

Studi kinetika bromelain hasil pemurnian dengan kromatografi kolom penukar ion hidroksiapatit dan cm sephadex c-50 dari bonggol nanas ananas comosus serta uji aktivitasnya sebagai agen anti platelet secara in vitro = Kinetic studies of purified bromelain from pineapple ananas comosus [1.] merr core with hydroxyapatite and cm sephadex c-50 ion exchange chromatography and in vitro evaluation of its antiplatelet activity

Nofa Rahayu Desi Putri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20476843&lokasi=lokal>

Abstrak

Bromelain adalah ekstrak cair nanas yang mengandung campuran kompleks dari protease dan komponen non-protease. Enzim-enzim ini melakukan peran penting dalam modulasi proteolitik dari matriks seluler dalam berbagai proses fisiologis, termasuk fungsi anti-inflamasi, anti-trombotik dan fibrinolitik. Tujuan pemurnian untuk mengumpulkan enzim bromelai. Pemurnian enzim dari ananas comosus dilakukan oleh pengendapan dengan berbagai konsentrasi aseton dan diikuti oleh kromatografi kolom penukar ion menggunakan hidroksiapatit dan CM sephadex C-50. Aktivitas spesifik tertinggi bromelain diperoleh dari fraksi CM sephadex C-50 yaitu menghasilkan peningkatan aktivitas 200 U / mg dengan tingkat kemurnian enzim sebanyak 45 kali lebih tinggi dari ekstrak kasarnya. Hidrolisis berbagai konsentrasi kasein dengan bromelain dimurnikan dilakukan pada kondisi reaksi optimum pH 7,0 dan 370C. Hasil yang diperoleh mengungkapkan nilai Km dan Vmax adalah 0,94 w / v dan 0,023 U / menit. Hasil aktivasi enzim oleh sistein meningkatkan aktivitas enzimatik bromelain meningkat menjadi 77,13 , 50,35 dengan penambahan kalsium dan 34,64 dalam ion magnesium. Dalam studi vitro aktivitas agen antiplatelet menggunakan platelet Rich Plasma PRP mengungkapkan bahwa semua fraksi bromelain menunjukkan aktivitas sebagai agen antiplatelet. Dengan inhibisi tertinggi ditunjukkan oleh fraksi CM sephadex C-50 yaitu sebesar 68,98.

.....

Bromelain is the pineapple aqueous extract that contains complex mixtures of proteases and non protease components. Here we purposed a new purification step to collect enzyme from pineaplle. The purification of the enzyme from Ananas comosus was carried out by precipitation with varying concentration of acetone and followed by column chromatography using hydroxyapatite ion exchage and CM sephadex C 50 resin. The highest specific activity of bromelain was gained from CM sephadex C 50 fraction resulted in increasing the specific activity to 200 U mg with purity level of enzyme as 45 times higher from its crude extract.. The results obtained revealed the Km and Vmax value were 0,94 w v and 0,023 U min respectively. Results of activation of the enzyme by cystein and these cations and cystein the enzymatic activity of bromelain increases to 77,13 mM in cystein, 50,35 in presence of calcium and 34,64 in magnesium ions at 0,9 mM concentration respectively. In vitro study of antiplatelet agent activity using human Platelet Rich Plasma PRP revealed that all bromelain fractions show activity as an antiplatelet agent. The highest inhibition was shown by CM sephadex C 50 fraction of 68,98.