

## Proses Penghasilan Bromelin daripada Batang Nenas

WAN RAMLI BIN WAN DAUD

MOHD. FAUZI BIN YUSOFF

D. S. KRISHNA RAO

Jabatan Kejuruteraan Kimia dan Proses

Universiti Kebangsaan Malaysia

43600 UKM Bangi

**Keywords:** Bromelin, bromelain and bromelin production process.

### ABSTRAK

*Sejenis enzim proteolitik yang digelar bromelin boleh dihasilkan daripada batang nenas dengan memendakkan jus batang nenas dan memisahkan mendakan ini daripada jus tersebut. Aseton digunakan sebagai agen pemendak. Proses pemendakan ini dilakukan dua kali dan mendakan kedua diambil sebagai keluaran bromelin. Proses ini tidak difahami dengan jelas dan tidak dapat diperihalkan oleh model matematik seperti yang lazim dilakukan terhadap proses kimia yang lain. Tujuan kajian ini untuk mencar pembolehubah-pembolehubah proses seperti nisbah pemendak: jus mentah, masa pemendakan dan pengemparan dalam setiap peringkat yang memberi kesan bererti terhadap hasil dan keaktifan bromelin. Kaedah faktor analisis telah digunakan. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa masa-masa pengemparan peringkat pertama dan kedua, masa pemendakan dan nisbah pemendak: jus peringkat kedua mempengaruhi hasil bromelin. Keaktifan enzim pula dipengaruhi oleh nisbah pemendak: jus, masa pemendakan dan masa pengemparan peringkat pertama, nisbah pemendak: jus dan masa pemendakan peringkat kedua. Proses ini sedang dioptimumkan dalam kajian lanjut.*

### ABSTRACT

*A proteolytic enzyme called bromelin can be produced from pineapple stem by precipitating it from pineapple stem juice and separating the precipitate from the juice. Acetone is used as the precipitant. The precipitating process is performed twice and the second precipitate is taken as the bromelin product. This process is not well understood and is not amenable to mathematical modelling. The main aim of the present study is to identify process variables such as the precipitant: juice ratio, precipitation time and centrifugation time in every stage which have a significant effect on the yield and activity of bromelin. Factor analysis is used. This study found that the centrifugation times in both stages, precipitation and centrifugation times in the second stage affect the yield of bromelin. The enzyme activity is affected by the precipitant: juice ratio, the precipitation and centrifugation times in the first stage; precipitant: juice ratio and precipitation time in the second stage. This process is currently being optimised.*

### PENGENALAN

Nenas adalah salah satu tanaman utama Malaysia untuk dieksport ke luar negeri. Perusahaan nenas yang bermula sejak tahun 1889 adalah sebuah perusahaan berasaskan pertanian yang tertua di negara ini (Laporan Tahunan LPNTM, 1983). Luas tanah pertanian yang ditanam nenas pada tahun 1983 ialah 18,211 hektar dan jumlah nenas sebanyak 148,206 ton metrik (Laporan Tahunan LPNTM, 1983) telah dihasilkan pada tahun itu. Setelah buah nenas dipetik, batang nenas yang

masih tertanam pada lazimnya dibakar dalam keadaan masih tertanam sebelum pucuk-pucuk baru ditanam. Batang nenas lama hanya dibuang setiap 10 tahun. Batang nenas ini sebenarnya mengandungi sejenis enzim bergelar bromelin yang bernilai tinggi di pasaran dunia. Pengeluaran bromelin dari batang nenas akan menambahkan lagi pendapatan para peladang nenas.

Proses pengeluaran bromelin daripada jus batang nenas Hawaii telah diketahui umum (Heinicke dan Gortner, 1957), akan tetapi kajian

pembangunan proses pengeluaran bromelin daripada batang nenas Malaysia masih belum dilakukan. Lantaran jenis nenas Hawaii dan nenas Malaysia berbeza maka pastilah kandungan bromelin juga tidak sama. Proses yang telah dicadangkan oleh Heinicke dan Gortner (1957) dapat diperbaiki dan dioptimumkan. Bromelin digunakan dalam industri makanan untuk antara lainnya mengurangkan masa menguli adonan roti, menipiskan putih telur terlebih dahulu sebelum dikeringsembur, menghilangkan bau lemak dan melembutkan daging dan ikan.

Bromelin batang nenas adalah suatu glikoprotein yang mempunyai tiga mol manosa, satu mol fukosa, satu mol zilosa, dan dua mol N-asetilglukosamina untuk setiap mol glikoprotein ini. Karbohidrat wujud di dalam bahagian separuh oligosakarida yang tunggal. Bromelin batang nenas bertindak terhadap protein dengan memutuskan ikatan Arg-Arg dan Lys-Tyr pada pH 8.0 (Murachi dan Neurath 1960). Auto-penghadaman bromelin pada pH 4.6 menghasilkan pembelahan bukan sahaja pada reja asid amino yang asas tetapi juga pada reja-reja glisin, alanin, dan serin (Boyer, 1970). Bromelin juga merupakan satu enzim sulfhidril yang memerlukan pengaktifan oleh sistin ataupun sianid untuk memperoleh aktiviti yang maksimum. Enzim protease seperti bromelin direncat secara berbalik pada kepekatan yang rendah oleh raksa (II) klorida ( $\text{HgCl}_2$ ) dan direncat secara tidak berbalik oleh Iodoasetamida (Greenberg dan Winnick, 1949).

### KAEDAH UJIKAJI

Proses pengeluaran bromelin bergantung kepada pengetahuan tentang keadaan bromelin di dalam batang nenas dan sifatnya di dalam larutan air. Larutan yang ada bromelin diperolehi dengan memerah batang nenas dan mengambil jusnya. Seterusnya bromelin dihasilkan dengan memendakkannya daripada jus ini dan memisahkan mendakan yang terhasil. Kinetik proses pemendakan dan pemisahan serta pembolehubah yang mempengaruhi hasil dan keaktifan bromelin tidak diketahui. Masalah ini dapat diselesaikan dengan menggunakan kaedah analisis faktor untuk mendapatkan pembolehubah proses yang memberi kesan yang bererti terhadap hasil dan keaktifan bromelin.

Lantaran kaedah analisis faktor telah diberi di dalam kebanyakan teks statistik (Walpole

and Myers (1978), Himmelblau (1970), Harman (1960) dan Lawley and Maxwell (1963), kertas ini akan hanya menerangkan kaedah ini secara ringkas sahaja. Sebarang proses mempunyai beberapa pembolehubah proses yang bebas dan beberapa pembolehubah yang bergantung kepada pembolehubah bebas tersebut. Contohnya, dalam proses pengeluaran bromelin nisbah agen pemendak: jus batang, masa pemendakan dan pengemparan merupakan satu set pembolehubah bebas manakala hasil dan keaktifan bromelin adalah satu set pembolehubah yang bergantung kepada pembolehubah proses yang bebas itu. Pembolehubah-pembolehubah yang bebas ditetapkan pada beberapa paras nilai dan beberapa ujikaji dilakukan untuk gabungan paras-paras pembolehubah bebas yang dipilih secara rawak dan hasil serta keaktifan bromelin diukur.

Min, varian serta pekali korelasi pembolehubah bebas dan faktor mestilah dirujukan kepada asas yang sama dengan menghitung pembolehubah piawai yang ditakrifkan sebagai

$$Z_{ij} = (X_{ij} - U_i)/S_i \quad (1)$$

dengan  $X_{ij}$  sebagai pembolehubah  $i$  dalam ujikaji  $j$ ,  $U$  sebagai nilai min pembolehubah  $i$ ,  $S_i$  sebagai sisihan piawai pembolehubah  $i$  dan  $Z_{ij}$  sebagai pembolehubah  $X_{ij}$  yang telah dipiawai-kan. Min dan varian pembolehubah piawai ini masing-masing bernilai sifar dan satu, iaitu

$$\left( \sum_{j=1}^N Z_{ij} \right) / N = 0 \quad (2)$$

$$\sigma^2 = \left( \sum_{j=1}^N Z_{ij}^2 \right) / N = 1 \quad (3)$$

dengan  $N$  sebagai jumlah bilangan ujikaji yang telah dilakukan. Pekali korelasi antara pembolehubah yang telah dipiawai-kan diberikan oleh

$$r_{ik} = \left( \sum_{j=1}^N Z_{ij} Z_{kj} \right) / N \quad (4)$$

dengan  $r_{ik}$  sebagai pekali korelasi di antara pembolehubah  $i$  dan  $k$ . Setiap pembolehubah boleh dipergunakan sebagai hasil tambah lurus faktor

$$Z_{ij} = \sum_{p=1}^m \beta_{ip} F_{pj} \quad (5)$$

dengan m sebagai bilangan faktor,  $\beta_{ip}$  sebagai pekali faktor p yang mewakili pembolehubah i dan F sebagai faktor p untuk ujikaji j. Nilai min faktor sifar

$$\left( \sum_{j=1}^N F_{pj} \right) / N = 0 \quad (6)$$

Nilai variannya satu

$$\left( \sum_{j=1}^N F_{pj}^2 \right) / N = 1 \quad (7)$$

Nilai pekali korelasi antara faktor sifar kerana set faktor adalah berortogon.

$$\sum_{j=1}^N F_{kj} F_{pj} = 0 \quad (8)$$

Dengan menggantikan persamaan (5), (7), dan (8) dalam persamaan (3) dan (4), kita perolehi

$$\sigma_1^2 = \sum_{p=1}^m \beta_{ip}^2 = 1 \quad (9)$$

$$r_{ik} = \sum_{p=1}^m \beta_{ip} \beta_{kp} \quad (10)$$

Nilai varian keseluruhan  $S^2$  bagi pembolehubah ujikaji adalah

$$S^2 = \sum_{i=1}^n \left( \sum_{j=1}^N Z_{ij} \right) / N = \sum_{i=1}^n \sigma_i^2 = n \quad (11)$$

Dengan menggantikan persamaan (9) ke dalam persamaan (11) dan dengan menukarkan tertib hasil tambah kita perolehi

$$S^2 = \sum_{p=1}^m \sum_{i=1}^n \beta_{ip}^2 = \sum_{i=1}^m S_p^2 = n \quad (12)$$

dengan  $S_p^2$  sebagai sumbangan faktor  $F_p$  kepada varian keseluruhan  $S^2$ .

Jumlah bilangan factor m diperolehi apabila penambahan faktor ke-(m + 1) tidak memberi sebarang penambahan varian yang bererti dalam paras keyakinan yang diberikan. Jadi kita boleh anggap pada mulanya bahawa bilangan pembolehubah adalah sama dengan bilangan faktor. Oleh yang demikian persamaan (10) dan (12) boleh ditulis semula seperti berikut:

$$r_{lm} = \sum_{p=1}^n \beta_{lp} \beta_{mp} \quad (13)$$

$$S^2 = \sum_{p=1}^n S_p^2 \quad (14)$$

Sumbangan  $S^2$  digelar nilai eigen. Persamaan (5) pula boleh ditulis dalam bentuk terbalik sebagai:

$$F_{pj} = \sum_{i=1}^n m_{pi} Z_{ij} \quad (15)$$

dengan  $m_{pi}$  sebagai vektor eigen yang bersekutu dengan nilai eigen yang diperolehi daripada matriks pembolehubah yang dipiawaikan. Dengan menggunakan hubungan ini, faktor  $F_{pj}$  dapat ditentukan daripada hasil tambah hasil darab pekali vektor eigen dan pembolehubah yang dipiawaikan.

Model ramalan dibina dengan menganggap bahawa hubungan di antara pembolehubah bersandar dan faktor adalah lurus.

$$Y = a_0 + \sum_{p=1}^n a_p F_p \quad (16)$$

dengan  $a_0$  sebagai pemalar regresi lurus,  $a_p$  sebagai pekali regresi bagi faktor  $F_p$  dan Y sebagai pembolehubah bersandar seperti keaktifan enzim. Penganggaran pekali regresi untuk semua model yang dibina dibuat dengan menggunakan rutin yang ada di dalam sebuah perpustakaan aturcara FORTRAN yang digelar Numerical Algorithm Group (NAG).

Ujian statistik-F digunakan untuk mendapatkan satu model yang terbaik dengan

bilangan faktor yang minimum. Untuk mencapai matlamat di atas, faktor  $F_p$  yang memberi min ralat gandaan (MRG) terendah dikeluarkan daripada model. Seterusnya kesan yang bererti bagi pengeluaran faktor ini diuji dengan menggunakan ujian statistik-F. Sekiranya pengeluaran faktor tidak memberi kesan yang bererti pada paras keyakinan yang dikehendaki, faktor yang memberi min ralat gandaan yang kedua terkecil dikeluarkan dan kesan bererti pengeluaran ini diuji. Langkah ini diteruskan sehingga satu model yang ada bilangan faktor yang minimum memberikan kesan bererti secara ujian statistik-F diperolehi dengan pengeluaran faktor seterusnya. Nisbah min ralat gandaan model terhadap min ralat gandaan model penuh akan memberikan nilai F model regresi

$$F = \frac{MRG(S^2)}{MRG_1(S_1^2)} \quad (17)$$

dengan MRG sebagai min ralat gandaan model yang diuji dan  $MRG_1$  sebagai min ralat gandaan model penuh. Model ditolak pada paras keyakinan  $(1-\alpha)\%$  sekiranya  $F > F_{v,v_1}$ , dengan  $v$  sebagai darjah kebebasan model yang diuji dan  $v_1$  sebagai darjah kebebasan model penuh.

### KAEDAH DAN BAHAN

Batang nenas daripada pokok yang berbuah ranum diambil di Stesen Penyelidikan Mardi Jalan Kebun, Kelang. Buah nenas diasingkan daripada batang dan batang ini dibersihkan daripada daun dan lumpur. Setelah dibawa ke makmal, kulitnya dikupas dan dibersihkan dengan air dan jumlah beratnya ditimbang. Jus batang nenas mentah diperolehi dengan pemerah batang ini menggunakan mesin pemerah. Gentian serta bahan ampaian yang lain didalam jus mentah dituras dengan menggunakan kain turas poliester.

Sebanyak 10 ml jus mentah dimasukkan ke dalam sebuah tabung uji. Aseton (agen pemendak) ditambah dan campuran dibiarkan untuk tempoh masa tertentu. Dua pembolehubah proses terlibat dalam langkah ini:

<i>Pembolehubah proses</i>	<i>Paras</i>	<i>Unit</i>
Nisbah aseton:	1/4:1; 1/2:1;	ml/ml
Jus mentah $R_1$	1:1; 5/4:1	
Masa pemendakan $T_1$	20; 30; 40	minit

Apabila masa pemendakan yang dipilih tamat, campuran jus-pemendak diempas pada kelajuan 5000 rpm untuk tempoh masa tertentu untuk mengasingkan mendakan pertama daripada supernatannya. Hanya satu pembolehubah proses diambil kira dalam langkah ini:

<i>Pembolehubah proses</i>	<i>Paras</i>	<i>Unit</i>
Masa pengemparan $t_1$	10; 15; 20	minit

Mendakan pertama dibuang dan pemendak sekali lagi ditambah ke dalam supernatan dan dibiarkan untuk tempoh tertentu. Dua lagi pembolehubah proses terlibat dalam langkah ini:

<i>Pembolehubah proses</i>	<i>Paras</i>	<i>Unit</i>
Nisbah aseton:	1/4:1; 1/2:1;	ml/ml
supernatan $R_2$	1:1; 5/4:1	
Masa pemendakan $T_2$	20; 30; 40	minit

Langkah keempat diulang akan tetapi kali ini untuk memisahkan mendakan kedua dari supernatannya.

<i>Pembolehubah proses</i>	<i>Paras</i>	<i>Unit</i>
Masa pengemparan $t_2$	30; 40; 50	minit

Mendakan yang diperolehi daripada langkah ini dibasuh dengan air sementara supernatannya dikumpulkan untuk proses pemulihan semula aseton. Mendakan yang basah dikeringkan dengan menggunakan pengering sejuk-beku yang beroperasi pada suhu  $-50^\circ\text{C}$ . Hasilnya (bromelin kering) ditimbang dengan penimbang elektronik. Ada enam pembolehubah proses. Nilai bagi keenam-enam pembolehubah ini dipilih secara rawak dalam julat yang ditentukan pada awalnya. Semua langkah ujikaji dijalankan pada suhu yang rendah iaitu  $4^\circ\text{C}$  di dalam sebuah bilik sejuk kecuali beberapa langkah yang tidak dapat dilakukan. Bromelin kering yang diperolehi ditimbang. Hasil ini digunakan untuk menghitung peratus hasil (peratus hasil berdasarkan berat 10 ml jus asal yang digunakan), peratus kandungan protein (enzim bromelin) dan keaktifan enzim.

Peratus hasil akhir bromelin, H, yang diperolehi dihitung dengan menggunakan persamaan di bawah:

$$H = \frac{\text{Berat hasil selepas pengeringan}}{\text{Berat jus asal}} \times 100 \quad (18)$$

Suatu larutan bromelin di dalam air berkepekatan 1%, akan menunjukkan penyerapan sebanyak

JADUAL 1  
Keputusan ujikaji

Bil.	R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	t <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>	t <sub>2</sub>	H (%)	P (%)	A (MCU)
1	1/4:1	40	15	5/4:1	40	50	0.018	94.63	0.53
2	1/2:1	40	20	1/2:1	40	30	0.020	90.21	0.48
3	1:1	20	15	1/4:1	20	40	0.025	91.94	0.47
4	1:1	30	20	1/4:1	40	40	0.018	89.89	0.50
5	1/4:1	30	20	1/4:1	40	30	0.024	94.79	0.48
6	1/2:1	20	10	1/2:1	20	50	0.021	90.52	0.47
7	1/4:1	30	10	1:1	30	50	0.021	90.68	0.48
8	1:1	30	20	1:1	30	30	0.014	91.63	0.52
9	5/4:1	20	15	5/4:1	40	30	0.015	91.31	0.50
10	1/4:1	40	20	5/4:1	40	40	0.015	89.57	0.47
11	5/4:1	40	15	1/4:1	20	40	0.012	90.21	0.63
12	5/4:1	20	15	5/4:1	40	50	0.015	91.15	0.49
13	5/4:1	20	10	1/2:1	40	30	0.014	90.52	0.54
14	1:1	40	10	1/2:1	40	50	0.016	91.00	0.46
15	1/4:1	40	15	1/2:1	20	50	0.022	90.68	0.34
16	1/4:1	30	10	1/4:1	20	30	0.023	86.89	0.34
17	1:1	40	15	1:1	20	30	0.019	96.37	0.48
18	1/2:1	20	10	1:1	40	50	0.010	91.15	0.61
19	1/2:1	40	10	1/2:1	30	40	0.013	90.52	0.56
20	5/4:1	40	20	1/2:1	40	40	0.010	89.73	0.62
21	1:1	20	20	1/2:1	30	30	0.020	89.89	0.41
22	1/4:1	30	20	1:1	30	30	0.020	89.89	0.39
23	1:1	20	15	1:1	40	50	0.019	90.84	0.49
24	1/4:1	20	10	1/2:1	30	50	0.028	89.42	0.37
25	1/2:1	30	20	1/2:1	40	40	0.013	80.57	0.47
26	1:1	30	20	1:1	40	40	0.021	90.05	0.45
27	1/4:1	30	10	1/2:1	20	40	0.018	90.05	0.35
28	1/2:1	20	10	1/2:1	30	40	0.013	91.79	0.74
29	5/4:1	30	10	1:1	30	50	0.021	93.37	0.36
30	1:1	40	15	1:1	30	50	0.015	93.21	0.67
31	1/4:1	40	20	1/4:1	20	30	0.021	92.89	0.41
32	1/2:1	20	20	5/4:1	20	30	0.011	92.10	0.51
33	5/4:1	40	10	5/4:1	20	30	0.021	91.63	0.45
34	5/4:1	40	15	1:1	30	50	0.011	93.37	0.67
35	1/4:1	30	10	1/2:1	30	50	0.023	92.73	0.43
36	1:1	30	10	1/2:1	30	40	0.028	91.47	0.36
37	1/4:1	30	20	1:1	40	40	0.022	93.68	0.39
38	5/4:1	40	20	1:1	40	50	0.019	92.10	0.49
39	1/4:1	40	20	1/4:1	40	50	0.023	92.10	0.44
40	1/2:1	20	15	1/4:1	20	50	0.010	83.37	0.56
41	5/4:1	20	15	1/4:1	30	30	0.013	91.79	0.46
42	1:1	40	20	1:1	30	50	0.021	83.89	0.45
43	1/4:1	30	10	1/2:1	40	50	0.025	91.15	0.49
44	5/4:1	30	20	1/2:1	40	40	0.010	89.57	0.59
45	1/4:1	20	20	1:1	20	50	0.012	89.73	0.63

JADUAL 2  
Matriks korelasi pembolehubah yang telah dipiawaikan

	R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	t <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>	t <sub>2</sub>
R <sub>1</sub>	1.0000	0.0037	0.0368	0.0772	0.1450	-0.1186
T <sub>1</sub>	0.0037	1.0000	0.1873	0.0612	0.0565	0.0567
t <sub>1</sub>	0.0368	0.1873	1.0000	0.1324	0.2405	-0.2626
R <sub>2</sub>	0.0772	0.0612	0.1324	1.0000	0.2049	-0.0514
T <sub>2</sub>	0.1450	0.0565	0.2405	0.2049	1.0000	0.1331
t <sub>1</sub>	-0.1186	0.0567	-0.2626	0.0514	0.1331	1.0000

19.0 pada panjang gelombang 280 nm sekiranya kubet selebar 1 cm digunakan di dalam spektrofotometer (Murachi dan Neurath 1960). Nilai penyerapan berhubung secara lurus dengan kepekatan larutan. Peratus kandungan bromelin P diberi oleh

$$P = \frac{\text{Penyerapan sampel} \times \text{Kandungan Piawai}}{\text{Penyerapan piawai}} \quad (19)$$

Keaktifan enzim bromelin diuji dengan kaedah pembekuan susu (Balls dan Hoover 1937). Satu unit pembekuan susu ditakrifkan sebagai jumlah enzim yang membekukan sejumlah susu per unit masa pada keadaan yang berikut. Dua puluh gram tepung susu yang kering dilarutkan menjadi 100 ml dalam larutan penimbal asetat yang mempunyai kandungan pH 4.6. Larutan bromelin disediakan dengan melarutkannya di dalam air. Enzim ini diaktifkan dengan menambah 1 ml larutan natrium sianid berkepekatan 0.02 M dan campuran ini dibiarkan selama 1 jam. Seterusnya larutan enzim teraktif ini dimasukkan ke dalam sebuah tabung uji yang mengandungi susu yang telah disediakan. Campuran larutan ini diletakkan di dalam kukus air yang bersuhu 40°C. Masa yang diambil untuk susu di dalam tabung uji mula membeku dicatatkan. Keaktifan enzim bromelin dikira berdasarkan persamaan di bawah:

$$E = K/t \quad (20)$$

Keaktifan enzim

$$A = (1/K) = 1/(tE) \quad (21)$$

dengan E sebagai kepekatan enzim (mg/ml), K sebagai pekali dan t sebagai masa (minit).

### KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Jadual 1 menunjukkan keputusan ujikaji yang telah dilakukan manakala Jadual 2 pula menunjukkan matriks korelasi pembolehubah yang telah dipiawaikan. Jadual 3 menunjukkan nilai eigen faktor manakala Jadual 4 pula menunjukkan pekali vektor eigen untuk faktor. Daripada jadual-jadual ini kita dapat rumuskan bahawa:

- F<sub>1</sub> diwakili oleh t<sub>1</sub> dan T<sub>2</sub>.
- F<sub>2</sub> diwakili oleh t<sub>2</sub>.
- F<sub>3</sub> diwakili oleh R<sub>1</sub> dan T<sub>1</sub>.
- F<sub>4</sub> diwakili oleh R<sub>1</sub> dan T<sub>1</sub>.
- F<sub>5</sub> diwakili oleh R<sub>2</sub> dan T<sub>2</sub>.
- F<sub>6</sub> diwakili oleh t<sub>1</sub> dan t<sub>2</sub>.

JADUAL 3  
Nilai eigen

Bil.	Nilai eigen	% Jumlah varian
1	1.5069	25.12
2	1.2164	45.38
3	1.0533	62.91
4	0.8949	77.83
5	0.8194	91.48
6	0.5100	100.00

### Kandungan Bromelin

Jadual 5 menunjukkan keputusan ujian F faktor-faktor yang berotogon bagi kandungan bromelin. Model penuh yang merangkumi kesemua faktor 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 memberikan ralat gandaan sebanyak 5.83. Pada paras keyakinan 70%, kesemua model dapat diterima kecuali model kedua yang terdiri daripada faktor 1, 2, 3, 4 dan



JADUAL 4  
Pekali vektor eigen

	R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	t <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>	t <sub>2</sub>
F <sub>1</sub>	0.2956	0.3088	0.5761	0.4303	0.5266	-0.1512
F <sub>2</sub>	-0.1464	0.1061	-0.3253	0.3074	0.3546	0.8008
F <sub>3</sub>	-0.6464	0.6563	0.2915	-0.1557	0.1964	0.0600
F <sub>4</sub>	0.6415	0.6022	-0.2355	-0.3739	-0.1114	0.1346
F <sub>5</sub>	0.0856	0.2079	-0.2321	0.7453	-0.5657	-0.1417
F <sub>6</sub>	0.2332	-0.2384	0.6066	-0.0290	-0.4753	0.5423

5 dengan min ralat gandaan 6.20. Model terbaik dari ujian F ini adalah model kesepuluh yang terdiri daripada faktor 5 dan 6 yang boleh diterima sehingga paras keyakinan 95% dengan ralat gandaan sebanyak 9.66.

JADUAL 5  
Ujian-F untuk kandungan bromelin

Bil.	Model	MRG	S <sup>2</sup> /S <sub>1</sub> <sup>2</sup>	F <sub>0.70</sub>	F <sub>0.90</sub>	F <sub>0.95</sub>
1	123456	5.82	1.00	-	-	-
2	12345	6.20	1.06	X	X	X
3	12346	9.45	1.62	/	/	/
4	12356	10.52	1.81	/	/	/
5	12456	10.56	1.81	/	/	/
6	13456	10.71	1.84	/	/	/
7	23456	10.73	1.84	/	/	/
8	1345	8.52	1.46	/	X	X
9	245	9.04	1.55	/	/	X
10	56	9.66	1.66	/	/	/
11	1	7.34	1.26	/	X	X

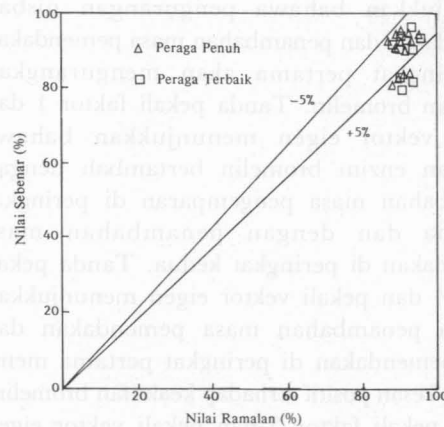
Perhatian: / - model diterima pada paras keyakinan tertentu.  
X - model ditolak pada paras keyakinan tertentu.

Tanda pekali faktor 5 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa nisbah pemendakan peringkat kedua yang bertambah serta masa pemendakan peringkat kedua yang menurun akan menyebabkan peningkatan peratus enzim yang diperolehi. Tanda pekali faktor 6 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa peningkatan masa pengemparan akan menyebabkan pengasingan mendakan-supernatan yang lebih lengkap.

Hubungan lurus bagi model terbaik yang melibatkan faktor-faktor 5 dan 6 adalah seperti berikut:

$$\% \text{ bromelin} = 90.763 + 1.1374F_5 + 0.8545F_6 \quad (22)$$

91.1% daripada ramalan yang menggunakan model penuh didapati terletak dalam jalur sisihan 5% (Rajah 1). 93.3% daripada ramalan yang menggunakan model terbaik terletak dalam jalur sisihan 5.00% (Rajah 1).



Rajah 1: Perbandingan nilai sebenar dan nilai ramalan bagi model penuh dan model terbaik untuk kandungan bromelin

*Keaktifan Bromelin*

Jadual 6 menunjukkan keputusan ujian F faktor-faktor yang berortogon bagi keaktifan bromelin. Model penuh yang merangkumi faktor 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 memberikan ralat gandaan sebanyak 0.0075. Model terbaik dari ujian F untuk keaktifan bromelin adalah model kelapan yang terdiri daripada faktor 1, 3, 4, dan 5. Model ini

JADUAL 6  
Ujian-F untuk keaktifan bromelin

Bil.	Model	MRG	S <sup>2</sup> /S <sub>1</sub> <sup>2</sup>	F <sub>0.70</sub>	F <sub>0.90</sub>	F <sub>0.95</sub>
1	123456	0.0075	1.00	X	-	-
2	12345	0.0077	1.03	X	X	X
3	12346	0.0082	1.09	X	X	X
4	12356	0.0083	1.11	/	X	X
5	12456	0.0091	1.21	/	X	X
6	13456	0.0101	1.35	/	/	X
7	23456	0.0101	1.35	/	/	X
8	1345	0.0097	1.29	X	/	X
9	245	0.0081	1.08	X	X	X
10	56	0.0086	1.15	X	X	X
11	1	0.0083	1.11	-	X	X

Perhatian: / - model diterima pada paras keyakinan tertentu.  
X - model ditolak pada paras keyakinan tertentu.

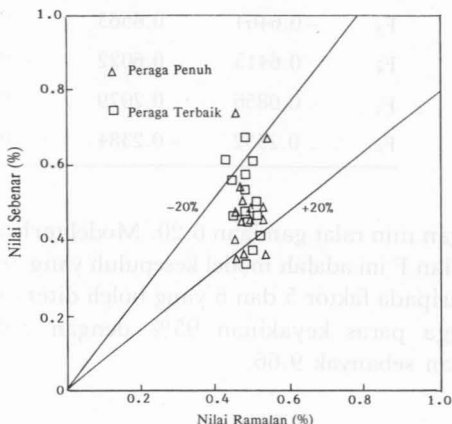
memberikan ralat gandaan sebanyak 0.0097 pada paras keyakinan 75%. Faktor 3 dengan jelas memberi kesan yang lebih ke atas keaktifan bromelin, diikuti oleh faktor 1, 4 dan 5.

Tanda pekali faktor 3 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa pengurangan nisbah pemendakan dan penambahan masa pemendakan di peringkat pertama akan mengurangkan keaktifan bromelin. Tanda pekali faktor 1 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa keaktifan enzim bromelin bertambah dengan penambahan masa pengemparan di peringkat pertama dan dengan penambahan masa pemendakan di peringkat kedua. Tanda pekali faktor 4 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa penambahan masa pemendakan dan masa pemendakan di peringkat pertama memberikan kesan positif terhadap keaktifan bromelin. Tanda pekali faktor 5 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa keaktifan bromelin berkurangan dengan penambahan nisbah pemendakan-supernatan di peringkat pertama dan pengurangan masa pemendakan di peringkat kedua.

Hubungan linear bagi model terbaik yang melibatkan faktor 1, 3, 4 dan 5 adalah seperti berikut:

$$\begin{aligned} \text{Keaktifan enzim} = & 0.4889 + 0.0123F_1 - \\ & 0.0177F_3 + 0.0109F_4 \\ & - 0.0005F_5 \end{aligned} \quad (23)$$

86.7% daripada ramalan yang menggunakan model penuh didapati terletak di dalam jalur sisihan 20.0% (Rajah 2). 64.3% daripada ramalan yang menggunakan model terbaik terletak di dalam jalur sisihan 20% (Rajah 2).



Rajah 2: Perbandingan nilai sebenar dengan nilai ramalan bagi model penuh dan model terbaik untuk keaktifan bromelin

### Hasil Bromelin

Jadual 7 menunjukkan keputusan ujian F faktor-faktor yang berortogon bagi hasil bromelin. Model penuh yang merangkumi faktor 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 memberikan ralat gandaan sebanyak 0.000021. Model terbaik dari ujian F untuk keaktifan bromelin adalah model kelapan yang terdiri

JADUAL 7  
Ujian-F untuk hasil bromelin

Bil	Model	MRG	S <sup>2</sup> /S <sub>1</sub> <sup>2</sup>	F <sub>0.70</sub>	F <sub>0.90</sub>	F <sub>0.95</sub>
1	123456	0.000021	1.00	-	-	-
2	12345	0.000022	1.05	X	X	X
3	12346	0.000024	1.14	X	X	X
4	12356	0.000024	1.14	X	X	X
5	12456	0.000026	1.24	/	/	X
6	13456	0.000027	1.29	/	/	X
7	23456	0.000029	1.38	/	/	X
8	1345	0.000025	1.19	/	X	X
9	245	0.000027	1.29	/	/	X
10	56	0.000025	1.19	/	X	X
11	1	0.000024	1.14	X	X	X

Perhatian: / - Model diterima pada paras keyakinan tertentu.  
X - Model ditolak pada paras keyakinan tertentu.



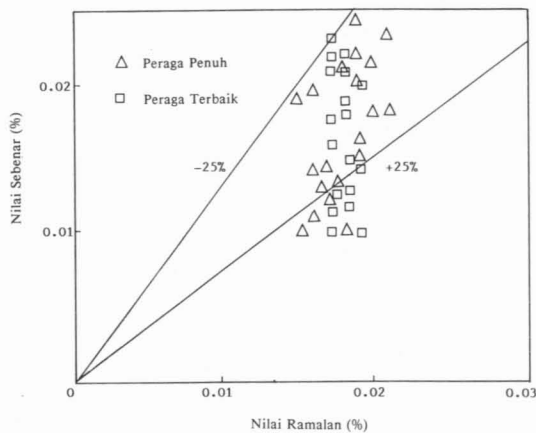
daripada faktor 2, 4, dan 5. Model ini memberikan ralat gandaan sebanyak 0.000027 pada paras keyakinan 75%.

Tanda pekali faktor 2 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa penambahan masa pengemparan di peringkat kedua menambah hasil bromelin. Tanda pekali faktor 4 dan pekali vektor eigen menunjukkan bahawa hasil bromelin berkurangan sekiranya nisbah dan masa pemendakan di peringkat pertama ditambah. Nilai pekali faktor 5 yang sifar menunjukkan bahawa nisbah dan masa pemendakan di peringkat kedua tidak memberikan sebarang kesan terhadap hasil bromelin.

Hubungan linear bagi model terbaik yang melibatkan faktor 2 dan 4 adalah seperti berikut:

$$\% \text{ hasil} = 0.0178 + 0.0004F_2 - 0.0004F_4 \quad (24)$$

68.9% daripada ramalan yang menggunakan model penuh didapati terletak di dalam jalur sisihan 25.0% (rujuk Rajah 3). 68.9% daripada ramalan yang menggunakan model terbaik terletak di dalam jalur sisihan 25.0% (rujuk Rajah 3).



Rajah 3 Perbandingan nilai ramalan dan nilai sebenar model penuh dan model terbaik untuk hasil

### KESIMPULAN

Pembolehkan proses seperti masa pengemparan di peringkat pertama serta nisbah pemendakan, masa pemendakan dan masa pengemparan di peringkat kedua perlu dikawal dalam proses pengeluaran bromelin untuk menentukan peratus

bromelin yang diperolehi. Pembolehkan proses seperti nisbah pemendakan, masa pemendakan dan masa pengemparan di peringkat pertama; dan nisbah pemendakan dan masa pemendakan di peringkat kedua perlu dikawal untuk menentukan keaktifan bromelin. Pembolehkan proses seperti nisbah dan masa pemendakan serta masa pengemparan di peringkat pertama perlu dikawal untuk mendapatkan hasil bromelin yang baik.

### PENGHARGAAN

Kami ingin merakamkan ribuan terima kasih kepada Universiti Kebangsaan Malaysia kerana telah memberi bantuan kewangan kepada penyelidikan ini, kepada Ketua dan kakitangan Stesen Penyelidikan MARDI Jalan Kebun, Kelang, Selangor Darul Ehsan kerana telah membenarkan kami mengambil sampel batang nenas di sana dan kepada kakitangan Jabatan Kejuruteraan Kimia dan Proses dan Jabatan Biokimia, Universiti Kebangsaan Malaysia kerana membantu menyempurnakan penyelidikan ini.

### RUJUKAN

- BALLS, A.K. dan HOOVER, S.R. 1937. Milk Clotting on Papain. *J. Biochem.* **121**: 737.
- BOYER, P.D. (peny.) 1970. Structure and Control. In *Enzymes*, Vol. I.
- GREENBERG, D.M. dan WINNICK, T. 1949. Plant Protease - Activation-Inhibitor Reaction. *J. Biochem.* **135**: 761.
- HARMAN, H.H. 1960. *Modern Factory Analysis*, Chicago: University of Chicago Press.
- HEINICKE, R.M. dan GORTNER, W.A., 1957. Bromelain - A New Protease Preparation from Pineapple Plants. *Economic Botany* **11**: 225.
- HIMMELBLAU, D.M. 1970. *Process Analysis by Statistical Methods*, New York: John Wiley.
- LAWLEY, D.N. dan MAXWELL, A.E. 1963. *Factor Analysis as a Statistical Method*. London: Butterworths.
- LEMBAGA PENGUSAHA NANAS TANAH MELAYU, 1983. Laporan Tahunan.
- MURACHI, T. dan NEURATH, H. 1960. Fractionation and Specificity Studies on Stem Bromelain. *J. Biological Chem.* **99**: 235.
- WALPOLE, R.E. dan MYERS, R.A. 1978. *Probability and Statistics for Engineers and Scientists*. New York: Macmillan.

(Diterima 5 Ogos, 1989)