pineapple (Ananas comosus (L.) Merr). In the processing of pineapple fruit, always leave enough waste. General pineapple waste from the form of stems, crown, and skins that have not been utilized optimally. Information about the existence of bromelain enzyme in the fruit crown has never been reported. So research activity and stability of bromelain enzyme to be done because it is one of the alternatives in the utilization of pineapple waste. This research aims to determine the effect of temperature and storage time on the stability of bromelain enzyme. bromelain enzyme has been extracted from the pineapple crown to produce crude extract bromelain, by precipitated alcohol 96% (1:4). In this research two conditions variations this is, room temperature and temperature 40°C RH 75% with storage time were 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, dan 42 day. The results showed that crude extract bromelain had decrease activity. The longer the storage time then the bromelain activity will decrease, with % activity of crude extract bromelain of room temperature of day 0 is 100% with activity is 7,718 UI/mL. After day 42 storage to 3,92% with activity is 0,303 UI/mL. And % activity at temperature of 40°C RH 75% on day 0 is 100% with activity is 7,718 UI/mL. after day 42 to 0%.*

**Key word:** *the pineapple crown, bromelain enzyme, temperature, stability, activity, storage time*

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Metodologi Penelitian .....	4
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.).....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Nanas.....	5
2.1.2 Kegunaan Tanaman Nanas.....	6
2.1.3 Morfologi Tanaman Nanas.....	7
2.2 Enzim Protease.....	8
2.2.1 Pengertian Enzim Protease.....	8
2.2.2 Sumber – Sumber Enzim Protease.....	10
2.2.3 Aplikasi Enzim Protease.....	10
2.3 Enzim Bromelain.....	12
2.3.1 Khasiat Enzim Bromelain dalam Tanaman Nanas .....	14
2.4 Sentrifugasi.....	16
2.5 Spektrofotometri UV-Visibel.....	16
2.3.1 Instrumentasi Spektrofotometri UV-Visibel.....	17
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	19
3.1 Alat yang Digunakan dan Bahan .....	19
3.2 Bahan yang Digunakan .....	19
3.3 Metodologi Penelitian.....	20
3.3.1 Pengumpulan Tanaman dan Determinasi buah nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.).....	20
3.3.2 Isolasi Enzim Bromelain .....	20
3.3.4 Pembuatan Kurva Standar Tirosin .....	20
3.3.5 Uji Kualitatif Enzim Bromelain .....	21
3.3.6 Uji Aktivitas Enzim Bromelain Kasar.....	22
3.3.7 Uji Stabilitas Enzim Bromelain Kasar .....	22

3.3.8 Analisis Data.....	23
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
4.1 Hasil Pengumpulan Tanaman dan Determinasi buah nanas .....	24
4.2 Hasil Isolasi Enzim Bromelain Kasar .....	24
4.3 Hasil Pembuatan Kurva Standar Tirosin .....	25
4.4 Uji Kualitatif Enzim Bromelain Kasar .....	26
4.5 Uji aktivitas dan Stabilitas Enzim Bromelain Kasar.....	28
4.6 Analisis Data .....	32
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>33</b>
5.1 Simpulan .....	33
5.2 Saran.....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>37</b>





## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Komposisi Kimia yang Terkandung pada Buah Nanas Segar dalam 100 g.....	6
2.2 Aplikasi Protease.....	7
2.3 Hubungan antara Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Visibel.....	11
4.1 Absorbansi Standar Tirosin.....	24
4.2 Uji Kualitatif Enzim bromelain kasar.....	25
4.3 Aktivitas Enzim Bromelain Kasar pada Suhu Ruang.....	28
4.4 Aktivitas Enzim Bromelain Kasar pada Suhu 40°C RH 75%.....	29
4.5 Uji Statistik <i>One Way</i> ANOVA pada suhu ruang.....	30
4.6 Hasil Uji Statistik <i>One Way</i> ANOVA pada suhu 40°C RH 75%.....	31



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Tanaman Nanas.....	7
2.2 Diagram Spektrofotometer UV-Vis.....	17
4.1 Kurva Standar Tirosin.....	25
4.2 Grafik Aktivitas Enzim Bromelain Kasar pada Suhu Ruang.....	28
4.3 Grafik Aktivitas Enzim Bromelain Kasar pada Suhu 40° RH 75%.....	29



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
I. DETERMINASI TANAMAN.....	37
II. HASIL ISOLASI ENZIM BROMELAIN KASAR.....	38
III. HASIL UJI KUALITATIF PROTEIN .....	38
IV. PENYIMPANAN ENZIM BROMELAIN KASAR .....	39
V. PERHITUNGAN .....	39



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) merupakan tanaman buah berupa semak, yang termasuk dalam famili *Bromeliaceae*. Buah nanas telah menjadi buah ekspor unggulan Indonesia. Buah nanas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa, dan enzim bromelain. Kandungan kimia yang terdapat dalam kulit nanas antara lain air, serat kasar, karbohidrat, protein, enzim bromelain, gula reduksi, flavonoid dan tanin. Bromelain merupakan unsur pokok dari nanas yang penting dan berguna dalam bidang farmasi dan makanan (Wuryanti, 2004).

Bromelain merupakan enzim proteolitik seperti halnya renin, papain dan fisin yang mempunyai sifat menghidrolisis protein dan menggumpalkan susu. Sifat ini menyebabkan enzim bromelain dapat digunakan sebagai substitusi bagi enzim sejenis lainnya. Enzim proteolitik digunakan dalam industri bir, industri cat, industri obat-obatan, pengolahan daging, penyamak kulit pembuatan konsentrat protein ikan, dan lain-lain (Sebayang, 2006).

Bromelain dapat diperoleh dari tanaman nanas baik dari tangkai, kulit, daun, buah, maupun batang dalam jumlah yang berbeda tetapi bromelin lebih banyak

terdapat pada batang nanas yang selama ini belum dimanfaatkan. Distribusi bromelain pada batang nanas tidak merata dan tergantung pada umur tanaman. Kandungan bromelain pada jaringan yang umurnya belum tua terutama yang bergetah sangat sedikit sekali bahkan kadang-kadang tidak ada sama sekali. Sedangkan bagian tengah batang nanas mengandung bromelin lebih banyak dibandingkan dengan bagian tepinya (Rocky, 2009).

Bromelain berkhasiat membantu pencernaan makanan antiinflamasi, mengangkat sel-sel kulit yang mati serta mengobati penyakit kulit seperti gatal-gatal, eksim dan kudis. Enzim bromelain juga berkhasiat untuk proses penyembuhan luka dan mengurangi pembengkakan dan peradangan di dalam tubuh (Herdyastuti, 2006). Pada bidang farmasi, bromelain banyak digunakan untuk mengobati gangguan saluran cerna seperti susah buang air besar dan khasiat lainnya seperti Inflamasi, mengganggu pertumbuhan sel kanker, mempunyai aktivitas antiplatelet dan fibrinolitik (Ariyanto dan Azhar, 2012)

Bromelain termasuk ke dalam golongan sufrihidil yang mengandung enzim proteolitik. Selain itu juga mengandung peroksida, asam fosfat, beberapa inhibitor protease, dan organik yang mengikat kalsium. Enzim bromelain menghidrolisis protein yang mengandung ikatan peptida menjadi asam amino yang lebih sederhana. Sistein endopeptidase secara khusus memotong ikatan peptida pada gugus karbonil seperti yang ditemukan dalam ariginin atau asam amino aromatik yaitu fenilalanin atau tirosin (Gautam dkk., 2010).

Pengolahan buah nanas selalu meninggalkan limbah yang cukup banyak. Umumnya limbah nanas berupa batang, mahkota buah, kulit, dan bonggol yang belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian aktivitas dan stabilitas enzim bromelain kasar dari mahkota buah nanas perlu dilakukan karena merupakan salah satu alternatif pemanfaatan limbah nanas. Hal ini dapat memberikan nilai tambah limbah mahkota buah nanas disamping mengurangi masalah pencemaran limbah terhadap lingkungan.

### **1.2 Identifikasi Masalah**

Identifikasi dalam penelitian ini adalah bagaimana aktivitas dan stabilitas enzim bromelain mahkota buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) pada suhu ruang dan suhu 40°C RH 75%?



### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dan stabilitas enzim bromelain dari mahkota buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) pada suhu ruang dan suhu 40°C RH 75%.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas dan stabilitas enzim bromelain mahkota buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).

## 1.5 Metodologi Penelitian

Metodologi penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap kerja sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan tanaman
2. Determinasi tanaman
3. Isolasi enzim bromelain kasar mahkota buah nanas
4. Uji kualitatif protein
5. Pembuatan kurva baku tirosin
6. Pengujian aktivitas enzim bromelain kasar mahkota buah nanas
7. Pengujian stabilitas enzim bromelain kasar mahkota buah nanas
8. Analisis Data dengan Analisis Varians ( ANOVA )

## 1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga bulan Juni 2018 di Laboratorium Instrumen, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Al-Ghifari, Bandung.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

Tanaman nanas dengan nama Latin *Ananas comocus* (L.) Merr. merupakan tanaman yang berasal dari Benua Amerika, tanaman tersebut menyebar ke segala penjuru dunia yang beriklim tropis. Pada saat ini tanaman nanas telah tersebar diseluruh dunia, khususnya di negara-negara sekitar garis khatulistiwa antara 30°LU dan 30°LS. Di Indonesia, tanaman nanas sangat di gandrung dan banyak ditanam mulai di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi (Sunarjono, 2008).

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Nanas

Klasifikasi tanaman nanas menurut *Natural Resource and Conservation Service, United State Department of agricultural* (USDA, 2016) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub kelas	: Zingiberidae
Bangsa	: Bromeliales
Suku	: Bromeliaceae



Marga : *Ananas*

Jenis : *Ananas comosus* (L.) Merr.

### 2.1.2 Kegunaan Tanaman Nanas

Nanas merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat pada hampir semua bagiannya, yaitu untuk pangan, pakan, maupun bahan baku industri. Buah nanas memiliki kandungan enzim bromelin yang dapat digunakan untuk melunakkan daging. Bagian daun dapat dibuat tali, kertas, bahkan bahan testil dengan menggunakan seratnya (Sumardi 2014). Komposisi kandungan gizi buah nanas dapat dilihat pada Tabel 2.1.



**Tabel 2.1**  
**Komposisi Kimia yang Terkandung pada Buah Nanas Segar Dalam 100 gram**

No	Kandungan Kimia	Jumlah
1	Kalori	5.200 kalori
2	Protein	0,4 gram
3	Lemak	0,2 gram
4	Kabohidrat	13,7 gram
5	Fosfor	11,0 gram
6	Kalsium	16,0 gram
7	Besi	0,3 gram
8	Vitamin A	130 IU
9	Vitamin B	0,08 mg
10	Vitamin C	24 mg
11	Air	85,3 gram

### 2.1.3 Morfologi Tanaman Nanas



**Gambar 2.1**  
**Tanaman Nanas**

Struktur tanaman nanas terdiri atas dari akar, batang, daun, bunga, dan tunas.

#### 1. Akar

Sistem perakaran pada tanaman nanas tergolong dangkal dan terbatas. Kedalaman tanah tidak lebih dari 30 cm. Selain mempunyai akar tanah, tanaman nanas juga memiliki akar samping yang keluar dari ruas-ruas batang yang kemudian masuk ke dalam tanah.

#### 2. Batang

Tanaman nanas mempunyai batang yang pendek, sehingga dapat ditutupi oleh daun-daunnya. Bentuk batang seperti gada, beruas pendek  $\pm$  5-10 mm. Ruasnya melekat pada daun dan tunas. Bagian bawah batang tanaman nanas dapat ditumbuhi tanaman baru karena dapat menghasilkan tunas baru.

#### 3. Daun

Daun ini merupakan pertumbuhan vegetatif, sehingga pertumbuhan dan perpanjangan pada daun akan terus meningkat seiring bertambahnya umur tanaman.

Daun ini mempunyai 70-85 helai dengan arah tumbuh dari batang ke atas. Permukaan daun bagian atas mengkilap berwarna hijau tua atau coklat kemerah-merahan. Sedangkan pada permukaan daun berwarna keputih-putihan atau keperakan. Ada tidaknya duri pada tepi daun tergantung dengan varietasnya.

#### 4. Bunga

Bunga nanas terdapat pada ujung tangkai yang panjang dan terdiri atas 100-200 kuntum bunga yang saling berhimpit disetiap tangkai. Ukuran bunga yang terbentuk sangat kecil dan tersembunyi di bawah daun pelindung, pembentukan bunga dimulai dasar menuju ke atas dengan lama waktu pembentukan kurang lebih 12-20 hari.

#### 5. Buah

Nanas termasuk ke dalam buah majemuk karena terdiri atas kumpulan buah kecil berjumlah 100-200. Saat bunga mekar bakal biji pada buah nanas berguguran, sehingga sedikit yang menjadi biji pada buah yang telah masak. Ciri-ciri yang dimiliki oleh biji buah nanas yaitu bentuknya yang bulat telur, berwarna coklat, dan berukuran kecil (Sumardi, 2014).

## 2.2 Enzim Protease

### 2.2.1 Pengertian Enzim Protease

Salah satu enzim yang tergolong ke dalam enzim eksoenzim adalah protease. Protease termasuk ke dalam enzim hidrolase karena untuk aktivitasnya membutuhkan air. Protease merupakan enzim yang mengkatalisis hidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi oligopeptida dan asam amino dengan cara memindahkan gugus

fungsional ke air (Poedjiadi dkk, 2009). Protease berperan penting karena esensial dalam proses metabolisme protein, membantu pencernaan protein dalam makanan, menggunakan kembali protein intraseluler sebagai enzim, hormon, serta neurotransmitter. Di dalam sistem pencernaan makanan, keberadaan protease menghasilkan pemecahan ikatan peptida protein menjadi asam-asam amino sehingga mudah diabsorpsi (Moat dkk., 2002).

Beynon (2001) menjelaskan bahwa berdasarkan sisi aktifnya dalam proses pemutusan ikatan peptida protein, enzim protease dibagi menjadi dua yaitu eksopeptidase dan endopeptidase. Eksopeptidase adalah enzim protease yang mengkatalisis ikatan peptida pada ujung-ujung rantai polipeptida dari arah luar, sedangkan endopeptidase adalah enzim protease yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein dari bagian dalam. Berdasarkan mekanisme reaksi dan residu sisi aktifnya, endoprotease digolongkan menjadi empat yaitu (1) protease serin merupakan enzim yang memiliki asam amino serin pada sisi aktifnya dan dapat dihambat oleh fenil metil sulfonil flourida (PMSF) serta diisopropil flouro fosfat (DFP), (2) protease sulfidril atau protease tiol merupakan protease yang memiliki asam amino sistein pada sisi aktifnya, (3) protease asam merupakan enzim yang aktif pada pH asam dan tahan terhadap inhibitor protease serin serta EDTA, (4) protease logam merupakan enzim yang memiliki aktivitas maksimum pada pH netral dan dihambat oleh EDTA (Beynon, 2001).

Aktivitas protease dipengaruhi oleh jumlah enzim atau produk, substrat, kofaktor, koenzim, aktivator, pH dan suhu (Mittal, 2007). Semakin tinggi kandungan

asam amino yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis suatu protein maka aktivitas proteasenya semakin tinggi (Yusriah dan Kuswytasan, 2013).

### 2.2.2 Sumber – Sumber Enzim Protease

Protease dihasilkan dari tiga sumber utama, yaitu tanaman, hewan dan mikroba. Enzim papain, bromelin dan fisin merupakan protease yang dihasilkan dari tanaman. Sedangkan tripsin, kemotripsin, pepsin, dan rennin merupakan protease yang berasal dari hewan. Kelemahan tanaman sebagai sumber protease adalah kesulitan untuk melakukan ekstraksi enzim efisien karena membutuhkan peralatan berat untuk menghancurkan jaringan tanaman yang besar dan keras (Lehninger, 2005). Selain itu, pertumbuhan tanaman terlalu lama untuk produksi enzim skala besar. Produksi protease dari hewan pun sangat terbatas, membutuhkan jumlah hewan dan biaya yang besar karena proses ekstraksi enzim dari jaringan hewan sulit dilakukan. Enzim dari hewan paling banyak digunakan dalam industri pangan adalah kimosin, yaitu pada industri keju. Sedangkan enzim tanaman yang paling banyak digunakan dalam industri pangan adalah papain dan bromelin. Pada tahun 1950-1960, pemanfaatan enzim dari hewan dan tanaman mulai digantikan oleh enzim mikrobial (Nagodawithana dan Reed, 1993).

Mikroba merupakan sumber protease terbaik karena pertumbuhan mikroba relatif cepat dan mudah diatur sehingga mutu enzim yang dihasilkan lebih seragam (Standbury dan Whitaker, 1984). Sebagian besar enzim mikroba yang dihasilkan secara komersial adalah enzim ekstraseluler yang diproduksi di dalam sel dan

dikeluarkan ke cairan lingkungan sekitar tempat sel tumbuh. Lehninger (2005) mengatakan bahwa hal ini merupakan salah satu kelebihan mikroba dibandingkan hewan dan tanaman yang membutuhkan proses penghancuran sel untuk mendapatkan enzim yang diinginkan. Contoh mikroba penghasil enzim yang aman untuk pangan adalah *Aspergillus niger*, *A. orizae*, *A. awamori*, *Mucor miehei*, *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, dan *Saccharomyces cerevisiae* (Nagodawithana dan Reed, 1993).

### 2.2.3 Aplikasi Enzim Protease

Protease memiliki aplikasi yang sangat luas baik secara ekonomi maupun dalam dunia medis. Secara ekonomi, protease memiliki nilai yang tinggi karena aplikasinya yang sangat luas. Industri penggunaan protease diantaranya adalah keju, bir, film, deterjen, kulit, tekstil, hidrolisat protein, pengolahan susu, farmasi, film, dan limbah, sedangkan dalam dunia medis enzim protease digunakan sebagai terapi untuk pengobatan tumor, radang, kelainan darah dan pengaturan kekebalan. Secara spesifik aplikasi protease terlihat pada Tabel 2.1. (Yati dkk., 2011).

**Tabel 2.2**  
**Aplikasi Protease**

No	Protease	Fungsi	Sumber enzim
1	Fisin	Pengempuk daging dan pengawet bir	Getah pohon ficus
2	Papain	Pengempuk daging dan pengawet bir	Getah pepaya
3	Bromelin	Penjernih bir	Nanas
4	Renin	Proses pembuatan keju dan	Lambung anak

		pudding	sapi, domba atau kambing
5	Protease dari kapang	Industri keju	<i>Penicillium roqueforti</i>
6	Protease bakteri	Menghidrolisis kasein, hemoglobin dan gelatin	Enzim subtilin dari <i>B. Subtilis</i> . Di pasaran dikenal dengan nama <i>Subtilin Carlsberg</i> , <i>subtilin Novo</i> , <i>Subtilin BPN</i>
7	Tripsin	Hanya memecah ikatan peptida antara lysine dan arginine	Kelenjar pankreas
8	Kimotripsinogen	Hanya memecah ikatan peptida antara AA aromatic spt. Tirosin, phenilalanin dan tryptophan	Kelenjar pankreas
9	Pepsin	Pencernaan protein di lower track (usus)	Mikroba dalam lambung hewan dan manusia
10	Kolagenase	Menghidrolisis kalogen	<i>Clostridium perfringens</i>
11	Elastase	Menghidrolisis elastin. Elastin memecah ikatan peptide pada AA non-aromatic & tdk bercabang	Pancreas
12	Keratinase	Memecah ikatan disulfida pada keratin yaitu unsur utama wool, rambut, tanduk, kuku, bulu dan sisik ikan	<i>Streptomyces fradiae</i> , <i>Streptomyces microflavus</i>

### 2.3 Enzim Bromelain

Enzim bromelain terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas, protein dalam nanas sekitar setengah bagiannya mengandung protease bromelain. Diantara beberapa jenis buah yang mengandung protease, buah nanas inilah yang merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi pada buah yang sudah matang (Wuryanti,

2006). Jumlah enzim bromelain pada kulit, mahkota dan daun nanas lebih sedikit dibandingkan pada batang atau bonggol nanas.

Enzim bromelain ini dapat diperoleh dalam tanaman nanas dengan cara mengisolasi ekstrak bagian dari tanaman nanas tersebut. Enzim bromelain berbentuk serbuk berwarna putih bening sampai kekuning-kuningan, memiliki bau yang khas, dan dapat larut sebagian dalam aseton, eter, dan  $\text{CHCl}_3$ . Masuk dalam golongan sulfhidril yang mengandung enzim proteolitik, selain itu juga mengandung asam fosfat, peroksida, beberapa protease inhibitor dan organik yang dapat mengikat kalsium (Masri, 2014).

Bromelain adalah salah satu enzim proteolitik atau protease yaitu enzim yang mengkatalisasi penguraian protein menjadi asam amino dengan membangun blok melalui reaksi hidrolisis. Hidrolisis adalah penguraian dari molekul besar menjadi unit yang lebih kecil dengan kombinasi air. Dalam pencernaan protein, ikatan peptide terputus dengan penyisipan komponen air,  $-\text{H}$  dan  $-\text{OH}$ , pada rantai akhir (William dkk., 2002).

Enzim bromelain merupakan suatu enzim endopeptidase yang mempunyai gugus sulfhidril ( $-\text{SH}$ ) pada lokasi aktif. Pada dasarnya enzim ini diperoleh dari jaringan-jaringan tanaman nanas (Supartono 2004). Enzim ini dihambat oleh senyawa oksidator, alkilator dan logam berat. Enzim bromelain banyak digunakan dalam bidang industri pangan maupun nonpangan seperti industri daging kaleng, minuman bir dan lain-lain (Herdyastuti 2006).



### 2.3.1 Khasiat Enzim Bromelin dalam Tanaman Nanas

Enzim bromelain pada buah nanas tersebut dapat menghancurkan protein dalam susu, daging, dan gelatin, sehingga makanan tersebut menjadi berair (Dalimartha dan Adrian, 2011). Khasiat enzim bromelin dari buah nanas bagi kesehatan tubuh manusia antara lain:

1. Menguraikan protein
  2. Antibakteri
  3. Mengurangi peradangan (anti-inflamasi)
  4. Menghambat penggumpalan trombosit
  5. Menghancurkan trombus yang menyumbat pembuluh darah (aktivitas fibrinolitik)
  6. Melarutkan dahak pada saluran nafas seperti pneumonia dan Bronchitis
  7. Menghambat pertumbuhan sel kanker
  8. Membentuk kolagen di kulit, tulang, dan tulang rawan untuk kekuatan tulang
  9. Memperlancar buang air besar bagi penderita sembelit
  10. Memperbaiki penyakit jantung dan pembuluh darah (kardiovaskuler)
- (Dalimartha dan Adrian, 2011)
11. Meningkatkan fungsi paru-paru pada penderita infeksi saluran pernapasan
  12. Menyembuhkan luka bakar
  13. Mengurangi rasa sakit dan pembengkakan karena luka atau operasi
- (Kumaunang dan Kamu, 2011)

Enzim bromelain dapat menurunkan eosinofil sampai setengahnya. Eosinofil adalah bagian sel darah putih yang berhubungan pada tanda alergi, jika jumlahnya semakin meningkat maka dapat diprediksi bahwa adanya alergi, seperti bersin di pagi hari, asma, eksim, dan beri-beri. Penelitian yang dilakukan pada manusia, enzim bromelin dapat diperkirakan mampu meningkatkan penyerapan antibiotik, terutama antibiotik sejenis amoksilin dan tetrasiklin sehingga kadarnya dalam darah meningkat. Walaupun masih harus diteliti lebih lanjut, enzim bromelain tersebut juga mampu meningkatkan kerja obat kemotrapi (antikanker) *5-fluorouracil* dan *vincristine*. Pada beberapa ahli pun diperkirakan bahwa enzim bromelain dapat menyebabkan kantuk dan rasa tenang, sehingga dimanfaatkan sebagai bahan obat seperti antidepresan, diazepam, dan luminal (Dalimartha dan Adrian, 2011). Orang yang mempunyai riwayat kesehatan risiko perdarahan dan yang sedang mengkonsumsi obat sejenis antikoagulan (seperti warfarin dan heparin), obat antiplatelet (aspirin, plavix/clopidogrel), serta obat golongan NSAID atau *obat non-steroid anti-inflamasi* (ibuprofen, naproxen) tidak dianjurkan mengkonsumsi buah nanas berlebihan. Hal tersebut dikarenakan khasiat dari fibrinolitik dan proteolitik dalam enzim bromelain dapat meningkatkan risiko pendarahan dalam tubuh (Dalimartha dan Adrian, 2011).

Manfaat enzim bromelain dalam bidang industri dan manfaat lainnya antara lain : Industri makanan dan minuman, Industri tekstil, Industri kertas, Penjernihan bir, industri farmasi, pengempuk daging, sebagai bahan kontrasepsi KB, industri

kosmetik, produksi hidrolisat protein, pelarutan protein gandum, penyamakan kulit (Masri, 2014).

## 2.4 Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan suatu metode analisis instrumental yang digunakan untuk memisahkan sel atau organel subseluler dan juga untuk pemisahan molekular. Prinsip sentrifugasi berdasarkan fenomena bahwa partikel yang tersuspensi dalam suatu wadah akan mengendap ke dasar wadah tersebut, karena 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)

## 2.5 Spektrofotometri UV-Visibel

Spekrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm (Gandjar dan Rohman, 2012). Sinar pada panjang gelombang tunggal (radiasi monokromatik)

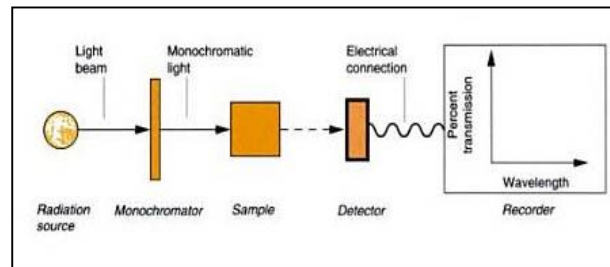
dapat dipilih dari sinar putih (sebagai contoh dengan alat prisma). Warna-warna yang dihubungkan dengan panjang gelombang diringkas pada tabel 2.3 (Gandjar dan Rohman, 2012).

**Tabel 2.3**  
**Hubungan Antara Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Visibel**

Panjang gelombang	Warna yang diserap	Warna yang diamati/ warna komplementer
400 – 435 nm	Ungu (lembayung)	Hijau kekuningan
450 – 480 nm	Biru	Kuning
480 – 490 nm	Biru kehijauan	Orange
490 – 500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560 nm	Hijau	Merah anggur
560 – 580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580 – 595 nm	Kuning	Biru
595 – 610 nm	Orange	Biru kekuningan
610 – 750 nm	Merah	Hijau kebiruan

### 2.3.1 Instrumentasi Spektrofotometri UV-Visibel

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Jika radiasi yang monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya dan sisanya ditransmisikan (Gandjar dan Rohman, 2012). Suatu diagram sederhana spektrofotometer UV-Visibel ditunjukkan oleh gambar 2.2.



**Gambar 2.2**  
**Diagram Spektrofotometer UV-Vis**

Komponen spektrofotometer terdiri atas sumber-sumber sinar, monokromator, dan sistem optik yaitu: (Gandjar dan Rohman, 2012)

- a. Sumber-sumber lampu; lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm)
- b. Monokromator; digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (slit)
- c. Optik-optik; dapat didesain untuk memecahkan sumber sinar sehingga sinar melewati 2 kompartemen, dan sebagaimana dalam spektrofotometer berkas ganda (double beam), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengkoreksi pembacaan atau spektrum sampel.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Alat yang Digunakan dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (Miyako), cawan petri (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), beaker gelas (Pyrex), batang pengaduk, corong (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), pipet tetes, spatel, timbangan, vial coklat, pipet volume (Pyrex), ball pipet, labu ukur (Pyrex), kuvet (Quartz cell), oven, spektrofotometri UV-Vis (shimadzu).



#### **3.2 Bahan yang Digunakan**

Mahkota buah nanas, etanol (Brataco) aquadest, pereaksi Millon,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ , Larutan ninhidrin, tirosin (E-Merck), kasein (E-Merck), asam triklorasetat (TCA) (E-Merck), buffet posfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) pH 6,5

### 3.3 Metodologi Penelitian

#### 3.3.1 Pengumpulan Tanaman dan Determinasi buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Bagian yang digunakan dari nanas adalah mahkota buah nanas setelah umur 12 bulan berasal dari Subang, dibeli dari pasar Gedebage Bandung. Determinasi dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran Jatinangor-Sumedang.

#### 3.3.2 Isolasi Enzim Bromelain

Mahkota daun nanas yang telah dibersihkan dipotong dan diblender sampai halus. Jus mahkota diperas, kemudian disaring. Ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:4 (ekstrak:etanol) dibiarkan selama satu malam pada suhu 10°C agar enzim mengendap. Kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm. Endapan yang diperoleh dikeringkan dengan suhu 40°C (Sebayang, 2006). Penentuan rendemen dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak enzim kasar}}{\text{bobot awal mahkota buah nanas}} \times 100\%$$

#### 3.3.4 Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Sebanyak 20 mg tirosin dilarutkan dalam 100 mL aquades (200 ppm). Kemudian dibuat seri kadar stok tirosin 5, 10, 20, 40, 80 dan 160 ppm. Diencerkan

dengan aquadest dalam labu takar 10 mL. Diukur absorbansi masing-masing larutan tersebut pada panjang gelombang 275 nm dengan spektrofotometer. Diinterpolasikan hasil absorbansi yang diperoleh dengan konsentrasi yang diukur dengan dibuat persamaan liniernya ( Yusriah dan Kuswytasari, 2013).

### 3.3.5 Uji Kualitatif Enzim Bromelain

Setelah ekstrak kasar enzim bromelain diperoleh kemudian dilakukan pengujian protein tujuannya agar mengetahui apakah dalam mahkota buah nanas mengandung protein.

#### 1. Metode Uji Biuret

Sampel sebanyak 1 mL ditambahkan dengan NaOH, kemudian ditambahkan larutan  $\text{CuSO}_4$  encer. Uji memberikan reaksi positif dengan timbulnya warna merah violet atau biru violet. Dengan Uji biuret dilakukan untuk membuktikan adanya molekul-molekul peptida dari protein

#### 2. Metode Millon

Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 3-7 tetes pereaksi Millon. Campuran lalu dipanaskan dengan hati-hati sampai terlihat warna merah yang menunjukkan hasil positif terhadap uji Millon.

#### 3. Metode Uji Ninhidrin

Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes pereaksi ninhidrin. Kemudian dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit. Warna ungu menunjukkan hasil positif adanya asam amino bebas.



### 3.3.6 Uji Aktivitas Enzim Bromelain Kasar

Sebanyak 0,5 ml kasein (10 mg/ml) direaksikan dengan 0,5 mL (3 mg/mL) enzim bromelain kasar mahkota buah dan 2 mL larutan bufer fosfat pH 6,5. Dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Setelah diinkubasi, ke dalam campuran ditambahkan 1 ml larutan asam triklorasetat (TCA) 30%. Diinkubasi lagi pada suhu yang sama selama 5 menit. Kemudian sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh diukur absorbansinya pada panjang gelombang 275 nm menggunakan spektrofotometer UV. Blanko yang digunakan adalah aquadest (Sebayang,2006). Aktivitas enzim bromelain dihitung dengan menggunakan rumus: (Mohan dkk., 2016)

$$\text{Units/ml} = \frac{\mu\text{g/mL (tirosin ekuivalen yang dilepaskan)} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Volume enzim (mL)} \times \text{Waktu Inkubasi.}}$$

### 3.3.7 Uji Stabilitas Enzim Bromelain Kasar

Enzim bromelain kasar disimpan pada suhu ruang dan suhu 40°C RH 75%. Pada hari ke 0, 1, 3, 7, 21, 14, 28, 35, dan 42 dilakukan pengujian aktivitas enzim bromelain kasar menggunakan substrat kasein dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 275 nm.

### 3.3.8 Analisis Data

Analisis dilakukan dengan uji ANOVA (*Analisis of variance*) satu arah (*one way*) untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna pada sampel dengan variasi dua suhu penyimpanan yang berbeda.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Pengumpulan Tanaman dan Determinasi buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Bagian yang digunakan dari nanas adalah mahkota buah nanas setelah umur 12 bulan berasal dari Subang, dibeli dari pasar Gedebage Bandung sebanyak 850 g. Determinasi dengan No.517/HB/02/2018, menunjukkan bahwa tanaman penelitian adalah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).



#### 4.2 Hasil Isolasi Enzim Bromelain Kasar

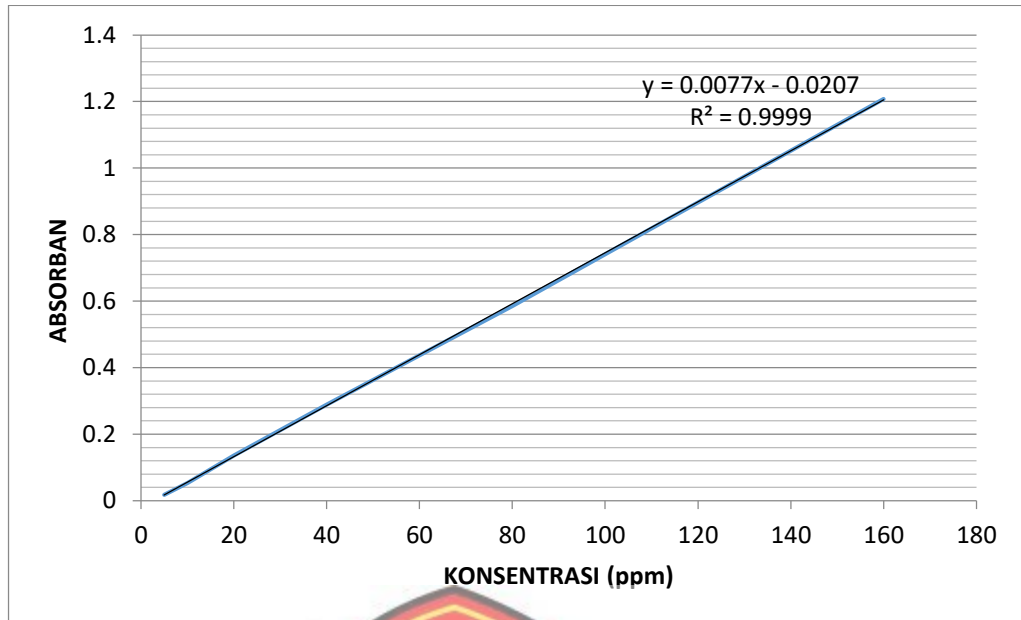
Proses isolasi enzim dilakukan untuk mendapatkan ekstrak enzim bromelain kasar dengan cara pengendapan dengan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:4 (ekstrak:etanol). Gugus fungsional dari alkohol lebih kuat mengikat air sehingga kelarutan protein dalam air berkurang, etanol juga mampu merusak ikatan hidrogen di antara gugus amida yang terdapat dalam struktur protein sehingga protein kehilangan air dan akhirnya mengendap (Awan, 2012). Kemudian dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak kering bromelain kasar. Sebanyak 850 g mahkota buah nanas menghasilkan 2,21 g enzim bromelain kasar dengan rendemen sebesar 0,26%.

### 4.3 Hasil Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Tirosin merupakan asam amino aromatik yang dapat menyerap panjang gelombang 275 nm . Tirosin digunakan sebagai larutan standar dalam uji aktivitas protease untuk mengukur aktivitas enzim bromelain kasar dalam memecah protein menjadi asam amino. Persamaan linier tirosin akan digunakan sebagai kurva standar untuk diinterpolasikan dengan nilai absorbansi yang diperoleh. Nilai korelasi ( $R^2$ ) yang didapat adalah 0,9999, hal ini menunjukkan bahwa hubungan korelasi tersebut linier atau sempurna dengan kemiringan positif.

**Tabel 4.1**  
**Absorbansi Standar Tirosin**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Rata- rata $\pm$ SD
5	0,018	0,020	0,015	0,018 $\pm$ 0,003
10	0,067	0,060	0,034	0,054 $\pm$ 0,017
20	0,143	0,137	0,127	0,136 $\pm$ 0,008
40	0,304	0,286	0,276	0,289 $\pm$ 0,014
80	0,611	0,590	0,555	0,585 $\pm$ 0,028
160	1,240	1,240	1,142	1,207 $\pm$ 0,057



**Gambar 4.1**  
**Kurva Standar Tirosin**

#### 4.4 Uji Kualitatif Enzim Bromelain Kasar

Setelah ekstrak kasar enzim bromelain diperoleh kemudian dilakukan pengujian protein tujuannya agar mengetahui apakah dalam mahkota buah nanas mengandung protein.

**Tabel 4.2**  
**Uji Kualitatif Enzim Bromelain Kasar**  
**Mahkota Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr)**

Uji Kualitatif	Hasil
Uji Biuret	+
Uji Millon	+
Uji Ninhidrin	+

Uji biuret dilakukan untuk membuktikan adanya molekul peptida dari protein. Ikatan peptida merupakan ikatan yang terbentuk ketika atom karbon dari gugus karboksil suatu molekul berikatan dengan atom nitrogen dari gugus amina molekul lain. Reaksi tersebut melepaskan molekul air sehingga reaksi kondensasi. Perubahan warna yang terbentuk pada uji ini dikarenakan adanya dua molekul asam amino yang berikatan dengan peptida yang bereaksi dengan pereaksi iuret . Hasil positif dari uji ini adalah ditandai dengan adanya warna biru violet pada sampel uji hal ini dikarenakan adanya persenyawaan antara  $\text{Cu}^{2+}$  (dari pereaksi biuret) dengan NH dari ikatan peptida dan O dari air. (Winarno, 2008)

Secara spesifik, uji Millon ditunjukkan untuk mengidentifikasi tirosin yang merupakan asam amino dengan gugus fenol pada rantai sampingnya. Warna merah yang terbentuk pada uji ini dikarenakan gugus fenol pada tirosin ternitrasi meembentuk garam merkuri dengan pereksi Millon (Soemardjo, 2009). Warna yang terbentuk kuning dikarenakan protein yang terkandung sedikit dalam ekstrak kasar.

Pemanasan dengan ninhidrin menghasilkan produk berwarna ungu pada semua asam amino yang mempunyai gugus L  $\alpha$ -amino bebas. Ninhidrin merupakan senyawa kimia yang digunakan ntuk mendeteksi gugus amina dalam molekul asam amino. Asam amino bereaksi dengan ninhidrin membentuk aldehida dengan satu atom C lebih rendah dan melepaskan molekul  $\text{NH}_3$  dan  $\text{CO}_2$ .Ninhidrin yang telah bereaksi akan membentuk hidrindantin. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kompleks berwarna biru/keunguan yang disebabkan oleh molekul ninhidrin dan

hidrindantin yang bereaksi dengan  $\text{NH}_3$  setelah asam amino tersebut dioksidasi (Soemardjo, 2009).

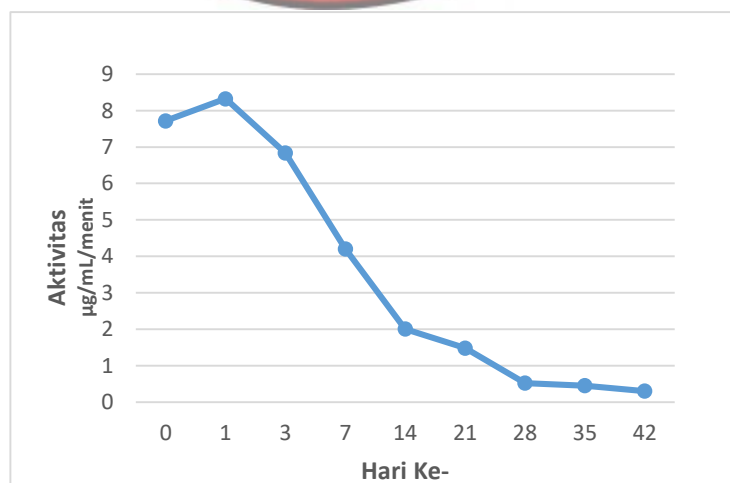
#### **4.5 Uji aktivitas dan Stabilitas Enzim Bromelain Kasar**

Pada penentuan aktivitas dan stabilitas ekstrak enzim bromelain kasar yang telah diperoleh, kemudian di uji aktivitasnya pada hari ke 0 , 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 terhadap kasein. Kasein berfungsi sebagai substrat enzim dalam melakukan aktivitas perombakannya dan penambahan bufer fosfat pH 6,5 berfungsi untuk mempertahankan kondisi lingkungan selama enzim melakukan aktivitasnya. Setelah diinkubasi, ke dalam campuran ditambahkan larutan asam triklorasetat (TCA) 30% untuk menghentikan aktivitas enzim dengan cara mendenaturasi enzim sehingga enzim menjadi inaktif yang akan mengubah larutan menjadi putih keruh.



**Tabel 4.3**  
**Aktivitas Enzim Bromelain Kasar pada Suhu Ruang**

Suhu Ruang Hari Ke-	Bromelain (mg/mL)	Absorbansi	Kadar Tirosin $\pm$ SD ( $\mu\text{g/mL}$ )	Aktivitas $\pm$ SD (UI/mL)	% Aktivitas
0	3	0,425 $\pm$ 0,026	57,883 $\pm$ 3,374	7,718 $\pm$ 0,450	100
1	3	0,461 $\pm$ 0,046	62,602 $\pm$ 5,918	8,323 $\pm$ 0,829	107,80
3	3	0,374 $\pm$ 0,000	51,259 $\pm$ 0,000	6,834 $\pm$ 0,000	88,55
7	3	0,229 $\pm$ 0,017	31,562 $\pm$ 0,750	4,208 $\pm$ 0,100	54,52
14	6	0,211 $\pm$ 0,012	30,091 $\pm$ 1,574	2,006 $\pm$ 0,105	25,99
21	6	0,151 $\pm$ 0,012	22,299 $\pm$ 1,574	1,486 $\pm$ 0,021	19,25
28	30	0,282 $\pm$ 0,071	39,355 $\pm$ 9,204	0,525 $\pm$ 0,123	6,80
35	30	0,242 $\pm$ 0,022	34,160 $\pm$ 2,849	0,455 $\pm$ 0,038	5,89
42	30	0,154 $\pm$ 0,042	22,688 $\pm$ 5,437	0,303 $\pm$ 0,073	3,92

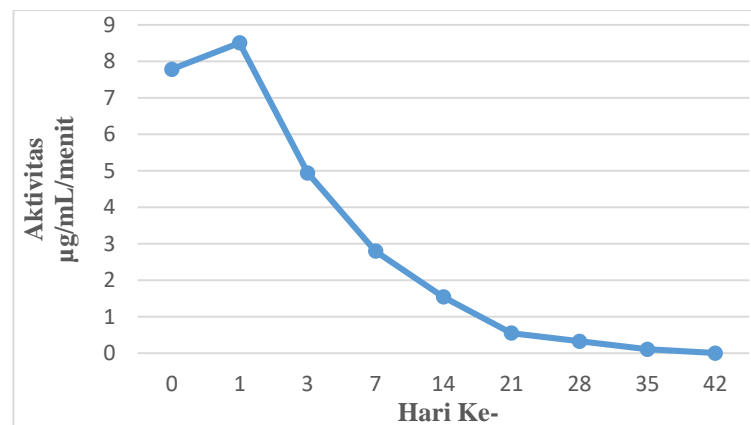


**Gambar 4.2**  
**Grafik Aktivitas Enzim Bromelain Kasar Suhu Ruang**




**Tabel 4.4**  
**Aktivitas Enzim Bromelain Kasar pada Suhu 40°C RH75%.**

Suhu 40°C RH 75% Hari Ke-	Bromelain (mg/mL)	Absorbansi	Kadar Tirosin (µg/mL)	Aktivitas (UI/mL)	% Aktivitas
0	3	0,425 ± 0,026	57,883 ± 3,374	7,718 ± 0,450	100
1	3	0,463 ± 0,031	63,770 ± 3,350	8,503 ± 0,477	110,17
3	3	0,268 ± 0,016	37,060 ± 1,856	4,941 ± 0,248	64,02
7	3	0,141 ± 0,011	20,956 ± 1,376	2,794 ± 0,183	36,20
14	6	0,157 ± 0,024	23,121 ± 3,142	1,541 ± 0,209	19,97
21	6	0,151 ± 0,012	22,299 ± 1,575	0,549 ± 0,274	7,11
28	30	0,166 ± 0,017	24,246 ± 2,249	0,324 ± 0,030	4,20
35	30	0,038 ± 0,019	7,812 ± 2,471	0,104 ± 0,033	1,35
42	30	0	0	0	0



**Gambar 4.3**  
**Grafik Aktivitas Enzim Bromelain Kasar Suhu 40°C RH 75%**

Hasil menunjukkan bahwa aktivitas enzim bromelain kasar mengalami penurunan. Ada kenaikan aktivitas pada hari pertama, hal ini dikarenakan pada hari ke 0 ekstrak enzim bromelain kasar baru dikeluarkan dari lemari pendingin, sehingga belum dalam keadaan suhu ruang, sehingga terjadinya penambahan bobot bromelain yang kehilangan air pada saat penimbangan. Tabel 4.3 dan 4.4 terdapat perbedaan bromelain yang dihasilkan dikarenakan aktivitas enzim sudah semakin menurun sehingga diperlukan peningkatan konsentrasi untuk mengukur aktivitas proteasenya. Penurunan terjadi karena denaturasi pada enzim, sehingga konsentrasi enzim dinaikkan.



Hasil menunjukkan bahwa aktivitas enzim semakin menurun selama penyimpanan 42 hari dengan % aktivitas enzim sebesar 3,92% pada suhu ruang sedangkan pada suhu 40°C RH 75% sudah 0% dikarenakan absorbansi pengujian aktivitas enzim bromelain kasar tidak masuk dalam rentang persamaan kurva standar tirosin (absorbansi minus). Penurunan aktivitas enzim ini diduga karena terdenaturasinya enzim selama penyimpanan. Aktivitas enzim bromelain menurun apabila diinkubasi pada suhu tinggi dan waktu yang lama. Pada kondisi tersebut, energi aktivasi untuk denaturasi enzim lebih tinggi daripada energi aktivasi untuk reaksi katalitik sehingga enzim lebih cenderung terdenaturasi daripada melakukan aktivitas katalitiknya.

Stabilitas enzim dilihat dari % aktivitas enzim dimana enzim dikatakan stabil bila % aktivitas enzim lebih dari 50% dari aktivitas awal enzim (Isya dkk, 2014).

Lama penyimpanan berpengaruh terhadap stabilitas enzim bomelaian kasar. Semakin lama waktu penyimpanan maka aktivitas enzim bromelain kasar semakin menurun

#### 4.6 Analisis Data

Pengolahan data dilakukan dengan uji statistik paramerik *One Way ANOVA*.

Dapat dilihat pada tabel 4.5 dan 4.6.

**Tabel 4.5**  
**Hasil Uji Statistik *One Way ANOVA* pada suhu ruang**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
<b>Between Groups</b>	<b>261,849</b>	<b>8</b>	<b>32,731</b>	<b>312,004</b>	<b>0,000</b>
<b>Within Groups</b>	<b>1,888</b>	<b>18</b>	<b>0,105</b>		
<b>Total</b>	<b>263,737</b>	<b>26</b>			

**Tabel 4.6**  
**Hasil Uji Statistik *One Way ANOVA* pada suhu 40°C RH 75%**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig
<b>Between Groups</b>	<b>237,04</b>	<b>7</b>	<b>33,972</b>	<b>440,138</b>	<b>0,000</b>
<b>Within Groups</b>	<b>1,235</b>	<b>16</b>	<b>0,077</b>		
<b>Total</b>	<b>239,039</b>	<b>23</b>			

Hasil uji statistik diperoleh bahwa aktivitas enzim bromelain dari mahkota buah nanas disimpan pada suhu ruang dan suhu 40°C RH 75% terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0.05$ ).

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

Lama penyimpanan berpengaruh terhadap stabilitas enzim bromelain kasar. Aktivitas enzim bromelain kasar pada suhu ruang hari ke-0 sebesar 100% yaitu 7,718 UI/mL, setelah penyimpanan hari ke-42 menjadi 3,92% dengan aktivitas menjadi 0,303 UI/mL. Aktivitas pada suhu 40°C RH 75% hari ke-0 yaitu 7,718 UI/mL



#### 5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan penelitian yang lebih lanjut menggunakan suhu rendah. Untuk mengetahui kondisi penyimpanan yang tepat untuk enzim bromelain kasar mahkota buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali A A., Milala M A., Gulani I A., *Antimicrobial effect of crude bromelin extracted from pineapple fruit (Ananas comonus (Linn.) Merr.)*, Journal cience Publishing Group., 2015., Vol. 3., No. 1., Hal : 1-4., University Of Maiduguri., Borno State., Nigeria
- Ariyanto, B., & Azhar, R., **Penentuan Parametr Fisika dan Kimia Bromelin Kasar dari Batang Nanas.**, Hal 1., 2012., Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi., Padang
- Awan, Edy., identifikasi protein pada albumin telur., 2012., <http://www.scribd.com/doc/90149445/identifikasi-Protein-Pada-Albumin-Telur>. Diakses pada tanggal 22 juli 2018
- Bahmid., **Isolasi dan Pemanfaatan Enzim Bromelin Dari Buah Nenas (Ananas comosus (L). Merr).**, Untuk Pembuatan Keju Lunak., 2011 Universitas Hasanuddin., Makassar
- Beynon, Robert., dan Bond, Judith S. 2001. *Proteolityc Enzymes*. 2th ed. New York. Oxford University Press.
- Dalimartha, S., & Adrian, F. 2011., *Khasiat Buah dan Sayur*. In **Khasiat Buah dan Sayur** ., hal :62-66., Penebar Swadaya., Jakarta
- Gautam S.S., S.K Mishra., V. Dash., A.K Goyal., G. rath., *Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant. Thai J. Pharm Sci., 2010., Vol. 34 No.1., Hal : 67-76., Departemen of*
- Gandjar,I.G.,dan Rohman, A., 2012., **Kimia Farmasi Analisis. Penerbit Pustaka Pelajar.**, Yogyakarta., Hal 465-469.
- Herdyastuti, N., **Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang Nanas.**, Berk. Penel. Hayati.,2006., Vol. 12., No. 2., Hal : 75-77., dUniversitas Negeri Surabaya., Surabaya
- isya, I., Rossdiana, A., Sutrisno., **Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Kestabilan Xilanase Amobil Dalam Kitosan.**, Kimia Student Journal., Vol.2., No.1., 2014., Hal:333-339., Universitas Brawijaya Malang.

- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). **Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kulit Nenas (*Ananas comosus*)**. Jurnal Ilmiah Sains , Vol. 11.,No. 2, hal : 198-201.
- Mahajan RT Shamnkant BB., 2010., *Biological Aspects of Proteolytic Enzymes: A Review.*, *India J. Pharm.Research* 3(9)., Hal : 2048-2068.
- 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.
- Mohan, R., Sivakumar, V., Rangasamy, T., and Muralidharan, C., 2006., *Optimisation of Bromelain Enzyme Extraction from Pineapple (*Ananas comosus* (Linn.) Merr.)and Application in Process Industry.*, American Journal of Biochemistry and Biotechnology.
- Natural Resource and Conservation Service, USDA.2016. Taxonomi Klasifikasi buah nenas. Diperoleh dari <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ANCO> 30 pada tanggal 6 Agustus 2018 pukul 13.30 wib.
- Poedjiadi, A dan Supriyanti, F.M. Titin. 2009., **Dasar-Dasar Biokimia.**, Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta
- Rocky., 26 Agustus 2009., **Tanduran panen: Sejarah, Klasifikasi Dan Morfologi Nanas**, Diakses 23 juli 2018 dari <http://www.rocky16amelungi.wordpress.com>.
- Sebayang F., **Pengujian Stabilitas Enzim Bromelin Yang Diisolasi Dari Bonggol Nanas Serta Imobilisasi Menggunakan Kappa Karagenan.**, Jurnal Sains Kimia., Vol. 10., No. 1., 2006., Hal : 20-26., Universitas Sumatra Utara., Medan
- Sumardi, budi.2014. **Panen Untung dari Budi Daya Nanas Sistem Organik .** ANDI. Yogyakarta.
- Sumardjo, Damin. 2009., Pengantar Kimia: **Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta.**, Penerbit Buku Kedokteran EGC., Jakarta., hal. 161-172
- Sunarjono, H. (2008). **Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah.** In Seri Agribisnis (pp. 142-148). Jakarta: Penebar Swadaya
- Winarno, F.G., 2008., **Kimia Pangan dan Gizi.**, Jakarta., PT. Gramedia

Wuryanti., **Isolasi dan penentuan aktivitas spesifik enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus L.*)**. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi., Vol.3., No. 7., Desember 2004., Hal : 84., Universitas Diponogoro., Semarang

Yati,S.S.dkk.,**Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam Memproduksi Enzim Protease yang Bersifat Alkalin dan Termofilik.**, Media Litbang Kesehatan., Vol. 21., No 2., 2011

Yuwono, T.,2008., **Biologi Molekular.**, Jakarta: Penerbit Erlangga

Yusrish,. N.D Kuswysari., **Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Protease *Penicillium sp.***, Jurnal Sains Dan Seni., Vol. 2 No. 1., 2003., Hal : 2337-3520., Institut Teknologi Sepuluh Nopember., Surabaya



# LAMPIRAN I

## DETERMINASI TANAMAN

HERBARIUM JATINANGOR  
LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN  
DEPARTEMEN BIOLOGI FMIPA UNPAD  
Gedung D2-212, Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor  
Telp. 022-7796412, email: [phanerogamae@yahoo.com](mailto:phanerogamae@yahoo.com)

### LEMBAR IDENTIFIKASI TUMBUHAN No.517/HB/02/2018

Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA UNPAD, dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Nurul Fatimah  
NPM : D1A140887  
Instansi : AL-GHIFARI  
Telah melakukan identifikasi tumbuhan, dengan No. Koleksi: -  
Tanggal Koleksi : 12 Februari 2018  
Lokasi : Subang.

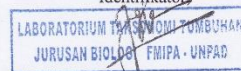
Hasil Identifikasi,  
Nama Ilmiah : *Ananas comosus* (L.) Merr.  
Sinonim : *Ananas bracteatus* Baker  
Nama Lokal : Nanas  
Suku/Famili : Bromeliaceae

Klasifikasi (Hierarki Taksonomi)  
Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Class : Liliopsida  
Ordo : Poales  
Famili : Poaceae  
Genus : *Ananas*  
Species : *Ananas comosus* (L.) Merr.

Referensi:  
Backer, C. A. and Bakhuizen v/d Brink R. C Jr. 1963. *Flora of Java*. Wolter-Noordhoff NV. Groningen.  
Cronquist, Arthur. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York  
The Plant List. *Website Dunia Tumbuhan*. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kcw-713>  
. Diakses tanggal, 15 Februari 2018.

Jatinangor, 15 Februari 2018

Identifikator,



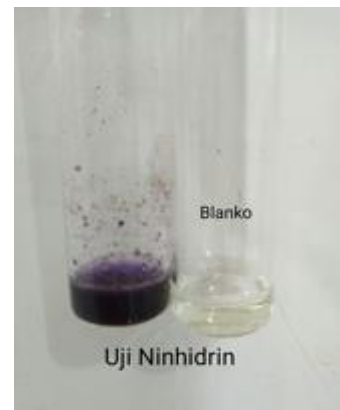
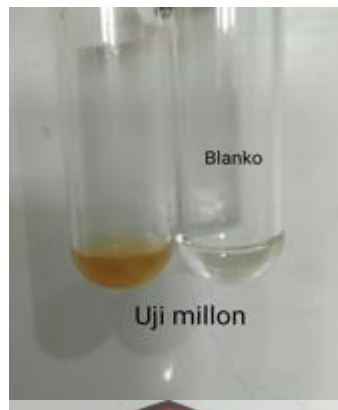
Drs. Joko Kusmoro, M.P.  
NIP. 19600801 199101 1 001



**LAMPIRAN II**  
**HASIL ISOLASI ENZIM BROMELAIN KASAR**



**LAMPIRAN III HASIL**  
**UJI KUALITATIF PROTEIN**



**LAMPIRAN IV**  
**PENYIMPANAN ENZIM BROMELAIN KASAR**



**SUHU RUANG**



**SUHU 40°C RH 75%**



## LAMPIRAN V

### PERHITUNGAN

#### 1. Perhitungan rendemen ekstrak

Rumus perhitungan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak kasar}}{\text{Berat mahkota buah nanas}} \times 100\%$$

Keterangan: A= berat sampel (gram)

B= berat ekstrak yang diperoleh (gram)

$$\text{Rendemen} = \frac{2,21 \text{ gram}}{850 \text{ gram}} \times 100\% = 0,26\%$$

#### 2. Penimbangan TCA 30%

$$= \frac{30}{100} \times 100 = 30 \text{ gram}$$

(30 gram dalam 100 mL)

#### 3. Pembuatan larutan buffer fosfat pH 6,5

Larutan Stok A: 0.2 M larutan Monobasic Sodium Phosphate atau  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

(2,78 gram  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dilarutkan dalam 100 mL Aquades)

Larutan Stok B: 0.1 M larutan Dibasic Sodium Phosphate atau  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

(5,365 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dilarutkan dalam 100 mL

Aquades)

(68,5 mL larutan stok A + 31,5 mL larutan stok B , lalu ditambahkan aquades

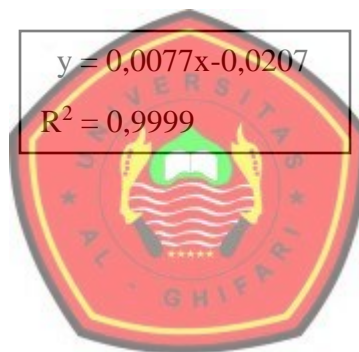
ad 100 mL)

## LAMPIRAN V

(Lanjutan)

### 4. Perhitungan substrat terhidrolisis pada penentuan aktivitas enzim bromelain.

Kurva standar tirosin



#### ➤ Suhu Ruang

##### a. Hari ke 0

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,425 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,425 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,4457}{0,0077}$$

$$x = 57,883 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****b. Hari ke 1**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,461 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,461 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,4817}{0,0077}$$

$$x = 62,558 \mu\text{g/mL}$$

**c. Hari ke 3**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,374 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,374 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,3947}{0,0077}$$

$$x = 51,259 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****d. Hari ke 7**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,229 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,229 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,2497}{0,0077}$$

$$x = 31,562 \mu\text{g/mL}$$

**e. Hari ke 14**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,211 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,211 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,2317}{0,0077}$$

$$x = 30,091 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****f. Hari ke 21**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,151 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,151 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,1717}{0,0077}$$

$$x = 22,299 \mu\text{g/mL}$$

**g. Hari ke 28**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,282 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,282 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,3027}{0,0077}$$

$$x = 39,355 \mu\text{g/mL}$$



**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****h. Hari ke 35**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,242 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,242 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,2627}{0,0077}$$

$$x = 34,160 \mu\text{g/mL}$$

**i. Hari ke 42**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,154 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,154 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,1747}{0,0077}$$

$$x = 22,688 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)**

➤ **Suhu 40°C RH 75%**

**a. Hari ke 0**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,425 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,425 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,4457}{0,0077}$$

$$x = 57,883 \mu\text{g/mL}$$



**b. Hari ke 1**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,463 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,463 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,4837}{0,0077}$$

$$x = 63,770 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****c. Hari ke 3**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,268 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,268 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,2887}{0,0077}$$

$$x = 37,060 \mu\text{g/mL}$$

**d. Hari ke 7**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,141 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,141 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,1617}{0,0077}$$

$$x = 20,956 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****e. Hari ke 14**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,157 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,157 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,1777}{0,0077}$$

$$x = 23,121 \mu\text{g/mL}$$

**f. Hari ke 21**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,151 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,151 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,1717}{0,0077}$$

$$x = 7,812 \mu\text{g/mL}$$

**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****g. Hari ke 28**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,166 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,166 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,1817}{0,0077}$$

$$x = 24,246 \mu\text{g/mL}$$

**h. Hari ke 35**

$$y = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,038 = 0,0077x - 0,0207$$

$$0,038 + 0,0207 = 0,0077x$$

$$x = \frac{0,0587}{0,0077}$$

$$x = 7,812 \mu\text{g/mL}$$



**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****5. Perhitungan Aktivitas Enzim Bromelain****➤ Suhu Ruang****a. Hari ke 0**

$$\text{Aktivitas} = \frac{57,883 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$\text{Aktivitas} = 7,718 \text{ UI/mL}$$

**b. Hari ke 1**

$$\text{Aktivitas} = \frac{62,602 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$\text{Aktivitas} = 8,323 \text{ UI/mL}$$

**c. Hari ke 3**

$$\text{Aktivitas} = \frac{51,259 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$\text{Aktivitas} = 6,834 \text{ UI/menit}$$



## LAMPIRAN V

(Lanjutan)

**d. Hari ke 7**

$$Aktivitas = \frac{31,562 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 4,208 \text{ UI/mL}$$

**e. Hari ke 14**

$$Aktivitas = \frac{30,091 \mu\text{g/mL} \times 1}{1 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 2,006 \text{ UI/menit}$$

**f. Hari ke 21**

$$Aktivitas = \frac{22,299 \mu\text{g/mL} \times 1}{1 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 1,486 \text{ UI/mL}$$

**g. Hari ke 28**

$$Aktivitas = \frac{39,355 \mu\text{g/mL} \times 1}{5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 0,525 \text{ UI/menit}$$



## LAMPIRAN V

(Lanjutan)

### h. Hari ke 35

$$Aktivitas = \frac{34,160 \mu\text{g/mL} \times 1}{5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 0,455 \text{ UI/mL}$$

### i. Hari ke 42

$$Aktivitas = \frac{22,688 \mu\text{g/mL} \times 1}{5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 0,303 \text{ UI/mL}$$



### ➤ Suhu 40°C RH 75%

#### a. Hari ke 0

$$Aktivitas = \frac{57,883 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 7,718 \text{ UI/mL}$$

#### b. Hari ke 1

$$Aktivitas = \frac{63,770 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 8,503 \text{ UI/mL}$$



## LAMPIRAN V

### (Lanjutan)

#### c. Hari ke 3

$$Aktivitas = \frac{37,060 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 4,941 \text{ UI/menit}$$

#### d. Hari ke 7

$$Aktivitas = \frac{20,956 \mu\text{g/mL} \times 1}{0,5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 2,794 \text{ UI/mL}$$

#### e. Hari ke 14

$$Aktivitas = \frac{23,121 \mu\text{g/mL} \times 1}{1 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 1,541 \text{ UI/menit}$$

#### f. Hari ke 21

$$Aktivitas = \frac{22,299 \mu\text{g/mL} \times 1}{1 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 0,549 \text{ UI/mL}$$



**LAMPIRAN V****(Lanjutan)****g. Hari ke 28**

$$Aktivitas = \frac{24,246 \mu\text{g/mL} \times 1}{5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 0,324 \text{ UI/mL}$$

**h. Hari ke 35**

$$Aktivitas = \frac{7,812 \mu\text{g/mL} \times 1}{5 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}}$$

$$Aktivitas = 0,104 \text{ UI/mL}$$

