



Article History

Submitted : 13 December 2025

Revised : 12 February 2026

Accepted : 13 February 2026

Karakterisasi Bromelain dari Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) menggunakan Metode Liofilisasi

Nurhabibah, Ima Sukmawati, Salman Alfarizi, Aulia Millatina Fajwah, Novriyanti Lubis*

Pharmacy Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
University of Garut, Jl Prof. Aam Hamdani No.42B, Tarogong Kaler, West Java, 44151, IndonesiaEmail: novriyantilubis@uniga.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, dan mengkarakterisasi bromelain dari nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) melalui proses ekstraksi, pemurnian, dan pengeringan menggunakan metode liofilisasi. Ekstrak bromelain diperoleh dari campuran kulit, buah, dan bonggol nanas melalui proses penghancuran, filtrasi, penambahan buffer fosfat pH 7, serta sentrifugasi untuk menghasilkan fraksi enzim kasar. Proses liofilisasi mampu mereduksi jumlah ekstrak dari 200 g menjadi 18 g dengan rendemen 9% dan kadar air 11,5%, sehingga menghasilkan serbuk enzim yang lebih stabil. Hasil verifikasi metode menunjukkan persamaan kalibrasi $y = 0,0121x - 0,0126$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9988$, akurasi sebesar 99,70%, LoD 0,0148 ppm, dan LoQ 0,0493 ppm. Aktivitas enzim diuji menggunakan metode Murachi dengan substrat kasein, dan diperoleh nilai absorbansi aktivitas sebesar 0,061 yang menunjukkan adanya aktivitas proteolitik meskipun relatif rendah. Uji stabilitas enzim terhadap pH dan suhu menunjukkan bahwa aktivitas optimum dicapai pada pH 7 dan suhu 40°C, sedangkan aktivitas menurun tajam pada suhu 50–60°C akibat potensi denaturasi enzim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bromelain efektif menurunkan kekerasan daging sapi, dengan penurunan terbesar pada ekstrak segar pH 7 ($\pm 57\%$), diikuti liofilisasi pH 8 ($\pm 48\%$) dan liofilisasi pH 7 ($\pm 33\%$), sehingga membuktikan bahwa baik ekstrak segar maupun liofilisasi tetap mampu meningkatkan keempukan daging secara signifikan.

Kata kunci: aktivitas enzim, bromelain, liofilisasi, pengempukan daging, stabilitas

Abstract

This study aims to isolate, purify, and characterize the bromelain from pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) through extraction, purification, and drying using the lyophilization method. Bromelain extract was obtained from a mixture of pineapple peel, fruit, and stem through a process of crushing, filtration, addition of phosphate buffer pH 7, and centrifugation to produce a crude enzyme fraction. The lyophilization process was able to reduce the amount of extract from 200 g to 18 g with a yield of 9% and a water content of 11.5%, resulting in a more stable enzyme powder. The results of the method verification show the calibration equation $y = 0.0121x - 0.0126$ with a determination coefficient $R^2 = 0.9988$, an accuracy of 99.70%, LoD 0.0148 ppm, and LoQ 0.0493 ppm. Enzyme activity was tested using the Murachi method with casein as a substrate, and an activity absorbance value of 0.061 was obtained, indicating the presence of proteolytic activity, although relatively low. Enzyme stability tests against pH and temperature showed that optimum activity was achieved at pH 7 and a temperature of 40°C, while activity decreased sharply at a temperature of 50–60°C due to potential enzyme denaturation. The results showed that bromelain effectively reduced beef toughness, with the greatest reduction occurring in the fresh extract at pH 7 ($\pm 57\%$), followed by the lyophilized extract at pH 8 ($\pm 48\%$), and the lyophilized extract at pH 7 ($\pm 33\%$), thus demonstrating that both the fresh and lyophilized extracts significantly increased meat tenderness.

Keywords: bromelain, enzyme activity, lyophilization, meat tenderization, stability

1. PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) merupakan salah satu komoditas unggulan di Indonesia, merupakan negara penghasil nanas terbesar ketiga setelah Filipina dan Thailand dimana Indonesia berkontribusi sebanyak 23%. Saat ini belum banyak perusahaan yang mengolah semua bagian nanas termasuk daging, bongol, dan kulitnya mengandung bromelain. Pemanfaatan kulit nanas untuk menghasilkan produk bromelain dapat menambah nilai ekonomi dan menghasilkan keuntungan.

Nanas sebagai sumber alami bromelain, dimana bromelain merupakan salah satu jenis enzim protease sulfhidril yang dapat menghidrolisis ikatan peptide pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil. Tidak hanya memiliki nilai gizi yang tinggi tetapi juga potensi ekonomi yang signifikan (Zolghadri et al., 2019). Bromelain ini biasanya dimanfaatkan di bidang pangan yang digunakan untuk mengempukan daging sehingga meningkatkan tekstur dan rasa, serta mempercepat proses pematangan buah dan sayuran. Sedangkan pada bidang farmasi dan kesehatan bromelain biasanya digunakan sebagai suplemen kesehatan untuk mendukung sistem pencernaan, dan dapat juga digunakan dalam pengobatan luka karena kemampuannya untuk mengurangi peradangan dan mempercepat penyembuhan.

Penelitian oleh Sari et al., 2022 dilakukan tahapan penelitian dengan isolasi dan mengkarakterisasi serbuk kasar bromelain dari batang nanas. Isolasi enz bromelain dari batang nanas dilakukan menggunakan larutan buffer fosfat dengan pH 7.0 yang disentrifugasi pada 3.500 rpm selama 15 menit. Serbuk bromelain diperoleh melalui proses liofilisasi. Karakterisasi serbuk bromelain terdiri dari pengukuran konsentrasi protein serta pengukuran aktivitas enzim menggunakan metode murachi.

Pada penelitian ini dilakukan uji karakterisasi seperti analisis, preparasi, uji organoleptik, penentuan kadar protein dengan memperhatikan suhu dan pH, serta pemisahan ekstrak kasar bromelain dengan sentrifugasi dan menggunakan metode liofilisasi. Liofilisasi adalah proses pengeringan yang dilakukan dengan membekukan bromelain dari buah nanas dan kemudian menghilangkan udara melalui sublimasi. Metode ini membantu mempertahankan aktivitas enzim dan stabilitasnya, sehingga enzim dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama tanpa kehilangan efektivitasnya. Keterbaruan penelitian ini terletak pada beberapa aspek spesifik yaitu pemanfaatan keseluruhan buah nanas sebagai sumber bromelain.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bromelain dari seluruh bagian buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) menggunakan metode ekstraksi, pemurnian, dan liofilisasi, serta menentukan rendemen dan karakter serbuk enzim yang dihasilkan. Penelitian ini juga bertujuan mengukur aktivitas enzim menggunakan metode Murachi, mengevaluasi stabilitas bromelain terhadap variasi pH dan suhu untuk mengetahui kondisi optimum kerjanya, dan menilai efektivitas bromelain, baik dalam bentuk

ekstrak segar maupun liofilisasi dan dalam menurunkan kekerasan daging sapi.

Dengan menggunakan metode ini, diharapkan karakterisasi bromelain yang lebih mendalam mengenai sifat-sifat enzim, penelitian ini dapat memberikan informasi yang berguna untuk pengembangan lebih lanjut dalam pemanfaatan bromelain dari sumber alami, serta dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan produk berbasis enzim yang lebih efisien dan ramah lingkungan. Diharapkan dapat diperoleh data yang komprehensif mengenai karakteristik bromelain yang diekstraksi dari buah nanas menggunakan metode liofilisasi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Freeze dry* (LabFreez®), Sentrifugasi (Beckman J2-HS®), Timbangan digital (WANT®), Labu ukur 10 ml (pyrex®), Tabung reaksi (IWAKI®), Rak tabung (pyrex®), Batang pengaduk, Pisau, Mangkuk besar, Blender, Kain saring, Gelas kimia 100 mL (pyrex®), Pipet (pyrex®), Labu Erlenmeyer (pyrex®), Spektrofotometri (Genesys 10S®), Durometer, Moisture Balance (OHAUS). Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Tanaman Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) yang diperoleh dari subang, Daging sapi, Buffer Fosfat pH 7 dan 8 (Mitra lab), kasein, Trikloroasetat (TCA) 30% (Biomedicals), H₂SO₄ (Sigma-Aldrich), Natrium sitrat (Sigma-Aldrich), buffer glisin (Sigma-Aldrich), NaOH 30% (Sigma-Aldrich), HCl (Sigma-Aldrich), Tirosin (Sigma- Aldrich), aquadest (Smartlab).

2.2. Metode

2.2.1. Pembuatan dan Pemisahan Ekstrak Kasar Bromelain

Kulit, buah, dan bonggol dipotong, ditimbang total 1 kg, diblender, diperas, dan disaring hingga diperoleh filtrat bening. Filtrat disimpan pada 4°C. Ekstrak Kasar dicampur dengan 200 mL buffer fosfat pH 7, disaring, dan disimpan 24 jam pada suhu 4°C. Dua lapisan terbentuk, lapisan bawah diambil dan disentrifugasi 3.500 rpm, 15 menit. Lapisan tengah (koloid enzim) dikeringkan dengan *freeze dryer* pada -57°C selama 72 jam untuk memperoleh serbuk bromelain (Sari et al., 2022).

2.2.2. Uji Kadar Air

Sampel 2 g ditimbang pada moisture balance. Alat mengeringkan otomatis hingga stabil. Kadar air dihitung bila diperlukan:

$$\text{Kadar Air \%} = \frac{W-W1}{W} \times 100\%$$

2.3. Verifikasi Metode

2.3.1. Linearitas

Larutan standar tirosin dibuat pada konsentrasi 20–60 ppm, kemudian diukur absorbansinya untuk memperoleh hubungan antara konsentrasi dan absorbansi. Data tersebut dianalisis menggunakan regresi linier ($y = bx + a$) untuk menentukan linearitas, yang dinilai melalui nilai koefisien determinasi (R^2) sebagai indikator kesesuaian data terhadap model linier (Nguyen et al., 2023).

2.3.2. Presisi

Uji presisi dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan standar tirosin 40 ppm sebanyak enam kali pada panjang gelombang maksimum. Nilai rata-rata, simpangan baku (SD), dan persen deviasi standar relatif (%RSD) dihitung untuk menilai ketelitian metode. Metode dinilai presisi apabila %RSD < 2%.

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100$$

2.3.3. Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan menentukan percent *recovery* pada larutan standar tirosin konsentrasi 32, 40, dan 48 ppm, masing-masing diukur tiga kali. Absorbansi yang diperoleh dikonversi menjadi konsentrasi terukur melalui persamaan kurva kalibrasi. Akurasi dinilai dari persen *recovery*, yang memenuhi kriteria apabila berada pada rentang 98–102%, menunjukkan bahwa metode mampu menghasilkan nilai yang mendekati konsentrasi sebenarnya.

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi terukur}}{\text{Konsentrasi sebenarnya}} \times 100$$

2.3.4. LoD dan LoQ

Penentuan LoD dan LoQ dilakukan untuk mengetahui batas deteksi dan batas kuantifikasi terkecil dari metode. Larutan standar berkonsentrasi rendah diukur untuk memperoleh data pembentukan kurva kalibrasi, dari mana diperoleh nilai slope dan parameter kesalahan pengukuran. Nilai tersebut digunakan sebagai dasar perhitungan LoD dan LoQ untuk menilai sensitivitas metode (Nguyen et al., 2023).

$$\text{LoD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{Slope}}$$
$$\text{LoQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{Slope}}$$

2.3.5. Uji Aktivitas Ekstrak Bromelain

Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan metode Murachi menggunakan substrat kasein 40 mg/mL yang direaksikan dengan enzim 0,4 mg/mL dalam buffer fosfat pH 7, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 50 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan TCA 30% dan campuran disentrifugasi pada 6000 rpm. Absorbansi filtrat diukur pada 280 nm menggunakan kontrol enzim yang telah dinonaktifkan.

2.3.6. Stabilitas Suhu dan pH

Stabilitas pH bromelain dari kulit, buah, dan bonggol diuji dengan menginkubasi enzim dalam buffer pH 7 (fosfat) dan pH 8 (glisin) selama 2 jam pada suhu kamar, kemudian aktivitas residunya diukur menggunakan metode CDU. Uji stabilitas suhu dilakukan dengan menginkubasi enzim pada 40°C, 50°C, dan 60°C selama 2 jam dalam tabung tertutup, kemudian aktivitas bromelain dianalisis kembali dengan metode CDU (Gul et al., 2021).

2.3.7. Uji Aktivitas Bromelain dalam Pengempukan Daging

Uji kekerasan daging dilakukan dengan menyiapkan potongan daging sapi 9 g yang diberi perlakuan ekstrak bromelain kasar (0,9 g) atau ekstrak liofilisasi (0,081 g yang dilarutkan hingga merendam daging). Sampel diinkubasi pada 25°C selama satu jam, kemudian diamati perubahan aroma, tekstur, warna, dan kelembutannya. Setelah inkubasi, daging dikeringkan dan kekerasannya diukur menggunakan durometer sebelum dan sesudah perlakuan. Perbandingan kedua nilai tersebut digunakan untuk menilai efektivitas bromelain dalam melunakkan daging (Dzulqaidah et al., 2021).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini melakukan karakterisasi bromelain dari buah nanas melalui proses ekstraksi dan liofilisasi. Bromelain merupakan enzim protease alami dari berbagai bagian nanas yang mampu menghidrolisis protein dan banyak dimanfaatkan dalam industri pangan maupun kesehatan; sifat proteolitiknya menjadi dasar evaluasi dalam penelitian ini (Mohd Azmi et al., 2023).

3.1. Pemisahan Ekstrak Kasar Bromelain

Proses liofilisasi berhasil menurunkan massa ekstrak kasar bromelain dari 200 g menjadi 18 g dengan rendemen 9%, menunjukkan bahwa sebagian besar massa awal berupa air yang hilang melalui sublimasi. Kadar air hasil perhitungan manual (11,5%) dan moisture balance (11,72%) konsisten, menegaskan efektivitas dan validitas proses pengeringan. Penggunaan buffer fosfat pH 7 sebelum liofilisasi membantu menjaga stabilitas enzim selama penyimpanan awal. Ekstrak kering yang dihasilkan mengandung bromelain bersama protein dan senyawa lain dengan aktivitas yang lebih tinggi dan stabilitas penyimpanan lebih baik. Liofilisasi terbukti sesuai untuk

menjaga struktur enzim yang sensitif terhadap panas dan mencegah penurunan aktivitas selama penyimpanan.



Gambar 1. Hasil Liofilisasi

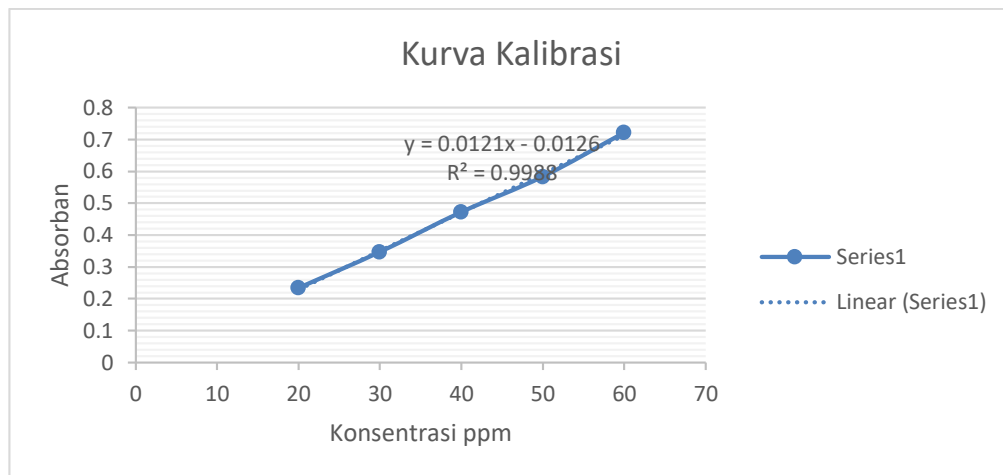
3.2. Verifikasi Metode

3.2.1. Linieritas

Uji linearitas dilakukan menggunakan lima konsentrasi larutan (20–60 ppm) dan menghasilkan persamaan kalibrasi $y = 0,0121x - 0,0126$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9988$. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi dan absorbansi, sehingga sistem analisis memenuhi prinsip Lambert–Beer dalam rentang pengukuran tersebut (Wardhani & Nurbayanti, 2019).

Tabel 1. Data linearitas

Konsentrasi (ppm)	Absorban
20	0,234
30	0,347
40	0,472
50	0,583
60	0,721



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Linearitas

3.2.2. Presisi

Uji presisi dilakukan melalui enam pengukuran berulang pada larutan 40 ppm tabel 3.2 menunjukkan hasil nilai %RSD sebesar 0,56897%. Nilai ini jauh di bawah batas 2%, menunjukkan variasi antar-pengulangan yang sangat kecil dan presisi metode yang baik. Temuan ini sesuai dengan panduan validasi ICH, di mana nilai RSD rendah menandakan reproduktifitas yang tinggi serta keandalan instrumen dan prosedur pengujian (ICH 2019).

Tabel 2. Hasil perhitungan presisi

Konsentrasi (ppm)	Absorban	X	X ²
40	0,471	39,96694	1597,35646
40	0,465	39,47107	1557,96571
40	0,465	39,47107	1557,96571
40	0,467	39,63636	1571,04132
40	0,467	39,63636	1571,04132
40	0,472	40,04959	1603,96940
SD			0,22591
rata-rata			39,70523
RSD			0,56897

3.2.3. Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan penambahan standar pada tiga level konsentrasi (80%, 100%, dan 120%). Tabel 3.3 hasilnya menunjukkan akurasi sebesar 99,70%, yang masih berada dalam rentang penerimaan 98–102%. Nilai ini menegaskan bahwa metode analisis mampu menghasilkan hasil yang sangat dekat dengan nilai sebenarnya, sehingga dapat dinyatakan akurat dan bebas bias (Fatmawati et al., 2023).

Tabel 3. Hasil perhitungan akurasi

Tingkat Penambahan	Konsentrasi	Absorban	C sebenarnya	%recovery
80%	32	0,377	32,19834	100,61983
100%	40	0,466	39,55371	98,884297
120%	48	0,566	47,81818	99,62121
				99,70844

3.2.4. LoD dan LoQ

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa batas deteksi (LoD) metode ini adalah 0,0148 ppm, yang menandakan kemampuan alat mendeteksi analit pada konsentrasi sangat rendah. Batas kuantifikasi (LoQ) sebesar 0,0493 ppm menunjukkan konsentrasi terendah yang masih dapat diukur dengan ketelitian dan akurasi yang memadai. Nilai LoD dan LoQ tersebut sesuai dengan prinsip validasi analisis dan menunjukkan bahwa metode yang digunakan sensitif serta andal untuk analisis konsentrasi rendah.

3.2.5. Uji Aktivitas Ekstrak Bromelain

Uji *scanning* awal terhadap ekstrak bromelain menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 273 nm dengan absorbansi 0,630, yang menandakan keberadaan protein dalam sampel. Meskipun puncak protein umumnya berada di sekitar 280 nm, absorbansi pada 273 nm masih dapat dikaitkan dengan asam amino aromatik seperti triptofan dan tirosin. Nilai absorbansi yang cukup tinggi mengindikasikan bahwa ekstrak kasar mengandung konsentrasi protein yang signifikan, meskipun belum spesifik mengkonfirmasi keberadaan bromelain sebagai enzim utama.

Pengujian aktivitas menggunakan metode Murachi menunjukkan absorbansi akhir sebesar 0,061 pada 280 nm, yang mencerminkan rendahnya jumlah kasein terhidrolisis oleh enzim. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh rendahnya konsentrasi enzim aktif, kondisi reaksi yang belum optimal, atau keberadaan banyak protein non-aktif dalam ekstrak. Temuan ini sejalan dengan laporan Gul et al., 2021 yang menyatakan bahwa ekstrak bromelain kasar cenderung memiliki aktivitas rendah akibat pengotor protein, serta Chen et al., 2017 yang melaporkan bahwa proses seperti liofilisasi dapat menurunkan aktivitas enzim tanpa penambahan stabilizer. Dengan demikian, rendahnya aktivitas pada sampel ini diduga dipengaruhi oleh kombinasi faktor ekstraksi, kemurnian, dan kondisi reaksi yang belum sepenuhnya optimal.

Tabel 4. Hasil perhitungan aktivitas enzim

Sampel	Enzim Standar	Unit Aktivitas
Serbuk Bromelain	16,33 µg/mL	9,798 U/mL

Tabel 4 menunjukkan bahwa aktivitas bromelain dalam sampel adalah 9,798 U/ml. Nilai ini mencerminkan jumlah unit enzim yang mampu mengkatalisis reaksi dalam kondisi pengujian. Akan tetapi, jika dibandingkan dengan literatur atau standar bromelain yang murni, aktivitas ini bisa dianggap rendah. Hal ini sejalan dengan hasil absorbansi yang rendah, menunjukkan bahwa meskipun enzim aktif, kinerjanya kurang optimal. Minimnya aktivitas ini kemungkinan disebabkan oleh faktor-faktor yang telah disebutkan sebelumnya, seperti konsentrasi enzim aktif yang rendah atau adanya penghalang dalam sampel.

3.2.6. Stabilitas Suhu dan pH

Tabel 5. Data stabilitas suhu dan pH

No.	pH	Suhu	Absorbansi (A)	Tirosin (µmol/mL)	Aktivitas enzim (U/mL)	
1.	7	Suhu ruang (26°C)	0,026	0,017	0,005	
			0,052	0,029	0,008	
			0,052	0,029	0,008	
		Rata-rata			0,007	
		SD			0,00141	
		40°C	0,164	0,080	0,024	
			0,109	0,055	0,016	
			0,164	0,080	0,024	
		Rata-rata			0,02	
		SD			0,004	
		50°C	- 0,125	- 0,051	- 0,015	
			- 0,067	- 0,024	- 0,007	
			- 0,023	- 0,004	- 0,001	
		Rata-rata			- 0,00766	
		SD			0,00573	
		60°C	- 0,125	- 0,051	- 0,015	
- 0,087	- 0,033		- 0,010			
- 0,160	- 0,067		- 0,020			
Rata-rata			- 0,015			
SD			0,00408			

Tabel 5. (Lanjutan)

No.	pH	Suhu	Absorbansi (A)	Tirosin ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas enzim (U/mL)
2.	8	Suhu ruang (26°C)	0,052	0,029	0,008
			0,076	0,040	0,012
			0,076	0,040	0,012
			Rata-rata		0,01066
		SD		0,00188	
		40°C	0,046	0,026	0,007
			0,046	0,026	0,007
			0,060	0,033	0,009
			Rata-rata		0,00766
		SD		0,00094	
		50°C	- 0,021	- 0,003	- 0,001
			0,046	0,026	0,007
			0,087	0,045	0,013
			Rata-rata		0,00633
		SD		0,00573	
		60°C	- 0,022	- 0,004	- 0,001
0,023	0,016		0,004		
0,023	0,016		0,004		
Rata-rata			0,0015		
SD		0,0025			

Verifikasi metode aktivitas enzim menunjukkan bahwa presisi dipengaruhi oleh pH dan suhu. Pada pH 7, nilai SD yang rendah pada suhu ruang (0,00141 U/mL) menandakan presisi yang baik, tetapi SD meningkat pada 40–60°C akibat ketidakstabilan enzim dan kemungkinan terjadinya denaturasi parsial. Pola serupa terlihat pada pH 8, di mana SD tetap rendah pada suhu ruang dan 40°C, namun meningkat pada 50–60°C, menunjukkan bahwa enzim semakin sensitif terhadap panas pada kondisi basa.

Uji aktivitas enzim memperlihatkan bahwa kondisi optimum bromelain berada pada pH 7 dan suhu 40°C, dengan aktivitas tertinggi 0,02 U/mL. Aktivitas menurun drastis pada 50–60°C hingga menghasilkan nilai negatif, menunjukkan terjadinya denaturasi, dan pola ini konsisten dengan meningkatnya SD pada suhu tinggi. Pada pH 8, aktivitasnya lebih rendah pada seluruh suhu, meskipun masih terukur positif hingga 60°C. Secara keseluruhan, bromelain paling stabil pada pH netral dan suhu maksimum 40°C, sesuai dengan laporan sebelumnya.

3.2.7. Uji Aktivitas Bromelain Dalam Pengempukan Daging

Pengujian aktivitas bromelain dalam proses pengempukan daging sapi menunjukkan potensi yang besar dari enzim ini, baik dalam bentuk ekstrak segar maupun setelah liofilisasi, memiliki kemampuan proteolitik yang kuat. Perubahan tekstur, warna, dan aroma daging terjadi akibat kemampuan bromelain menghidrolisis ikatan peptida pada protein struktural seperti kolagen dan

elastin, sehingga serat otot terurai menjadi fragmen yang lebih kecil dan menghasilkan tekstur daging yang lebih lembut.

Tabel 6. Data pengempukan daging

No.	Enzim	pH	Suhu	Nilai HA	
				Sebelum	Sesudah
1.	Non Liofilisasi	7	Suhu ruang (26°C)	004,5	002,0
				005,0	002,0
				005,5	002,5
				Rata-rata	005,0
2.	Liofilisasi	7	Suhu ruang (26°C)	004,0	002,5
				005,5	003,5
				004,0	003,0
		Rata-rata	004,5	003,0	
		8	Suhu ruang (26°C)	003,5	002,0
				004,0	002,0
003,0	001,5				
Rata-rata	003,5	001,8			

Pada pH 7, ekstrak bromelain segar menunjukkan kemampuan pengempukan daging tertinggi dengan penurunan kekerasan mencapai 57%. Efektivitas ini dipengaruhi oleh struktur enzim yang masih utuh sehingga dapat berinteraksi lebih optimal dengan protein daging, khususnya miofibril dan kolagen. Temuan tersebut sejalan dengan studi yang melaporkan bahwa ekstrak segar lebih efektif dibanding enzim yang telah mengalami pengeringan atau pemurnian (Varilla et al., 2021). Pada sampel liofilisasi, bromelain tetap mampu mengempukkan daging, tetapi aktivitasnya bervariasi menurut pH. Perlakuan pada pH 8 menghasilkan penurunan kekerasan sekitar 48%, lebih tinggi dibanding pH 7 yang hanya 33%, karena beberapa fraksi bromelain memiliki aktivitas optimum pada pH agak basa. Liofilisasi juga memberikan keuntungan dari sisi stabilitas penyimpanan jangka panjang (Chiarelli et al., 2024).

Meski demikian, variasi nilai aktivitas pada enzim liofilisasi cenderung lebih besar, yang kemungkinan disebabkan oleh ketiadaan penstabil seperti trehalosa atau maltodekstrin selama proses pengeringan (Karunnathy et al., 2024). Kondisi ini menunjukkan bahwa meskipun stabil, proses liofilisasi masih perlu dioptimalkan untuk menghasilkan aktivitas yang lebih konsisten. Secara keseluruhan, baik ekstrak segar maupun liofilisasi terbukti mampu mengempukkan daging, dengan ekstrak segar memberikan performa tertinggi, sementara liofilisasi unggul dari segi kepraktisan dan stabilitas. Temuan ini memperlihatkan potensi besar bromelain untuk aplikasi industri daging dalam meningkatkan kelembutan produk secara alami dan efisien.

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa bromelain dapat diisolasi dari kulit, buah, dan bonggol nanas, kemudian dimurnikan serta dikeringkan menjadi serbuk stabil melalui proses liofilisasi dengan rendemen 9% dan kadar air rendah. Uji aktivitas menggunakan metode Murachi membuktikan bahwa bromelain tetap memiliki aktivitas proteolitik meskipun nilainya relatif rendah. Karakterisasi stabilitas enzim menunjukkan bahwa bromelain bekerja paling optimal pada pH 7–8 dan suhu 40°C, sementara aktivitasnya menurun tajam pada suhu 50–60°C akibat denaturasi. Pengujian aplikatif pada daging sapi memperlihatkan bahwa bromelain mampu mengurangi kekerasan daging secara signifikan, dengan penurunan sebesar $\pm 57\%$ pada ekstrak segar pH 7, $\pm 48\%$ pada liofilisasi pH 8, dan $\pm 33\%$ pada liofilisasi pH 7. Dengan demikian, seluruh hasil penelitian telah memenuhi tujuan isolasi, pemurnian, karakterisasi, dan pengujian aktivitas bromelain terhadap substrat maupun aplikasinya pada daging.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, H., Huang, J., Shi, X., Li, Y., & Liu, Y. (2017). Effects of six substances on the growth and freeze-drying of *Lactobacillus Delbrueckii* Subsp. *Bulgaricus*. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 16(4), 403–412. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.0512>
- Chiarelli, P. G., Martinez, B., Nakamura, T., & Mis Solval, K. (2024). Enhancing Bromelain Recovery from Pineapple By-Products: A Sustainable Approach for Value Addition and Waste Reduction. *Foods*, 13(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods13040589>
- Dzulqaidah, I., Zanuba, R. B., Alwi, A. S. F., Salsabila, A. R. P., Mursidi, S., & Muliastari, H. (2021). Ekstraksi dan Uji Aktivitas Enzim Bromelin Kasar dari Buah Nanas. *Journal of Agritechology and Food Processing*, 1(2), 80. <https://doi.org/10.31764/jafp.v1i2.6974>
- Fatmawati, Sunartaty, R., & Meutia, F. (2023). Validation Of Water Content Testing Method With Analysis Of Accuracy And Precision Comparison. *Serambi Journal of Agricultural Technology*, 5(1).
- Gul, A., Siddiqui, M., Arain, H., Khan, S., Khan, H., & Ishrat, U. (2021). Extraction, Partial Purification and Characterization of Bromelain from Pineapple (*Ananas Comosus*) Crown, Core and Peel Waste. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64, 1–10. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021200639>
- Karunnanithy, V., Abdul Rahman, N. H. B., Abdullah, N. A. H., Fauzi, M. B., Lokanathan, Y., Min Hwei, A. N., & Maarof, M. (2024). Effectiveness of Lyoprotectants in Protein Stabilization During Lyophilization. *Pharmaceutics*, 16(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16101346>
- Mohd Azmi, S. I., Kumar, P., Sharma, N., Sazili, A. Q., Lee, S. J., & Ismail-Fitry, M. R. (2023).

Application of Plant Proteases in Meat Tenderization: Recent Trends and Future Prospects. *Foods*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/foods12061336>

Nguyen, T. X., Le, T. M., Duong, Y. H. P., Le, P. K., & Tran, V. T. (2023). Production of Bromelain Enzyme from Pineapple Waste by Membrane Process. *Chemical Engineering Transactions*, 106, 943–948. <https://doi.org/10.3303/CET23106158>

Sari, R. I. P., Salman, & Erizal Zaini. (2022). Isolasi Dan Karakterisasi Serbuk Enzim Bromelin Dari Batang Nanas (*Ananas Comosus* (L.) MERR). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(4), 751–758. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i4.432>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, A Group of Pineapple Proteolytic Complex Enzymes (*Ananas comosus*) and Their Possible Therapeutic and Clinical Effects. *Foods*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/foods10102249>

Wardhani, D., & Nurbayanti, I. (2019). Uji linieritas kurva kalibrasi deret standar N-NH₃ pada rentang konsentrasi yang berbeda secara Spektrofotometri. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(1), 5–8.

Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F., & Saboury, A. A. (2019). A Comprehensive Review on Tyrosinase Inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 279–309. <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1545767>