



**EFEK ENZIM BROMELIN BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr)  
BERBASIS SEDIAAN GEL TERHADAP LEBAR INTERTUBULUS  
DENTIN**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh :

**Retno Dewi Alfiyanti**

**NIM 151610101031**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

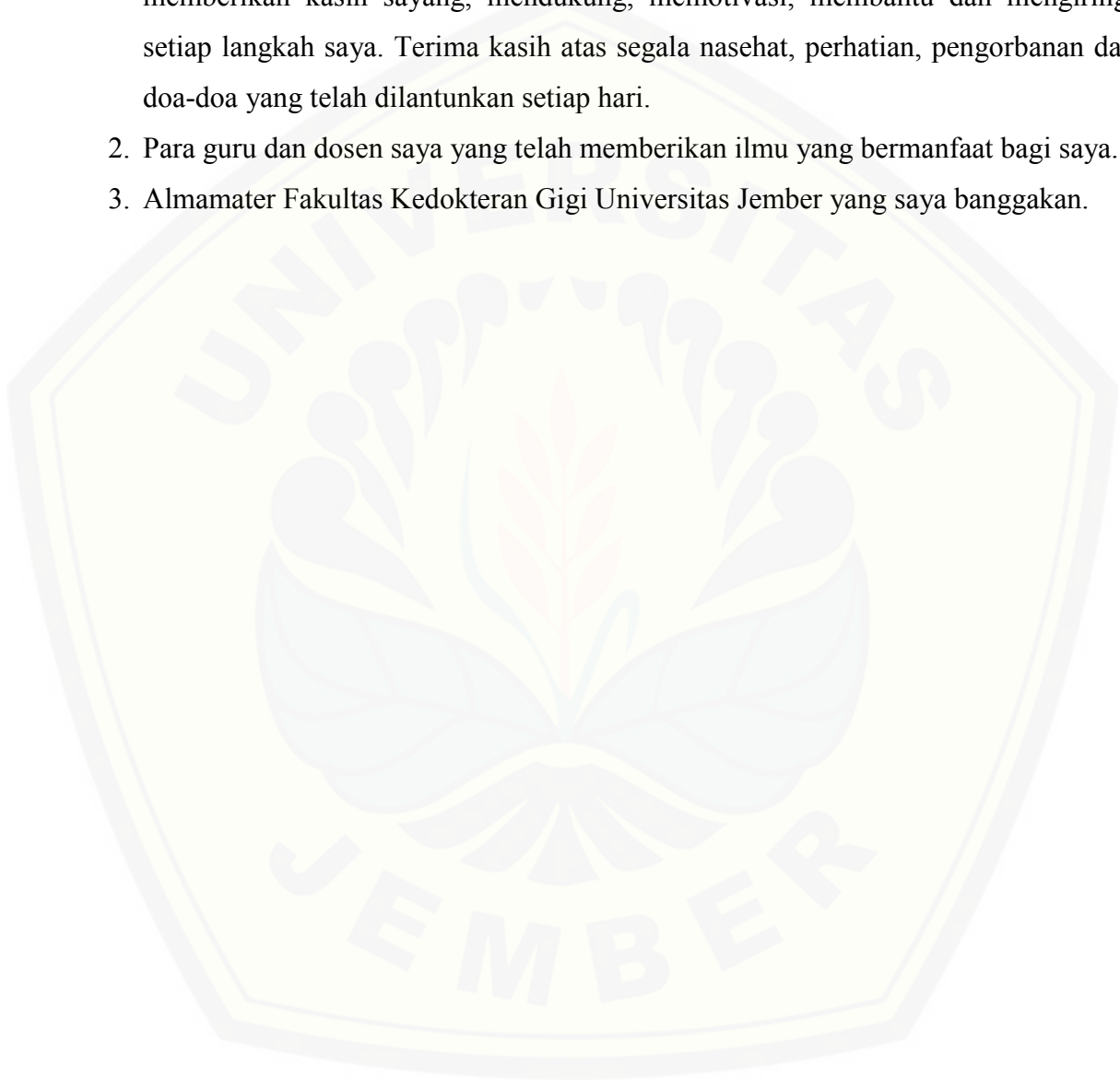
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**

**PERSEMBAHAN**

Dengan setulus hati karya tulis ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Churun, S.Pd, MM dan ayahanda Atro Hadi Purnomo, yang selalu memberikan kasih sayang, mendukung, memotivasi, membantu dan mengiringi setiap langkah saya. Terima kasih atas segala nasehat, perhatian, pengorbanan dan doa-doa yang telah dilantunkan setiap hari.
2. Para guru dan dosen saya yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi saya.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang saya banggakan.



## MOTTO

“Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: “Berlapang-lapanglah dalam majlis”, maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: “Berdirilah kamu”, maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan”

(Surat Al-Mujadalah ayat 11)\*

Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu tentang Aku, maka (jawablah), bahwasanya Aku adalah dekat. Aku mengabulkan permohonan orang yang berdoa apabila ia memohon kepada-Ku, maka hendaklah mereka itu memenuhi (segala perintah-Ku) dan hendaklah mereka beriman kepada-Ku, agar mereka selalu berada dalam kebenaran.

(Surat Al-Baqarah ayat 186)\*\*

---

\*) Q.S Al-Mujadalah ayat 11, Al-Qur'an

\*\*\*) Q.S Al-Baqarah ayat 186, Al-Qur'an

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Retno Dewi Alfiyanti

NIM : 151610101031

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Berbasis Sediaan Gel Terhadap Lebar Intertubulus Dentin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus djunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Mei 2019

Yang menyatakan

Retno Dewi Alfiyanti

NIM 151610101031

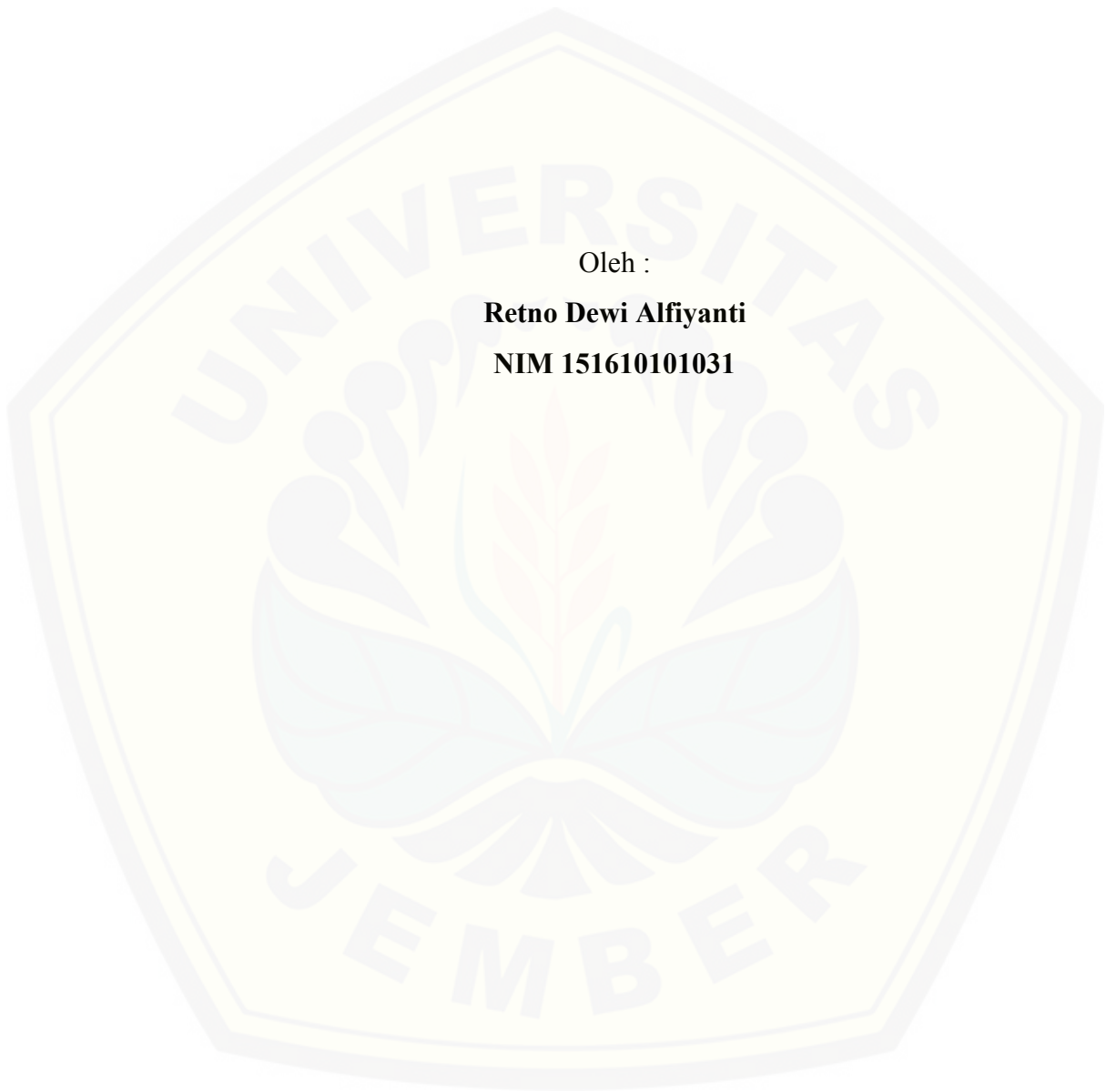
**SKRIPSI**

**EFEK ENZIM BROMELIN BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr)  
BERBASIS SEDIAAN GEL TERHADAP LEBAR INTERTUBULUS DENTIN**

Oleh :

**Retno Dewi Alfiyanti**

**NIM 151610101031**



Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Berlian Prihatiningrum ,M.DSc, Sp. KGA

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Berbasis Sediaan Gel Terhadap Lebar Intertubulus Dentin” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : Kamis, 9 Mei 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech  
NIP.197903252005012001

drg. Erawati Wulandari, M.Kes  
NIP. 196708191993032001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc, Sp.KGA  
NIP. 198402032015042001

drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA  
NIP. 196407132000121001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prost  
NIP. 196901121999601001

## RINGKASAN

**Efek Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Berbasis Sediaan Gel Terhadap Lebar Intertubulus Dentin**, Retno Dewi Alfiyanti., 151610101031; 2019 : 65 halaman: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Bahan Chemo-Mechanical Caries Removal (CMCR) yang dapat digunakan untuk preparasi karies biasanya menggunakan enzim proteolitik. Enzim proteolitik ini dapat menyebabkan degradasi lebih lanjut terhadap kolagen yang telah terdegradasi sebagian oleh proses karies namun tidak bisa mendegradasi kolagen yang sehat. Enzim proteolitik ini bisa ditemukan di tanaman pepaya yaitu enzim papain dan di tanaman nanas yaitu enzim bromelin. Satu tanaman nanas memiliki kadar enzim bromelin lebih banyak dibandingkan enzim papain pada satu tanaman pepaya. Hal ini dikarenakan, hampir semua bagian tanaman nanas terdapat enzim bromelin terutama pada bagian bonggol dan daging buah nanas yang sudah matang. Berdasarkan kemampuan enzim papain pada produk Brix 3000 mampu menghidrolisis kolagen pada jaringan intertubulus dentin gigi yang sudah rusak dengan konsentrasi 10% dalam waktu 2 menit, sehingga dimungkinkan pada enzim bromelin tanaman nanas juga terjadi hidrolisis kolagen pada intertubulus dentin gigi pada durasi waktu tersebut. Secara histologi hidrolisis kolagen ditandai dengan adanya pelebaran intertubulus dentin sehingga hasil akhir dari proses hidrolisis ini diharapkan mampu membersihkan dentin yang rusak dan hanya meninggalkan jaringan dentin yang sehat.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12% terhadap lebar intertubulus dentin. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan penelitian *post test only control group design*. Sampel yang digunakan sebanyak 16 preparat yang dibagi dalam 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, perlakuan enzim bromelin 8%, perlakuan enzim bromelin 10%, dan perlakuan enzim bromelin 12%. Persiapan sampel gigi dilakukan dengan mempreparasi kavitas pada fisure sentral dan memotong 1 gigi secara longitudinal sehingga membagi 2 bagian. Total gigi yang dibutuhkan sebanyak

8 gigi. Setelah itu pembuatan gel enzim bromelin yang diawali dengan isolasi ekstrak enzim bromelin kasar menggunakan metode Lowry dan dimurnikan dengan etanol 80%. Setelah itu enzim bromeli murni diencerkan sesuai konsentrasi yang dibutuhkan dan ditambahkan basis gel HPMC untuk membentuk gel. Setelah pembuatan gel enzim bromelin, diaplikasikan pada kelompok perlakuan dan dilakukan pembuatan preparat histologi dengan pengecatan menggunakan *Mallory Trichrome*. Pengamatan pelebaran intertubulus dentin dilakukan dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 1000 kali.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan lebar intertubulus dentin antara kelompok kontrol dan perlakuan. Adanya pelebaran intertubulus dentin disebabkan karena proses hidrolisis enzimatis yang menyebabkan pemutusan ikatan hidrogen pada struktur *triple helikskolagen* sehingga menjadi untaian kolagen. Kelompok dengan rata-rata lebar intertubulus terbesar yaitu kelompok perlakuan enzim bromelin 10%. Kelompok perlakuan enzim bromelin 8% dan 12% kurang optimal dapat disebabkan karena sudah dalam batas kecepatan maksimum enzim sehingga enzim menjadi jenuh dan kadar aktivitas spesifik enzim yang tidak diukur berpotensi mempengaruhi kecepatan proses hidrolisis enzimatis. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus*(L.) Merr) berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12% selama 2 menit berpengaruh terhadap lebar intertubulus dentin dengan konsentrasi paling efektif adalah enzim bromelin konsentrasi 10%.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah Subhanahuwata'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Berbasis Sediaan Gel Terhadap lebar Intertubulus Dentin”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua, Ibunda Churun, S.Pd, MM dan Ayahanda Atro Hadi Purnomo yang selalu mengiringi disetiap perjuangan, mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadi seseorang yang tangguh dan berani sukses.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc,Sp.KGA, selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran serta motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. drg. Yenny Yustisia, M.Biotech, selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Erawati Wulandari, M.Kes, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan masukan pemikiran yang sangat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Dr. drg. Herniyati, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memotivasi dan memberikan saran dalam menempuh masa studi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
6. Ahmad Bobi Fahrul Rozi, Risa Bela Selviaaliyulita, Anisa Luthfiyani, Reza Hesti Agustin, Anindya Wahyu Kurniawati, Nindya Nur Maghfiroh, Merryam Suvi selaku sahabat saya yang selalu menemani setiap langkah perjuangan saya selama belajar di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

7. Semua teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember angkatan 2015 yang tidak bisa ucapkan satu persatu, terima kasih atas kerja samanya dan semoga semua personil menjadi pribadi yang sukses dunia akhirat.
8. Muhamad Riki Adil Sudrajat, adik saya tercinta yang selalu mendukung dan menghibur disaat saya penat masa perkuliahan dan skripsi.
9. Pihak-pihak lain yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, Ibu Wahyu staf Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Ibu Indri staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pak Tomo dan Pak Erwin staf Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan pihak LIPI Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.
10. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis juga ingin menyampaikan bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik serta saran yang bersifat membangun diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca semua.

Jember, 9 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN .....	v
HALAMAN PENGESAHAN .....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Nanas .....	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	4
2.1.2 Morfologi Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	5
2.1.3 Kandungan Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	7
2.1.4 Manfaat Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	7
2.2 Enzim Bromelin .....	8
2.3 Gigi .....	9

2.3.1 Struktur dan Komposisi Enamel Gigi .....	9
2.3.2 Struktur dan Komposisi Dentin Gigi .....	10
2.4 Karies Gigi .....	12
2.4.1 Karies Dentin.....	14
2.5 Proses Karies Terhadap Perubahan Lebar Intertubulus Dentin .....	15
2.6 <i>Chemo-Mechanical Caries Removal</i> (CMCR) .....	16
2.6.1 Mekanisme Kerja CMCR .....	17
2.7 Kerangka Konsep .....	19
2.8 Hipotesis .....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Jenis Penelitian .....	21
3.2 Rancangan Penelitian .....	21
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....	21
3.3.1 Tempat Penelitian .....	21
3.3.2 Waktu Penelitian .....	21
3.4 Identifikasi Variabel .....	21
3.4.1 Variabel Bebas .....	21
3.4.2 Variabel Terikat .....	22
3.4.3 Variabel Terkendali .....	22
3.5 Definisi Operasional .....	22
3.5.1 Ekstrak Enzim Bromelin Daging Buah Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) Berbasis Sediaan Gel .....	22
3.5.2 Perubahan Lebar Intertubulus Dentin .....	22
3.6 Sampel Penelitian .....	23
3.6.1 Kriteria Sampel .....	23
3.6.2 Kriteria Buah Nanas .....	23
3.6.3 Besar Sampel .....	23

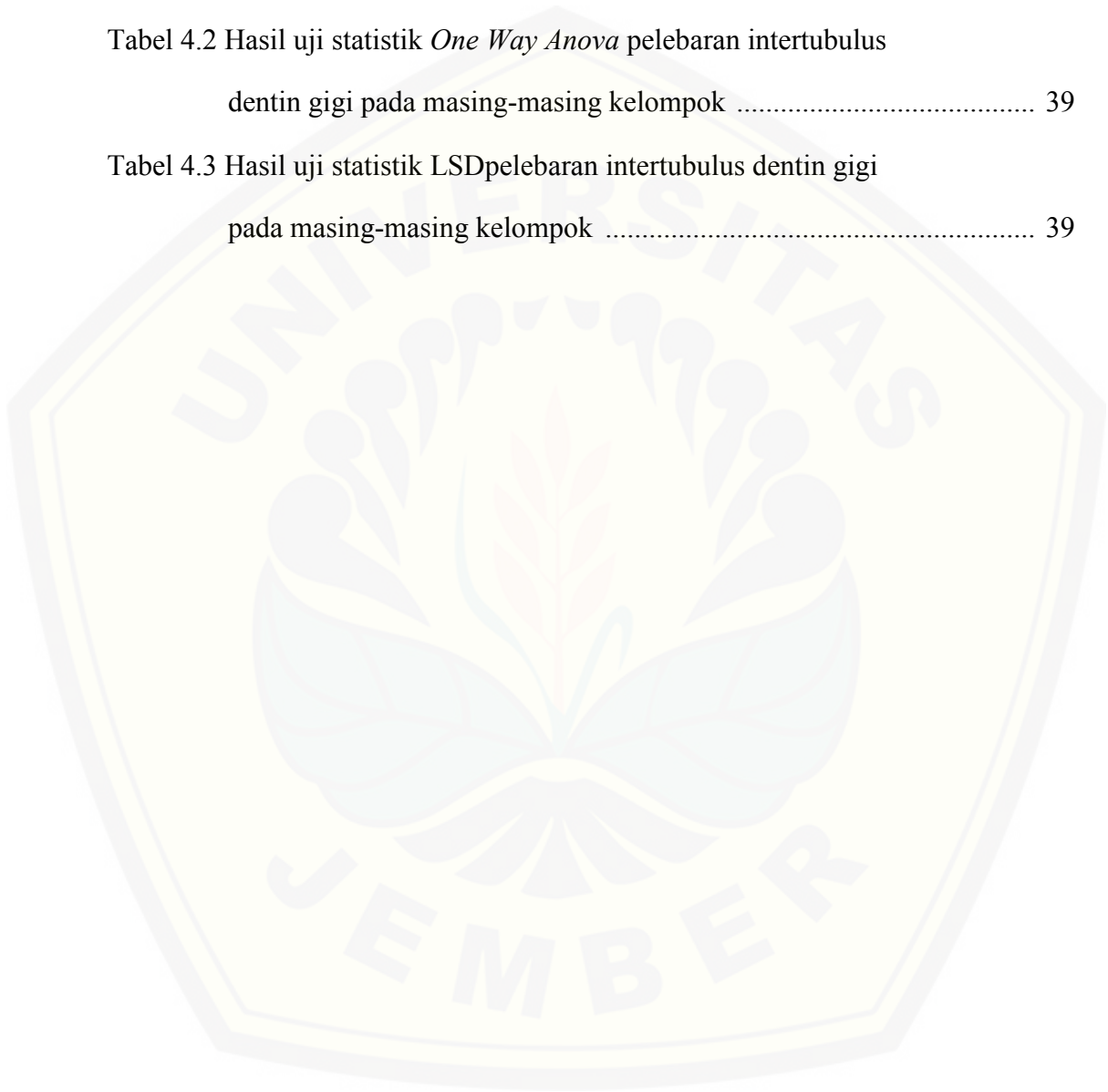
3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....	24
3.7.1 Alat Penelitian .....	24
3.7.2 Bahan Penelitian .....	25
3.8 Prosedur Penelitian .....	26
3.8.1 Tahap Persiapan .....	26
3.8.1.a Tahap Persiapan Sampel .....	26
3.8.1.b Tahap Isolasi Ekstrak Enzim Bromelin Daging Buah Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	28
3.8.1.c Tahap Pemurnian Ekstrak Enzim Bromelin Daging Buah Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	28
3.8.1.d Tahap Pengenceran Ekstrak Enzim Bromelin Daging Buah Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	29
3.8.1.e Tahap Pembuatan Basis Gel Ekstrak Enzim Bromelin Daging Buah Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	29
3.8.2 Tahap Perlakuan Sampel .....	29
3.8.3 Tahap dekalsifikasi .....	31
3.8.4 Tahap Pemrosesan Jaringan .....	31
3.8.5 Tahap Pewarnaan Mallory Trichrome .....	33
3.8.6 Tahap Pengukuran Lebar Intertubulus Dentin .....	34
3.9 Analisa Data .....	35
3.10 Alur Penelitian .....	35
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Pengamatan .....	36
4.1.1 Data Hasil Pengamatan .....	36
4.1.2 Data Hasil Penelitian .....	37
4.1.3 Analisis Data .....	38
4.2 Pembahasan .....	40
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	

5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA .....	46
LAMPIRAN .....	51



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan gizi buah nanas .....	7
Tabel 4.1 Data pelebaran intertubulus dentin .....	38
Tabel 4.2 Hasil uji statistik <i>One Way Anova</i> pelebaran intertubulus dentin gigi pada masing-masing kelompok .....	39
Tabel 4.3 Hasil uji statistik LSD pelebaran intertubulus dentin gigi pada masing-masing kelompok .....	39



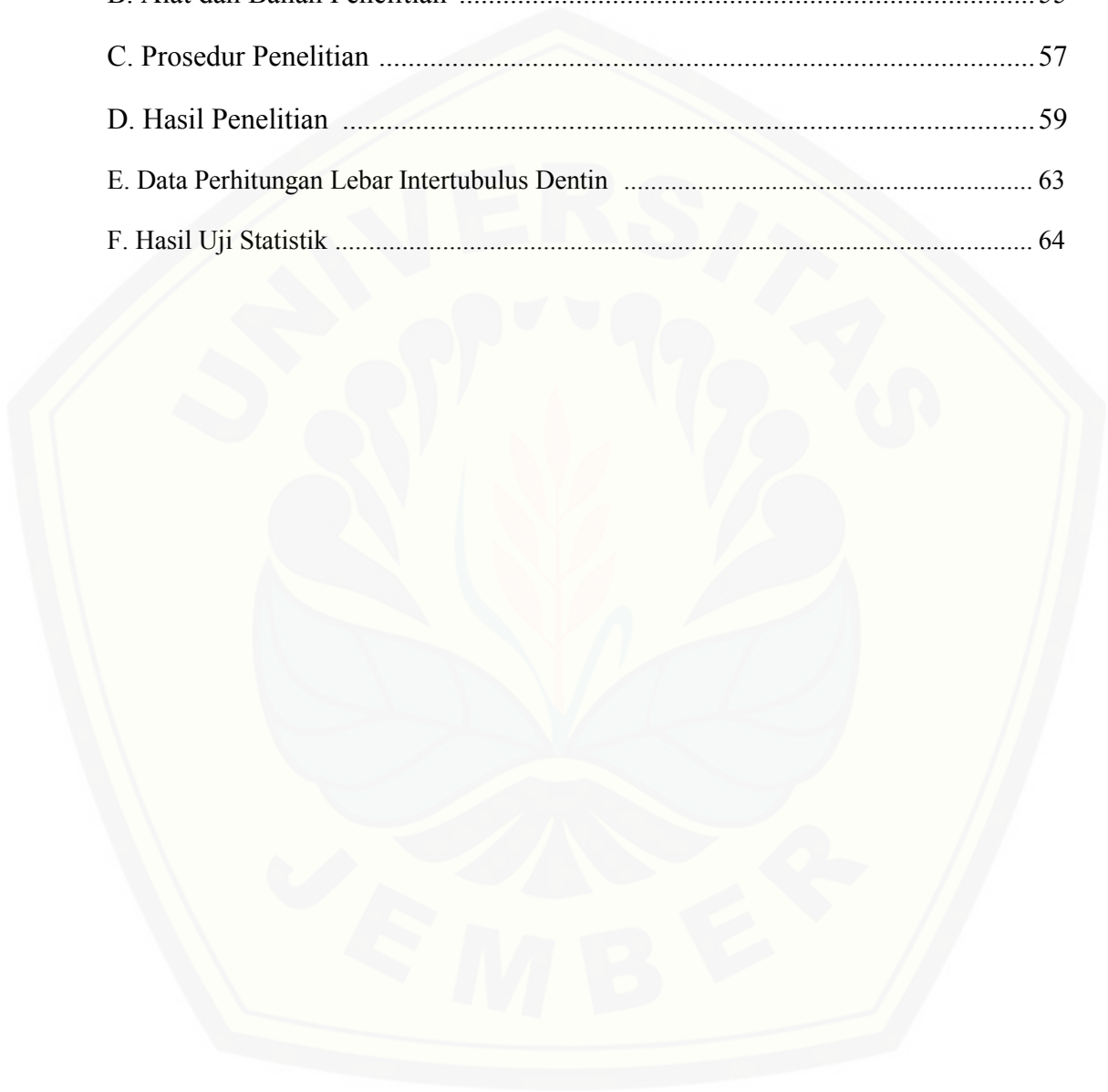
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Nanas ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr) .....	4
Gambar 2.2 Tubulus Dentin .....	11
Gambar 2.3 Zona karies dentin .....	15
Gambar 2.4 Preparasi karies klas V Black dengan bahan carisolv .....	17
Gambar 3.1 Ilustrasi Pemotongan gigi secara longitudinal .....	27
Gambar 3.2 Ilustrasi preparasi kavitas dentin .....	27
Gambar 3.3 Proses dekalsifikasi sampel dengan asam nitrat 10% .....	31
Gambar 3.4 Tahap penanaman ( <i>embedding</i> ) .....	33
Gambar 4.1 Gambaran histologi dentin dengan pewarnaan <i>Trichrome Mallory</i> ..	36
Gambar 4.2 Grafik hasil pelebaran jaringan kolagen pada intertubulus dentin pada masing-masing kelompok.....	37



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Surat Ijin Penelitian .....	51
B. Alat dan Bahan Penelitian .....	55
C. Prosedur Penelitian .....	57
D. Hasil Penelitian .....	59
E. Data Perhitungan Lebar Intertubulus Dentin .....	63
F. Hasil Uji Statistik .....	64



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut yang seringkali tidak diperhatikan adalah masalah karies. Menurut Kamus Saku Kedokteran Dorland (2009) karies gigi adalah proses perusakan yang menyebabkan dekalsifikasi enamel gigi dan berkelanjutan menjadi kerusakan enamel serta dentin pada gigi. Menurut data hasil RISKESDAS tahun 2018 prevalensi gigi berlubang pada anak usia dini sangat tinggi yakni 93%, artinya hanya 7% anak Indonesia yang bebas karies gigi. Penyakit gigi ini terbukti dapat menjadi sumber infeksi bagi penyakit yang menyerang organ-organ lainnya.

Pembersihan jaringan karies dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain metode ekskavasi manual, instrumen berotasi menggunakan bur dan *handpiece*, abrasi udara, ultrasonik, sonoabrasi dan laser. Namun, metode-metode tersebut memiliki banyak kekurangan jika diaplikasikan pada pasien anak. Kekurangan metode-metode tersebut antara lain, tidak efisien waktu, dapat menimbulkan rasa nyeri dan tidak nyaman, bising, pengambilan jaringan karies berlebihan, dan biaya yang cukup mahal. Maka perlu dikembangkanlah suatu metode non mekanik yang dapat diterima oleh anak-anak, salah satunya dengan menggunakan bahan kimia. Penggunaan bahan kimia untuk pembersihan jaringan karies dikenal dengan *Chemo-Mechanical Caries Removal* (CMCR) atau preparasi kimia-mekanis. Prosedur CMCR dilakukan dengan mengaplikasikan bahan kimia pada karies gigi dalam durasi waktu tertentu kemudian kavitas dibersihkan dengan ekskavator manual tanpa tekanan untuk mengangkat jaringan karies.

Tahun 2003, sebuah penelitian di Brazil berhasil mengembangkan formula CMCR dengan bahan dasar getah pepaya (enzim papain). Bahan CMCR yang dapat digunakan untuk preparasi karies biasanya menggunakan enzim proteolitik, yaitu enzim yang mengkatalis ikatan peptida menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti dipeptida dan asam amino (Miller, 2005). Bahan CMCR dari enzim papain ini sudah dipatenkan di Brazil dengan nama dagang BRIX 3000

namun produk ini tidak bisa didapatkan di Indonesia, sehingga diperlukan adanya inovasi dari enzim proteolitik lain sebagai bahan CMCR.

Enzim proteolitik selain pada tanaman pepaya dapat ditemukan juga pada tanaman nanas yaitu enzim bromelin. Enzim bromelin pada tanaman nanas dapat ditemukan pada bagian kulit, mahkota, daun, batang, bonggol dan daging buah nanas namun aktivitas enzim ditemukan lebih banyak di bagian daging buahnya (Supartono, 2004). Kandungan bromelin pada nanas yang belum matang dan bergetah, sangat sedikit sekali bahkan kadang-kadang tidak ada sama sekali (Herdyastuti, 2006). Enzim bromelin banyak dimanfaatkan secara klinis terutama untuk modulasi pertumbuhan tumor, pembekuan darah, peningkatan aksi antibiotik dan anti inflamasi serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *E.coli* dan *Proteus spp* (Herdyastuti, 2006). Berdasarkan penelitian di Brazil, evaluasi *in vitro* sitotoksitas enzim proteolitik menggunakan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% tidak memiliki efek sitotoksik (Bussadori dkk, 2006)

Menurut Sebayang (2006), efektivitas enzim bromelin akan lebih stabil jika dalam bentuk sediaan gel. Sediaan berbasis gel memiliki beberapa keunggulan, diantaranya adalah kompatibel terhadap jaringan di rongga mulut, mudah diaplikasikan pada daerah kerja, dan adanya bahan pengawet dalam sediaan gel memiliki sifat tidak toksik dan tidak memberikan reaksi alergi (Purba, 2007).

Kemampuan enzim papain pada produk Brix 3000 mampu menghidrolisis kolagen pada jaringan dentin gigi yang sudah rusak atau kehilangan *alpha-1-antitrypsin* menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 10% dalam waktu 2 menit. Oleh karena itu, dimungkinkan pada enzim bromelin tanaman nanas juga terjadi hidrolisis kolagen pada dentin gigi yang sudah rusak pada durasi waktu tersebut. Proses hidrolisis kolagen pada dentin gigi bisa ditandai dengan adanya penurunan kekasaran permukaan dentin dan pelebaran jarak intertubulus dentin (Nasution dkk, 2013). Secara normal jarak intertubulus dentin adalah  $\leq 2\mu\text{m}$  namun proses hidrolisis enzimatis dapat memperlebar jarak tersebut oleh karena

pemutusan ikatan hidrogen pada kolagen di intertubulus dentin. Oleh karena proses hidrolisis kolagen pada dentin yang sudah rusak, dapat meninggalkan jaringan dentin gigi yang sehat.

Berdasarkan uraian diatas, tentang perlunya suatu pengembangan bahan alternatif untuk CMCR maka peneliti ingin meneliti tentang efek enzim bromelin pada konsentrasi 8%, 10% dan 12% berbasis sediaan gel terhadap lebar intertubulus dentin.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut muncul suatu permasalahan yaitu :

1. Bagaimana efek enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12% terhadap lebar intertubulus dentin?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui efek enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12% terhadap lebar intertubulus dentin.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Manfaat untuk Klinisi  
Menambah informasi mengenai kemampuan enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel terhadap lebar intertubulus dentin sehingga dapat menjadi pertimbangan alternatif bahan preparasi kemomekanikal.
2. Manfaat untuk IPTEK  
Sebagai bahan kajian untuk penelitian selanjutnya.
3. Manfaat untuk masyarakat  
Untuk memberikan informasi ilmiah tentang manfaat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) pada bidang kesehatan gigi.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Nanas

Nenas atau nanas bukan merupakan tanaman asli Indonesia. Tanaman nanas berasal dari Amerika tropis, yakni Brasil, Argentina, dan Peru (Sunarjono, 2013). Nanas masuk ke Indonesia pada tahun 1599. Nanas pada awalnya hanya ditanam untuk mengisi lahan pekarangan, namun lambat laun penanaman nanas meluas dikebunkan di lahan kering di seluruh Indonesia. Jika memiliki lahan yang terbatas, saat ini penanaman nanas bisa dilakukan dengan media pot (Saparinto, 2016).



Gambar 2.1 Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) (Saparinto dkk, 2016)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Nanas (*Ananas comosus*(L.) Merr)

Berdasarkan hasil identifikasi tanaman yang dilakukan di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, nanas diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)

Division : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Subkelas : Zingiberidae

Ordo : Bromeliales

Famili : Bromeliaceae

Genus : Ananas

Spesies : *Ananas comosus* (L.) Merr

### 2.1.2 Morfologi Tanaman Nanas

Tanaman nanas berbentuk semak dan hidupnya bersifat tahunan (perennial) (Wongsowijoyo, 2015). Tanaman nanas merupakan rumput yang batangnya pendek. Nanas merupakan tanaman monokotil dan bersifat merumpun (bertunas anakan) (Sunarjono, 2013). Morfologi tanaman nanas adalah sebagai berikut :

#### a. Batang Nanas

Batang nanas sebagai tempat melekat akar, daun, bunga, tunas dan buah, sehingga secara visual batang tersebut tidak nampak karena tertutup daun. Tangkai bunga atau buah merupakan perpanjangan batang (Saparinto dkk, 2016). Bentuk batang tanaman nanas mirip gada, berukuran cukup panjang antara 20-25 cm atau lebih, tebal dengan diameter 2,0 – 3,5 cm, beruas-ruas (berbuku-buku) pendek (Prahasta, 2016).

#### b. Daun dan Cabang Nanas

Sunarjono (2013) menjelaskan bahwa, daun nanas panjang, berurat sejajar, dan pada tepinya tumbuh duri yang menghadap ke atas (kearah ujung daun). Daun muncul dan terkumpul pada pangkal batang. Daun nanas tumbuh memanjang sekitar 130-150 cm, lebar antara 3-5 cm atau lebih. Jumlah daun tiap batang (tanaman) amat bervariasi antara 70-80 helai yang tata letaknya seperti spiral, yakni mengelilingi batang mulai dari bawah ke atas arah kanan dan kiri (Samadi, 2014).

#### c. Bunga Nanas

Nanas mempunyai rangkaian bunga majemuk pada ujung batangnya. Bunga bersifat hermaphrodit, berkedudukan di ketiak daun pelindung (Haryanto, 2007). Masa pertumbuhan bunga dimulai dari bagian dasar menuju bagian atas membutuhkan waktu 10-20 hari. Waktu dari menanam sampai terbentuk bunga antara 6-16 bulan (Saparinto dkk, 2016). Tanaman nanas berbunga pada ujung batang dan hanya sekali berbunga yang arahnya tegak ke atas. Sebenarnya, bunga nanas bersifat

majemuk dan terdiri dari lebih 200 kuntum bunga yang tidak bertangkai (Sunarjono, 2013).

d. Buah Nanas

Satu tanaman atau satu tangkai nanas hanya tumbuh satu buah saja. Namun karena pengaruh lingkungan dapat pula terbentuk lebih dari satu buah pada satu tangkai, disebut *multiple fruit* (buah ganda) (Saparinto dkk, 2016). Buah nanas bukanlah buah sejati, melainkan gabungan buah-buah sejati. Kumpulan kuntum bunga dengan adanya proses penyerbukan akan menghasilkan kumpulan buah kecil berjumlah 100-200 buah (Haryanto, 2007). Buah-buah kecil tersebut bergabung menjadi satu dan dihubungkan oleh batang tengah yang disebut hati, sehingga penampakan visual seolah-olah hanya satu buah berbentuk bulat dengan bagian ujungnya seperti kerucut. Tiap buah yang sebelumnya dilakukan penyerbukan (persilangan) buatan berpotensi menghasilkan 6.000 – 9.000 biji (Wongsowijoyo, 2015). Meskipun demikian, buah nanas umumnya tidak berbiji karena bakal biji pada waktu bunga mulai membuka dengan cepat gugur dan hanya sedikit yang jadi biji dalam buah yang masak. Buah nanas merupakan buah majemuk yang disebut sinkarpik atau *caenocarpium*. Di atas buah tumbuh daun-daun pendek yang tersusun seperti pilin yang disebut mahkota (*crown*) (Sunarjono, 2013: 149).

e. Akar Nanas

Tanaman nanas hanya berakar serabut dan mengandung cukup banyak air (Sunarjono, 2013). Sistem perakaran tanaman nanas sebagian tumbuh di dalam tanah dan sebagian lagi menyebar dipermukaan tanah. Akar-akar melekat pada pangkal batang dan termasuk berakar serabut (*monocotyledonae*) (Samadi, 2014).

### 2.1.3 Kandungan Tanaman Nanas

Berdasarkan data dari Direktorat Gizi Depkes RI (2005), kandungan gizi buah nanas segar tiap 100 gram adalah sebagai berikut :

Tabel 2.1 kandungan gizi buah nanas

<b>Kandungan Gizi (Nutrisi)</b>	<b>Jumlah</b>
Kalori	52.00 Kal
Protein	0.40 gram
Lemak	0.20 gram
Karbohidrat	13.70 gram
Kalsium	16.00 gram
Fosfor	11.00 mgram
Zat Besi	0.30 mgram
Vitamin A	130.000 S.I
Vitamin B1	0.08 mgram
Vitamin C	24.00 mgram
Natrium	2.00 mgram
Kalium	125.00 mgram
Air	85.30 gram
Bagian dapat dimakan (Bdd)	53.00 %

Sumber : Depkes RI (2005)

Kandungan vitamin A tanaman nanas berfungsi untuk menjaga kesehatan kulit dan memperbaiki sel kulit yang rusak, vitamin B berfungsi untuk mencegah kerontokan dan vitamin C pada nanas berfungsi untuk memberi nutrisi bagi kulit (Rahmat dkk, 2016). Menurut Saparinto, dkk (2016), Nanas kaya akan vitamin A dan C yang bersifat antioksidan. Selain itu juga mengandung cukup banyak serat, kalsium, fosfor, magnesium, mangan, zat besi, thiamin, natrium, kalium, gula buah (sukrosa) serta enzim bromelin, suatu enzim protease yang bekerja sebagai pemecah protein.

### 2.1.4 Manfaat Tanaman Nanas

Buah nanas memiliki rasa yang manis dan menyegarkan karena kandungan air tanaman nanas cukup banyak (Samadi, 2014). Oleh karena itu tanaman nanas sering diolah menjadi berbagai macam makanan dan minuman misalnya seperti selai, buah dalam sirup, campuran salad buah, rujak buah dan lain-lain (Wongsowijoyo, 2015).



Menurut Saparinto, dkk (2016), khasiat dan manfaat tanaman nanas diantaranya adalah mengobati batuk, demam, haid tidak teratur, membangkitkan nafsu makan, mulas, obat cacing, radang tenggorokan, sembelit, amandel, sakit kuning dan ketombe. Nanas juga dapat menghambat pertumbuhan sel tumor, mengatur kelenjar tiroid dan mengurangi resiko gondok, mengurangi pembengkakan tenggorokan akibat bronkitis dan asma, menurunkan tekanan darah, mengeluarkan parasit hati dan usus, meredakan sembelit, mencegah mual, rendah kalori untuk menurunkan berat badan, mengandung pektin tinggi yang membantu mengeluarkan logam berat dan racun dalam tubuh, mengandung agen anti pembekuan darah, serta menurunkan kolesterol dalam darah dan mengurangi resiko diabetes dan penyakit jantung (Wongsowijoyo, 2015).

## 2.2 Enzim Bromelin

Enzim adalah golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup. Sampai saat ini kira-kira lebih dari 2000 enzim telah teridentifikasi yang masing-masing berfungsi sebagai katalisator reaksi kimia dalam sistem hidup (Yasid dan Nursanti, 2005). Sintesis enzim terjadi di dalam sel dan sebagian besar enzim dapat diperoleh dari ekstraksi jaringan tanpa merusak fungsinya. Enzim memiliki tenaga katalitik yang luar biasa, yang biasanya jauh lebih besar dari katalisator sintetik. Enzim mempercepat reaksi kimia tanpa pembentukan produk samping. Enzim yang bekerja sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis protein disebut enzim proteolitik atau protease. Bromelin adalah salah satu enzim proteolitik atau protease yaitu enzim yang mengkatalisasi penguraian protein menjadi asam amino dengan membangun blok melalui reaksi hidrolisis. Menurut Herdyastuti (2006) hidrolisis (hidro = air; lysis = mengendurkan atau gangguan / uraian) adalah penguraian dari molekul besar menjadi unit yang lebih kecil dengan kombinasi air. Berdasarkan mekanisme pengikatan enzim terhadap substrat, proses hidrolisis tersusun atas dua tahap reaksi. Reaksi pertama adalah reaksi asilasi untuk membentuk ikatan kompleks enzim substrat dan reaksi kedua adalah reaksi deasilasi yang ditandai dengan hidrolisis ikatan kompleks enzim substrat menjadi produk dan enzim (Ngili, 2009).

Enzim bromelin diperoleh dari jaringan-jaringan tanaman nanas (Supartono, 2004). Enzim bromelin banyak digunakan dalam bidang industri pangan maupun nonpangan seperti industri daging kalengan, minuman bir dan lain-lain (Herdyastuti, 2006). Enzim bromelin dari jaringan-jaringan tanaman nanas memiliki potensi yang sama dengan papain yang ditemukan pada pepaya yang dapat mencerna protein sebesar 1000 kali beratnya. Bromelin dapat diperoleh dari tanaman nanas baik dari tangkai, kulit, daun, buah, maupun batang dalam jumlah yang berbeda. Kandungan enzim lebih banyak di bagian daging buahnya, hal ini ditunjukkan dengan aktivitasnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas pada bagian batangnya (Supartono, 2004). Kandungan bromelin pada jaringan yang umurnya belum tua terutama yang bergetah, sangat sedikit sekali bahkan kadang-kadang tidak ada sama sekali (Herdyastuti, 2006). Kandungan enzim bromelin yang terdapat pada tanaman nanas dapat berfungsi sebagai penghidrolisis protein, protease atau peptide sehingga sering digunakan untuk melunakkan daging. Manfaat enzim bromelin di dunia medis adalah agregasi platelet, fibrinolisis, aktivitas anti-inflamasi, induksi sitokin, potensiasi antibiotik, bantuan pencernaan, debridemen, dan sebagai anti mikrobia (Wongsowijoyo, 2015).

### 2.3 Gigi

Gigi merupakan salah satu organ tubuh penting yang memiliki beberapa fungsi, yaitu fungsi pengunyahan, fungsi bicara dan fungsi estetik (Kidd dkk, 2012). Gigi yang dimiliki setiap individu berada dalam rongga mulut dan tersusun pada lengkung rahang atas dan rahang bawah. Selain itu gigi berfungsi untuk mempertahankan jaringan pendukung gigi supaya tetap dalam keadaan baik dan terikat dengan erat dalam lengkung gigi serta membantu dalam perkembangan dan perlindungan jaringan - jaringan di bawahnya (Saputra dkk, 2015).

#### 2.3.1 Struktur dan Komposisi Enamel Gigi

Enamel merupakan substansi gigi yang terletak paling luar dari struktur gigi dan merupakan jaringan terkeras gigi yang memiliki ketebalan bervariasi

(Syahrial dkk, 2016). Menurut Kidd dkk (2012) enamel yang mempunyai ketebalan tertinggi berada pada ujung tonjol yaitu mencapai 2,5 mm, sedangkan enamel yang tipis berada pada daerah tepi yaitu *cementoenamel junction* (CEJ).

Enamel mempunyai struktur yang keras dan padat tetapi masih permeabel atau dapat ditembus oleh ion dan molekul melalui struktur hipomineralisasi (Chemiawan, 2004). Enamel terdiri dari 96% bahan anorganik sisanya bahan organik dan air. Sebagian besar bahan anorganik terdiri dari ion kalsium fosfat dan hidroksiapatit [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] (Syahrial dkk, 2016).

### 2.3.2 Struktur dan Komposisi Dentin Gigi

Dentin merupakan salah satu jaringan keras gigi yang terletak di bawah lapisan enamel. Komposisi dentin terdiri dari 45-50% kristal hidroksiapatit (anorganik), 30% zat organik dan 20-25% air dengan ketebalan 3-3,5 mm dari DEJ (*Dentino Enamel Junction*) sampai ke pulpa (Syahrial dkk, 2016). Persentase bahan organik sebagian besar terdiri dari 90% kolagen tipe I dan sisanya (10%) non kolagen protein seperti fosfoproteins dan proteoglikan (Fawzy dkk, 2012). Komposisi dentin tersebut menyebabkan dentin ini lebih lunak daripada enamel namun demikian dentin masih berperan dalam pelindung jaringan dibawahnya.

Secara mikroskopis, struktur dentin adalah tubulus dentin, peritubulus dentin, intertubulus dentin, predentin, dan prosesus odontoblas (Avery dan Chiego, 2006). Tubulus dentin merupakan kanal-kanal yang memanjang dari daerah pulpa sampai ke batas dentin-enamel. Tubulus dentin berbentuk seperti garis-garis yang tersusun mengikuti arah mahkota. Menurut Brown dan Dodds (2008) perbandingan antara dentin yang berada pada permukaan luar dengan dentin yang berada pada permukaan dalam adalah 5:1, sehingga tubulus-tubulus memiliki jarak yang lebih jauh antara satu dengan yang lain pada daerah garis permukaan luar, sementara pada daerah permukaan dalam jarak antar tubulus lebih dekat. Tubulus dentin yang berdekatan dengan ruang pulpa atau bagian dentin yang dalam memiliki diameter tubulus dentin sebesar 3-4  $\mu\text{m}$  dan lebih kecil pada dentin bagian luar yaitu 1  $\mu\text{m}$  (Fawzy dkk, 2012).



Gambar 2.2 Tubulus Dentin dengan Menunjukkan Peritubular dan Intertubular Dentin (Avery dan Chiego, 2006)

Dentin yang mengelilingi tubulus dentin disebut dengan peritubulus dentin yang termineralisasi 40% lebih banyak daripada intertubulus dentin dan dua kali lebih tebal pada permukaan luar dentin daripada permukaan dalam dentin (Avery dan Chiego, 2006). Secara keseluruhan dentin tersusun atas intertubulus dentin yang terletak diantara daerah peritubulus (gambar 2.2). Intertubulus dentin ini merupakan komponen struktural hidroksiapatit dan mengandung kolagen matriks yang membentuk sebagian besar struktur dentin. Predentin terletak berdekatan dengan jaringan pulpa yang merupakan pembentukan awal dari dentin. Prosesus odontoblas merupakan perpanjangan sitoplasma dari odontoblas. Odontoblas terletak disekitar pulpa yaitu diantara batas pulpa dengan predentin dan prosesusnya memanjang sampai tubulus dentin (Brown dan Dodds, 2008).

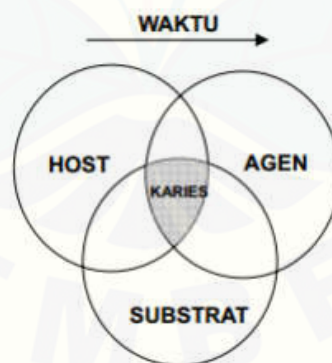
Jaringan kolagen yang mengisi jaringan intertubulus dentin mempunyai ketebalan sebesar  $\leq 2 \mu\text{m}$ . Kolagen ( $\text{C}_{102}\text{H}_{149}\text{N}_{31}\text{O}_{38}$ ) merupakan protein fibrilar yang terdiri dari tiga rantai polipeptida (*triple helix*) (Alhana dan Tarman, 2015). Tiga rantai polipeptida ini sama panjang dengan membentuk struktur heliks hingga membentuk molekul dasar kolagen yang disebut tropokolagen (Gadi dkk, 2017). Berdasarkan strukturnya, asam amino ( $\text{NH}_2$ ) terdiri dari sebuah gugus amino, gugus karboksil ( $\text{COOH}$ ), atom hidrogen (H) dan gugus radikal (R) yang terikat pada sebuah atom C atau dikenal sebagai karbon  $\alpha$  (Voet dkk, 2013). Asam amino glisina, prolina dan hidroksprolina merupakan asam amino utama pembentuk kolagen yang jarang ditemukan pada protein lain (Katili, 2009).

Kolagen dihubungkan dengan ikatan hidrogen dan ikatan kovalen-silang (Liu dkk, 2015).

#### 2.4 Karies Gigi

Karies atau lubang gigi adalah sebuah penyakit dalam rongga mulut yang diakibatkan oleh aktivitas perusakan bakteri terhadap jaringan keras gigi (email, dentin dan sementum) (Chemiawan, 2004). Karies gigi ditandai dengan adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang diikuti oleh kerusakan bahan organiknya, sehingga mengakibatkan terjadinya invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksi ke jaringan di sekitar akar gigi dan menyebabkan nyeri (Kidd dan Bechal, 2012).

Ada tiga faktor utama yang memegang peranan yaitu faktor host, agen atau mikroorganisme, substrat atau diet dan ditambah faktor waktu, yang digambarkan sebagai tiga lingkaran yang bertumpang-tindih (Chemiawan, 2004). Kondisi setiap faktor tersebut harus saling mendukung yaitu tuan rumah yang rentan, mikroorganisme yang kariogenik, substrat yang sesuai dan waktu yang lama (Jawa dkk, 2010)



Skema yang menunjukkan karies sebagai penyakit multifaktorial yang disebabkan faktor host, agen, substrat dan waktu (Chemiawan, 2004).

##### a. Host

Lekuk dan fisur yang terdapat pada permukaan oklusal gigi memiliki bentuk yang bermacam-macam dengan kedalaman yang berbeda. Gigi yang mempunyai fisur dan pit yang dalam merupakan daerah yang sulit

untuk dibersihkan dari sisa-sisa makanan, sehingga plak dapat berkembang dengan cepat dan akan menyebabkan terjadinya karies gigi (Brown dan Dodds, 2008). Selain keadaan gigi, saliva juga berperan penting dalam terbentuknya karies. Selain mempengaruhi komposisi mikroorganisme di dalam plak melalui *self cleansing*, saliva juga mempengaruhi pH. Maka dari itu aliran saliva yang berkurang dapat menyebabkan karies gigi yang tidak terkendali (Chemiawan, 2004).

b. Agen

Faktor agen menjadi salah satu faktor pendukung terjadinya karies, hal ini dipengaruhi oleh jumlah bakteri dan plak dalam rongga mulut (Chemiawan, 2004). Plak merupakan lapisan lunak yang melekat erat pada permukaan gigi yang tidak dibersihkan yang terdiri dari kumpulan mikroorganisme beserta produk-produknya (Kidd dan Bechal, 2012). *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* merupakan bakteri kariogenik karena dapat memproduksi asam dengan tersedianya karbohidrat yang mudah meragi seperti sukrosa dan glukosa, sehingga menyebabkan pH plak akan menurun. Jika plak tidak dibersihkan maka akan semakin menumpuk dan dapat menghambat fungsi saliva dalam menetralkan pH (Syahrial, 2016).

c. Substrat

Karbohidrat memiliki peran penting dalam pembuatan asam bagi bakteri dan sintesa polisakarida ekstra sel. Sintesa polisakarida ekstra sel dari sukrosa lebih cepat daripada glukosa, fruktosa, dan laktosa (Yasid dan Nursanti, 2005). Oleh karena itu, sukrosa merupakan gula yang paling kariogenik. Konsumsi gula yang sering dan berulang-ulang yang tidak diimbangi dengan pembersihan gigi akan menahan pH plak di bawah normal dan menyebabkan demineralisasi email terus terjadi (Brown dan Dodds, 2008).

d. Waktu

Menurut Chemiawan (2004) karies merupakan suatu penyakit kronis progresif yang membutuhkan waktu beberapa bulan bahkan tahun untuk

dapat berkembang. Adanya kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral selama berlangsung proses karies, menandakan bahwa proses karies tersebut terjadi atas periode kerusakan dan perbaikan yang silih berganti. Oleh karena itu, bila saliva ada di dalam lengkungan gigi maka karies tidak menghancurkan dalam hitungan hari atau minggu, melainkan dalam bulan atau tahunan (Kidd dkk, 2002).

#### 2.4.1 Karies Dentin

Karies diklasifikasikan berdasarkan kedalamannya yaitu karies superfisialis, karies media dan karies profunda (Jawa dkk, 2010). Karies superfisialis merupakan karies yang sudah mencapai bagian dalam dari email dan kadang-kadang terasa sakit. Karies media merupakan karies yang sudah mencapai bagian dentin atau bagian pertengahan antara permukaan gigi dan kamar pulpa. Karies profunda merupakan karies yang telah mendekati atau bahkan telah mencapai pulpa sehingga terjadi peradangan pada pulpa dan biasanya terasa sakit secara tiba-tiba tanpa rangsangan apapun (Kidd dkk, 2002).

Menurut Heyman (2018) secara histopatologi karies dentin terbagi atas 5 zona, yaitu :

a. Zona Normal Dentin

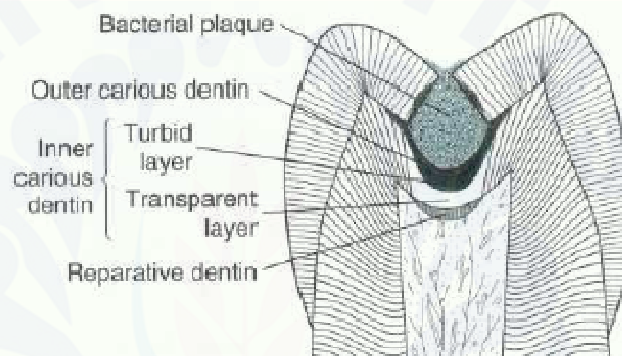
Zona ini merupakan area terdalam dan memiliki tubulus dengan prosesus odontoblas dan tidak terdapat kristal di dalam lumennya. Tidak ada bakteri di dalam tubulus. Struktur organik berupa serat kolagen pada zona ini juga bebas dari kerusakan akibat bakteri (Herijulianti dan Nurjannah, 2011). Stimulasi pada dentin menghasilkan sakit yang tajam.

b. Zona Subtransparan Dentin

Zona ini merupakan zona demineralisasi yang terjadi pada intertubulus dentin. Zona ini juga merupakan zona awal terbentuknya kristal yang sangat halus di dalam lumen tubulus dentin. Proses kerusakan prosesus odontoblas jelas dan masih belum ditemukan adanya bakteri. Demineralisasi ini hanya terjadi pada daerah ujung intertubulus dentin yang berdekatan dengan zona transparan dentin (Fejerskov, 2008).

c. Zona Transparan Dentin

Kondisi dentin pada zona ini menjadi lebih lunak dari dentin normal. Hal ini menunjukkan bahwa hilangnya mineral yang terdapat di dalam intertubulus dentin dan zona ini juga tidak terdapat bakteri. Ikatan kolagen tetap utuh sehingga mampu remineralisasi intertubular dentin yang mulai rusak sehingga memungkinkan terjadinya *self repair* untuk melindungi pulpa. Lapisan dentin ini terjadi penurunan permeabilitas jaringan sehingga mencegah penetrasi asam dan toksin bakteri (Herijulianti dan Nurjannah, 2011)



Gambar 2.3 Zona karies dentin (Heyman, 2018)

d. Zona Turbid Dentin

Zona ini telah terjadi invasi bakteri yang ditandai oleh pelebaran tubulus dentin yang diisi oleh bakteri. Serat kolagen yang menyusun struktur tubulus dentin mulai terdenaturasi sehingga tidak terjadi *self repair* pada fase ini. Tubulus dentin pada zona ini telah terdorong oleh pengumpulan bakteri dan jaringan nekrotik membentuk *liquifaction foci* (tampak memisahkan tubuli-tubuli dentin) (Fejerskov, 2008)

e. Zona Infected Dentin (Outer Carious Dentin)

Zona ini merupakan lapisan terluar. Terdiri dari permukaan dentin yang penuh bakteri. Tidak adanya mineral dan kolagen yang menyusun dentin. Zona ini sudah terjadi nekrosis dimana dentin sudah dihancurkan oleh bakteri (Fejerskov, 2008).



## 2.5 Proses Karies Terhadap Pelebaran Intertubulus Dentin

Karies dentin ditandai dengan adanya dua lapisan yaitu dentin yang terinfeksi karies dan yang terdampak karies (Heyman, 2018). Dentin yang terdampak karies adalah lapisan dalam dari jaringan karies yang mengandung fibril kolagen yang diyakini mempertahankan konformasi *triple heliks* dan ikatan silang antar molekul (Bedran, dkk. 2013). Lapisan karies dentin ini menunjukkan derajat demineralisasi yang berbeda. Sifat biomekanis dentin yang terinfeksi karies lebih rendah bila dibandingkan dengan dentin yang sehat. Penurunan kekerasan dan modulus elastisitas dari dentin dikaitkan dengan kandungan mineral dentin. Dentin yang terinfeksi karies, sebagian besar mengalami demineralisasi dan fibril kolagen sebagian besar mengalami denaturasi (Heyman, 2018). Denaturasi yang terjadi pada struktur kolagen dentin gigi merupakan perubahan struktur molekul dari kolagen akibat pemecahan ikatan hidrogen yang disebabkan oleh proses karies (Dorland, 2009).

Denaturasi protein adalah proses perubahan struktur lengkap dan karakteristik bentuk protein akibat dari gangguan interaksi sekunder, tersier dan kuaterner struktural (Bedran dkk, 2013). Karena fungsi biokimia protein terganggu pada bentuk tiga dimensinya atau susunan senyawa yang terdapat pada asam amino. Hasil denaturasi adalah hilangnya aktivitas biokimia yang terjadi didalam senyawa protein itu sendiri. (Stoker, 2010). Ciri-ciri suatu protein yang mengalami denaturasi bisa dilihat dari berbagai hal. Salah satunya adalah dari perubahan struktur fisiknya. Protein yang denaturasi biasanya mengalami pembukaan lipatan pada bagian tertentu (Frederick, dkk. 2010). Menurut Nasution dkk (2013) proses hidrolisis dapat menyebabkan kerusakan atau denaturasi kolagen pada dentin sehingga dapat menurunkan kekerasan permukaan dan memperlebar jarak dentin intertubuler.

## 2.6 Chemo-Mechanical Caries Removal (CMCR) atau Preparasi Kimia-Mekanis

Era perkembangan sains, teknik yang lebih baik dalam membersihkan karies menggunakan agen kemomekanis. Menurut Beeley dkk (2000) preparasi

kimia-mekanis adalah tindakan pembuangan jaringan karies gigi dengan cara melunakkan jaringan menggunakan bahan kimia. Menurut Kidd (2002) penggunaan bahan kimia dimulai sejak tahun 1975, dengan menggunakan bahan sodium hipoklorit 5%. Penggunaan sodium hipoklorit ditinggalkan karena bersifat toksik terhadap jaringan sehat. Goldman, dkk mencoba meminimalkan masalah ini dengan memperkenalkan GK-101 untuk membersihkan karies pada tahun 1976. Bahan ini disetujui oleh FDA untuk digunakan di AS pada tahun 1984 dan dipasarkan pada tahun 1985 dengan nama Caridex system (Ganesh dan Parikh, 2011). Caridex memiliki beberapa keterbatasan seperti waktu kerja lama, waktu ketahanan pendek dan membutuhkan jumlah banyak dengan pompa khusus. Rolf Bornstein, dkk pada pertengahan tahun 1990-an memperkenalkan Carisolv sebagai penerus Caridex. Carisolv memiliki kekurangan yaitu membutuhkan instrumen khusus yang meningkatkan harga bahan tersebut (Beeley dkk, 2000).



Gambar 2.4 Preparasi karies klas V Black secara kimia-mekanis dengan bahan carisolv yang diaplikasikan dengan instrumen khusus (Beeley dkk, 2000)

Menurut Bussadori, dkk (2005), pada tahun 2003 penelitian di Brazil berhasil mengembangkan formula CMCR yang baru dengan bahan dasar getah pepaya (papain), dipasarkan dengan nama dagang *Papacarie*<sup>®</sup>. Evaluasi *in vitro* sitotoksitas *Papacarie*<sup>®</sup> menggunakan konsentrasi papain 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% pada kultur fibroblas ditemukan tidak memiliki efek sitotoksik, oleh karena itu *Papacarie*<sup>®</sup> aman digunakan pada pasien anak-anak. *Papacarie*<sup>®</sup> diaplikasikan dalam durasi 30-40 detik namun membutuhkan lebih dari satu kali aplikasi untuk bisa bekerja (Bedran dkk, 2013). Seiring berkembangnya jaman, terdapat modifikasi dari enzim papain yaitu produk Brix 3000 yang menggunakan

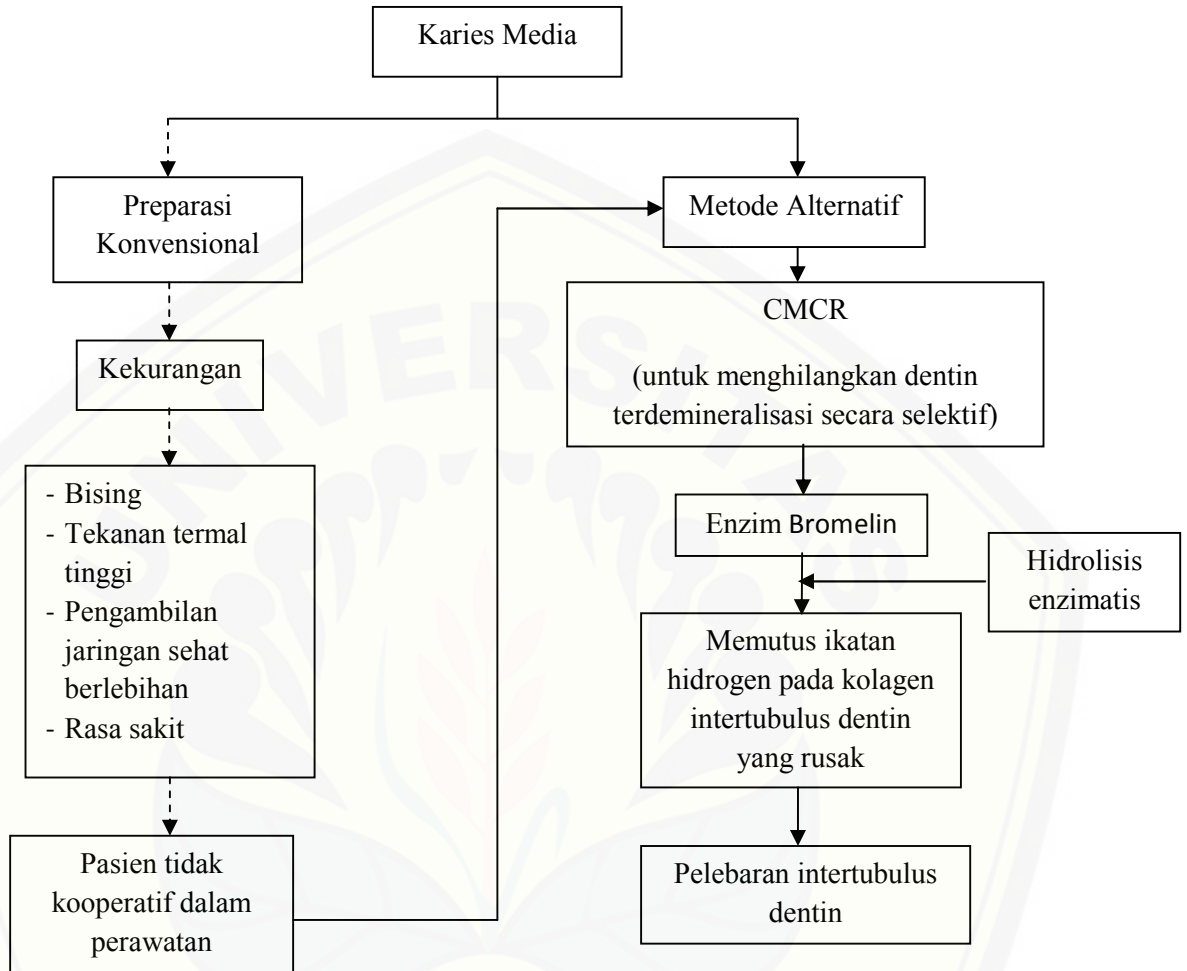
gel enzim papain dengan konsentrasi 10% dalam durasi waktu hanya 2 menit sehingga menutupi kelemahan dari *Papacarie*® (Jawa dkk, 2010).

#### 2.6.1 Mekanisme Kerja *Chemo-Mechanical Caries Removal* (CMCR)

Proses karies gigi dapat menyebabkan demineralisasi gigi sehingga kolagen dan komponen matriks yang lain menjadi lebih rentan terhadap degradasi protein oleh enzim yang dihasilkan bakteri dan enzim hidrolase (Kidd dan Bechal, 2012). Agen CMCR dapat menyebabkan degradasi lebih lanjut terhadap kolagen yang telah terdegradasi sebagian dengan cara pemutusan rantai polipeptida dalam struktur tripel heliks, sehingga kekerasan gigi akan menurun dan secara histologi nampak adanya pelebaran intertubulus dentin (Bedran dkk, 2013). Enzim proteolitik hanya bertindak atas kerusakan jaringan karena tidak adanya protease *anti-plasmatik*, *alpha-1-antitrypsin*, yang menghambat aksi proteolitiknya dalam jaringan dianggap normal. Tidak adanya *alpha-1-antitrypsin* di jaringan yang telah mengalami kerusakan memungkinkan enzim proteolitik untuk memecahkan molekul yang terdegradasi sebagian (Ganesh dan Parikh, 2011).

Prosedur CMCR dilakukan dengan mengaplikasikan gel bahan CMCR pada karies gigi dengan menggunakan instrumen tangan dan ditunggu dalam durasi waktu tertentu dan bergantung pada tiap bahan yang digunakan dengan jumlah gel CMCR sebanyak 0,2 – 0,1 ml (Jawa dkk, 2010). Bahan *Papacarie*® diaplikasikan dalam durasi 30-40 detik namun membutuhkan lebih dari satu kali aplikasi untuk bisa bekerja (Bedran dkk, 2013). Sedangkan untuk bahan Brix 3000 hanya membutuhkan total waktu 2 menit. Setelah diaplikasikan bahan CMCR, kavitas dibersihkan dengan ekskavator manual tanpa melakukan tekanan untuk mengangkat jaringan karies sehingga hanya meninggalkan jaringan gigi yang sehat (Ganesh dan Parikh, 2011).

2.7 Kerangka Konsep



Keterangan :

----- : tidak diteliti

————— : diteliti

## 2.8 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah aplikasi ekstrak enzim bromelin berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 12% selama 2 menit dapat menyebabkan adanya pelebaran intertubulus dentin yang lebih tinggi dibandingkan aplikasi ekstrak enzim bromelin berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 10% dan 8% selama 2 menit.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris, karena perlakuan terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoadmodjo, 2012).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi setelah perlakuan diberikan (Notoadmodjo, 2012).

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.3.1 Tempat Penelitian

Tempat pelaksanaan identifikasi tanaman nanas di Kebun Raya Purwodadi–Pasuruan, tempat pembuatan ekstrak enzim bromelin tanaman nanas dan sediaan gel di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, tempat pemotongan sampel gigi di Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan tempat penelitian lebar intertubulus dentin di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### 3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan oktober-november 2018.

### 3.4 Identifikasi Variabel

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak enzim bromelin tanaman nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12%.

### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah lebar intetubulus dentin.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

- a. Prosedur penelitian
- b. Tingkat ketelitian alat
- c. Waktu aplikasi ekstrak enzim bromelin berbasis sediaan gel
- d. Sampel gigi premolar pertama rahang atas

## 3.5 Definisi Operasional

### 3.5.1 Ekstrak enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel

Ekstrak enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel adalah bahan yang dibuat dari daging dan bonggol buah nanas dari daerah kabupaten blitar dengan menggunakan metode Lowry dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12% dalam bentuk gel.

### 3.5.2 Pelebaran Intertubulus Dentin

Kolagen merupakan komposisi organik terbesar pada struktur dentin gigi terutama pada bagian intertubular dentin sehingga intertubulus dentin pada pengamatan histologi berwarna biru/ungu dengan pewarnaan *Mallory / Masson's Trichrome* yang diamati di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 1000x. Pengukuran pelebaran intertubulus dentin menggunakan perangkat lunak *Optilab<sup>R</sup> Image Raster 3.0* dengan ukuran normal  $\leq 2\mu\text{m}$  yang diukur antar 2 dinding tubulus dentin. Pengamatan ini dilakukan oleh 3 orang pengamat secara bersamaan dalam 1 lapang pandang.

### 3.6 Sampel Penelitian

#### 3.6.1 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Gigi premolar pertama rahang atas yang utuh.
- b. Permukaan gigi premolar pertama rahang atas tanpa karies.
- c. Tidak terdapat anomali.
- d. Tidak terdapat kotoran atau karang gigi pada permukaan gigi premolar pertama rahang atas.

#### 3.6.2 Kriteria Buah Nanas

Buah nanas yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Buah nanas diambil dari daerah blitar / varietas blitar
- b. Buah nanas sudah matang pohon dan memiliki aroma manis
- c. Buah nanas yang diambil untuk penelitian adalah daging buah dan bonggol buah nanas.
- d. Buah nanas keras (tidak lunak bila ditekan sedikit dengan jari)
- e. Buah nanas bersih dan kering
- f. Mata dipermukaan buah nanas telah tumbuh penuh (menumpul dan melebar)

#### 3.6.3 Besar Sampel

Untuk menentukan besar sampel pada penelitian ini berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n = \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

$n$  = Besar sampel tiap kelompok

$Z$  = Nilai  $Z$  pada tingkat kesalahan tertentu ( $\alpha$ ); jika  $\alpha = 0.05$ , maka nilai

$Z = 1.96$  (*2-tailed*) dan  $Z = 1.64$  (*1-tailed*)

$\sigma$  = standart deviasi (SD) penelitian sejenis (0.05)

$d$  = kesalahan yang masih ditoleransi (5%)

(Daniel, 2005).



Hasil perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{1.96^2(0.05)^2}{0.05^2}$$

$$n = (1.96)^2$$

$$n = 3.84 \approx 4$$

Berdasarkan perhitungan besar sampel didapatkan besar sampel minimal adalah 4 sampel. Penelitian ini menggunakan 4 sampel setiap kelompok dengan jumlah kelompok perlakuan ada 4 kelompok sehingga total menggunakan 16 preparat.

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

##### A. Alat untuk pembuatan gel ekstrak enzim bromelin

- 1) Sentrifugator *Hettich*© *Mikro 22R*
- 2) Lemari pendingin
- 3) Gelas kimia *Pyrex*©
- 4) Pisau
- 5) Panci dan Kompor
- 6) Neraca digital *Pioneer*© *PA323, USA*
- 7) Blender
- 8) *Stopwatch*
- 9) *Syringe* 3cc dan *syringe* 10cc
- 10) *thermometer*
- 11) *Erlenmeyer*
- 12) Spidol, isolasi, kertas label dan pot obat

##### B. Alat untuk perlakuan sampel gigi

- 1) *Safeside separating disk*
- 2) *Handpiece low speed*
- 3) Ekskavator kecil
- 4) Bur diamon silindris

5) Pinset

C. Alat untuk pembuatan dan pewarnaan preparat histologi

1) Rak slide

2) Gelas ukur

3) *Water tap*

4) Mikrotom (*Leica RM 2135*)

5) *Block holder* mikrotom

6) *Waterbath* (*Memmert, Jepang*)

7) *Slide warmer* (*Sakura, Jepang*)

8) *Oven* (*Memmert, Jepang*)

9) *Staining rak*

10) *Staining jar*

11) Kuas kecil

12) Mikroskop binokuler model CX21LEDFS1

13) Gelas objek (*Thermo scientific*)

14) Gelas penutup

15) Sarung tangan dan masker

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Daging buah dan bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) matang dari kabupaten Blitar
- b. Gigi premolar pertama rahang atas
- c. NaOH 0,1 N
- d. Buffer fosfat pH 7
- e. Etanol 80%
- f. HPMC
- g. Metil paraben
- h. Gliserin
- i. Asam nitrat 10%
- j. Buffer formalin 10%

- k. Parafin
- l. Xylol
- m. Alkohol 70%, 80%, 95%, 97% dan 100%
- n. Larutan Mallory I berisi *acid fuchsin*
- o. Larutan Mallory II berisi *phosphomolybdic acid*
- p. Larutan Mallory III berisi *aniline blue, orange G, oxalic acid*
- q. *Aquades Steril*
- r. Spirtus

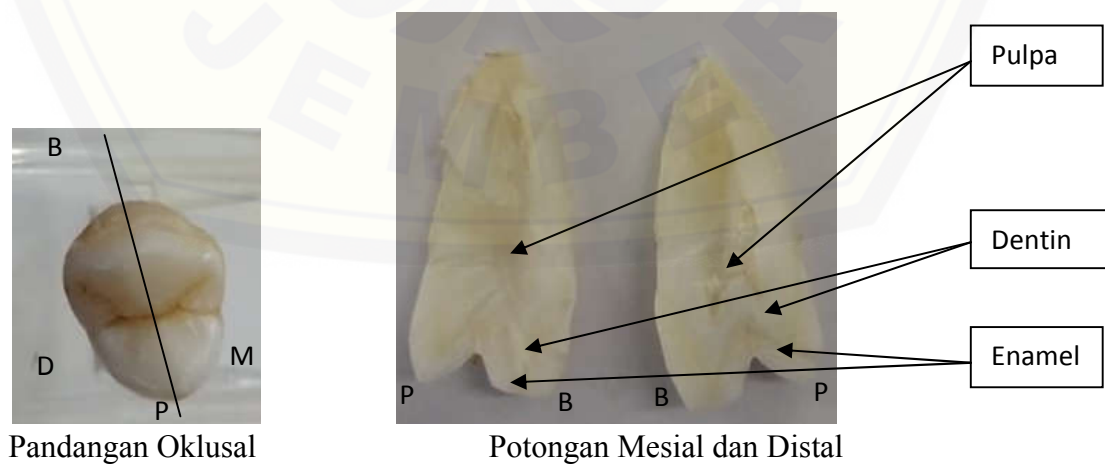
### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Tahap Persiapan

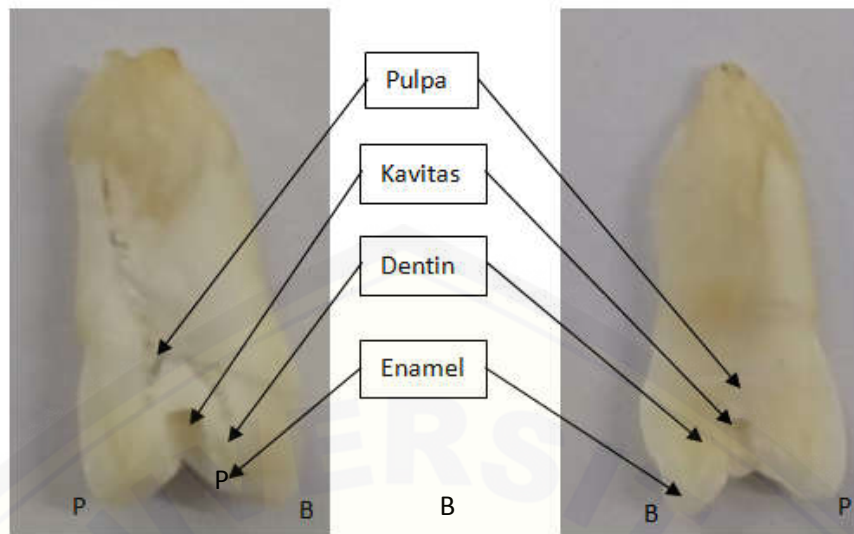
##### a. Tahap Persiapan Sampel

Elemen yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 8 buah gigi premolar pertama rahang atas. Gigi premolar pertama rahang atas yang memenuhi kriteria sampel dibersihkan dan dibilas dengan *aquades* dan dikeringkan.

Setiap elemen dilakukan preparasi kavitas dengan menggunakan bur silindris sedalam 2,5 mm (setengah dentin) pada *fissure central* dan lebar 2 mm untuk mengondisikan seperti karies media. Sampel gigi yang telah dipreparasi kemudian dipotong melalui lesi pada bidang longitudinal hingga memisahkan bidang mesial dan distal menggunakan *safeside separating disk* (gambar 3.1 dan gambar 3.2).



Gambar 3.1 Pemotongan gigi secara longitudinal



Gambar 3.2 Preparasi kavitas pada dentin

Penelitian ini menggunakan 8 buah gigi premolar pertama rahang atas yang kemudian dipotong menjadi 2 bagian secara longitudinal sehingga terdapat 16 potong sampel gigi premolar pertama rahang atas. Tiap sampel disertakan kode penomoran sampel dengan rincian sebagai berikut :

1. Kelompok K, merupakan kelompok kontrol yang menggunakan 4 potong sampel gigi premolar pertama rahang atas tanpa diaplikasikan ekstrak enzim bromelin.
2. Kelompok P8, merupakan kelompok perlakuan yang diaplikasikan ekstrak enzim bromelin buah nanas berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8% yang menggunakan 4 potong sampel gigi premolar pertama rahang atas.
3. Kelompok P10, merupakan kelompok perlakuan yang diaplikasikan ekstrak enzim bromelin buah nanas berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 10% yang menggunakan 4 potong sampel gigi premolar pertama rahang atas.
4. Kelompok P12, merupakan kelompok perlakuan yang diaplikasikan ekstrak enzim bromelin buah nanas berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 12% yang menggunakan 4 potong sampel gigi premolar pertama rahang atas.

b. Tahap Isolasi Ekstrak Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Pembuatan ekstrak enzim berdasarkan modifikasi metode Lowry tahun 2004. Buah nanas yang sesuai kriteria dikupas kulitnya dan dicuci bersih. Setelah itu dipotong-potong dan diblender tanpa penambahan air. 60 ml buah nanas yang sudah halus dihomogenisasi dengan bufer fosfat pH 7 60 ml sedikit demi sedikit dengan menggunakan blender lagi. Larutan yang diperoleh disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 15°C. Selanjutnya supernatan dipisahkan dari endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim bromelin.

c. Tahap Pemurnian Ekstrak Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Menurut Sebayang (2006) pemurnian enzim bromelin dilakukan dengan mempresipitasi ekstrak kasar enzim menggunakan etanol 80% dengan perbandingan ekstrak kasar enzim bromelin : etanol adalah 1:4 dan didiamkan semalam pada temperatur  $\pm 6^{\circ}\text{C}$ . Campuran disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 13.000 rpm pada temperatur 4°C. Pelet (endapan) kemudian dilarutkan buffer fosfat pH 7.

d. Tahap Pengenceran Ekstrak Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) yang sudah dilakukan pemurnian diencerkan menjadi 3 konsentrasi (8%, 10% dan 12%) menggunakan rumus (Purba, 2007):

$$M1.V1 = M2.V2$$

Keterangan :

M1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume awal

M2 = konsentrasi akhir

V2 = Volume akhir

- e. Tahap Pembuatan Basis Gel Ekstrak Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Cara pembuatan gel dengan menggunakan basis gel HPMC. 7 gram HPMC didispersikan ke dalam 30 ml *aquades* pada suhu 80°C (direbus di dalam panci dengan menggunakan kompor listrik) hingga mengembang dan diaduk sampai terbentuk basis gel. Metil paraben 0,2 gram dilarutkan pada *aquades* dan dipanaskan di dalam panci hingga larut, kemudian ditambahkan pada basis gel HPMC. Ekstrak enzim bromelin sebesar 10 ml dibasakan terlebih dahulu dengan NaOH 2 ml kemudian ditambahkan ke dalam gliserin sebesar 15 gram. Campuran ekstrak dan gliserin kemudian ditambahkan ke dalam basis gel dan diaduk hingga homogen. Sisa *aquades* ditambahkan sampai berat gel menjadi 100 gram. Sediaan gel yang didapat disimpan pada wadah yang tertutup rapat.

### 3.8.2 Tahap Perlakuan Sampel

- a. Kelompok K

1. Mempersiapkan sampel Ka, Kb, Kc, dan Kd.
2. Sampel yang telah dipreparasi kavitas dan dipotong secara longitudinal, diirigasi dengan *aquades* pada seluruh dinding kavitasnya selama 2 menit dengan menggunakan *syringe* sebanyak 0,2 ml.
3. Setelah 2 menit, kavitas diekskavasi manual dengan ekskavator kecil tanpa tekanan.
4. *Aquades* pada kavitas dibersihkan dengan cotton pellet

- b. Kelompok P8

1. Mempersiapkan sampel P8a, P8b, P8c dan P8d.
2. Sampel yang telah dipreparasi kavitas dan dipotong secara longitudinal, diaplikasikan gel ekstrak enzim bromelin 8% pada seluruh dinding kavitasnya selama 2 menit dengan menggunakan *syringe* sebanyak 0,2 ml.
3. Setelah 2 menit, kavitas diekskavasi manual dengan ekskavator kecil tanpa tekanan.
4. Gel ekstrak enzim bromelin pada kavitas dibersihkan dengan cotton pellet dan diirigasi dengan *aquades*.

c. Kelompok P10

1. Mempersiapkan sampel P10a, P10b, P10c dan P10d.
2. Sampel yang telah dipreparasi kavitas dan dipotong secara longitudinal, diaplikasikan gel ekstrak enzim bromelin 10% pada seluruh dinding kavitasnya selama 2 menit dengan menggunakan *syringe* sebanyak 0,2 ml.
3. Setelah 2 menit, kavitas diekskavasi manual dengan ekskavator kecil tanpa tekanan.
4. Gel ekstrak enzim bromelin pada kavitas dibersihkan dengan cotton pellet dan diirigasi dengan *aquades*.

d. Kelompok P12

1. Mempersiapkan sampel P12a, P12b, P12c dan P12d
2. Sampel yang telah dipreparasi kavitas dan dipotong secara longitudinal, diaplikasikan gel ekstrak enzim bromelin 12% pada kavitasnya selama 2 menit dengan menggunakan *syringe* sebanyak 0,2 ml.
3. Setelah 2 menit, kavitas diekskavasi manual dengan ekskavator kecil tanpa tekanan.
4. Gel ekstrak enzim bromelin pada kavitas dibersihkan dengan cotton pellet dan diirigasi dengan *aquades*.

### 3.8.3 Tahap dekalsifikasi

Masing-masing sampel yang telah diberi perlakuan didekalsifikasi dalam 10% asam nitrat selama 5 hari pada suhu kamar (gambar 3.3). Proses dekalsifikasi dianggap selesai ketika jaringan berubah menjadi lunak yang dapat dilihat dengan cara direndam di larutan asam nitrat 10% yang baru dan dilihat apakah terdapat gelembung atau tidak. Jika sudah tidak terdapat gelembung maka sampel dianggap selesai proses dekalsifikasi (Jawa dkk, 2010).



Gambar 3.3 Proses dekalsifikasi sampel dengan asam nitrat 10%

#### 3.8.4 Tahap Pemrosesan Jaringan

Setelah proses dekalsifikasi selesai, maka dilakukan pemrosesan jaringan yang bertujuan untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut :

##### 1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan molekul air dari dalam jaringan dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi (bertingkat). Pengeluaran air atau dehidrasi dilakukan secara bertingkat agar tidak mengganggu struktur jaringan. Dengan cara ini, secara bertahap air dalam jaringan ditarik oleh larutan alkohol (Subowo, 2009).

Tahapan dehidrasi antara lain :

- a. Alkohol 70% : 15 menit
- b. Alkohol 80% : 1 jam
- c. Alkohol 95% : 2 jam
- d. Alkohol 95% : 1 jam
- e. Alkohol absolut : 1 jam
- f. Alkohol absolut : 1 jam
- g. Alkohol absolut : 1 jam



## 2) Penjernihan (*Clearing*)

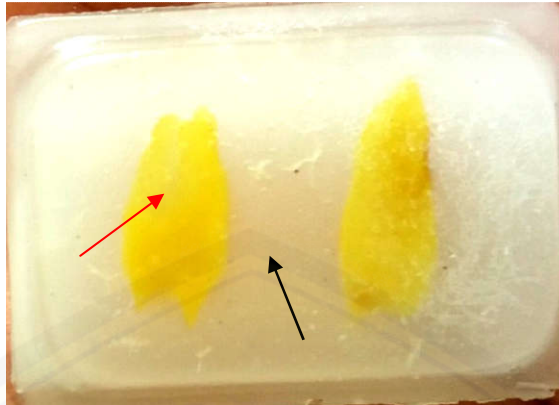
*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan *clearing*. Bahan *clearing* yang sering digunakan adalah xylol karena dapat bercampur dengan alkohol dan media pemendam. Proses *clearing* bertujuan untuk mempermudah proses *embedding* dengan membuang sisa-sisa alkohol dan mampu bercampur dengan media pemendam (Mescher, 2011).

Tahapan *clearing* antara lain:

- a. Xylol : 1 jam
- b. Xylol : 2 jam
- c. Xylol : 2 jam

## 3) Impregnasi

Setelah *clearing* dilanjutkan dengan impregnasi, yaitu proses infiltrasi bahan *embedding* dalam jaringan pada suhu 56°-60° C. Jaringan yang sudah lunak dicuci dengan larutan PBS dan dibungkus dengan *cassete* yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel, kemudian dimasukkan ke dalam parafin dengan titik didih 56°-60°C selama 2 jam yang diulang sebanyak 3 kali. Kemudian diteruskan dengan proses *embedding* yaitu penanaman jaringan ke dalam parafin dengan titik didih 56°-60°C pada alat cetak blok parafin. Tahap pertama adalah alat cetak dipersiapkan dan diletakkan pada permukaan yang rata, parafin cair dituangkan ke dalam alat cetak blok dengan titik didih 56°-60°C, kemudian masukan jaringan yang telah diimpregnasi ke dalamnya dan diberi label identitas sampel. Ditunggu beberapa menit sampai parafin membeku, selanjutnya parafin blok sudah siap untuk dipotong, setelah dilepas dari alat cetak blok dan diletakkan pada balok.



Gambar 3.4 Tahap penanaman (*embedding*) sampel dengan menggunakan parafin dan siap untuk dipotong serial 7  $\mu\text{m}$ . Tanda panah berwarna merah merupakan sampel gigi sedangkan tanda panah berwarna hitam adalah parafin.

#### 4) Pemotongan

Pemotongan blok parafin dilakukan menggunakan mikrotom. Sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi xylol dengan arah tegak lurus. Ketebalan potongan jaringan dengan mikrotom diatur 7  $\mu\text{m}$  dengan arah potong secara longitudinal. Hasil potongan diambil menggunakan kuas kecil lalu diletakkan secara hati-hati diatas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 40°C sampai potongan tampak mengembang. Kemudian sayatan diletakkan pada *slide* preparat. *Slide* preparat yang telah berisi jaringan diletakkan di atas *hot plate* dengan suhu 30°-35°C minimal selama 12 jam. Setelah itu preparat siap untuk dilakukan pewarnaan (Subowo, 2009).

#### 3.8.5 Tahap Pewarnaan Mallory Trichrome

- 1) Slide yang akan diwarnai terlebih dahulu dilakukan dideparafinisasi menggunakan xylol dan alkohol secara bertingkat (97%, 80% dan 70%).
- 2) Slide dimasukkan ke dalam *staining jar* yang berisi larutan Mallory 1 dan ditunggu selama 3 menit (waktu inkubasi tergantung besar kecilnya jaringan).
- 3) Kemudian slide dicuci dengan aquades sebanyak 3 kali selama 30 detik dan buang aquades.
- 4) Slide hasil pewarnaan larutan Mallory I diamati dibawah mikroskop.

- 5) Slide dimasukkan ke dalam *staining jar* yang berisi larutan Mallory II dan ditunggu selama minimal 5 menit (waktu inkubasi tergantung besar kecilnya jaringan).
- 6) Slide hasil pewarnaan larutan Mallory II diamati dibawah mikroskop.
- 7) Setelah itu tanpa melakukan pencucian, slide segera dimasukkan ke dalam *staining jar* yang berisi larutan Mallory III dan ditunggu selama minimal 2 menit (waktu inkubasi tergantung besar kecilnya jaringan).
- 8) Kemudian slide dicuci dengan aquades sebanyak 4 kali selama 30 detik dan buang aquades.
- 9) Slide hasil pewarnaan Mallory III diamati di bawah mikroskop.
- 10) Slide didehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 97% masing-masing selama 3 menit.
- 11) Proses *clearing* jaringan dengan cara direndam ke dalam xylol sebanyak 3 kali dalam wadah yang berbeda-beda masing-masing selama 3 menit. Proses *mounting* menggunakan Entelen dan ditutup dengan gelas penutup

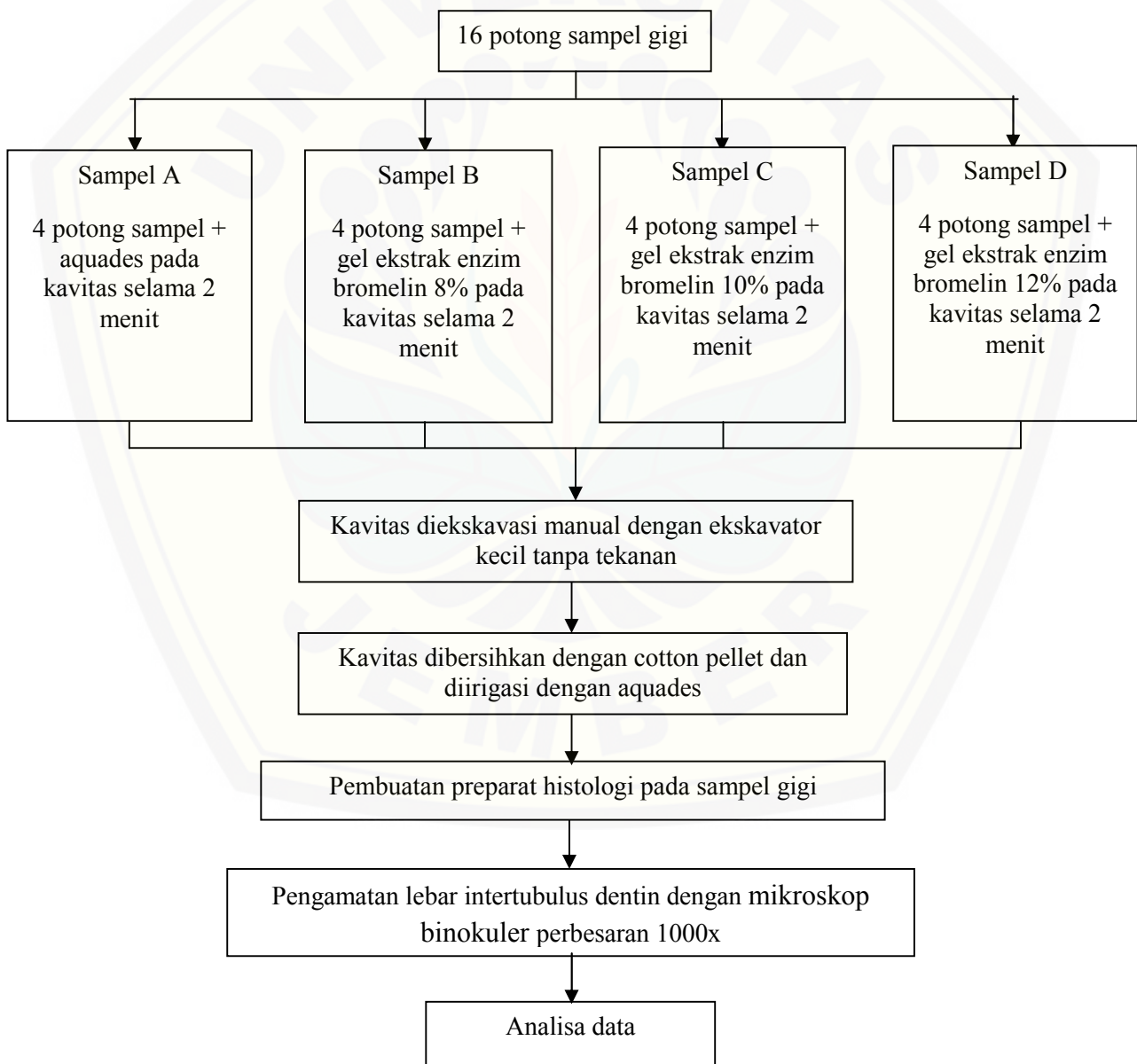
#### 3.8.6 Tahap Pengukuran Lebar Intertubulus Dentin

Pengukuran lebar intertubulus dentin dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengukuran dilakukan pada jarak intertubulus dentin yang paling lebar pada daerah sekitar dasar kavitas yang menghadap dinding pulpa tanpa ada penetrasi ke bagian dentin yang lebih dalam dengan menggunakan mikroskop binokuler perbesaran 1000 kali. Pengukuran pelebaran intertubulus dentin dilakukan oleh 3 pengamat secara bersamaan dalam 1 lapang pandang dengan menggunakan penggaris  $\mu\text{m}$  pada perangkat lunak Optilab<sup>R</sup> ImageRaster 3.0 sebanyak 10 lapang pandang pada masing-masing sampel penelitian. Setiap lapang pandang diambil 3 ukuran terlebar dan hasil pengukuran tiap lapang pandang tersebut kemudian dijumlahkan dan dirata-rata besar pelebaran tiap sampel.

### 3.9 Analisis Data

Pengamatan lebar intertubulus dentin gigi harus diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Selanjutnya dianalisis dengan uji beda dengan One Way Anova selanjutnya jika terdapat perbedaan, dilakukan analisis LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha < 0,05$ ).

### 3.10 Alur Penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) berbasis sediaan gel dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12% selama 2 menit berpengaruh terhadap lebar intertubulus dentin dengan konsentrasi paling efektif yaitu 10%.

### 5.2 Saran

Dalam penelitian ini saran yang dapat diambil adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh enzim bromelin pada bagian tanaman nanas yang lainnya selain enzim bromelin dari pencampuran daging dan bonggol nanas.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan sampel gigi karies.
3. Perlu dilakukan penelitian terhadap konsentrasi dan durasi aplikasi enzim bromelin yang lebih bervariasi.
4. Perlu dilakukan uji aktivitas spesifik enzim bromelin dan uji sitotoksitas enzim bromelin
5. Perlu uji klinis gel enzim bromelin pada gigi karies

**DAFTAR PUSTAKA**

- Alhana, P.S., K. Tarman. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma (*Sti-chopus variegatus*). *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2): 150-161.
- Avery, J.K., Chiego, D.J. 2006. *Essentials of Oral Histology and Embryology. A Clinical Aproach 3<sup>th</sup> Ed.* By Mosby, Inc. Hal. 177-183
- Bedran, R., Ana, K., Sachin, K., Viana, G. 2013. Site Spesific Properties of Carious Dentin Matrices Biomodified with Collagen Cross-Linkers. *Am J Dent*. Vol. 26 (5) : 244–248.
- Beeley, J.A., Yip, H.K., Stevenson, A.G. Chemochemical caries removal: A Review of the techniques and latest developments. *British Dental Journal*. 2000; 188:427-30.
- Brown, J.P., Dodds, M.W.J. 2008. *DentalCaries and Associated Risk Factors dalam Capeelli, D.P dan Mobley, C.C, (ed) Prevention in Clinical Oral Health Care.* Philadelphia: 45-55
- Bussadori, S.K., Castro, L.C., Galvao, A.C. 2005. Papain Gel: A New Chemo-Mechanical Caries Removal Agent. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. Vol. 30 (2): 115-120.
- Chemiawan, E. 2004. *Perbedaan Prevalensi Karies pada Anak Sekolah Dasar dengan Program UKGS dan Tanpa UKGS.* Laporan Penelitian. Bandung: Universitas Bandung : 2-5
- Daniel, W.R. 2005. *Pharmacotherapy : A Pathophysiological Approach 3rd Ed.* London : Black Well Scientific Publication : 1755-1760
- Depkes RI. 2005. *Piranti Lunak NutriClin versi 2.0 edisi kedua.* Jakarta : Subdit Gizi Klinis, Departemen Kesehatan Indonesia
- Depkes RI. 2018. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional 2018.* Jakarta : Kementrian Kesehatan RI

- Dorland, W.A.N. 2009. *Dorland's Pocket Medical Dictionary, 28<sup>th</sup> Ed.* Singapore: Elsevier Pte Ltd. Terjemahan A. Agung Mahode. 2011. *Kamus Saku Kedokteran Dorland, Edisi 28.* Jakarta : EGC.
- Fawzy, I.A., Ahmad, F., Nyoman, H. 2012. Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Terhadap Sel Hepar Tikus Betina Galur Sprague Dawley Terinduksi 7, 12-Dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. *Artikel Penelitian.* Vol. 3 (1).
- Fejerskov. 2008. *Dental Caries the Disease and Its Clinical Management.* UK: Blackwell Munksgaard.
- Frederick, A., William, H., Brown. 2010. *Introduction to general, organic, and biochemistry.* Kanada : Nelson Education Ltd
- Gadi, D.S., Trilaksani., Nurhayati. 2017. Histologi, Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Gelembung Renang Ikan Cunang Muarenesox talabon. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis.* Vol. 9 No.2
- Ganesh,M ., D. Parikh. 2011. Chemomechanical Caries Removal (CMCR) Agents : Review and Clinical Application in Primary Teeth. *Journal of Dentistry and Oral Hygiene.* Vol. 3(3) : 34-45.
- Halkerston, I.D.K. 2012. *Sinopsis Biokimia Jilid Satu.* Tangerang Selatan : Binarupa Aksara Publisher.
- Haryanto, E. 2007. *Nanas.* Jakarta : Penebar Swadaya
- Herdyastuti, N. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang Nanas (*Ananas comusus L.merr*). *Berk Penel Hayati.* Vol. 12: 75–77.
- Herjulianti, E.P., Nurjannah, N. 2011. *Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi.* Jakarta : EGC.
- Heyman, H.O. 2018. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry. 5<sup>th</sup> Ed.* St. Louis : Mosby Inc.
- Jawa, D., Singh, S., Somani, R., Jaidka, S., Sirkar, K., Jaidka, R. 2010. Comparative Evaluation of the Efficacy of Chemomechanical Caries

- Removal Agent (Papacarie) and Conventional Method of Caries Removal: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*; 28:73-77.
- Jonsson, A., Vidarsson, J.R. 2016. *By products from whitefish processing*. Skyrsla Matis. USA. Hal. 36
- Kartika, I.W.D., Trilaksani, W. 2016. Karakterisasi kolagen dari limbah gelembung renang ikan cunang hasil ekstraksi asam dan hidrotermal. *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. 19(3) : 222-232.
- Katilli, A.S. 2009. Struktur dan fungsi protein kolagen. *J. Pelangi Ilmu*. Vol. 2 (5): 10-29.
- Kidd, B.G.N., Smith, H.M.P. 2002. *Manual Konservasi Restorasi Menurut Pickard*. Jakarta: EGC.
- Kidd, E.A.M., Bechal, S.J. 2012. *Dasar-dasar Karies – Penyakit dan Penanggulangan*. Jakarta : EGC
- Kołodziejska, I. 2007. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. *The Journal of Food Chemistry*. Vol. 107 :700-706.
- Lehninger, A. 2008. *Dasar-Dasar Biokomia*. Jakarta : Erlangga
- Liu, D., Zhang, X., Li, T., Yang, H., Zhang, H., Regenstein, J.M., Zhou, P. 2015. Extraction and characterization of acid and pepsin soluble collagens from the scales, skins and swim bladders of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *J. Food Bioscience*. Vol. 9 : 68-74.
- Mescher, A.L. 2011. *Histologi Dasar : Teks & Atlas Edisi 11*. Alih Bahasa oleh Frans Dhany. Jakarta : EGC
- Miller, J.C. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. England: Pearson Education Harlow. Hal . 18-69
- Nasution, A.I., Gani, B.A., Asbarini, F. 2013. Topografi Dentin Setelah Penyikatan Dengan *Sodium Lauryl Sulfate* Pada Berbagai Durasi Waktu Ditinjau Dengan *Atomic Force Microscopy*. *Cakradonya Dent J*. Vol. 10(1) : 31-37



- Ngili, Y. 2009. *Biokimia metabolisme dan bioenergetika Edisi ke-1*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Notoadmojo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Prahasta, A. 2016. *Agribisnis Nanas*. Bandung : Pustaka Grafika
- Purba, M. 2007. *Kimia*. Surabaya : Erlangga
- Rahmat, D., Ratih, D., Nurhidayati, L., Bathini, M.A. 2016. Peningkatan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan Pembentukan Nanopartikel. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol. 1 (5): 236
- Said, M.I. 2013. Profil Histologis Serabut Kolagen pada Kulit Kambing Bligon yang Direndam dalam Larutan Asam dan Basa Lemah pada Konsentrasi Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. Vol. 8 (1)
- Samadi , B. 2014. *Panen Untung dari Budidaya Nanas Sistem Organik*. Surabaya : Andi Publisher
- Saparinto, C., Susiana, R. 2016. *Grow Your Own Fruits , Panduan Praktis Menanam 28 Tanaman Buah Populer di Pekarangan*. Yogyakarta: Lily Publisher. Hlm. 232-237
- Saputra, L. 2014. *Pengantar Asuhan Neonatus, Bayi, dan Balita*. Tangerang Selatan : Binarupa Aksara.
- Sebayang, F. 2006. *Pengujian Stabilitas Enzim Bromelin yang Diisolasi dari Bonggol Nanas Serta Imobilisasi Menggunakan Kappa Karagenan*. *Jurnal Sains Kimia*. Vol. 10 (1) : 20-26
- Shoulders, M.D., Raines, R.T. 2009. Collagen structure and stability. *Jurnal Vbiochem*. Vol. 78 : 929-958.
- Sinthusamran, S. 2013. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). *J. Food Chemistry*. Vol. 138:2435-2441.

- Stoker, H.S. 2010. *General, Organic, And Biological Chemistry 5<sup>th</sup> Edition*. Cengage Learning : Belmont, CA USA. Hal. 684
- Subowo. 2009. *Histologi Umum Edisi 2*. Jakarta : CV. Agung Seto.
- Sunarjono, H. 2013. *Berkebun 26 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm. 148-149
- Supartono. 2004. Karakterisasi Enzim Protease Netral dari Buah Nenas Segar. *Jurnal MIPA Universitas Negeri Semarang*. Vol. 27 (2): 134-142.
- Syahrial, A.A., Rahmadi, P., Putri, D.K.T. Perbedaan Kekerasan Permukaan Gigi Akibat Lama Perendaman dengan Jus Jeruk (*Citrus sinensis. Osb*) Secara In Vitro. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. Vol I. No 1. Maret 2016
- Voet, D., Voet, J.G., Pratt, C.W. 2013. *Principles of biochemistry, inter-national student version. 4th ed*. Singapore : John Wiley and Sons, Inc. Hal. 105
- Wang, L., An, X., Yang, F., Xin, Z., Zhao, L., Hu, Q. 2008. Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (*Sebastes mantella*). *J. Food Chemistry*. Vol. 108: 616-623.
- Ward, O.P. 2009. *Protease Production. Appli. Microbial Industrial*. Hal.495-511
- Wongsowijoyo, S. 2015. *Manfaat Tanaman Jambu Biji, Belimbing, Pepaya, Nanas dan Sirsak Bagi Kesehatan*. Yogyakarta : Leutikaprio
- Yasid, E., Nursanti, L. 2005. *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analisis*. Yogyakarta : Penerbit Andi
- Zhang, Z. 2006. Physicochemical Properties of Collagen, Gelatin and Collagen Hydrolysate Derived from Bovine Lined Split Wastes. *Journal of Soc. Leath*. Vol. 96(12)
- Zhou, P., Regenstein, J.M. 2005. Effects of alkaline and acid pre-treatments on Alaska Pollock skin gelatin extraction. *J. of Food Science*. 70(6):392-396.

## LAMPIRAN A. Surat Ijin Penelitian

## A.1 Surat Identifikasi Tanaman Nanas



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 1167 /IPH.06/HM/VIII/2018

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Retno Dewi Alfiyanti  
NIM : 151610101031  
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Tanggal material diterima : 6 Agustus 2018

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Liliopsida  
Subclass : Zingiberidae  
Ordo : Bromeliales  
Family : Bromeliaceae  
Genus : Ananas  
Species : *Ananas comosus* (L.) Merr.

## Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 109
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XV
3. E.W.M.Verheij dan R.E . Coronel. 1992(eds) PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 2; Edible fruits and nuts, Hal.66

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 16 Agustus 2018

M. Kepala  
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Dr. Sugeng Budiharta, M.Sc

## A.2 Surat Ijin Penelitian Bagian Biomedik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 1899 /UN25.8.TL/2018  
Perihal : Pembuatan Ekstrak

21 MAY 2018

Kepada Yth  
Kepala Bagian Biomedik  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin membuat ekstrak bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |  |
|----|-------------------------|--|
| 1  | Nama                    | : Retno Dewi Alfiyanti   |
| 2  | NIM                     | : 151610101031   |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2017/2018  |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                  | : Jl. Mastrip Gg. 3 No. 34 A Jember  |
| 6  | Judul Penelitian        | : Pengaruh Enzim Bromelin Tanaman Nanas (Ananas Comosus) Terhadap Kelarutan Kalsium Gigi Dengan Menggunakan Atomic Absorbtion Spectrophotometry (AAS)                    |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : Atonic Absorbtion Spectrophotometry (AAS)  |
| 9  | Waktu                   | : Mei 2018 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Untuk Menganalisis Pengaruh Enzim Bromelin Tanaman Nanas (Ananas Comosus) Terhadap Kelarutan Kalsium Gigi Dengan Menggunakan Atomic Absorbtion Spectrophotometry (AAS) |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Berlian Prihatiningrum, MDSc, Sp.KGA<br>2. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Wakil Dekan I,  
**Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes**  
NIP. 196109031986022001

## A.3 Surat Ijin Penelitian Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 357/UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

20 SEP 2018

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |   |
|----|-------------------------|---|
| 1  | Nama                    | : Retno Dewi Alfiyanti  |
| 2  | NIM                     | : 151610101031  |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2018/2019   |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                  | : Jl. Mastrip Gg. 3 No. 34 A Jember   |
| 6  | Judul Penelitian        | : Uji Efektivitas Enzim Bromelin Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus L.Merr</i> ) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Kolagen pada Dentin Gigi                |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : <i>Safeside separating disk</i> , micromotor, handpiece low speed   |
| 9  | Waktu                   | : September 2018 s/d Selesai  |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Untuk Menganalisis Efektivitas Enzim Bromelin Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus L.Merr</i> ) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Kolagen pada Dentin Gigi |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc, Sp. KGA<br>2. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA  |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih



an. Dekan  
Wakil Dekan I,

**Dr. drg. IBA Susilawati, M.Kes**  
NIP: 196109031986022001

## A.4 Surat Ijin Penelitian Laboratorium Histologi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 397/UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

20 SEP 2018

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Histologi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |   |
|----|-------------------------|---|
| 1  | Nama                    | : Retno Dewi Alfiyanti  |
| 2  | NIM                     | : 151610101031  |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2018/2019   |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                  | : Jl. Mastrip Gg. 3 No. 34 A Jember   |
| 6  | Judul Penelitian        | : Uji Efektivitas Enzim Bromelin Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus L.Merr</i> ) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Kolagen pada Dentin Gigi                |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : <i>Light microscope</i> , paraffin, Hematoxylin dan Eosin   |
| 9  | Waktu                   | : September 2018 s/d Selesai  |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Untuk Menganalisis Efektivitas Enzim Bromelin Tanaman Nanas ( <i>Ananas comosus L.Merr</i> ) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Kolagen pada Dentin Gigi |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc, Sp. KGA<br>: 2. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA  |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih












Dekan  
Wakil Dekan I,  
  
**Dr. drg. H.A. Susilawati, M.Kes**  
NIP. 196109031986022001

LAMPIRAN B. Alat dan Bahan Penelitian

B.1 Alat Penelitian

 <p>Gelas Kimia</p>	 <p>Erlenmeyer</p>	 <p>Tabung Sentrifugator</p>
 <p>Syringe 10 cc</p>	 <p>Syringe 3 cc</p>	 <p>Sentrifugator</p>
 <p>Pot Obat</p>	 <p>Lemari Pendingin</p>	 <p>Mikroskop Binokuler</p>
 <p>Lab Aid Ultra</p>	 <p>Oven</p>	 <p>Slide Warmer</p>
 <p>Waterbath</p>	 <p>Mikrotom Putar</p>	 <p>Tissue-Tek</p>




B.2 Bahan Penelitian

 <p>Gigi Premolar</p>	 <p>Buah Nanas</p>	 <p><i>Aquades Steril</i></p>
 <p>Gliserin</p>	 <p>HPMC</p>	 <p>Metil Paraben</p>
 <p>Buffer Fosfat pH 7</p>	 <p>Etanol 80%</p>	 <p>Entelan</p>
 <p>Asam Nitrat 10%</p>	 <p>Pewarnaan Mallory</p>	



## LAMPIRAN C. Prosedur Penelitian



## C.1 Tahap Isolasi Ekstrak Enzim Bromelin

Gambar	Keterangan
	Buah nanas di haluskan dengan menggunakan blender
	Buah nanas yang telah halus dihomogenisasi dengan buffer fosfat pH 7 dengan perbandingan 1 : 1
	Terbentuknya supernatan (warna bening) dan endapan. Supernatan merupakan ekstrak kasar enzim bromelin



## C.2 Tahap Pemurnian Ekstrak Enzim Bromelin

Gambar	Keterangan
	Campuran ekstrak kasar enzim bromelin dan etanol di sentrifugasi
	Terbentuknya pelet, yaitu ekstrak enzim bromelin murni

## C.3 Tahap Pengenceran Ekstrak Enzim Bromelin

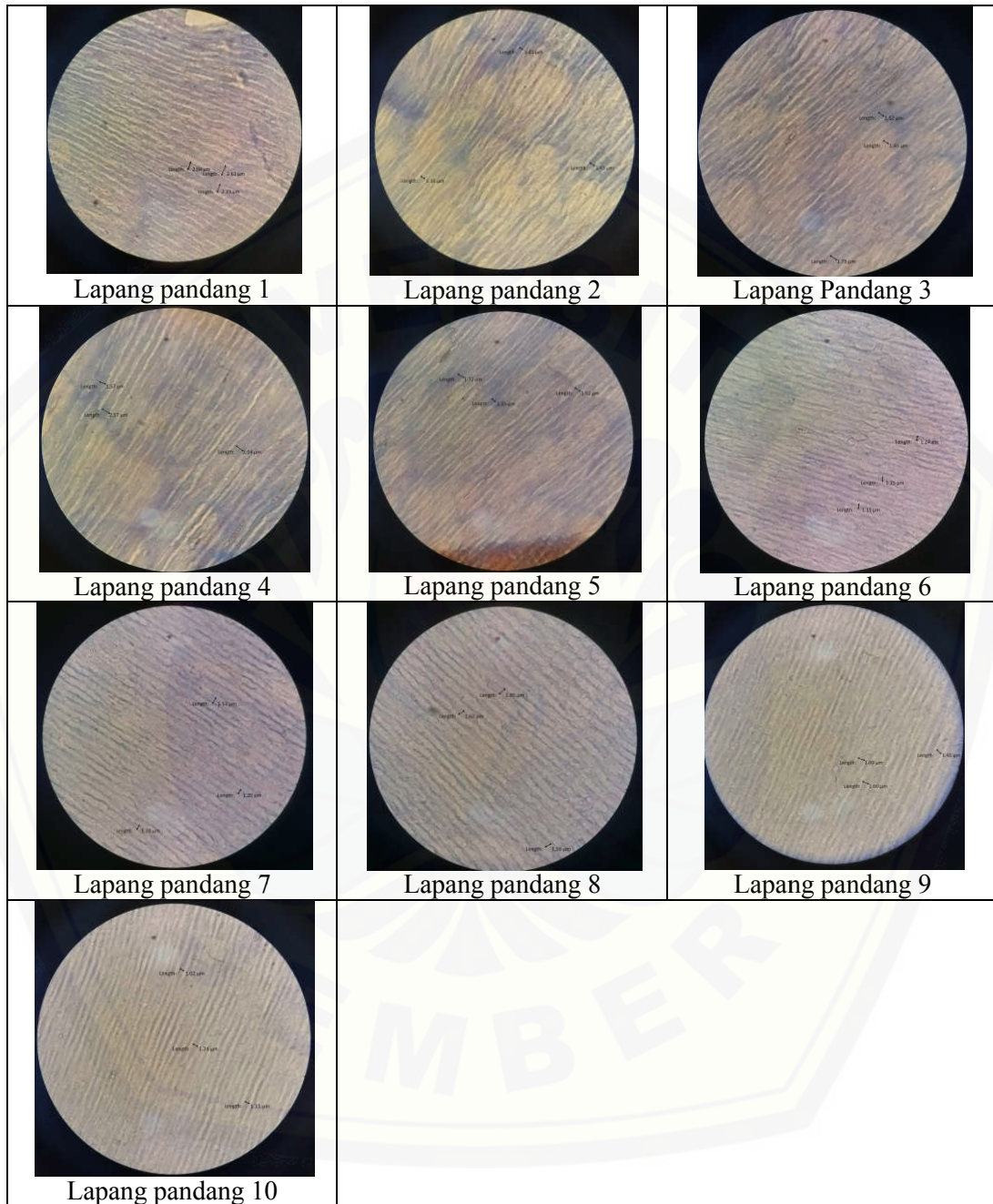
Gambar	Keterangan
	Ekstrak enzim bromelin dengan konsentrasi 100%
	Ekstrak enzim bromelin dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12%

## C.4 Tahap Pembuatan Preparat Histologi

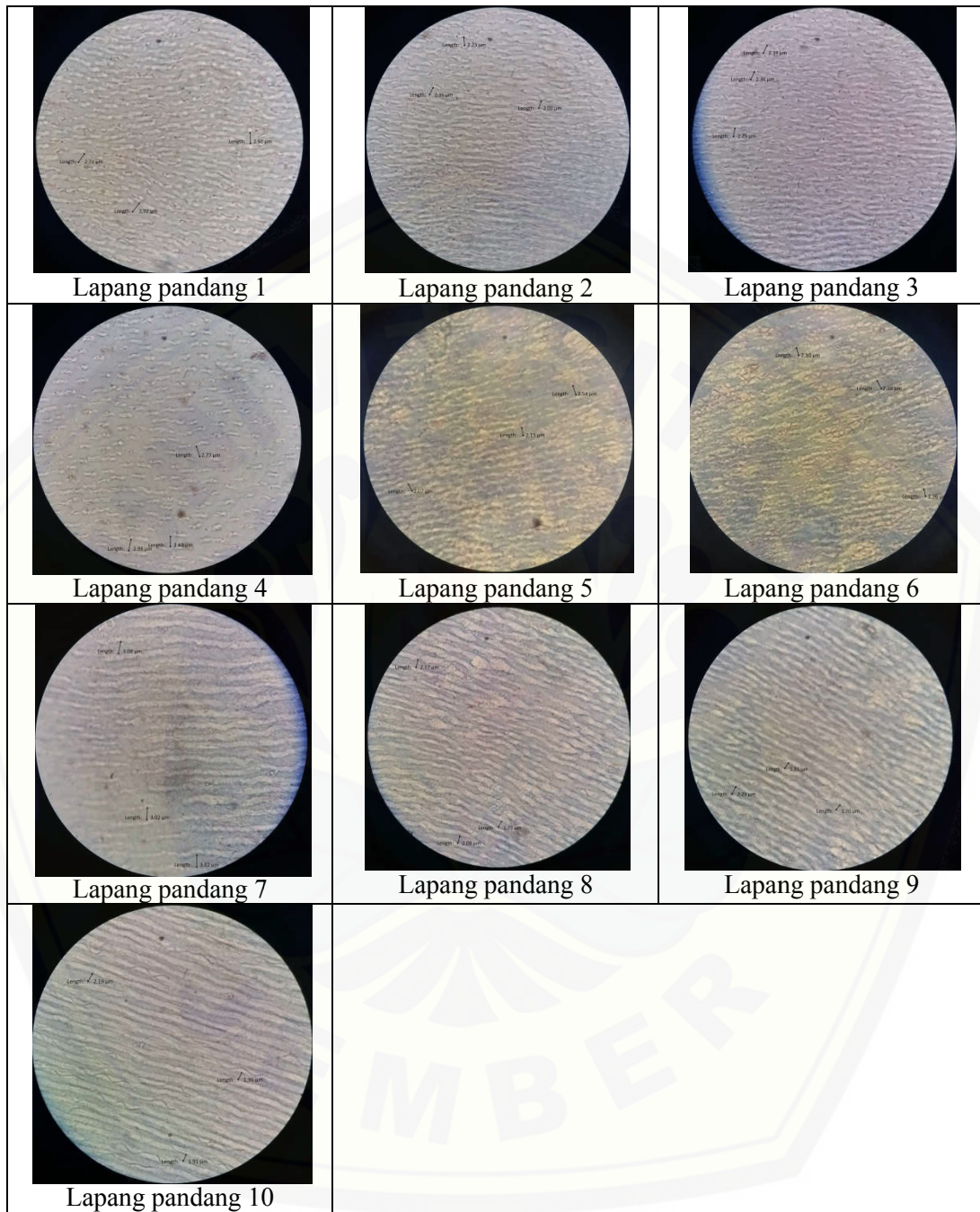
Gambar	Keterangan
	Dekalsifikasi gigi dengan menggunakan asam nitrat 10%
	Penanaman sampel gigi dalam parafin

LAMPIRAN D. Hasil Penelitian

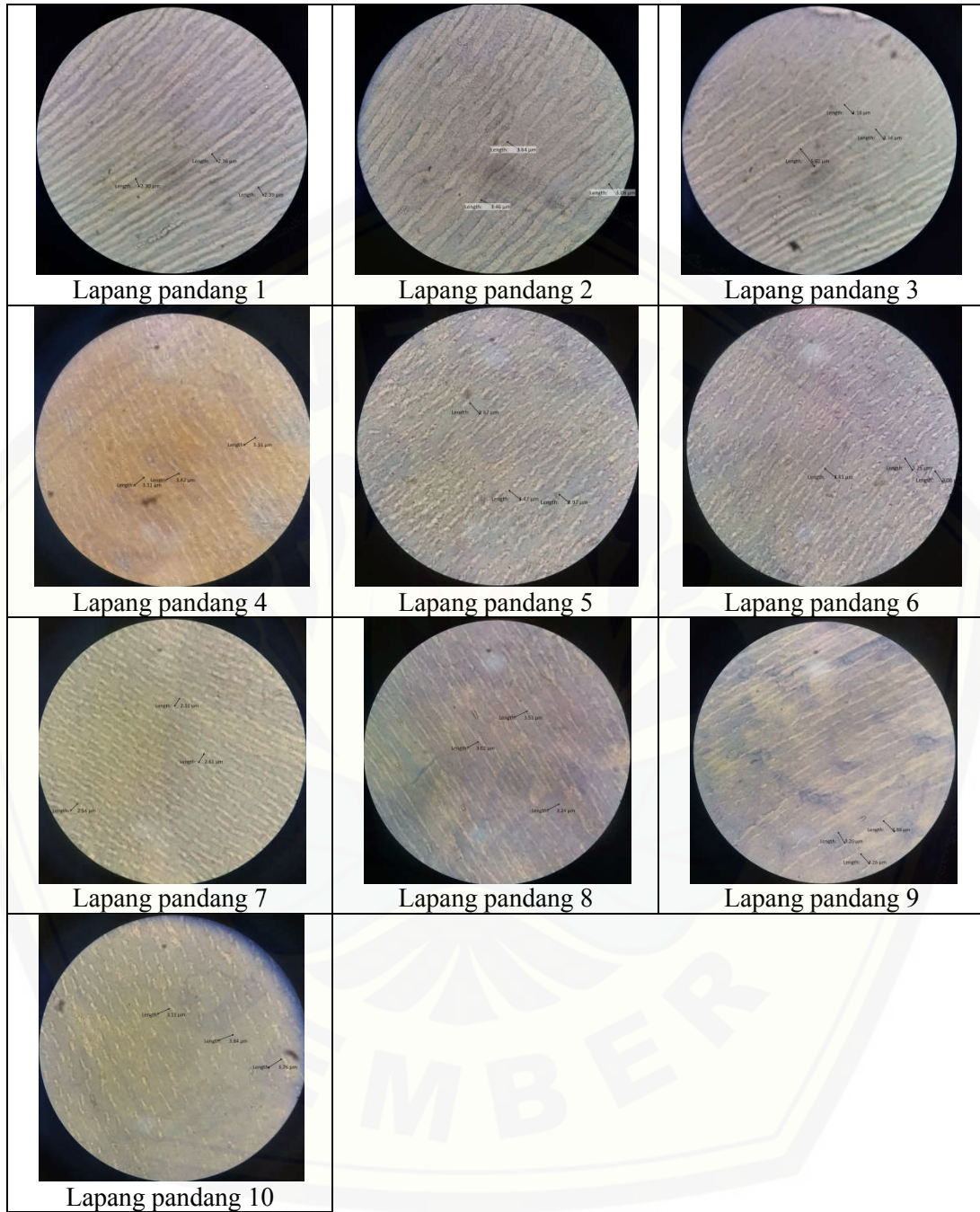
D.1 Kelompok kontrol



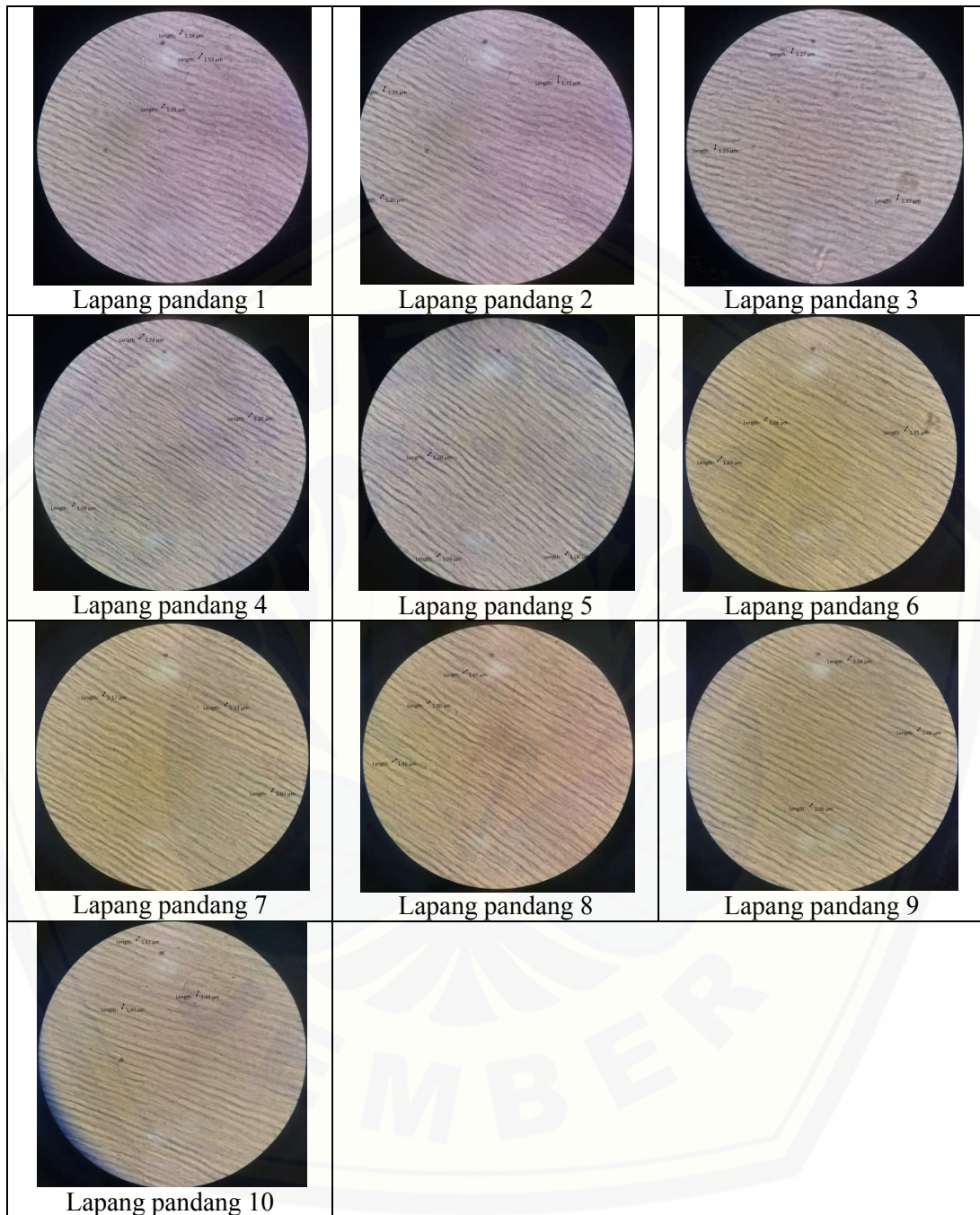
D.2 Kelompok Perlakuan Enzim Bromelin 8%



D.3 Kelompok Perlakuan Enzim Bromelin 10%



D.4 Kelompok Perlakuan Enzim Bromelin 12%



## LAMPIRAN E. Data Perhitungan Lebar Intertubulus Dentin

Kelompok	Lapang Pandang										Jumlah ( $\mu\text{m}$ )	Rata- rata ( $\mu\text{m}$ )
	1 ( $\mu\text{m}$ )	2 ( $\mu\text{m}$ )	3 ( $\mu\text{m}$ )	4 ( $\mu\text{m}$ )	5 ( $\mu\text{m}$ )	6 ( $\mu\text{m}$ )	7 ( $\mu\text{m}$ )	8 ( $\mu\text{m}$ )	9 ( $\mu\text{m}$ )	10 ( $\mu\text{m}$ )		
KA	1,36	1,79	1,56	1,20	1,52	1,78	1,58	1,35	1,43	1,46	15,03	1,503
KB	1,26	1,18	1,26	1,15	1,11	1,14	1,10	1,13	1,22	1,23	11,78	1,178
KC	1,35	1,65	1,56	1,27	1,12	1,34	1,23	1,38	1,35	1,15	13,40	1,340
KD	1,14	1,19	1,09	1,13	1,17	1,20	1,13	1,15	1,20	1,07	11,47	1,147
P8A	2,38	1,53	1,96	1,93	2,56	1,57	2,12	2,31	2,26	2,53	21,15	2,115
P8B	2,25	2,14	2,58	2,50	2,70	2,32	2,58	2,19	2,42	2,36	24,04	2,404
P8C	2,44	2,66	2,36	2,62	2,52	2,60	2,10	1,99	2,02	2,53	23,84	2,384
P8D	2,02	2,26	1,64	1,74	2,44	2,28	1,88	1,55	1,72	1,84	19,37	1,937
P10A	2,35	3,39	4,04	3,41	1,55	1,68	1,52	1,61	3,32	2,23	25,10	2,510
P10B	3,01	2,98	3,17	2,95	3,30	3,35	2,89	2,57	2,69	2,67	29,54	2,954
P10C	2,53	2,48	2,23	2,54	2,45	2,59	2,51	2,24	2,65	2,29	24,51	2,451
P10D	2,86	2,78	2,99	3,06	3,08	3,26	3,24	2,60	2,70	2,88	29,45	2,945
P12A	1,98	1,95	2,01	1,88	2,15	2,12	1,85	1,96	2,04	2,16	20,10	2,010
P12B	2,80	2,45	2,35	1,95	2,45	2,52	1,86	1,77	1,66	1,65	22,95	2,295
P12C	2,38	2,49	2,37	2,60	2,45	2,26	2,43	2,47	2,02	2,45	23,92	2,392
P12D	2,12	2,40	2,14	2,49	2,39	2,09	2,27	2,24	2,35	2,36	22,85	2,285

## LAMPIRAN F. Hasil Uji Statistik

F.1 Hasil Uji Normalitas Data (*Shapiro-Wilk Test*)

## Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
rata	kontrol	.256	4	.	.913	4	.496
	perlakuan 8 persen	.281	4	.	.883	4	.351
	perlakuan 10 persen	.273	4	.	.833	4	.176
	perlakuan 12 persen	.345	4	.	.862	4	.269

a. Lilliefors Significance Correction

F.2 Hasil Uji Homogenitas Data (*Levene Test*)

## Test of Homogeneity of Variances

rata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.376	3	12	.121

F.3 Hasil Uji Beda Seluruh Kelompok Penelitian (*One Way Anova Test*)

## ANOVA

rata					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.254	3	1.418	31.640	.000
Within Groups	.538	12	.045		
Total	4.791	15			



F.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Penelitian (*LSD Test*)**Multiple Comparisons**

rata

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	perlakuan 8 persen	-.91800*	.14969	.000	-1.2441	-.5919
	perlakuan 10 persen	-1.42300*	.14969	.000	-1.7491	-1.0969
	perlakuan 12 persen	-.95350*	.14969	.000	-1.2796	-.6274
perlakuan 8 persen	kontrol	.91800*	.14969	.000	.5919	1.2441
	perlakuan 10 persen	-.50500*	.14969	.006	-.8311	-.1789
	perlakuan 12 persen	-.03550	.14969	.817	-.3616	.2906
perlakuan 10 persen	kontrol	1.42300*	.14969	.000	1.0969	1.7491
	perlakuan 8 persen	.50500*	.14969	.006	.1789	.8311
	perlakuan 12 persen	.46950*	.14969	.009	.1434	.7956
perlakuan 12 persen	kontrol	.95350*	.14969	.000	.6274	1.2796
	perlakuan 8 persen	.03550	.14969	.817	-.2906	.3616
	perlakuan 10 persen	-.46950*	.14969	.009	-.7956	-.1434

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.