

Karakterisasi Bakteri Enzim Bromelin dari Nanas dan Madu (*Crude*) Sebagai Minuman Probiotik

Irdawati, Weni Yulastri, Alifia Chahyunisa, Mufidah Insani Tazri, Rivaldo Situmorang, Titi Summaiati
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang Padang
Email: irdawati.amor40@gmail.com

ABSTRAK

Bromelin merupakan enzim pencerna protein (proteinase) atau dapat disebut juga enzim proteolitik yang dapat mempercepat reaksi hidrolisis dari protein. Enzim bromelin merupakan komponen khas dari nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.), hampir semua bagian tanaman nanas mengandung enzim bromelin yang banyak dimanfaatkan di industri makanan dan pengobatan. Enzim bromelin merupakan protein dan memiliki aktivitas enzim yang dipengaruhi oleh suhu. Artikel ini bertujuan untuk melihat karakterisasi bakteri enzim bromelin dari nanas dan madu sebagai minuman probiotik. Probiotik adalah zat yang mengandung berbagai jenis mikroorganisme seperti ragi dan bakteri. Zat ini bisa bermanfaat untuk meningkatkan pencernaan dan mengembalikan flora usus yang normal. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Subjek dari penelitian ini yaitu enzim bromelain, dimana akan dilihat mikroba yang terdapat pada enzim bromelain tersebut kemudian dilihat bagaimana bentuk dan juga karakterisasi dari mikroba tersebut. Enzim bromelain didapatkan dari hasil fermentasi nanas dan madu. Berdasarkan hasil pengamatan pada enzim bromelin didapatkan 4 isolat yang tumbuh pada media pertumbuhan medium Nutrien Agar (NA). Isolat yang didapatkan merupakan bakteri gram negatif yang memiliki bentuk basil dan yeast melalui pengamatan mikroskopis. Isolat 1 memiliki bentuk basil dan merupakan bakteri gram negatif karena memiliki warna merah. Isolat 2, isolat 3, dan isolat 4 merupakan yeast dengan bentuk bulat. Isolat dominan yang terdapat pada enzim bromelin adalah isolat 2 karena memiliki pertumbuhan yang lebih banyak dibandingkan isolat lainnya. Isolat 2 ini memiliki warna kuning dan berbentuk circular.

Kata kunci: Probiotik, Enzim Bromelin, Nenas dan Madu, Bakteri

PENDAHULUAN

Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung probiotik. Probiotik merupakan bakteri hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Putri *et al.*, 2021 dan Ahyuni *et al.*, 2021). Probiotik yang terkandung didalam minuman probiotik memiliki beberapa keuntungan yaitu dari segi nutrisi maupun terapeutik. Dari segi nutrisi probiotik dapat meningkatkan jumlah produksi riboflavin, niasin, thiamin, vitamin B12, asam folat; meningkatkan jumlah ketersediaan kalsium, besi, manga, tembaga, dan fosfor bagi tubuh; serta meningkatkan daya cerna dari protein serta lemak. Sedangkan dari segi terapeutik, bakteri probiotik tersebut dapat mencegah terjadinya beberapa kondisi seperti lactose intolerance, alergi, dll (Pangaribuan J.F *et al.*, 2022). Minuman probiotik

tersebut mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang menguntungkan bagi saluran pencernaan.

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan. Bakteri pertama kali ditemukan pada tahun 1676 oleh Anthonie van Leeuwenhoek sebagai sumber penyakit bagi makhluk hidup lain. Bakteri adalah mikroorganisme yang memiliki ukuran berkisar antara 0.5 hingga 3 mikrometer. Ukuran yang sangat kecil dan kemampuan bakteri untuk berkembang biak dengan cepat sangat mempengaruhi keberadaan bakteri. Bakteri berada di berbagai lingkungan bahkan di tangan dan tubuh manusia. Bakteri dari lingkungan dapat dimanfaatkan sebagai organisme bioremediasi (Pratama & Handayani, 2017). Bakteri di tangan manusia berasal dari tempat dan lingkungan seperti udara dan juga benda-benda yang di sentuh. Kulit manusia dapat menyediakan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan mikroba. (Wahyu, 2021).

Indonesia adalah salah satu Negara penghasil buah-buahan komersial yang terkenal di kawasan Asia Tenggara. Salah satu diantara jenis buah-buahan tersebut adalah nanas (Utomo, 2011). Nanas mengandung cukup banyak karbohidrat, serat kasar, air, kalsium, potasium, vitamin C dan berbagai mineral yang baik untuk sistem pencernaan dan membantu menjaga berat badan ideal dan nutrisi seimbang (Chaudhary *et al.*, 2019). Mengingat kandungan karbohidrat dan gula yang cukup tinggi tersebut maka nanas dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan asam sitrat.

Nanas, nenas, atau ananas (*Ananas comosus* L. Merr) adalah sejenis tumbuhan tropis yang berasal dari Brasil, Bolivia, dan Paraguay. Tumbuhan ini termasuk dalam famili Bromeliaceae dan merupakan buah dari keluarga Bromeliaceae ini yang kaya dengan nutrisi, mengandung protein, enzim, bromelin, Vitamin A dan B, 14% gula, serta sejumlah asam sitrat dan asam malat sehingga rasanya manis dan sedikit asam. Bromelain tidak hanya berperan sebagai enzim proteolitik, namun juga terbukti efektif secara klinis dalam memodulasi pertumbuhan sel tumor, antibiotik dan juga anti inflamasi. Bromelain paling banyak ditemukan pada bonggol dan daging buah nanas, namun sejumlah kecil bromelain juga dapat ditemukan pada kulit, daun dan batangnya (Manzoor Z *et al.*, 2016).

Buah nanas mengandung enzim bromelin, kalsium, fosfor, vitamin A, B, C, lemak, karbohidrat, magnesium, kalium, dekstrosa, sukrosa dan air (Amir Mellova, 2023). Enzim bromelin dapat membantu dan mempercepat reaksi hidrolisis protein menjadi enzim amino. Enzim bromelin dapat mengurangi pembengkakan pada tubuh yang dapat menyebabkan nyeri sendi dan mati rasa (Furayda Nadya & Amalya N.K, 2023). Pemanfaatan daging dari buah nanas pada proses fermentasi menghasilkan bakteri-bakteri bersifat probiotik tersebut, yang didapatkan dari substrat nanas dan madu. Pemberian madu pada pembuatan minuman probiotik dari nanas sebagai pemberi cita rasa manis.

Enzim merupakan satu atau beberapa gugus polipeptida (protein) yang berperan sebagai katalis biologi (bio-katalisator) yang mampu mempercepat terjadinya proses reaksi tanpa habis bereaksi dalam suatu reaksi kimia (Wiyati & Tjitraresmi, 2018). Enzim bromelin termasuk dalam golongan enzim protease ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida rantai pendek dan asam amino (Salahudin, 2011).

Enzim bromelin secara luas dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, di antaranya industri pangan, industri tekstil, dan industri kosmetik (Bala *et al.*, 2012). Pada industri pangan atau tata boga, enzim bromelin dimanfaatkan sebagai pengempuk daging. Selain itu, pada industri farmasi, enzim bromelin juga digunakan sebagai agen anti-inflamasi pada inflamasi akut dan luka bakar. Pemanfaatan enzim bromelin pada berbagai industri menjadikan perlunya pengetahuan terkait metode untuk isolasi enzim. Metode isolasi enzim merupakan tahapan penting dalam memperoleh enzim dari sumbernya. Cara sederhana dalam mengisolasi enzim bromelin yakni dengan pengendapan. Enzim bromelin mudah diendapkan dengan mengurangi air bebas dalam filtrat buahnya.

Beberapa penelitian telah dilakukan dalam mengisolasi enzim bromelin dapat menggunakan garam ammonium sulfat dan aseton sebagai bahan pengendap. Garam ammonium sulfat merupakan salah satu bahan yang mampu mengikat air bebas. Sifat amonium sulfat yang sangat larut dalam air dan tidak bereaksi dengan enzim ini membuat garam ini dapat digunakan dalam isolasi bromelin. Selain penggunaan garam ammonium sulfat, teknik isolasi yang sederhana dan ekonomis juga dapat menggunakan beberapa jenis garam. Garam yang dapat digunakan di antaranya adalah $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan NaCl (Kusuma *et al.*, 2015). Kemurnian atau jumlah enzim bromelin yang diperoleh dapat diketahui melalui penentuan aktivitas enzim (Dzulqaidah Intan, 2021).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi bakteri enzim bromelain dari nanas dan madu sebagai minuman probiotik.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif berupa tabel dan gambar. Subjek dari penelitian ini yaitu enzim bromelain, dimana akan dilihat mikroba yang terdapat pada enzim bromelain tersebut kemudian dilihat bagaimana bentuk dan juga karakterisasi dari mikroba tersebut.

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dimulai pada tanggal 04 November 2023 sampai 28 November 2023 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu Beaker glass, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, hot plate dan magnet stirer, aluminium foil, wrapping, laminar flow, haemositometer, kaca objek dan kaca penutup, mikroskop, streak plate.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah Nutrient Agar (NA), Aquadest, alkohol, pewarnaan (safranin, lugol, metilen blue), Enzim bromelin, aquades steril.

Prosedur Penelitian

Fermentasi Nanas dan Madu

Proses fermentasi nanas dan madu ini diawali dengan memilih buah nanas yang mangkal atau yang tidak terlalu masak, kemudian nanas dipotong hingga menjadi potongan kecil termasuk bonggolnya karena pada bagian itu mengandung banyak enzim bromelin. Setelah itu, masukkan potongan kecil nanas ke dalam botol beling dan tambahkan madu. Lalu goyangkan botol agar potongan nanas terendam semua dan merata. Botol yang berisi nanas dan madu didiamkan selama 40 hari di suhu ruang dan setelah itu enzim bromelin siap dipanen.

Sterilisasi

Alat yang terbuat dari kaca dan medium, disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 °C. Hal ini bertujuan agar tidak terjadinya kontaminasi saat melakukan penelitian. Sedangkan alat yang tidak tahan panas tinggi, seperti mikropipet, disterilisasi menggunakan alkohol 70%. Alat terbuat dari logam, seperti jarum ose, disterilisasi dengan cara meminjarkan melalui api menyala.

Pembuatan Medium Nutrien Agar

Pembuatan medium NA dilakukan dengan memanaskan 200 ml aquades dan menambahkan 5,6 gram bubuk NA kedalam erlenmeyer lalu dihomogenkan dengan hot plate menggunakan magnetic stirer hingga larut. Setelah itu membiarkan larutan hingga suhu turun dan sumbat dengan kain kasa lalu bungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dengan autoklav. Setelah itu, pindahkan medium NA ke beberapa petri dish yang sudah disterilkan di dalam laminar air flow, kemudian dibiarkan hingga padat.

Identifikasi Bakteri pada Enzim Bromelain

1) Pengamatan Makroskopis

Pengamatan morfologi koloni dilakukan pada koloni tunggal yang muncul setelah dilakukan streak plate, pengamatan koloni tunggal berupa bentuk koloni, warna, tepian, dan elevasi koloni bakteri.

2) Pengamatan Mikroskopis

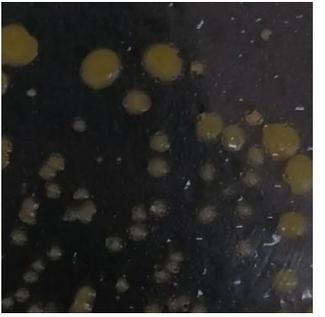
Teknik pewarnaan gram digunakan untuk pengamatan mikroskopis bakteri. Prosedur pewarnaan gram dimulai dari menyiapkan kaca objek steril. Satu tetes aquades steril diteteskan pada bagian tengah kaca objek, kemudian apusan bakteri disebarakan secara tipis dan merata pada kaca objek. Apusan dibiarkan mengering dan difiksasi diatas api sebanyak 3-4 kali. Apusan ditetesi dengan kristal violet dan dibiarkan selama satu menit setelah itu, dicuci dengan aquades. Setelah itu apusan diberikan lugol dan dihapus kembali setelah itu apusan dilunturkan dengan menggunakan alkohol hingga warna ungu dari kristal violet tidak lagi mengalir pada apusan. Selanjutnya diwarnai dengan safranin dan cuci. Kemudian tunggu apusan hingga mengering dan dapat diamati dibawah mikroskop.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Isolasi mikroba yang terdapat pada enzim bromelin dengan mengamati secara makroskopis dan mikroskopis didapatkan 4 jenis isolat. Isolat 1 merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk basil dan isolat 2,3, dan 4 merupakan yeast.

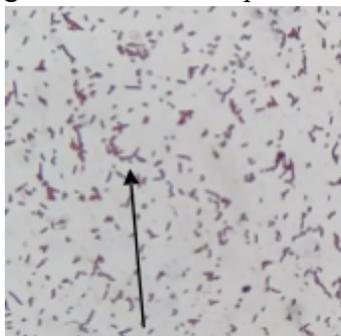
1) Pengamatan Makroskopis

Pada pengamatan mikroskopis dapat diamati bahwa :

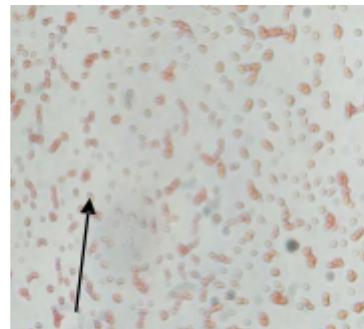
Jenis Isolat	Shape	Margin	Elevasi	Warna	Jumlah	Gambar
1	Irregular	Lobate	Raised	Oren	1.000 koloni	
2	Circular	Entire	Convex	Kuning	29.300 koloni	

3	Circular	Entire	Convex	Putih	1.000 koloni	
4	Circular	Entire	Convex	Oren	3.500 koloni	

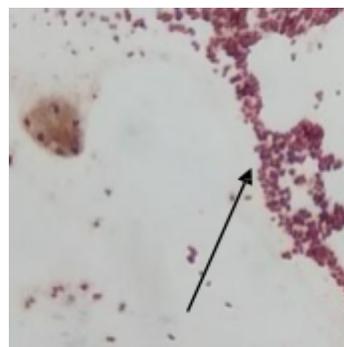
2) Pengamatan Mikroskopis



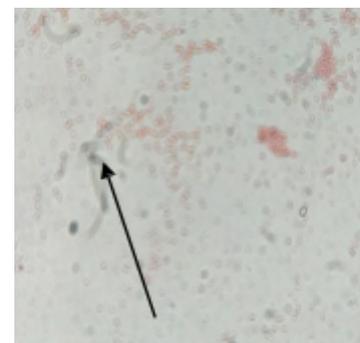
Isolat 1 (bakteri basil, gram negatif)



Isolat 2 (yeast)



Isolat 3 (yeast)



Isolat 4 (yeast)

Bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease sulfhidril yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil, yaitu enzim amino. Bromelin ini berbentuk serbuk amori dengan warna putih Bening sampai kekuning- kuningan, berbau khas, larut sebagian dalam: Aseton, Eter, dan CHCl_3 , stabil pada pH 3,0 – 5,5. Suhu optimum enzim bromelin adalah 50 C – 80o C. Enzim Bromelain terutama terdiri dari protease, enzim yang menguraikan protein. Bromelain ditemukan dalam jumlah tinggi dalam nanas, dan memiliki potensi anti-inflamasi serta pencernaan protein dalam tubuh manusia.

Enzim bromelin dapat dijadikan sebagai minuman probiotik. Minuman probiotik ini merupakan minuman fungsional yang memiliki efek pada kesehatan mengandung probiotik yang mengandung bakteri hidup dan dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi.

Kandungan BAL dalam minuman ekstrak kulit nanas tersuplementasi probiotik *L. Casei* mengandung BAL. Kandungan laktosa pada minuman fermentasi merupakan sumber nutrisi penting bagi pertumbuhan BAL selama proses fermentasi. Peningkatan jumlah asam laktat dalam minuman fermentatif salah satunya dipengaruhi oleh aktivitas metabolik dan fermentasi laktosa pada BAL (Hujjatusnaini *et al.*, 2022).

Pengamatan makroskopis dari isolat yang didapatkan pada enzim bromelin beragam. Isolat 1 memiliki bentuk yang berbeda dari isolat lainnya, isolat 1 memiliki bentuk irregular dan hanya 1 koloni yang tumbuh pada inkubasi enzim bromelin di medium NA. Isolat 1 ini memiliki warna oren. Sedangkan isolat 2, 3, dan 4 memiliki bentuk circular atau bulat dengan memiliki bentuk margin entire. Warna dari ketiga isolat ini berbeda-beda, pada isolat 2 memiliki warna kuning dan berukuran besar, pada isolat 3 memiliki warna putih dengan ukuran bulat yang sedang, sedangkan isolat 4 memiliki warna oren dengan ukuran yang kecil kecil.

Pengamatan mikroskopis dari bakteri yang terdapat pada enzim bromelin, dimana terdapat 4 isolat yang tumbuh pada medium NA. Isolat 1 memiliki bentuk basil dan merupakan bakteri gram negatif karena memiliki warna merah. Isolat 2, isolat 3, dan isolat 4 memiliki bentuk coccus atau bulat dan merupakan yeast. Isolat 2 merupakan isolat yang memiliki pertumbuhan paling dominan karena tumbuh pada setiap petri dan diikuti oleh isolat 4 yang juga memiliki pertumbuhan yang cukup banyak. Pada isolat 1 dan isolat 3 hanya tumbuh 1 saja.

PENUTUP

Berdasarkan hasil pengamatan pada enzim bromelin untuk melihat bakteri yang terdapat pada enzim bromelin didapatkan 4 isolat yang tumbuh pada media pertumbuhan medium Nutrien Agar (NA). Isolat 1 merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk basil sedangkan isolat 2,3, dan 4 merupakan yeast. Isolat dominan yang

terdapat pada enzim bromelin adalah isolat 2 karena memiliki pertumbuhan yang lebih banyak dibandingkan isolat lain nya. Isolat 2 ini memiliki warna kuning dan berbentuk circular.

REFERENSI

- Amir, M., et al. 2023. Uji aktifitas antibakteri ekstrak ampas nanas dan air perasan nanas (*Ananas comosus* Merr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Archives Pharmacia*, 5(1) : 11-22.
- Ayuni, M, Fitr.i, S.R., Putri, D.H., Fevria, R., Advinda, L. (2021). Pembuatan Yoghurt Menggunakan Yakult Sebagai Starter. Prosiding Seminar Nasional Biologi. 1(1), 756-763.
- Bala, et al. 2012. Bromelain production: Current trends and perspective. *In archives des sciences*, 65 (11) : 369-399.
- Chaundhary, V.,et al. 2019. Pineapple (*Ananas comosus*) Product Processing: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8 (3) : 4642-4652.
- Dzulqaidah, I et al. 2021. Ekstraksi dan uji aktivitas enzim bromelin kasar dari buah nanas. *Journal of agritechology and food processing*, 1 (2) : 80-84.
- Furayda, N & Amalya, N. 2023. Karakteristik Fisikomia minuman srbuk instan dengan variasi bonngol nanas (*Ananas comosus* Merr) dan Maltodekstrin. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 10 (1) : 18-24.
- Hujjatusnaini, N., et al. 2022. Inovasi Minuman Tepache Berbahan Baku Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) Tersuplementasi Probiotik *Lactobacillus casei*. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*, 21(1) : 47-54
- Kusuma, I, et al. 2015. Perbandingan aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim bromelin buah nanas yang diisolasi dengan beberapa jenis garam pengendap. *Jurnal kimia*, 9 (2).
- Manzoor z, et al. 2016. Bromelain: methods of extraction, purification and therapeutic application. *International journal of Brazilian archives of biology and technology*, 59
- Pangaribuan J.F, et al. 2022. Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik minuman probiotik sari buah nanas (*Ananas comosus* L.) dengan isolate *Lactobacillus rhamnosus* SKG34. *Itepa: jurnal ilmu dan teknologi pangan*, 11 (4) : 699-711.
- Pratama, S. F., & Handayani, D. (2017). Pengaruh Isolat *Pseudomonas* Sp. dan *Bacillus* sp. dengan Biostimulasi Kompos Jerami Padi (*Oryza Sativa* L.) terhadap

- Penurunan Total Petroleum Hidrokarbon Tanah Tercemar Oli Bekas. *Jurnal Biosains*, 1(2), 322–328.
- Putri, I.R., Putri D>H., Fevria, R., dan Advinda, L. (2021). Pembuatan yoghurt menggunakan biokul sebagai starter. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 1(1), 335-344.
- Salahuddin, f. 2011. Pengaruh bahan pengendap pada isolasi bromelain dari bonggol nanas. *Biopropal Industri*, 2 (1) : 27-31.
- Utomo, P. P. 2011. Pemanfaatan nanas (*Ananas comosus*) sebagai bahan baku pembuatan Bioetanol dengan metode sakarifikasi dan fermentasi serentak. *Biopropal Industri*. 2 (1) : 1-6.
- Wahyu, I ., et al. 2021. Praktikum sederhana di rumah tentang pengaruh penggunaan hand sanitizer terhadap keberadaan koloni bakteri di tangan. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 8 (3)
- Wiyati, P. I., & Tjitraresmi, A. 2018. Karakterisasi, aktivasi, dan isolasi enzim bromelain dari tumbuhan nanas (*Ananas sp*). *Farmaka*, 16 (2) : 179-185.