

Studi inhibisi bromelain hasil pemurnian dengan kromatografi kolom penukar ion deae-sepharosa dari bonggol nanas (*Ananas comosus*) dan uji aktivitasnya sebagai agen antiplatelet = Inhibition study of bromelain with purification using ionic exchange column chromatography deae-sepharose from pineapple core extracts *Ananas comosus* and antiplatelet activity in vitro test

Nita Magfirah Ilyas, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20476957&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan memurnikan bromelain yang diekstrak dari bagian bonggol nanas *Ananas comosus*. Proses pemurnian bromelain diawali dengan pengendapan bertingkat menggunakan amonium sulfat, diikuti dengan proses dialisis dan dilanjutkan dengan tahap pemurnian lanjutan menggunakan metode kromatografi kolom penukar ion DEAE-Sepharosa dan CM-Sephadex C-50. Fraksi bromelain yang diperoleh dari tiap tahapan pemurnian menunjukkan peningkatan aktivitas spesifik dibandingkan dengan ekstrak enzim kasar. Aktivitas spesifik tertinggi ekstrak bromelain kasar hasil fraksinasi dengan amonium sulfat terdapat pada tingkat kejenuhan 20-50 fraksi 2 sebesar 260,042 U/mg dengan tingkat kemurnian 2,548 kali ekstrak enzim kasarnya. Proses dialisis meningkatkan aktivitas spesifik menjadi 381,287 U/mg dengan tingkat kemurnian 3,737 kali ekstrak enzim kasarnya. Pemurnian lanjutan dengan kromatografi kolom penukar ion Dietilaminoetil-Sepharosa DEAE-Sepharosa dan CM-Sephadex C-50 menunjukkan adanya peningkatan aktivitas spesifik dan tingkat kemurnian, secara berurutan menjadi 500 U/mg dengan tingkat kemurnian 4,901 kali ekstrak enzim kasarnya dan 729,167 U/mg dengan tingkat kemurnian 7,150 kali ekstrak enzim kasarnya. Nilai K_m dan V_{max} bromelain pada substrat kasein dan azocasein berturut-turut sebesar 0,94 w/v ; 0,07 U/min dan 0,87 w/v ; 0,05 U/menit. Jenis inhibisi yang terjadi antara kompleks enzim bromelain-kasein terhadap EDTA adalah inhibisi kompetitif K_m meningkat dan V_{max} tetap. Jenis inhibisi yang terjadi antara kompleks enzim bromelain-kasein terhadap PCMB adalah mix-inhibisi K_m meningkat dan V_{max} menurun. Fraksi bromelain dengan aktivitas antiplatelet tertinggi adalah fraksi termurni hasil pemurnian menggunakan kromatografi kolom penukar ion CM-Sephadex C-50 dengan persen agregasi platelet sebesar 20,892 dan persen inhibisi sebesar 77,994. Nilai IC_{50} untuk fraksi bromelain paling murni dengan aktivitas spesifik 729,167 U/mg diperoleh sebesar 6,461 ? L/mL.

ABSTRACT

The aim of this research was to isolate and purify bromelain from core extract of pineapple *Ananas comosus* through fractionation using ammonium sulfate followed by dialysis and then purification using ion exchange column chromatography DEAE Sepharose and CM Sephadex C 50. The fraction of bromelain obtained from each purification step showed an increase in specific activity compared to crude extract. Fractionation of crude enzyme bromelain with ammonium sulfate produces highest specific activity on ammonium sulfate 20 50 fraction fraction 2 260.042 U mg with purify level 2.548 fold compared to crude extract. After dialysis, the bromelain fraction showed an increase in specific activity 381.287 U mg with purify level 3.737 fold

compared to crude extract. The bromelain fraction after purification by using ion exchange column chromatography DEAE sepharose and CM Sephadex C 50 showed an increase in specific activity, sequentially 500 U mg with purify level 4.901 fold compared to crude extract and 729.167 U mg with purify level 7.150 fold compared to crude extract. Km and Vmax bromelain for casein and azocasein substrate 0,94 w v 0,07 U min and 0,87 w v 0,05 U menit respectively. In addition, bromelain fraction was inhibited competitively with EDTA and mix inhibition was observed in the presence of PCMB. 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 77,994 . with IC50 of 6,461 L mL.