

PENGARUH pH DAN SUHU TERHADAP KEMAMPUAN ENZIM BROMELIN UNTUK MENGGUMPALKAN SUSU

[THE EFFECT OF pH AND TEMPERATURE ON THE ABILITY OF BROMELIN ENZYME TO COAGULATE MILK]

Nurul Af'idah^{1*}, Sitti Nur Ilmiah²

^{1,2}Program Studi Biologi, Universitas Billfath, Lamongan, Indonesia

*Korespondensi penulis: nurulafidah59@gmail.com

ABSTRACT

Pineapple (Ananas comosus L.) is a fruit belonging to the Bromeliaceae family. The pineapple plant (Ananas comosus L.) contains bromelin enzyme which can be used as a substitute for the enzyme renin (rennet) as a milk coagulant agent. This research aims to determine the effect of pH and temperature on the speed of the bromelin enzyme's ability to coagulate milk, as well as determine the best pH and temperature on the speed of the bromeline enzyme's ability to coagulate milk. This research uses a factorial with a Completely Randomized Design (RAL-F) pattern consisting of 2 factors, the first factor is pH (K), K1 = pH 6 (acid)/ test tube; K2 = pH 7 (neutral)/ test tube; K3 = pH 8 (alkaline)/ test tube. Furthermore, the second treatment is temperature (D), D1 = temperature 60°C/test tube; D2 = temperature 40°C/test tube; D3 = temperature 50°C/test tube. Each factor consists of 3 treatment levels, the total number of treatment combinations is 9 and each treatment combination is repeated 3 times. The results of the research show that there is an influence between providing variations in pH and temperature on the speed of the bromelin enzyme's ability to coagulate milk. The fastest average speed of milk coagulation time was in the K2D3 treatment (pH 7 temperature 50°C), namely 19.33 minutes, so it can be said that the best treatment was the pH and temperature in the K2D3 treatment (pH 7 temperature 50°C).

Keywords: bromelin enzyme; coagulation; pH; pineapple humps; temperature

ABSTRAK

Nanas (*Ananas comosus L.*) merupakan salah satu buah yang termasuk dalam famili *Bromeliaceae*. Tanaman nanas (*Ananas comosus L.*) mengandung enzim bromelin yang dapat dijadikan sebagai pengganti enzim renin (rennet) untuk agen koagulan susu. Penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu, serta menentukan pH dan suhu terbaik terhadap kecepatan kemampuan enzim bromein dalam koagulasi susu. Penelitian ini menggunakan faktorial dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL-F) yang terdiri atas 2 faktor, faktor pertama yaitu pH (K), K1 = pH 6 (asam)/tabung reaksi; K2 = pH 7 (netral)/tabung reaksi; K3 = pH 8 (basa)/tabung reaksi. Selanjutnya, perlakuan kedua yaitu suhu (D), D1 = suhu 60°C/tabung reaksi; D2 = suhu 40°C/tabung reaksi; D3 = suhu 50°C/tabung reaksi. Masing-masing faktor terdiri atas 3 taraf perlakuan, jumlah total kombinasi perlakuan sebanyak 9 dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh antara pemberian variasi pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu. Rata-rata kecepatan waktu koagulasi susu tercepat terdapat pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C) yaitu 19,33 menit, sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan terbaik adalah pH dan suhu pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C).

Kata kunci: bonggol nanas; enzim bromelin; koagulasi; pH; suhu

PENDAHULUAN

Susu merupakan makanan alami yang mengandung protein 3,5%, air 87,5%, laktosa (gula susu) 5%, dan lemak 3-4%. Susu juga merupakan sumber kalsium, fosfor, dan vitamin A (Rinanty, 2019). Untuk mempertahankan umur simpan susu agar tahan lama maka perlu dilakukan pengolahan terhadap susu. Salah satu cara pengolahan susu adalah dengan pembuatan keju (Hutagalung *et al.*, 2017).

Keju merupakan salah satu produk pangan yang dihasilkan dari proses penggumpalan atau koagulasi protein susu, proses pengolahan susu menjadi produk keju memerlukan bantuan kerja enzim yang akan berperan untuk mengubah susu menjadi gumpalan (*curd*) melalui proses koagulasi (Rakhmah & Suryani, 2016). Komponen utama penyusun keju yaitu kasein (protein utama susu), selebihnya terdiri atas protein *whey*, lemak, laktosa, mineral, vitamin dan air (Purwadi, 2019).

Kebutuhan keju di Indonesia semakin meningkat hingga sebagian besar kebutuhan keju di Indonesia dipenuhi dengan cara import dari luar, salah satunya dari Amerika Serikat yaitu sebanyak 2.726 ton yang mengalami peningkatan berkelanjutan hingga meningkat sebesar 5,95% per tahun (Badan Pusat Statistik, 201). Hal ini menyebabkan sebagian masyarakat Indonesia menganggap keju sebagai makanan yang mahal dengan proses

produksi yang sulit. Permasalahan ini disebabkan dalam proses produksi keju dilakukan dengan menambahkan enzim renin (rennet) atau proteolitik lain yang dihasilkan dari bakteri (Sari *et al.*, 2014). Enzim renin berasal dari lambung hewan ruminansia (memamah biak) diantaranya termasuk lambung anak sapi. Selain dari lambung anak sapi, lambung babi juga merupakan sumber enzim renin (Rakhmah & Suryani 2016). Hal ini menyebabkan tingginya biaya yang diperlukan jika enzim renin ini akan digunakan sebagai enzim dalam produksi keju secara massal dan berdampak pada mahalanya harga keju karena enzim renin tersedia dalam jumlah yang terbatas.

Selain ketersediaannya yang terbatas, kendala lain pada penggunaan enzim renin ini adalah kehalalannya jika menggunakan enzim renin yang berasal dari lambung babi. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif yang berpotensi untuk menggantikan enzim renin sekaligus yang mampu menekan biaya produksi, mudah diperoleh, dan halal. Salah satu enzim proteolitik yang berpotensi memiliki kemampuan dalam proses koagulasi susu yaitu enzim bromelin (Salsabila, 2023).

Enzim bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease seperti halnya renin (rennet), papain, dan fisin yang mempunyai sifat mampu menghidrolisis protein. Proses hidrolisis yang terjadi pada

enzim protein adalah pemutusan ikatan peptida dari ikatan substrat, enzim protease berperan sebagai katalisator di dalam sel. Enzim bromelin dapat ditemukan pada tanaman nanas (*Ananas comosus* L.) (Masri, 2014).

Nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan salah satu buah yang termasuk dalam famili *Bromeliaceae*. Nanas mengandung gula, vitamin A, vitamin B, asam sitrat, asam malat, dan bromelin (Hossain *et al.*, 2015). Enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus* L.) merupakan ekstrak kasar (*crude extract*) yang dapat diperoleh dari batang, buah, mahkota bunga, bonggol, dan kulit nanas (Wiyati & Tjitraresmi., 2018).

Pada penelitian Ilyas *et al.*, (2020), bonggol nanas memiliki aktivitas enzim bromelin yang tinggi sebesar 0,33 U/mg dibandingkan dengan aktivitas enzim pada bagian buah nanas yakni sebesar 0,24 U/mg. Selain mengandung aktivitas paling tinggi, pemanfaatan bonggol nanas sebagai enzim bromelin akan dapat mengurangi banyaknya limbah bonggol nanas yang melimpah karena sebagian besar masyarakat tidak memanfaatkan bonggol nanas tersebut melainkan dibuang. Limbah bonggol nanas yang melimpah tersebut dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai sumber enzim bromelin untuk proses koagulasi susu.

Aktivitas enzim bromelin sebagai agen koagulan susu salah satunya

dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH dan suhu. Kondisi pH dan suhu yang berbeda akan menyebabkan perbedaan laju waktu koagulasi selama proses penggumpalan susu. Oleh karena itu, untuk menentukan laju waktu koagulasi susu, perlu ditentukan adanya kondisi pH dan suhu terbaik agar enzim bromelin dapat melakukan aktivitasnya (Wiyati & Tjitraresmi, 2018).

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan pengaruh pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu, serta menentukan pH dan suhu terbaik terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) varietas madu yang diperoleh dari pasar Desa Wide (Kec. Brondong, Kab. Lamongan Provinsi Jawa Timur), pH buffer powder, alkohol 96%, air, aquades, larutan NaOH 10%, larutan Pb-asetat 5%, natrium dihidrogen fosfat, di-natrium hidrogen fosfat, buffer Tris, HCl 0,2 M, dan susu bubuk *full cream* merek "*Frisian flag*".

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau *stainless steel*, timbangan analitik, baskom, parutan, saringan, kertas saring, corong gelas,

erlenmeyer, *beaker glass*, pH meter, botol kaca, *box ice*, *freezer*, *micropipette*, tip, pipet tetes, gelas ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, rak tabung reaksi, kompor listrik, termometer air raksa, kertas label, dan *stopwatch*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan faktorial dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL-F) yang terdiri dari 2 faktor, yaitu faktor pH (K), K1 = pH 6; K2 = pH 7; K3 = pH 8. Dan suhu (D), D1 = suhu 60°C; D2 = suhu 40°C; D3 = suhu 50°C. Masing-masing faktor terdiri atas 3 taraf perlakuan, jumlah total kombinasi perlakuan sebanyak 9 dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga total percobaan adalah $3 \times 3 \times 3 = 27$ tabung reaksi.

Pembuatan Larutan Buffer

Larutan Buffer Na Phosphat

Pada pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M terdiri dari dua macam yakni dibasik atau Di-Natrium Hidrogen Phosphat (Na_2HPO_4), dan monobasik atau Natrium Dihidrogen Phosphat (NaH_2PO_4). Proses pembuatan larutan dibasik 0,2 M dibuat berdasarkan rumus molaritas yakni serbuk dibasik diambil dan ditimbang sebanyak 2,84 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan dengan aquades 100 mL dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen, larutan dibasik diukur pHnya menggunakan pH meter dan hasilnya menunjukkan pH 8,89.

Proses pembuatan larutan monobasik 0,2 M dibuat berdasarkan rumus molaritas yakni serbuk monobasik diambil dan ditimbang sebanyak 2,45 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan dengan aquades 100 mL dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen, larutan monobasik diukur pHnya menggunakan pH meter dan hasilnya menunjukkan pH 3,90.

Selanjutnya yaitu pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M pH 6, caranya yaitu dengan melihat larutan mana yang paling mendekati pH 6, maka itulah yang akan digunakan untuk pembuatan larutan buffer pH 6. Dan yang mendekati pH 6 adalah larutan dibasik (pH 8,89). Larutan stok dibasik dituang sebagian ke dalam gelas beaker, lalu ditambahkan dengan larutan monobasik untuk menurunkan pHnya menggunakan pipet tetes dan diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan sambil diukur pHnya menggunakan pH meter dan diamati hingga larutan menunjukkan pH 6.

Sama halnya dengan pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M pH 6, pada pembuatan larutan buffer Na Phosphat 0,2 M pH 7 caranya yaitu dengan melihat larutan mana yang paling mendekati pH 7, maka itulah yang akan digunakan untuk pembuatan larutan buffer pH 7. Dan yang mendekati pH 7 adalah larutan dibasik (pH 8,89). Larutan stok dibasik dituang sebagian ke dalam gelas beaker, lalu ditambahkan

dengan larutan monobasik untuk menurunkan pHnya menggunakan pipet tetes dan diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan sambil diukur pHnya menggunakan pH meter dan diamati hingga larutan menunjukkan pH 7.

Larutan Buffer Tris-HCl

Pada pembuatan larutan buffer Tris-HCl 0,2 M terdiri dari dua larutan yakni larutan Tris dan HCl. Proses pembuatan larutan Tris 0,2 M dibuat berdasarkan rumus molaritas yakni serbuk Tris diambil dan ditimbang sebanyak 2,42 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan dalam aquades 100 mL dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen, larutan Tris diukur pHnya menggunakan pH meter dan hasilnya menunjukkan pH 10,08.

Selanjutnya yakni pembuatan buffer Tris HCl 0,2 M pH 8 dikarenakan HCl sudah tersedia dalam bentuk 0,2 M dengan pH 3,31. Caranya yaitu larutan Tris dituang sebagian ke gelas beaker, lalu ditambahkan dengan larutan HCl 0,2 M untuk menurunkan pHnya menggunakan pipet tetes dan diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan sambil diukur pHnya menggunakan pH meter dan diamati hingga larutan menunjukkan pH 8.

Ekstraksi Enzim Bromelin Kasar

Pada tahap ini mengacu pada Silaban *et al.*, (2014) yang telah dimodifikasi yakni ekstraksi enzim

bromelin kasar dilakukan dengan cara menyiapkan buah nanas yang mengkal (tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua) ditandai dengan warna kulitnya hijau kekuningan, kemudian buah nanas dikupas kulitnya, lalu dipotong bagian bonggolnya. Selanjutnya bonggol nanas dicuci, ditimbang, dan diparut. Hasil parutan disaring dua kali, yang pertama menggunakan saringan dan yang kedua menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtratnya. Filtrat yang diperoleh kemudian diukur volume dan pH. Setelah itu ekstrak bonggol nanas dipindahkan dalam botol kaca dan disimpan dalam lemari pendingin.

Uji Identifikasi Enzim Bromelin Kasar

Uji identifikasi enzim bromelin kasar dilakukan melalui uji belerang (PbS). Cara identifikasi dilakukan dengan menyiapkan larutan ekstrak nanas sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan NaOH 10% sebanyak 5 mL dan dipanaskan selama 5 menit di atas kompor listrik. Selanjutnya ditambahkan larutan Pb-asetat 5% sebanyak 2 tetes. Pemanasan dilanjutkan hingga terjadi perubahan warna pada larutan. Hasil uji ini dinyatakan positif atau terdapat enzim bromelin jika terbentuknya larutan kecoklatan dan endapan hitam pada larutan (Silaban *et al.*, 2014).

Pembuatan Larutan Susu

Susu bubuk *full cream* ditimbang sebanyak 12 gram lalu dimasukkan ke dalam

gelas beaker dan ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL hingga mencapai kepekatan 12% (Poba *et al.*, 2019).

Pemberian Variasi pH Pada Enzim Bromelin Kasar

Pada tahap ini mengacu pada penelitian Ilyas *et al.*, (2020) yang telah dimodifikasi yaitu larutan ekstrak nanas yang telah dilakukan uji identifikasi enzim bromelin selanjutnya diberikan perlakuan pH (K) yaitu K1 = pH 6 (asam)/ tabung reaksi; K2 = pH 7 (netral)/ tabung reaksi; K3 = pH 8 (basa)/ tabung reaksi dengan menggunakan buffer Na Phosphat 0,2 M untuk pH 6 dan 7, dan menggunakan buffer Tris-HCl 0,2 M untuk pH 8. Masing-masing perlakuan terdiri atas 1,5 mL larutan enzim bromelin dan 1,5 mL larutan buffer sehingga didapatkan 3 mL campuran enzim dan buffer, namun yang ditambahkan ke susu pada tahap selanjutnya hanya 1,5 mL.

Pemberian Variasi Suhu

Hasil ekstraksi nanas yang telah diberi perlakuan variasi pH selanjutnya digunakan untuk proses koagulasi susu. Larutan susu dengan kepekatan 12% diambil sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan enzim bromelin (yang sebelumnya telah diberi perlakuan variasi pH 6; pH 7; dan pH 8) sebanyak 1,5 ml. Lalu mengatur kerja enzim dengan diberi faktor perlakuan kedua yaitu variasi suhu (D), D1 = suhu 60°C/ tabung reaksi; D2 =

suhu 40°C/ tabung reaksi; D3 = suhu 50°C/ tabung reaksi dengan cara dipanaskan diatas kompor listrik dan suhunya disesuaikan dengan perlakuan menggunakan termometer air raksa (Poba *et al.*, 2019).

Pengamatan Koagulasi Susu

Tahapan selanjutnya yaitu melihat kecepatan koagulasi susu bubuk *full cream* yang telah ditambahkan ekstrak enzim bromelin (dengan variasi pH dan suhu yang sudah ditentukan sebagai perlakuan). Reaksi dihentikan pada saat susu mulai membentuk gumpalan. Aktivitas enzim ini dilihat dari seberapa cepat kemampuan enzim bromelin dalam menggumpalkan susu dan dihitung menggunakan *stopwatch*, *stopwatch* ditekan dan diberhentikan tepat saat larutan susu mulai membentuk gumpalan. Proses penggumpalan susu diamati dan dicatat untuk dianalisis kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam menggumpalkan susu (Poba *et al.*, 2019).

Metode Analisis Data

Data hasil pengamatan pengaruh pH dan suhu terhadap kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu diolah terlebih dahulu dengan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui varian populasinya berdistribusi normal dan homogen. Kemudian dilakukan analisis statistika dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dan analisis ragam menggunakan *Analisis of Varians* (ANOVA) *two way*. Jika hasil uji menunjukkan H_0

diterima (tidak ada perbedaan), maka uji lanjut tidak dilakukan. Sebaliknya jika pada hasil uji menunjukkan H_0 ditolak (ada perbedaan), maka uji lanjut harus dilakukan. Untuk menguji perbedaan antar perlakuan dari hasil penelitian, maka dilakukan uji lanjut dengan metode Uji Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5% untuk menunjukkan perbedaan pada masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Enzim Bromelin Kasar

Ekstraksi enzim bromelin kasar dari bonggol nanas diperoleh volume akhir larutan ekstrak nanas 150 mL dengan pH 3,90. Hasil ekstraksi enzim bromelin kasar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil ekstraksi enzim bromelin kasar
Keterangan: Ekstraksi berasal dari 6 bonggol nanas varietas madu

Sesuai dengan Santi *et al.*, (2017) ekstrak enzim bromelin kasar memiliki kisaran pH yang rendah karena ekstrak enzim bromelin kasar mengandung asam-asam diantaranya asam sitrat, asam malat dan asam oksalat. Asam-asam yang terkandung pada ekstrak nanas tersebut yang

menyebabkan pH menjadi rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian Poba *et al.*, (2019) menyatakan, asam amino pada enzim bromelin memiliki gugus sistein dan histidin (-SH) yang bersifat asam.

Uji Identifikasi Enzim Bromelin Kasar

Hasil uji identifikasi enzim bromelin kasar melalui uji belerang (PbS) dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan hasil uji identifikasi enzim bromelin kasar dapat diketahui bahwa ekstrak bonggol nanas positif mengandung enzim bromelin dengan ditandai adanya endapan hitam, larutan enzim bromelin mengalami perubahan warna dari semula kuning muda menjadi kecoklatan dan membentuk endapan hitam pada dasar tabung reaksi.



Gambar 2. Hasil uji identifikasi enzim bromelin kasar

Keterangan: Uji identifikasi menunjukkan positif mengandung enzim bromelin

Sesuai dengan penelitian Silaban *et al.*, (2014), ketika larutan ekstrak nanas ditambahkan larutan NaOH kemudian dipanaskan, larutan menjadi keruh. Selanjutnya, ketika larutan tersebut diteteskan Pb-Asetat kemudian pemanasan dilanjutkan, larutan mengalami perubahan warna dan terdapat endapan hitam di bawah.

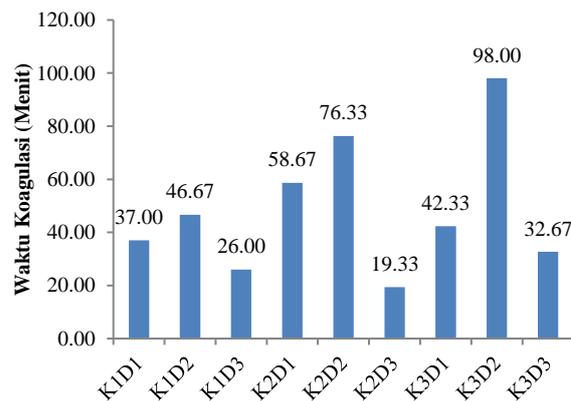
Silaban *et al.*, (2014) menyatakan bahwa enzim bromelin merupakan kelompok glikoprotein dengan rantai peptida sehingga dapat diidentifikasi berdasarkan gugus protein. Sisi aktif enzim bromelin mengandung gugus sistein dan histidin (-SH) yang keberadaannya dapat diidentifikasi dengan menggunakan uji PbS. Uji ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan unsur belerang dalam asam amino sistein. Proses pengujian dilakukan dengan penambahan larutan NaOH dan larutan Pb-Asetat. Penambahan NaOH menyebabkan belerang pada asam amino sistein akan terurai menjadi ion sulfida. Selanjutnya, dengan penambahan Pb-Asetat, ion sulfida yang terlepas dari sistein akan bereaksi dengan ion Pb^{2+} dari Pb-Asetat yang kemudian membentuk endapan hitam.

Kecepatan Koagulasi

Gambar 3 menunjukkan bahwa perhitungan rata-rata pengaruh pH dan suhu tercepat terdapat pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C) yaitu 19,33 menit, sedangkan pengaruh pH dan suhu terlama yaitu 98 menit terdapat pada perlakuan K3D2 (pH 8 suhu 40°C). Enzim memiliki batas kondisi pH dan suhu optimum yang berbeda terhadap kemampuan aktivitasnya dalam koagulasi susu, kondisi pH dan suhu yang berbeda akan menyebabkan kecepatan waktu koagulasi yang berbeda pula selama proses koagulasi susu.

Hasil analisis menggunakan uji

Analysis of Varians (ANOVA) *two-way* pada parameter kecepatan koagulasi susu menunjukkan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) antara pH dan suhu. Selanjutnya, dilakukan uji lanjut dengan uji Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*), juga terdapat interaksi antara pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu. Hasil uji Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 3. Grafik rata-rata waktu koagulasi (menit)
 Keterangan: K1 = pH 6; K2 = pH 7; K3 = pH 8
 D1 = suhu 60°C; D2 = suhu 40°C;
 D3 = suhu 50°C

Tabel 1. Hasil uji Jarak Berganda *Duncan* / DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk rata-rata waktu koagulasi

Perlakuan	Waktu Koagulasi (menit)
K1D1	37,00 ± 2,00 ^{bc}
K1D2	46,67 ± 3,05 ^c
K1D3	26,00 ± 4,00 ^{ab}
K2D1	58,67 ± 2,51 ^d
K2D2	76,33 ± 9,07 ^e
K2D3	19,33 ± 4,93 ^a
K3D1	42,33 ± 2,51 ^c
K3D2	98,00 ± 9,84 ^f
K3D3	32,67 ± 3,51 ^b

Keterangan: Notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata.

Berdasarkan hasil uji lanjut Jarak Berganda *Duncan* atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*), pengaruh interaksi antara pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu menunjukkan hasil yang berbeda nyata secara signifikan, ditandai dengan pemberian notasi yang berbeda pada setiap perlakuan. Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan K2D3 dan K1D3 berbeda nyata dengan perlakuan K3D1, K1D2, K2D1, K2D2, dan K3D2. Selanjutnya, perlakuan K2D2 dan K3D2 berbeda nyata dengan perlakuan K3D3 dan K1D1.

Hasil penelitian ini sejalan dengan Ilyas *et al.*, (2020) yang melaporkan bahwa pemberian perlakuan pH 7 pada enzim bromelin dari bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) yang melewati proses fraksinasi mampu menghasilkan aktivitas enzim yang lebih optimal dibandingkan dengan perlakuan pH lainnya. Masri (2014) menyatakan bahwa pH optimum enzim bromelin yang diekstrak dari bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) berada pada pH 7. Penelitian ini juga sesuai dengan hasil penemuan Martin *et al.*, (2014) yang menyatakan enzim bromelin dari kulit batang, batang, dan daun nanas meningkat pada suhu sampai 50°C dan menurun setelah suhu 60°C.

Selanjutnya, terdapat peningkatan aktivitas enzim pada pH 7,0 dan penurunan aktivitas enzim pada pH 10. Poba *et al.*,

(2019) melaporkan bahwa pemberian perlakuan suhu 55°C pada enzim bromelin dari bagian buah nanas dapat meningkatkan aktivitasnya dalam penggumpalan susu. Selain itu, enzim bromelin bekerja secara maksimal dengan menunjukkan penggumpalan susu secara cepat apabila berada pada kondisi pH yang optimum. Pada kondisi pH yang optimum enzim bromelin akan bekerja secara aktif. pH optimum ini akan menunjukkan bahwa proses penggumpalan susu terjadi dengan sangat cepat. Namun, kondisi pH yang belum mencapai atau bahkan melebihi batas optimum dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga terjadi penurunan aktivitas proteolitik enzim. Winarno (1986) juga menyatakan bahwa enzim tertentu mempunyai kisaran pH optimum yang sangat sempit, dan enzim di sekitar pH optimum mempunyai stabilitas yang tinggi.

Berdasarkan Gambar 3, aktivitas optimum bromelin ditunjukkan pada pH 7 suhu 50°C. Penurunan aktivitas enzim pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi disebabkan oleh rantai samping beberapa asam amino yang berperan sebagai asam atau basa lemah melakukan fungsi kritis pada sisi aktif enzim sehingga enzim menjadi inaktif (Lehninger, 2009). pH yang berbeda akan mengubah derajat ionisasi dari gugus rantai samping (R) residu asam amino pada protein. Hal ini menyebabkan enzim kehilangan aktivitasnya dan enzim akan

terdenaturasi. Perubahan besar gugus R residu asam amino pada sisi aktif enzim mampu menghancurkan kemampuan enzim untuk membentuk kompleks antara enzim-substrat (Azhar, 2016). Aktivitas enzim bromelin pada nanas dapat menurun karena lingkungan di sekitar sisi aktif enzim mengalami kekurangan jumlah proton (Wirahadikusumah, 2001).

pH optimum adalah pH ketika pemberi atau penerima proton berperan penting dalam sisi katalitik enzim atau pengikat substrat berada pada tingkat ionisasi yang stabil sehingga substrat akan lebih efektif berinteraksi dengan sisi katalitik enzim (Nuraeni *et al.*, 2021). Pernyataan tersebut sesuai dengan Faizah (2017) yang melaporkan bahwa enzim menyediakan tempat untuk pengikatan proton karena enzim adalah protein yang tersusun oleh asam amino yang dapat mengikat proton pada gugus amino, karboksil, dan gugus fungsional lainnya. Gugus fungsional pada sisi aktif enzim yang dapat terionisasi memegang peranan penting pada suatu reaksi yang dikatalis oleh enzim (Whittaker, 1994).

Derajat keasaman (pH) lingkungan memengaruhi kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu enzim yang disebabkan oleh konsentrasi ion H^+ dalam memengaruhi struktur tiga dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki pH optimum, pada pH optimum tersebut

pengikatan substrat oleh struktur tiga dimensi enzim terjadi secara kondusif. Namun, apabila konsentrasi ion H^+ berubah dari konsentrasi optimal, maka aktivitas enzim akan hilang secara progresif hingga akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 2009). Dengan kata lain, rendahnya aktivitas enzim bromelin dalam koagulasi susu pada pH 6 dan 8 disebabkan oleh adanya perubahan struktur tiga dimensi protease, sehingga protein tidak dapat berikatan dengan sisi aktif protease.

Selain pH, faktor lain yang memengaruhi aktivitas enzim bromelin dalam koagulasi susu yang diuji adalah suhu. Poba *et al.*, (2019) menyatakan bahwa enzim bromelin mampu bekerja secara maksimal pada kondisi suhu yang optimum. Jika suhu semakin tinggi (masih dalam batas optimum) maka enzim akan semakin aktif. Pada suhu optimum, enzim bromelin bekerja secara optimal karena terjadi tumbukan secara cepat antara molekul-molekul protein dengan enzim bromelin yang menyebabkan penggumpalan atau koagulasi susu terjadi dengan sangat cepat. Sebaliknya, suhu yang melebihi batas optimum dapat aktivitas enzim bromelin mulai berkurang karena sisi aktif enzim kurang mampu bekerja terhadap substrat. Setelah suhu naik di atas suhu optimum energi sistem juga semakin tinggi sehingga ikatan peptida dan ikatan disulfida akan terganggu dan mengakibatkan enzim menjadi tidak aktif (Martin *et al.*, 2014).

Sejalan dengan Faizah (2017), suhu yang semakin tinggi akan menyebabkan peningkatan energi kinetik sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dan enzim. Pada suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat sangat efektif sehingga mempermudah pembentukan kompleks enzim-substrat dan produk yang dihasilkan meningkat. Namun, peningkatan suhu lebih lanjut akan menurunkan aktivitas enzim karena enzim mengalami denaturasi atau perubahan konformasi enzim pada suhu yang terlalu tinggi sehingga substrat terhambat dalam memasuki sisi aktif enzim.

Kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu meningkat seiring dengan bertambahnya suhu dan mencapai aktivitas optimum pada suhu 50°C dengan menghasilkan waktu koagulasi 19,33 menit, 26 menit, dan 32,67 menit. Selanjutnya, pada suhu 60°C terjadi penurunan aktivitas enzim yang ditandai dengan proses koagulasi susu menjadi lebih lama dibandingkan dengan suhu 50°C. Peningkatan suhu pada reaksi enzim memiliki dua pengaruh yaitu dapat meningkatkan laju reaksi atau dapat meningkatkan laju inaktivasi enzim. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu. Umumnya, setiap peningkatan suhu sebesar 10°C di atas suhu minimum akan menyebabkan peningkatan aktivitas enzim sebanyak dua kali lipat hingga mencapai

optimum, namun laju inaktivasi akan meningkat 64 kali lipat (Faiza, 2017). Pada suhu maksimum enzim akan terdenaturasi karena struktur protein terbuka dan gugus nonpolar di dalam molekul menjadi terbuka keluar, kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun sehingga aktivitas enzim juga akan turun (Faiza, 2017).

Berdasarkan nilai aktivitas keseluruhan perlakuan, interaksi pH 7 suhu 50°C menghasilkan aktivitas protease terbaik dari enzim bromelin untuk koagulasi susu dibandingkan dengan perlakuan interaksi lainnya. Pada pH optimum, enzim mempunyai konformasi yang paling sesuai dengan substratnya sehingga mampu membentuk kompleks enzim-substrat yang tepat dan menghasilkan produk secara maksimal (Nuraeni *et al.*, 2021). Menurut Palmer (1991), suhu optimum dapat meningkatkan energi kinetik serta mempercepat gerak vibrasi, translasi dan rotasi balik enzim maupun substrat sehingga memperbesar peluang reaksi antara enzim dengan substrat. Tumbukan yang sering terjadi antara enzim dan substrat ini membentuk banyak kompleks enzim-substrat sehingga banyak produk terbentuk.

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh antara pemberian variasi pH dan suhu terhadap kecepatan kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu. Pada kondisi pH dan suhu

yang optimum enzim bromelin akan bekerja secara aktif dan menunjukkan proses penggumpalan susu terjadi dengan sangat cepat. Namun pada kondisi pH dan suhu yang belum mencapai atau bahkan melebihi batas optimum akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga akan terjadi penurunan aktivitas proteolitik enzim. Berdasarkan rata-rata pada kecepatan waktu kemampuan enzim bromelin dalam koagulasi susu, dapat dikatakan bahwa perlakuan terbaik adalah pH dan suhu pada perlakuan K2D3 (pH 7 suhu 50°C) yaitu 19,33 menit.

SARAN

Penelitian dapat dilanjutkan hingga tahap pembuatan keju dan dilakukan analisis organoleptik, analisis kimia dan analisis mikrobiologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhar, M. (2016). *Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein, dan Enzim*. UNP Press Padang.
- Badan Pusat Statistik. (2015). *Statistik Perdagangan Luar Negeri Indonesia, Impor Menurut Komoditas*.
- Faizah, M. (2017). *Pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim protease Bacillus subtilis dari daun kenikir (Cosmos sulphureus) yang ditumbuhkan dalam media campuran limbah cair tahu dan dedak*. [Bachelor Thesis]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Hossain, M. F., Akhtar, S., & Anwar, M. (2015). Nutritional value and medicinal benefits of pineapple. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(1), 84-88. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20150401.22>
- Hutagalung, T. M., Yelnetty, A., Tamasoleng, M., & Ponto. (2017). Penggunaan enzim rennet dan bakteri *Lactobacillus plantarum* YN 1.3 terhadap sifat sensoris keju. *Jurnal Zootek*, 37(2), 286-293. <https://doi.org/10.35792/zot.37.2.2017.16068>
- Ilyas, N. M., Setiasih, S., & Hudiyono, S. (2020). Isolasi dan karakterisasi enzim bromelain dari bonggol dan daging buah nanas (*Ananas comosus*). *Jurnal Chemica*, 21(2), 133-141. <https://doi.org/10.35580/chemica.v21i2.17983>
- Lehninger, A. L. (2009). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1; Penerjemah Maggy Thenawijaya. Erlangga.
- Martins, B. C., Rescolino, R. Coelho, D. F., Zanchetta, B., Tambourgi, E. B., & Silveira, E. (2014). Characterization of bromelain from *Ananas comosus* agroindustrial residues purified by ethanol fractional precipitation. *Chemical Engineering Transactions*, 37(1), 781-786.
- 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. <https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.478>
- Nuraeni, F., Maulana, I. T., & Syafnir, L. (2021). Kajian pustaka karakterisasi enzim bromelin pada nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dari berbagai

- negara terhadap pengaruh suhu dan pH. *Prosiding Farmasi*, 7(2), 786-793.
- Palmer, T. (1991). *Understanding Enzymes*. Ellis Horwood.
- Purwadi. (2019). *Ilmu dan Teknologi Pengolahan Keju*. Universitas Brawijaya Press.
- Poba, D., Ijirana, & Sakung, J. (2019). Aktivitas enzim bromelin kasar berdasarkan tingkat kematangan buah nanas. *Jurnal Akademika Kimia*, 8(4), 236-241. <http://dx.doi.org/10.22487/j24775185.2019.v8.i4.pp236-241>
- Pramono, A. P. (2019). *Pengaruh penambahan enzim bromelin dari sari buah nanas dan masa inkubasi yang berbeda terhadap kualitas kimia dan total bakteri asam laktat pada curd keju*. [Bachelor Thesis]. Universitas Brawijaya, Malang.
- Rakhmah, R. F., & Suryani, T. (2016). Pemanfaatan buah lokal sebagai koagulan soy cheese. *Bioeksperimen*, 2(1), 8-16. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v2i1.1576>
- Rinanty, C. (2019). *Pengaruh penambahan ekstrak kasar enzim bromelin dari sari buah nanas dengan masa inkubasi yang berbeda terhadap kualitas fisik curd keju*. [Bachelor Thesis]. Universitas Brawijaya, Malang.
- Salsabila, N. (2023). *Kualitas fisik keju susu sapi dengan pemakaian enzim bromelin dari buah nanas (Ananas comosus)*. [Bachelor Thesis]. Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Santi, F., Restuhadi, F., & Ibrahim, A. (2017). Potensi ekstrak kasar enzim bromelin pada bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) sebagai koagulan alami lateks (*Hevea brasiliensis*). *Jom FAPERTA*, 4(1), 1-13.
- Sari, N. A., Sustiyah, A., & Legowo, A. M. (2014). Total bahan padat, kadar protein, dan nilai kesukaan keju mozarella dari kombinasi susu kerbau dan susu sapi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(4), 152-156.
- Silaban, R., Manullang, R. S., & Hutapea, V. (2014). Pembuatan virgin coconut oil (VCO) melalui kombinasi teknik fermentasi dan enzimatis menggunakan ekstrak nenas. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 6(1), 91-99.
- Whittaker, J. R. (1994). *Principles of Enzymology for The Food Sciences*. (2nd ed.). Marcek Dekker Inc.
- Winarno, F. G. (1986). *Pangan*. Gramedia.
- Wirahadikusumah, M. (2001). *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Institut Teknologi Bandung
- Wiyati, P. I., & Tjitraresmi, A. (2018). Review: karakterisasi, aktivitas dan isolasi enzim bromelin dari tumbuhan nanas (*Ananas* sp.). *Farmaka*, 16(2), 179-185.