

UJI AKTIVITAS BROMELIN DARI *ANANAS COMOSUS* DAN PAPAİN DARI *CARICA PAPAYA* TERHADAP PH MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Zahrotun Nafisah^{1*}, Dermawan Saro Halawa¹, Eka Miranda Silaban¹, Sonia Tri Mart Hutapea¹, Nasa Natalia¹, Nia Hana Pertiwi¹, Kamelia Fahmiati¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Palangka Raya, Jalan Yos Sudarso, Kota Palangka Raya, Kalimantan Tengah 73112

*E-mail: nafisah@chem.upr.ac.id

Riwayat Article

Received: 03 March 2026; Received in Revision: 25 March 2026; Accepted: 30 March 2026

Abstract

Protease enzymes such as bromelain from *Ananas comosus* and papain from *Carica papaya* are cysteine protease enzymes that have great potential in various applications in the food, pharmaceutical, and biotechnology industries. This study aims to characterize the activity of bromelain and papain enzymes against pH variations using a casein-based spectrophotometric method and a tyrosine standard curve. Enzyme activity is determined based on the amount of tyrosine produced from casein hydrolysis and measured at a wavelength of 280 nm. One unit of enzyme activity is defined as the amount of enzyme that produces 1 μmol of tyrosine per mL per unit reaction time. The yields of bromelain and papain enzyme extraction in this study reached 38% and 32% with protein levels of 10.04 and 21.89 mg/mL, respectively. The activity values of bromelain and papain are significantly affected by changes in pH. Bromelain showed optimum activity at pH 6, amounting to 25.4 U/mL, while the activity decreased drastically at acidic pH. The papain enzyme also has an optimum activity of 17.1 U/mL at pH 6, which decreases drastically at alkaline pH. This activity pattern is consistent with the general characteristics of cysteine protease enzymes, which are sensitive to changes in the ionization of their active groups. The differences in response to pH variations indicate the specific characteristics of each enzyme, influenced by the structure and conformational stability of its protein. The results of this study provide important information regarding the optimum working conditions of both enzymes as a basis for developing industrial applications based on local biological resources.

Keywords: Bromelin, Papain, Spektrofotometer, Activity Test, pH Variation

Abstrak

Enzim protease seperti bromelin dari *Ananas comosus* dan papain dari *Carica papaya* merupakan enzim sistein protease yang memiliki potensi besar dalam berbagai aplikasi industri pangan, farmasi, dan bioteknologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi aktivitas enzim bromelin dan papain terhadap variasi pH menggunakan metode spektrofotometri berbasis substrat kasein dan kurva standar tirosin. Aktivitas enzim ditentukan berdasarkan jumlah tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis kasein dan diukur pada panjang gelombang 280 nm. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μmol tirosin per mL per satuan waktu reaksi. Hasil rendemen pada ekstraksi enzim bromelin dan papain pada penelitian ini mencapai 38% dan 32% dengan masing-masing kadar protein sebesar 10,04 dan 21,89 mg/mL. Nilai aktivitas bromelin dan papain dipengaruhi secara signifikan oleh perubahan pH. Bromelin menunjukkan aktivitas optimum pada pH 6, sebesar 25,4 U/mL dimana aktivitas menurun drastis di pH asam. Enzim papain juga memiliki aktivitas optimum pada pH 6 sebesar 17,1 U/mL dan menurun drastis pada pH basa. Pola aktivitas ini sesuai dengan karakteristik umum enzim protease golongan sistein yang sensitif terhadap perubahan ionisasi gugus aktifnya. Perbedaan respons terhadap variasi pH menunjukkan adanya karakteristik spesifik masing-masing enzim yang dipengaruhi oleh struktur dan stabilitas konformasi proteinnya. Hasil penelitian ini memberikan informasi penting mengenai kondisi optimum kerja kedua enzim sebagai dasar pengembangan aplikasi industri berbasis sumber daya hayati lokal.

Keywords: Bromelin, Papain, Spektrofotometer, Uji Aktivitas, Variasi pH

1. Introduction

Enzim merupakan biokatalisator yang berfungsi mempercepat atau memfasilitasi terjadinya reaksi kimia. Sebagai molekul protein, enzim berperan penting dalam berbagai proses kehidupan mulai dari metabolisme, pertumbuhan, hingga regulasi seluler. Saat ini, enzim mempunyai peran penting dalam berbagai aplikasi industri, misalnya dalam produksi pangan, farmasi, tekstil, bioenergi, kosmetik, dan deterjen (Patel dkk., 2017). Seperti halnya enzim protease dalam produksi deterjen yang berfungsi menghidrolisis noda polipeptida pada serat tekstil. Di industri pangan, protease seringkali digunakan untuk melunakkan daging atau menghasilkan hidrolisat protein berkualitas tinggi (Okpara dkk., 2019). Reaksi kimia menggunakan enzim secara umum lebih disukai karena spesifik, efisiensi tinggi, dan ramah lingkungan (Petushkova dkk., 2022). Pertumbuhan pasar enzim global diperkirakan mencapai lebih dari USD 9 miliar pada tahun 2027 karena meningkatnya penggunaan enzim dalam berbagai sektor industri (Li dkk., 2012). Meski potensi sumber daya yang sangat besar, Indonesia masih bergantung pada produk impor untuk memenuhi kebutuhan enzim dalam negeri. Pada tahun 2023, nilai impor enzim mencapai 600 juta USD (Satu Data Perdagangan, 2024). Ketergantungan ini menyebabkan biaya distribusi menjadi lebih tinggi dan kurangnya kemandirian teknologi dalam negeri. Padahal, Indonesia memiliki kekayaan biodiversitas tropis yang dapat menjadi sumber enzim bernilai tinggi, termasuk buah-buahan seperti nanas dan pepaya.

Nanas dan pepaya merupakan sumber enzim protease, seperti bromelin dan papain. Protease adalah kelompok enzim yang mengkatalisis hidrolisis ikatan peptida di dalam molekul protein, sehingga menghasilkan peptida pendek atau asam amino bebas. Enzim ini sangat penting untuk memodifikasi protein secara selektif. Protease yang digunakan industri tergolong dalam beberapa kelas berdasarkan mekanisme katalisisnya. Salah satu kelas enzim protease adalah *cyctein protease*, yaitu enzim protease yang memiliki residu sistein sebagai nukleofil utama dalam situs aktifnya (Babalola dkk., 2023). Bromelin dan papain merupakan sistein protease yang seringkali digunakan pada berbagai proses kimia, sebagaimana penelitian terdahulu yang memanfaatkan enzim papain untuk pembuatan *virgin coconut oil* (VCO) dan pada proses isolasi DNA genome bakteri (Budiantoro & Shofia Inayati, 2018; Wasdili dkk., 2024).

Beberapa penelitian terdahulu telah meneliti karakteristik aktivitas pH dari enzim bromelin maupun papain, meskipun sebagian besar masih belum menyediakan perbandingan langsung antara kedua enzim protease tersebut pada kondisi metodologi yang seragam. Sebuah kajian komprehensif oleh Venetikidou *et al.* (2025) menyatakan bahwa bromelin dan papain termasuk kelompok enzim proteolitik dari produk buah, di mana bromelin umumnya menunjukkan rentang aktivitas pH optimum antara pH 4 sampai 7 dan aktivitasnya mulai menurun di luar rentang ini (Venetikidou dkk., 2025). Studi ini juga mencatat bahwa papain menunjukkan optimum pH yang sering dilaporkan di kisaran pH 6-7, meskipun nilai optimum dapat bergeser tergantung pada kondisi substrat dan metode ekstraksi yang digunakan. Penelitian lain yang berfokus pada karakterisasi papain yang diekstraksi dari daun *Carica papaya* juga menunjukkan bahwa papain memiliki pH optimum dalam kisaran asam sampai netral untuk substrat protein seperti kasein, yaitu sekitar pH 4,5-6,6, dengan aktivitas protease yang meningkat secara signifikan di sekitar rentang tersebut sebelum menurun pada pH ekstrem. Hal ini menunjukkan bahwa papain sangat peka terhadap derajat keasaman medium dan faktor-faktor lingkungan seperti ion logam serta buffer, yang dapat memodulasi kinetika katalitiknya (Babalola dkk., 2023; Juwita dkk., 2022).

Meskipun demikian, literatur yang menggabungkan kedua enzim secara langsung menggunakan substrat yang sama seperti kasein dan mengukur aktivitasnya terhadap variasi pH masih sangat terbatas. Kebanyakan studi membahas satu enzim saja atau membandingkan enzim dalam konteks yang berbeda, misalnya untuk aplikasi tertentu seperti hidrolisis protein dalam pangan atau formulasi kosmetik, tanpa menyediakan data untuk tujuan perbandingan karakterisasi enzim dasar. Hal ini menunjukkan adanya gap penelitian di mana informasi mengenai perbandingan profil aktivitas pH dari *bromelin* dan *papain* pada kondisi eksperimen yang seragam belum banyak dilaporkan, khususnya dengan pendekatan penggunaan. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan melakukan karakterisasi aktivitas bromelin dan papain terhadap variasi pH menggunakan substrat kasein dan metode spektrofotometri, sehingga profil katalitik kedua enzim dapat dibandingkan secara langsung.

2. Methodology

2.1. Bahan dan Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat gelas seperti gelas beaker, labu ukur, corong, dan pipet tetes. Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, spektrofotometer UV-Vis (Barcov, Indonesia) menggunakan kuvet kuarsa dengan ketebalan 1 mm, timbangan analitik, dan sentrifuge. selanjutnya, bahan habis pakai seperti kertas saring, tabung sentrifuge, dan tip biru juga digunakan untuk mendukung penelitian ini. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi buah nanas sebagai sumber enzim bromelin, buah pepaya sebagai sumber enzim papain, larutan NaCl 0.9%, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, asam sitrat, Na-sitrat, NaOH, glisin, tirosin, kasein, asam trikloroasetat (TCA) 5%, dan akuades.

2.2. Metode Penelitian

2.2.1. Isolasi Enzim Bromelin

Sumber enzim bromelin yang digunakan adalah nanas yang dibeli di pasar besar kota Palangka Raya sebesar 500 gram. Selanjutnya, nanas dikupas dan diambil sebanyak 100gram dan ditambahkan 100 mL larutan NaCl 0.9% untuk dihaluskan dengan blender. Selanjutnya suspensi yang didapatkan disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan sari buah nanas. Sari buah nanas berupa supernatan disimpan di dalam tabung sentrifuge dengan cara dialiokot sebanyak 10 mL pada masing-masing tabung dan disimpan pada cooler box yang telah diisi es batu dan dijaga pada suhu 4°C. Pengawasan suhu dilakukan setiap 30 menit menggunakan thermomter. Supernatan tersebut adalah ekstrak kasar enzim bromelin yang akan digunakan pada tahap selanjutnya. Penentuan kadar protein diukur menggunakan metode Bradford dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 550 nm.

2.2.2. Isolasi Enzim Papain

Sumber enzim papain yang digunakan adalah pepaya yang dibeli di penjual sayur di sekitar jalan G. Obos XII, Kota Palangka Raya sebesar 600gram. Pepaya dikupas dan diambil sebanyak 100gram dan ditambah larutan NaCl 0.9% lalu dihaluskan menggunakan blender. Karena kandungan air yang cukup banyak, pemisahan supernatan dipisahkan menggunakan metode sentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang didapatkan adalah ekstrak kasar enzim papain dan disimpan di dalam tabung sentrifuge dengan cara dialiokot sebanyak 10 mL pada masing-masing tabung. Ekstrak kasar enzim papain disimpan pada cooler box yang telah diisi es batu agar suhu terjaga di sekitar 4°C. Penentuan kadar protein diukur menggunakan metode Bradford dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 550 nm.

2.2.3. Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Sebanyak 1.118gram tirosin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL larutan HCl 0,1 N untuk mempercepat pelarutan, kemudian diencerkan dengan aquades hingga volume akhir 100 mL dalam labu takar, sehingga diperoleh larutan stok tirosin dengan konsentrasi 10 mg/mL. Larutan ini digunakan sebagai larutan induk untuk pembuatan deret standar tirosin dengan konsentrasi 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; dan 0,1 mg/mL, yang diperoleh melalui pengenceran bertingkat. Deret standar tersebut digunakan untuk membuat kurva standar tirosin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm.

2.2.4. Pembuatan Larutan Substrat Kasein

Larutan substrat kasein dibuat dengan menimbang 2gram kasein dan dilarutkan menggunakan 10 mL NaOH 0,1 N, lalu ditambahkan larutan buffer sesuai pH yang dikehendaki hingga 100 mL. Variansi pH yang digunakan adalah PH 4, 5, 6, 7, 8, dan 9. pH 4 dan 5 menggunakan 50 mM buffer sitrat yang terdiri atas campuran asam sitrat dan natrium sitrat. Selanjutnya, pH 6, 7, dan 8 menggunakan 50 mM buffer fosfat yang terdiri atas Na₂HPO₄ dan NaH₂PO₄. Lalu larutan pH 9 menggunakan 50 mM buffer NaOH-glisin. Kesemua larutan buffer yang dibuat disesuaikan menggunakan larutan 2 M HCl atau 2 M NaOH untuk mencapai nilai pH yang diinginkan.

2.2.5. Uji Aktivitas Bromelin dan Papain terhadap Variasi pH

Uji aktivitas proteolitik dilakukan dengan memasukkan 1.5 mL larutan kasein ke dalam tabung reaksi dan menginkubasinya selama 5 menit pada suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan 1 mL ekstrak kasar enzim bromelin atau papain dan inkubasi dilanjutkan selama 15 menit pada suhu 40°C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2.5 mL larutan TCA 5%, kemudian larutan diaduk dan didiamkan pada suhu ruang selama 60 menit sambil diaduk sesekali. Setelah itu, campuran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. Untuk tabung kontrol digunakan buffer untuk mengganti ekstrak kasar enzim bromelin atau papain. Larutan substrat dan buffer yang digunakan disesuaikan dengan variasi pH yang akan diukur. Unit aktivitas proteolitik didefinisikan sebagai 1 µg tirosin yang dihasilkan per mililiter enzim proteolitik per menit, dihitung berdasarkan rumus berikut ini:

$$\text{Unit Aktivitas } \left(\frac{U}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Konsentrasi tirosin } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)}{\text{Volume enzim (mL)} \times \text{waktu inkubasi (menit)}} \quad (1)$$

3. Results and Discussion

3.1. Isolasi Enzim Bromelin dan Papain

Proses isolasi enzim bromelin dari buah nanas menghasilkan ekstrak kasar dengan volume akhir sebesar 32 mL, sedangkan isolasi enzim papain dari buah pepaya menghasilkan volume ekstrak sebesar 38 mL. Perbedaan volume akhir ini menunjukkan adanya variasi kandungan cairan serta efisiensi proses ekstraksi pada masing-masing bahan. Pepaya menghasilkan volume ekstrak yang lebih besar, yang kemungkinan dipengaruhi oleh kandungan air jaringan buah yang relatif tinggi serta proses pemisahan yang lebih optimal dalam memperoleh fraksi cair.

Perbedaan metode pemisahan antara kedua ekstrak dilakukan berdasarkan karakteristik fisik bahan. Pada ekstrak nanas, pemisahan dilakukan menggunakan penyaringan dengan kertas saring karena suspensi yang dihasilkan relatif lebih homogen dan mudah dipisahkan dari ampas padat. Metode filtrasi dinilai cukup efektif untuk memperoleh supernatan tanpa perlakuan mekanik tambahan yang berpotensi meningkatkan suhu dan menyebabkan denaturasi protein. Sebaliknya, ekstrak pepaya menunjukkan viskositas yang lebih tinggi dan mengandung partikel tersuspensi yang lebih halus, sehingga filtrasi saja kurang menghasilkan supernatan yang jernih. Oleh karena itu, digunakan metode sentrifugasi pada 4500 rpm selama 10 menit untuk mempercepat pemisahan fase cair dan padat berdasarkan perbedaan densitas. Pemilihan sentrifugasi pada ekstrak pepaya bertujuan untuk memperoleh supernatan yang lebih bersih dan stabil, sehingga dapat meminimalkan interferensi pada tahap analisis spektrofotometri.

Hasil akhir pada tahap ini adalah didapatkannya 38 mL ekstrak kasar enzim bromelin dan 32 mL ekstrak kasar enzim papain, sehingga rendemen yang didapatkan untuk isolasi enzim bromelin dan papain adalah 38% dan 32% (Tabel 1). Selanjutnya, hasil analisis kadar protein menggunakan metode Bradford menunjukkan bahwa konsentrasi protein pada ekstrak papain lebih tinggi, yaitu sebesar 21,89 mg/mL, dibandingkan dengan ekstrak bromelin sebesar 10,04 mg/mL (Tabel 1). Tingginya konsentrasi protein pada ekstrak papain dapat dikaitkan dengan kandungan lateks pada jaringan pepaya yang diketahui kaya akan enzim protease, termasuk papain.

Tabel 1. Hasil Rendemen dan konsentrasi protein terlarut

Jenis Ekstrak Kasar	Volume Akhir Ekstrak Kasar (mL)	Rendemen (%)	Konsentrasi Protein (mg/mL)
Enzim Bromelin	38	38	10,04
Enzim Papain	32	32	21,89

Namun demikian, metode Bradford mengukur total protein terlarut dan tidak secara spesifik mengukur konsentrasi enzim aktif. Oleh karena itu, meskipun konsentrasi protein papain lebih tinggi, hal tersebut belum tentu mencerminkan aktivitas proteolitik yang lebih besar dibandingkan bromelin. Ekstrak kasar masih mengandung protein non-enzimatik serta komponen lain seperti gula dan senyawa metabolit sekunder yang dapat berkontribusi terhadap nilai absorbansi pada uji Bradford.

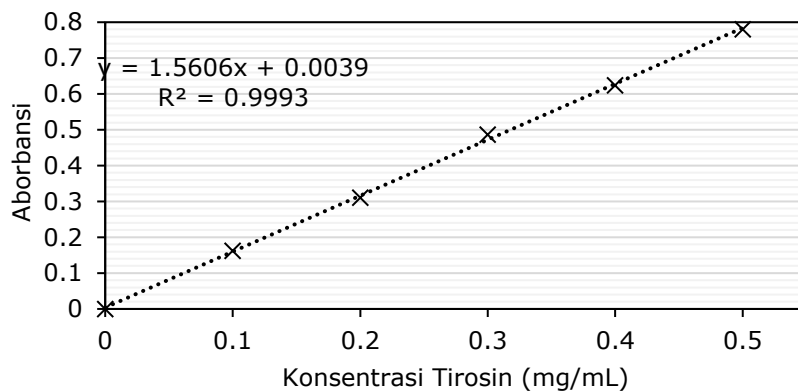
Secara keseluruhan, metode ekstraksi menggunakan larutan NaCl 0,9% dikombinasikan dengan teknik pemisahan yang disesuaikan dengan karakteristik bahan terbukti mampu menghasilkan ekstrak kasar enzim protease dengan konsentrasi protein yang memadai. Tahap ini menjadi dasar

penting untuk pengujian aktivitas enzim terhadap variasi pH pada tahap selanjutnya, guna menentukan kondisi optimum aktivitas proteolitik masing-masing enzim.

3.2. Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar tirosin dibuat untuk menentukan hubungan antara konsentrasi tirosin dan nilai absorbansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Gambar 1). Deret standar dengan konsentrasi 0.0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; dan 0.5 mg/mL menunjukkan peningkatan nilai absorbansi secara proporsional seiring dengan peningkatan konsentrasi (Tabel 1). Nilai absorbansi berkisar dari 0.000 pada konsentrasi 0.0 mg/mL hingga 0.780 pada konsentrasi 0.5 mg/mL.

Berdasarkan analisis regresi linear, diperoleh persamaan garis: $y = 1.5606x + 0.0039$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.9993. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi tirosin dan absorbansi bersifat sangat linear dalam rentang konsentrasi yang digunakan. Hal ini menandakan bahwa metode spektrofotometri yang digunakan memiliki akurasi dan presisi yang baik untuk analisis kuantitatif tirosin sebagai produk hidrolisis protein.



Gambar 1. Kurva Standar Tirosin

Kemiringan garis (slope) sebesar 1.5606 menunjukkan sensitivitas metode dalam mendeteksi perubahan konsentrasi tirosin, di mana setiap kenaikan 1 mg/mL konsentrasi tirosin menghasilkan peningkatan absorbansi sebesar 1,5606 unit. Nilai intersep yang sangat kecil (0,0039) mengindikasikan bahwa gangguan sistematis atau absorbansi blanko relatif rendah, sehingga validitas kurva standar dapat diterima untuk perhitungan aktivitas enzim.

Kurva standar ini selanjutnya digunakan sebagai dasar perhitungan jumlah tirosin yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis kasein oleh enzim bromelin dan papain. Dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi, konsentrasi tirosin yang terbentuk dapat ditentukan secara kuantitatif. Penentuan konsentrasi tirosin ini menjadi parameter utama dalam menghitung aktivitas protease pada variasi pH yang diuji pada tahap berikutnya.

Pada penelitian ini, pengujian aktivitas protease dilakukan menggunakan kasein sebagai substrat. Kasein dipilih karena merupakan protein kompleks yang mudah terhidrolisis oleh enzim protease seperti bromelin dan papain, sehingga sering digunakan sebagai substrat standar dalam analisis aktivitas proteolitik (Sulistiyono dkk., 2022). Selama reaksi berlangsung, bromelin maupun papain akan memutus ikatan peptida pada molekul kasein dan menghasilkan peptida yang lebih pendek serta asam-asam amino bebas (Harum dkk., 2022). Salah satu asam amino aromatik yang dilepaskan dari hidrolisis tersebut adalah tirosin. Keberadaan tirosin kemudian digunakan sebagai indikator kuantitatif tingkat aktivitas enzim, karena jumlah tirosin yang terbentuk berbanding lurus dengan kemampuan enzim dalam menghidrolisis substrat protein.

Penentuan konsentrasi tirosin dilakukan melalui pembuatan kurva standar tirosin dan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. Tirosin memiliki gugus cincin aromatik yang mampu menyerap sinar ultraviolet secara kuat pada panjang gelombang tersebut, sehingga relatif mudah dan sensitif untuk diidentifikasi. Berdasarkan pendekatan ini, satu unit aktivitas protease dalam penelitian ini didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu menghasilkan 1 mikromol tirosin per mililiter enzim per satuan waktu reaksi

melalui hidrolisis kasein. Definisi ini memungkinkan kuantifikasi aktivitas enzim secara terstandar dan memudahkan perbandingan aktivitas antara papain dan bromelin pada berbagai kondisi pH yang diuji.

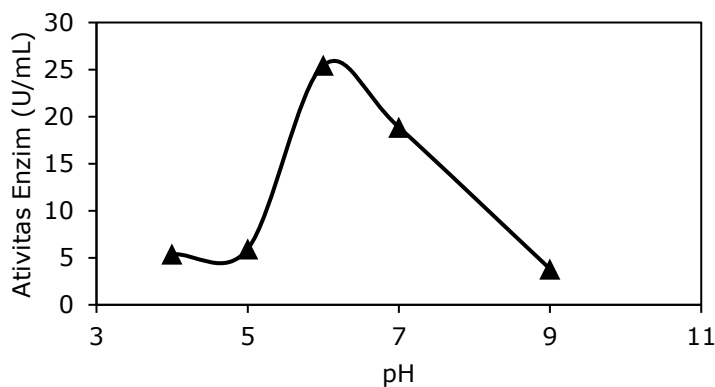
3.3. Aktivitas Proteolitik Bromelin terhadap Variasi pH

Hasil pengujian aktivitas enzim bromelin terhadap berbagai tingkat pH menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik bromelin meningkat secara signifikan dari pH 4 sampai mencapai puncaknya pada pH 6, kemudian menurun pada pH yang lebih tinggi (pH 7 dan pH 9). Secara kuantitatif, aktivitas tertinggi tercatat pada pH 6 sebesar 25,4 U/mL, sedangkan pada pH 4 dan 9 aktivitasnya relatif rendah (<0,06 U/mL). Pola ini biasanya terjadi akibat perubahan struktur tiga dimensi enzim yang sangat dipengaruhi keasaman sehingga mengakibatkan perubahan muatan enzim.

Profil aktivitas bromelin yang menunjukkan pH optimum sekitar pH netral-sedikit asam konsisten dengan pola yang dilaporkan pada studi lain. Saptarini et al. (2023) melaporkan bahwa bromelin kasar dari berbagai bagian buah nanas memiliki aktivitas puncak pada pH 7, meskipun rentang aktifnya cukup luas tergantung bagian tanaman yang diekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa bromelin memiliki toleransi pH yang relatif fleksibel namun tetap menunjukkan kondisi optimal di sekitar pH netral-sedikit asam (Saptarini dkk., 2023). Lebih lanjut, penelitian oleh Yulastri (2024) juga mendukung bahwa bromelin aktif pada pH menengah hingga netral, meskipun metode ekstraksi dan sumber bahan yang berbeda dapat sedikit mengubah nilai optimum pH (Yulastri dkk., 2024).

Fenomena pH-optimum ini dapat dijelaskan secara biokimia karena bromelin termasuk kelompok protease sistein yang aktivitasnya sangat bergantung pada ionisasi residu sistein dan histidin di sisi aktif (Petushkova dkk., 2022). Ionisasi ini sensitif terhadap pH sehingga pada kondisi terlalu asam atau terlalu basa dapat mengganggu keseimbangan muatan dan konfigurasi sisi aktif, sehingga afinitas terhadap substrat menurun (Masri, 2014). Ketergantungan aktivitas terhadap pH seperti ini juga dilaporkan pada kajian protease lain, di mana optimum biasanya berada pada pH netral sampai sedikit asam karena kondisi tersebut mempertahankan konformasi aktif secara maksimal (Petushkova dkk., 2022).

Dalam tinjauan komprehensif oleh Venetikidou et al. (2025), bromelin menunjukkan aktivitas proteolitik pada rentang pH yang cukup luas (sekitar pH 3-8) dengan aktivitas yang meningkat sampai pH 7 sebelum menurun pada pH yang lebih tinggi, yang sejalan dengan pola dalam penelitian ini bahwa aktivitas menurun setelah melewati titik optimum pH (Venetikidou dkk., 2025). Hal ini menunjukkan bahwa bromelin dalam bentuk ekstrak kasar maupun yang dipurifikasi merespon pH dengan tipe yang serupa secara umum meskipun ada perbedaan dalam nilai aktivitasnya. Perbedaan nilai pH optimum bisa disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi, tingkat kemurnian, sumber bagian tanaman serta jenis substrat yang digunakan untuk mengukur aktivitas enzim (Kumaunang & Kamu, 2011; Rose intan perma sari dkk., 2022).



Gambar 2. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Bromelin terhadap Variasi pH

Kesesuaian hasil penelitian ini dengan berbagai literatur menunjukkan bahwa ekstrak kasar bromelin yang diperoleh melalui metode homogenisasi sederhana masih mempertahankan karakteristik biokimia yang serupa dengan bromelin yang telah dilaporkan sebelumnya.

Perbedaan kecil dalam nilai aktivitas dapat dipengaruhi oleh bagian nanas yang digunakan, tingkat kematangan nanas, jenis substrat yang digunakan dalam uji aktivitas, serta tingkat kemurnian enzim (Dewi dkk., 2025). Dalam penelitian ini digunakan ekstrak kasar tanpa tahap pemurnian lanjutan, sehingga kemungkinan adanya protein non-enzimatik dan komponen matriks buah dapat mempengaruhi stabilitas enzim terutama pada pH ekstrem. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa bromelin hasil isolasi dari buah nanas memiliki pH optimum pada kondisi sedikit asam (pH 6) dan menunjukkan pola aktivitas yang sejalan dengan karakteristik bromelin yang telah dilaporkan dalam berbagai studi sebelumnya.

3.4. Aktivitas Proteolitik Papain terhadap Variasi pH

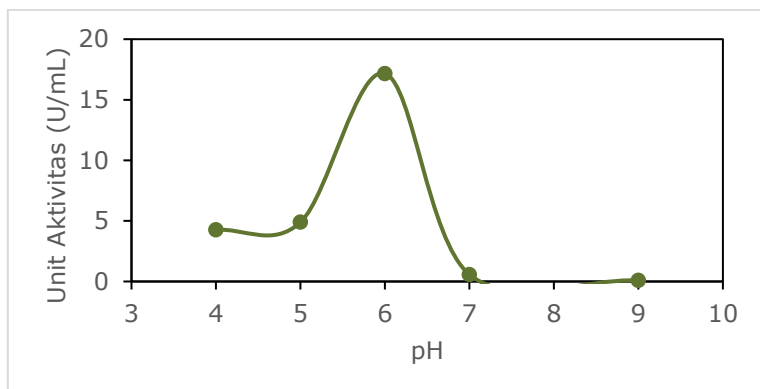
Pengujian aktivitas enzim *papain* terhadap variasi pH menunjukkan bahwa aktivitas proteolitiknya meningkat dari pH 4 dan pH 5 menuju pH 6, kemudian mencapai nilai maksimum pada pH 6 sebesar 17,1 U/mL. Setelah pH optimum tersebut terlampaui, aktivitas papain mengalami penurunan tajam di pH 7 dan nyaris tidak terdeteksi pada pH 9, menunjukkan bahwa papain dalam bentuk ekstrak kasar memiliki rentang aktivitas yang relatif sempit dan sangat sensitif terhadap lingkungan pH yang lebih basa.

Karakteristik pH optimum papain yang diamati pada penelitian ini menggambarkan respon enzim terhadap perubahan muatan residu asam amino di sisi aktifnya, terutama residu sistein yang berperan dalam mekanisme katalitik (Hilner dkk., 2025). Perubahan pH menyebabkan perubahan ionisasi gugus tersebut sehingga interaksi enzim-substrat dapat terhambat di luar kondisi optimum (Petushkova dkk., 2022). Hasil ini konsisten dengan karakteristik papain yang dilaporkan dalam literatur, di mana papain memiliki aktivitas pH optimum dalam kisaran asam sampai netral dan menurun pada pH ekstrem. Sebagai contoh, studi pada papain sebagian dipurifikasi melaporkan bahwa papain menunjukkan aktivitas optimal pada pH 4,5-6,6 ketika diukur terhadap substrat kasein setelah pemurnian, menunjukkan bahwa aktivitas papain sangat dipengaruhi oleh kondisi pH medium uji (Babalola dkk., 2023). Selain itu, suatu survei literatur menyatakan bahwa papain memiliki rentang optimum pH dari 4,5 sampai sekitar 6,7 tergantung kondisi substrat dan sumber papain yang digunakan, yang sejalan dengan penurunan aktivitas pada pH >7 yang diamati pada penelitian ini (Ayodipupo Babalola dkk., 2023).

Perbandingan dengan hasil aktivitas enzim bromelin pada penelitian ini menunjukkan bahwa kedua enzim protease yang berasal dari sumber buah tropis tersebut memiliki pH optimum yang sama, yaitu pH 6, yang menunjukkan bahwa kondisi sedikit asam sangat mendukung kerja katalitik kedua enzim tersebut. Bromelin yang diisolasi dari nanas juga menunjukkan aktivitas maksimum pada pH 6, yang sejalan dengan laporan penelitian isolasi bromelin dari batang nanas yang menunjukkan pH optimum di sekitar pH 6 (Rose intan perma sari dkk., 2022). Meskipun demikian, pola penurunan aktivitas setelah pH optimum memperlihatkan perbedaan karakter antara kedua enzim. Pada penelitian ini, bromelin masih mempertahankan aktivitas yang cukup tinggi pada pH 7 sebelum mengalami penurunan yang signifikan pada pH 9, sementara papain menunjukkan penurunan yang jauh lebih drastis segera setelah pH optimum terlampaui.

Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh karakter biokimia masing-masing enzim, meskipun keduanya tergolong dalam kelas *cysteine protease*. Bromelin dilaporkan memiliki rentang aktivitas yang relatif lebih luas terhadap variasi pH dibandingkan papain, terutama karena variasi isoenzim dan struktur domainnya yang dapat menstabilkan sisi aktif dalam berbagai kondisi pH (Venetikidou dkk., 2025).

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa papain dan bromelin sama-sama protease yang aktif pada pH sedikit asam sampai netral, namun papain cenderung memiliki sensitivitas yang lebih tinggi terhadap perubahan pH menjadikannya lebih cepat kehilangan aktivitas di luar kondisi optimum jika dibandingkan dengan bromelin. Temuan ini penting dalam konteks aplikasi industri maupun penelitian lanjutan, karena kondisi pH yang tepat perlu dikendalikan lebih ketat saat menggunakan papain untuk aplikasi biokatalitik atau bioproses yang membutuhkan stabilitas enzim tinggi.



Gambar 3. Aktivitas Enzim Papain terhadap Variasi pH

4. Conclusion

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi enzim bromelin dari buah nanas dan enzim papain dari buah pepaya serta mengukur aktivitas enzimnya menggunakan substrat kasein. Hasil rendemen pada ekstraksi enzim bromelin dan papain pada penelitian ini mencapai 38% dan 32% dengan masing-masing kadar protein sebesar 10,04 dan 21,89 mg/mL. Nilai aktivitas bromelin dan papain dipengaruhi secara signifikan oleh perubahan pH. Bromelin menunjukkan aktivitas optimum pada pH 6, sebesar 25,4 U/mL dimana aktivitas menurun drastis di pH asam. Enzim papain juga memiliki aktivitas optimum pada pH 6 sebesar 17,1 U/mL dan menurun drastis pada pH basa

Acknowledgement

Penelitian ini merupakan bagian dari pembelajaran berbasis proyek (*project-based learning*) mata kuliah enzimologi tahun ajaran 2023/2024 di program studi kimia, FMIPA, Universitas Palangka Raya.

References

- Ayodipupo Babalola, B., Ifeolu Akinwande, A., Otunba, A. A., Ebenezer Adebami, G., Babalola, O., & Nwifo, C. (2023). Therapeutic benefits of Carica papaya: A review on its pharmacological activities and characterization of papain. *Arabian Journal of Chemistry*, *17*, 105369. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105369>
- Babalola, B. A., Akinwande, A. I., Gboyega, A. E., & Otunba, A. A. (2023). Extraction, purification and characterization of papain cysteine-proteases from the leaves of Carica papaya. *Scientific African*, *19*, e01538. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01538>
- Budiantoro, T., & Shofia Inayati, A. (2018). Pembuatan Enzim Papain Kasar dari Biji, Daun dan Kulit Pepaya dan Aplikasinya untuk Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO). *Jurnal Teknologi Agro-Industri*, *5*(2), 77–89.
- Dewi, N. P. A. K., Dewi, P. M. D., Ninjaya, A. A. N. G. A., Parta, N. A. T. P. P., & Dewi, N. K. S. M. (2025). TREN PUBLIKASI ILMIAH TENTANG ISOLASI DAN PEMANFAATAN ENZIM BROMELIN DARI NANAS: STUDI BIBLIOMETRIK. *Jurnal Farmasi Al-Ghaffiqi*, *1*(2), 18–25. <https://jurnal.itkesmusidrap.ac.id/JUFAL>
- Harum, V. M., Afifah, S., Suharti, S., Haryono, N. Y., & Susanti, D. E. (2022). Pemekatan Ekstrak Kasar Protease Bacillus Megaterium Tr-10 Dengan Metode Pengendapan Amonium Sulfat. *Live and Applied Science*, 2964–772.
- Hilner, J. M., Turner, A., Vollmar-Zygarlenski, C., & Millet, L. J. (2025). Rigor & Reproducibility: pH Adjustments of Papain with L-Cysteine Dissociation Solutions and Cell Media Using Phenol Red Spectrophotometry. *Biosensors*, *15*(11). <https://doi.org/10.3390/bios15110727>
- Juwita, R., Tyas, E., Sejati, D. A. P., & Simanjutak, A. V. S. (2022). Inovasi Ekstrak Pepaya sebagai Enzim Papain. *Jurnal MIPA dan Pembelajaran*, *2*(4), 300–306. <https://doi.org/10.17977/um067v2i4p300-306>
- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). AKTIVITAS ENZIM BROMELIN DARI EKSTRAK KULIT NENAS (*Ananas comosus*). *Jurnal Ilmiah Sains*, *11*(2).

- Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M., & Wang, X. (2012). TECHNOLOGY PROSPECTING ON ENZYMES: APPLICATION, MARKETING AND ENGINEERING. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2(3), e201209017. <https://doi.org/10.5936/csbj.201209017>
- Masri, M. (2014). Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) pada Variasi Suhu dan pH. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2), 119–125.
- Okpara, M. O., Bamidele, O. S., & Ajele, J. O. (2019). Enhanced Production of Salinity-Induced Proteases from *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*; *Advances in Enzyme Research*, 07(04), 45–56. <https://doi.org/10.4236/aer.2019.74004>
- Patel, A. K., Singhania, R. R., & Pandey, A. (2017). Production, Purification, and Application of Microbial Enzymes. Dalam *Biotechnology of Microbial Enzymes* (hlm. 13–41). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00002-9>
- Petushkova, A. I., Savvateeva, L. V., & Zamyatin, A. A. (2022). Structure determinants defining the specificity of papain-like cysteine proteases. *Computational and structural biotechnology journal*, 20, 6552–6569. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.040>
- Rose intan perma sari, 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>
- Saptarini, N. M., Mustarichie, R., & Rahayu, D. (2023). Isolation, Characterization, and Evaluation of Protease Activity of Crude Bromelain of Pineapple Peel, Core, and Crown from Subang District, Indonesia. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 15(1), 42–48. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_26_22
- Satu Data Perdagangan. (2024). *Perkembangan Impor Non Migas (Komoditi)*.
- Sulistiyono, D. F., Soesanto, L., & Ratnaningtyas, N. I. (2022). Uji Aktivitas Protease Empat Isolat *Trichoderma* spp. yang Berasal dari Tanah Perakaran. *Chimica et Natura Acta*. <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36774>
- Venetikidou, M., Lykartsis, E., Adamantidi, T., Prokopiou, V., Ofrydopoulou, A., Letsiou, S., & Tsoupras, A. (2025). Proteolytic Enzyme Activities of Bromelain, Ficin, and Papain from Fruit By-Products and Potential Applications in Sustainable and Functional Cosmetics for Skincare. *Applied Sciences*, 15(5), 2637. <https://doi.org/10.3390/app15052637>
- Wasdili, F. A. Q., Rihibiha, D. D., & Permana, E. V. (2024). Pemanfaatan Enzim Papain dari Pepaya Lokal sebagai Protease untuk Isolasi DNA Genome Bakteri dalam Menunjang Pemeriksaan Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Analis Kesehatan Klinik Sains*, 12(1), 1–9.
- Yulastri, W., Irdawati, I., Yusrizal, Y., Fatiha, F. D., Nissha, D. K., & Anggraeni, N. P. (2024). Innovation in Bromelain Enzyme Production from Pineapple and Honey and Its Characteristics. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 10(8), 6239–6244. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v10i8.6976>