



**UJI EFEKTIFITAS ENZIM BROMELIN EKSTRAK BUAH
NANAS (*Ananas comosus L.Merr*) BERBASIS SEDIAAN GEL
TERHADAP DEGRADASI DENTIN MENGGUNAKAN
*SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)***

SKRIPSI

Oleh

Anindya Wahyu Kurniawati

NIM 151610101032

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**UJI EFEKTIFITAS ENZIM BROMELIN EKSTRAK BUAH
NANAS (*Ananas comosus L.Merr*) BERBASIS SEDIAAN GEL
TERHADAP DEGRADASI DENTIN MENGGUNAKAN
*SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)***

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

Anindya Wahyu Kurniawati

NIM 151610101032

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT atas nikmat dan karunia yang tiada henti Engkau berikan;
2. Rasulullah Nabi Muhammad SAW, suri tauladan dan pencerah dunia ini hingga akhirat nanti;
3. Ayahanda Alm. Bapak Imam Muhadjir tercinta, terima kasih atas segala kasih sayang, motivasi, inspirasi dan nasihat yang pernah papa berikan yang senantiasa menguatkan langkahku dan memotivasiku untuk bisa sampai di tahap ini;
4. Ibunda Eko Nur Tjahjowati yang tercinta, terima kasih atas segala kasih sayang, dukungan moril dan materil, nasihat, motivasi perihal pengerjaan skripsi ini, serta untaian doa selama ini yang selalu mengiringi langkahku dan menguatkan mental maupun batin untuk mencapai keberhasilan;
5. Kakakku Ika Amalia Rahmawati dan adikku Pranadya Pandu Damarjati tersayang yang senantiasa memberikanku semangat dan mendengarkan segala keluh kesahku.
6. drg. Berlian Prihatiningrum, MDSc, Sp. KGA dan drg. Niken Probosari, M.Kes yang selalu meluangkan waktu dan membagikan ilmunya untuk membimbingku dalam menyelesaikan skripsi ini;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

سَيَجْعَلُ اللَّهُ بَعْدَ عُسْرٍ يُسْرًا

“Allah kelak akan memberikan kelapangan sesudah kesempitan.” (QS. Ath Tholaq: 7) *)

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”. (Q.S Al-Insyirah :5) *)

Be better than you were yesterday.

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2002. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: CV Darus Sunnah.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Anindya Wahyu Kurniawati

NIM : 151610101032

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Uji Efektifitas Enzim Bromelin Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Dentin menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah 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 dijunjung tinggi.

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

Jember, 21 Mei 2019

Yang Menyatakan,

Anindya Wahyu Kurniawati

NIM 151610101032

SKRIPSI

**UJI EFEKTIFITAS ENZIM BROMELIN EKSTRAK BUAH
NANAS (*Ananas comosus L.Merr*) BERBASIS SEDIAAN GEL
TERHADAP DEGRADASI DENTIN MENGGUNAKAN
*SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)***

Oleh

Anindya Wahyu Kurniawati

NIM 151610101032

Dosen Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Berlian Prihatiningrum, MDS, Sp.KGA

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Niken Probosari, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Efektifitas Enzim Bromelin Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Dentin menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Selasa, 21 Mei 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dosen Penguji Utama,

drg. Sri Lestari, M.Kes
NIP. 196608191996012001

Dosen Pembimbing Utama,

drg. Berlian Prihatiningrum, MDSc, Sp.KGA
NIP. 198402032015042001

Dosen Penguji Anggota,

drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes
NIP. 198103212005012003

Dosen Pembimbing Pendamping,

drg. Niken Probosari, M.Kes
NIP. 196702201999032001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Uji Efektifitas Enzim Bromelin Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Dentin menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM); Anindya Wahyu Kurniawati; 151610101032; 2019: 67 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Karies merupakan suatu infeksi mikroorganisme yang menyerang jaringan keras gigi yang didahului oleh proses demineralisasi. Menghilangkan jaringan karies pada gigi dapat dilakukan dalam beberapa metode, salah satunya adalah metode preparasi secara konvensional. Preparasi konvensional bertujuan untuk pembentukan kavitas yang dilakukan menggunakan bur putar berkecepatan tinggi. Beberapa kekurangan preparasi konvensional antara lain timbulnya suara bising yang menyebabkan rasa cemas dan takut anak, timbul getaran dan panas pada saat bur berputar yang menyebabkan iritasi pulpa dan pengambilan jaringan sehat yang berlebihan. Adanya kekurangan ini mendorong beberapa penelitian untuk mengembangkan metode alternatif yang hanya menghilangkan jaringan karies saja tanpa mengambil jaringan sehat yaitu dengan metode preparasi kemomekanikal. Preparasi kemomekanikal merupakan preparasi menggunakan agen kimiawi yang dibantu dengan gaya mekanis sederhana menggunakan instrumen dan hanya mengambil jaringan yang terinfeksi saja. Enzim bromelin berpotensi sebagai bahan preparasi kemomekanikal karena merupakan enzim proteolitik yang bekerja dengan cara memutus ikatan peptida pada kandungan protein menjadi asam amino. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengkaji efektifitas enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) berbasis sediaan gel terhadap degradasi dentin pada konsentrasi 8%, 10% dan 12% yang diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain *The Post Test Only Group Design*. Sampel berupa gigi premolar rahang atas yang dipotong arah bukopalatal pada pertengahan oklusal. Selanjutnya pada masing-masing potongan dipreparasi berbentuk mesio-oklusal serta disto-oklusal dan dipreparasi sedalam 2 mm dari pit sehingga terbentuk kavitas sampai dentin. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Sampel diaplikasikan gel enzim bromelin pada seluruh permukaan kavitas selama 2 menit dengan masing-masing konsentrasi (8%, 10% dan 12%) kemudian dibilas serta dikeringkan dan dilakukan analisa SEM (*Scanning Electrone Microscope*) dengan perbesaran 600x untuk melihat degradasi dentin pada dasar kavitas.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kedalaman degradasi dentin pada kelompok kontrol sebesar 6,99 μm , kelompok perlakuan 1 sebesar 9,30 μm , kelompok perlakuan 2 sebesar 12,52 μm dan kelompok perlakuan 3 sebesar 10,46 μm , dimana kelompok perlakuan 2 (konsentrasi 10%) memiliki rata-rata kedalaman degradasi tertinggi. Uji normalitas dan homogenitas menggunakan *shapiro-wilk* dan *levene-test* menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya dilakukan uji parametrik *One Way Anova* dan uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara beberapa kelompok penelitian.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa rata-rata kedalaman degradasi kelompok perlakuan lebih besar daripada kelompok kontrol. Hal ini disebabkan permukaan dentin yang terekspos oleh karena preparasi bur menyebabkan terdegradasinya ikatan kolagen. Ikatan kolagen dengan rantai polipeptida yang lemah sangat mudah terputus setelah terpapar enzim proteolitik yaitu enzim bromelin, sehingga terjadi degradasi pada lapisan dentin. Kesimpulan dari penelitian ini adalah enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) berbasis sediaan gel pada konsentrasi 10% efektif dalam mendegradasi kolagen pada lapisan dentin dibandingkan dengan konsentrasi 8% dan 12%.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Efektifitas Enzim Bromelin Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Dentin menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Berlian Prihatiningrum, MDSc, Sp.KGA selaku dosen pembimbing utama dan drg. Niken Probosari, M.Kes selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan banyak waktu dan mencurahkan banyak perhatian untuk mendampingi, membimbing, mengarahkan penulis hingga mampu menyusun skripsi ini;
3. drg. Sri Lestari, M.Kes selaku dosen penguji utama dan drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan kritik, saran dan arahan yang membangun guna menyempurnakan skripsi ini;
4. drg. Herniyati M.Kes selaku dosen pembimbing akademik yang selalu membimbing dan memberikan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Kedua orang tuaku tercinta, Alm. Imam Muhadjir dan Eko Nur Tjahjowati yang telah memberikan segala bentuk dukungan, motivasi, doa, kasih sayang dan pengorbanan yang tak terhingga;
6. Kakakku Ika Amalia Rahmawati dan adikku Pranadya Pandu Damarjati yang telah memberikan dukungan, doa serta semangat.
7. Sahabatku tercinta, Masyithoh Nur Khoirunnisa' dan Balqish Syafira Maulidya yang senantiasa memberikan doa, dukungan dan semangat dari SMA hingga saat ini;

8. Sahabatku sekaligus rekan penelitianku Retno Dewi Alfiyanti yang senantiasa membantu proses penelitian serta memberikan semangat, dukungan serta motivasi dalam pengerjaan skripsi ini;
9. Sahabat-sahabat kos 008 Titis Mustikaningsih, Firmanditya Ayu F, Fatihah Mardiana, Indah Permata S, Wifqi Azlia, Khanif Muflikhatun, Hayuningtyas, Aulia Rahma E, Iga Putri, Alya Wafaul dan Lailia FJ yang senantiasa memberikan doa, dukungan dan semangat;
10. Teman-teman kelompok tutorial 3 dan 4 atas segala kekompakan dan dukungan dalam menempuh pendidikan;
11. Sahabatku kelompok KKN 65, Raziqa Khusna, Anindya Salsabila, Aminatus Sholikhah, Setiyo Budi dan Muhamad Galih S yang telah memberikan doa, dukungan serta semangat;
12. Teman-teman bimbingan seperjuangan Magdaleni Hasna, Nabila Berliana, Laila Fakriyah dan Hilmy Wildan yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini;
13. Bu Indri selaku staf Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember, Pak Tomo dan Pak Erwin staf teknisi Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu dan Pak Taufan selaku staf Laboratorium Biosains Politeknik Jember yang senantiasa membantu dalam proses penelitian ini;
14. Teman-teman seperjuangan FKG 2015 atas segala kekompakan, dukungan dalam menempuh pendidikan;
15. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	4
1.3.Tujuan Penelitian	4
1.4.Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1.Buah Nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>).....	5
2.1.1.Klasifikasi dan Morfologi Buah Nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>)....	5
2.1.2.Kandungan Buah Nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>).....	6
2.2. Enzim Bromelin	7
2.3.Prinsip Preparasi Intervensi Minimal	8
2.4 Chemo-Mechanical Caries Removal	9

2.5 Mekanisme Kerja Bahan <i>Chemo-Mechanical Caries Removal</i>	11
2.6 Kinetika Kerja Enzim	12
2.7 Struktur Gigi	14
2.7.1.Dentin.....	14
2.8 <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	16
2.9 Hipotesis	17
2.10 Kerangka Konsep	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Jenis Penelitian	19
3.1 Rancangan Penelitian	19
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian	20
3.4.1.Variabel bebas.....	20
3.4.2.Variabel terikat.....	20
3.4.3.Variabel terkendali.....	20
3.5 Definisi Operasional	20
3.5.1 Enzim bromelin kstrak buah nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>) berbasis sediaan gel.....	20
3.5.2 Degradasi dentin.....	21
3.5.3 <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).....	21
3.6 Sampel Penelitian	21
3.6.1 Kriteria Sampel Penelitian.....	21
3.6.2 Besar Sampel Penelitian.....	21
3.6.3 Pengelompokkan Sampel.....	22
3.7 Alat dan Bahan	22
3.7.1 Alat Penelitian.....	22
3.7.2 Bahan Penelitian.....	23

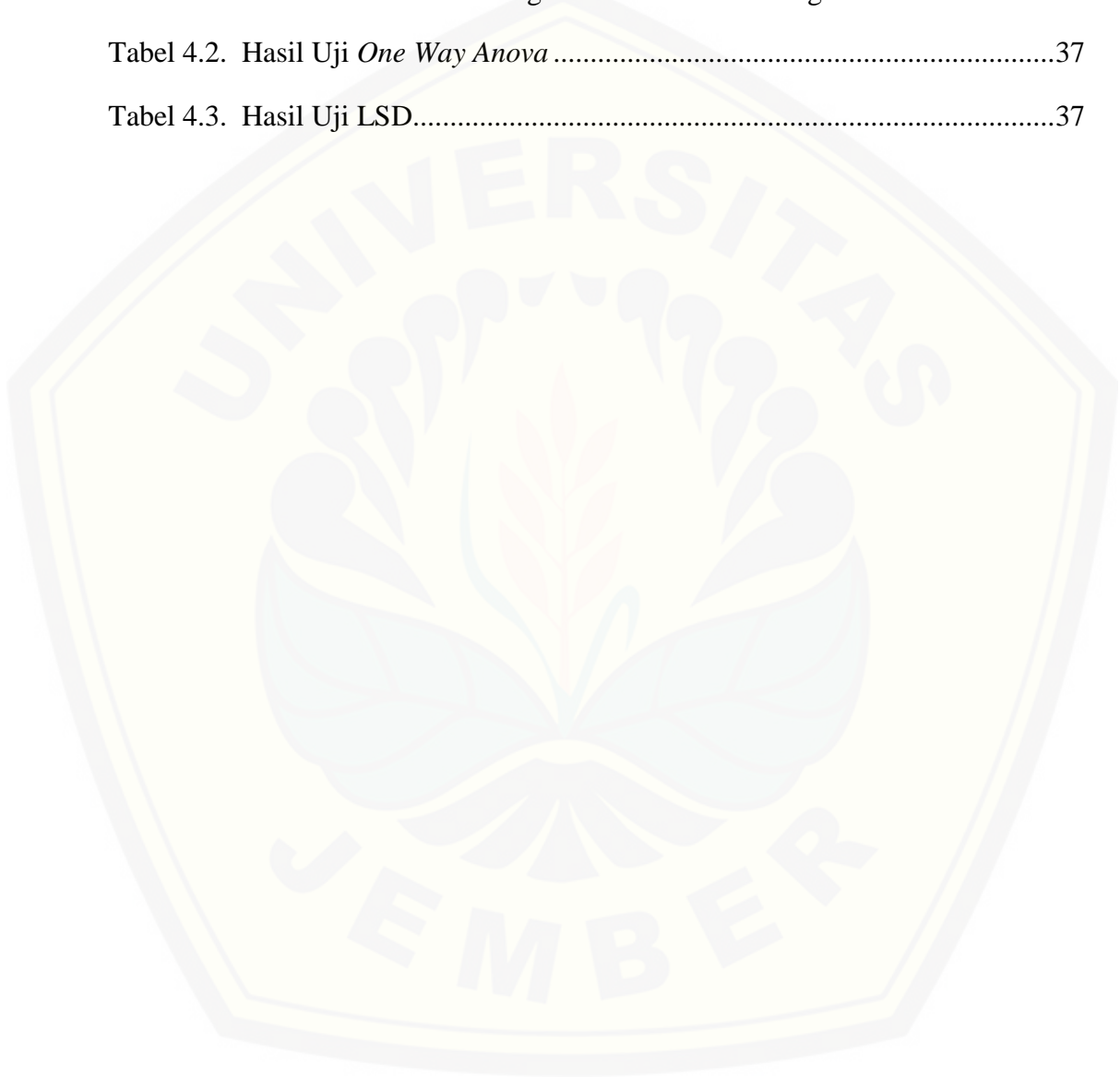
3.8 Prosedur Penelitian	24
3.8.1 Tahap isolasi enzim bromelin	24
3.8.2 Tahap pemurnian enzim bromelin ekstrak daging buah nanas (<i>Ananas comosus</i>)	25
3.8.3 Pengenceran enzim bromelin ekstrak daging buah nanas (<i>Ananas comosus</i>)	26
3.8.4 Pembuatan Sediaan Gel	27
3.8.5 Persiapan Sampel	27
3.8.6 Tahap Perlakuan Sampel.....	29
3.8.7 Tahap Pembuatan Spesimen SEM	31
3.8.7.1 Persiapan Sampel.....	31
3.8.7.2 Proses Pengambilan Gambar menggunakan SEM.....	32
3.8.8 Kriteria Penilaian Sampel	32
3.9 Analisa Data	32
3.10 Alur Penelitian	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Penelitian	34
4.1 Analisis Data	36
4.3 Pembahasan	38
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>)	5
Gambar 2.2 Prosedur Pemakaian <i>Brix 3000</i> ®.	11
Gambar 2.3 Rantai Polipeptida Kolagen Dentin.....	11
Gambar 2.4 Grafik Hubungan Kecepatan Reaksi dan Konsentrasi Enzim.....	13
Gambar 2.5 Grafik Hubungan Kecepatan Reaksi dan Substrat	13
Gambar 2.6 Potongan Penampang Gigi	14
Gambar 2.7 Tubuli Dentin Yang Normal	16
Gambar 2.8. <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	23
Gambar 3.1 Tahap Isolasi Bromelin.	24
Gambar 3.2 Tabung Ependorf Berisi Supernatan dan Endapan	25
Gambar 3.3 Tabung Ependorf Berisi Pelet Hasil Sentrifugasi.	27
Gambar 3.4 Sediaan Gel Bromelin.	27
Gambar 3.5 Gigi Premolar Atas Pandangan Mesial.	27
Gambar 3.6 Ilustrasi Pemotongan Gigi Premolar Atas.....	28
Gambar 3.7 Ilustrasi Preparasi Gigi Premolar Atas.....	28
Gambar 3.8 Area Aplikasi Enzim Bromelin pada Permukaan Dentin.....	30
Gambar 3.9 Posisi Sampel pada Holder SEM.	31
Gambar 4.1 Grafik Nilai Rata-Rata Kedalaman Degradasi Dentin.	36
Gambar 4.2 Gambaran SEM pada Dentin.....	36

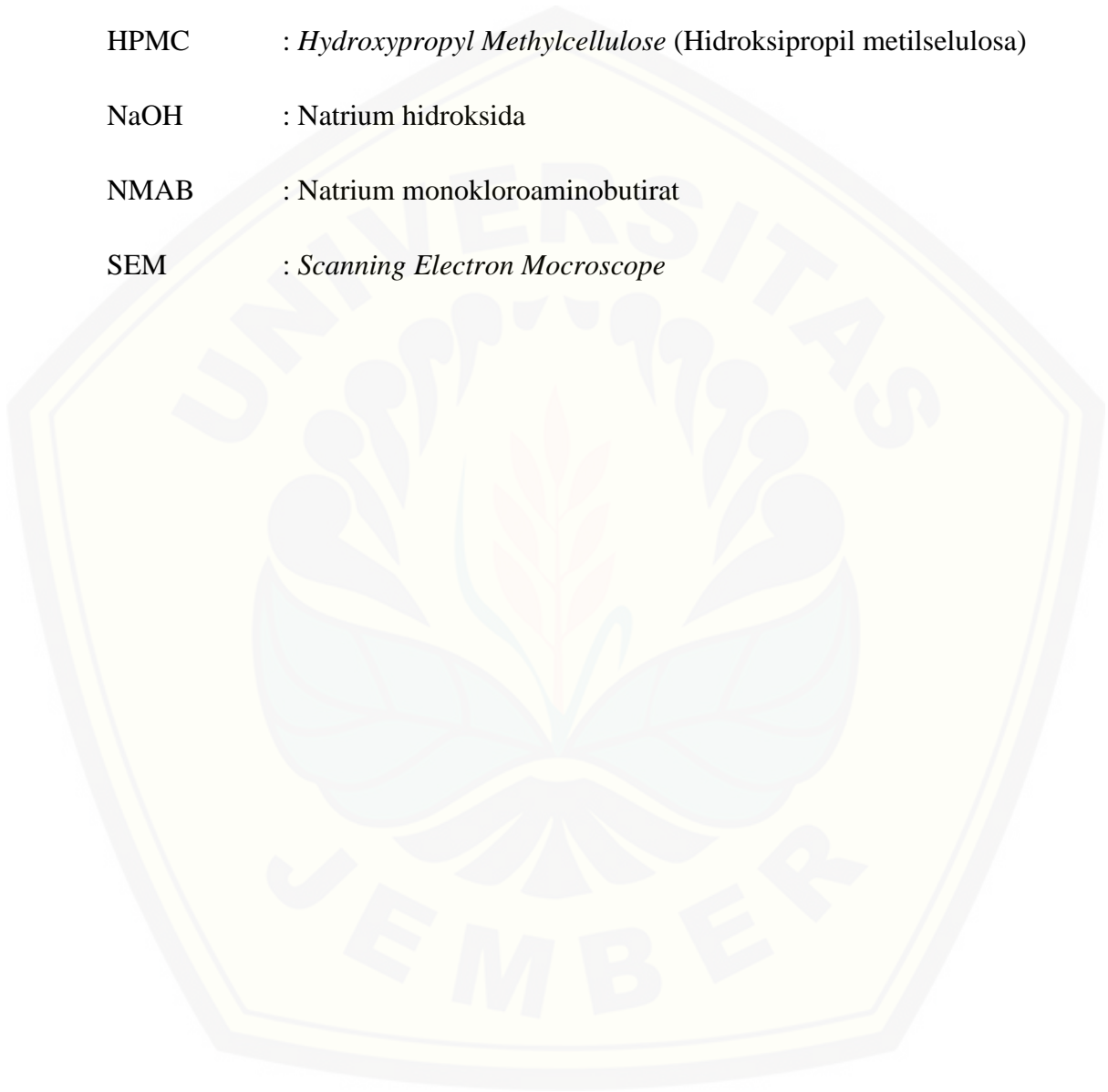
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Buah Nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>).....	6
Tabel 4.1 Data Rata Rata Hasil Pengukuran Kedalaman Degradasi Dentin.....	34
Tabel 4.2. Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	37
Tabel 4.3. Hasil Uji LSD.....	37



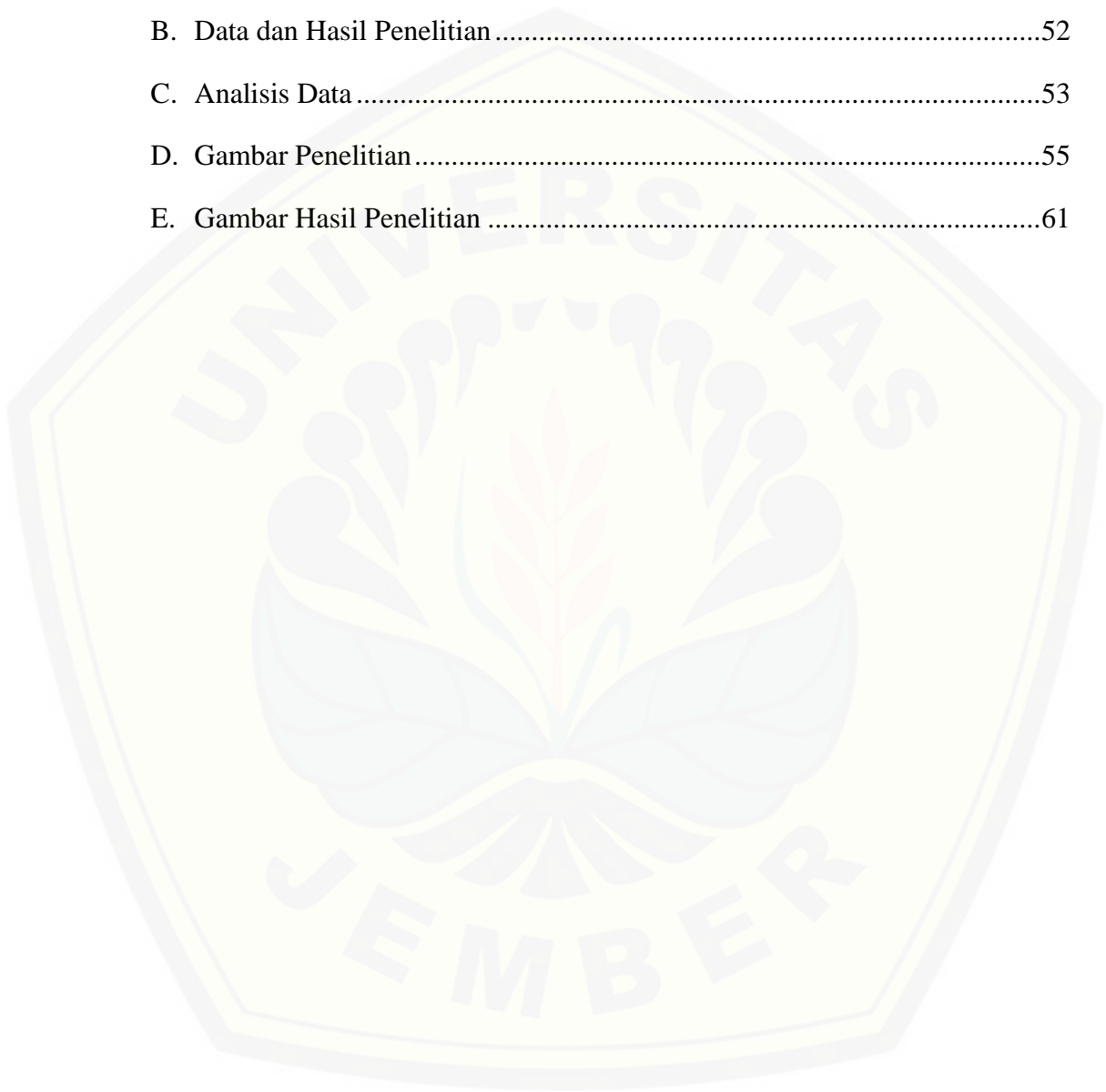
DAFTAR SINGKATAN

ART	: <i>Atraumatic Restorative Treatment</i>
CMCR	: <i>Chemo-Mechanical Caries Removal</i>
HPMC	: <i>Hydroxypropyl Methylcellulose</i> (Hidroksipropil metilselulosa)
NaOH	: Natrium hidroksida
NMAB	: Natrium monokloroaminobutirat
SEM	: <i>Scanning Electron Microscope</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Surat Ijin Penelitian.....	48
B. Data dan Hasil Penelitian.....	52
C. Analisis Data.....	53
D. Gambar Penelitian.....	55
E. Gambar Hasil Penelitian.....	61



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Prevalensi masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 mencapai angka 57,6% dengan prevalensi 93% anak usia dini mengalami karies. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat karies di Indonesia masih sangat tinggi (Badan Penelitian dan Pengembangan Kemenkes RI Riskesdas, 2018). Karies gigi merupakan penyakit infeksi mikroorganisme pada gigi yang didahului oleh terjadinya proses demineralisasi pada jaringan yang terkalsifikasi (Kurniawati, 2014).

Penghilangan jaringan karies sendiri dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode konvensional (bur), abrasi udara, laser dan bahan kimia. Metode penghilangan jaringan karies yang umum digunakan adalah teknik preparasi konvensional (Permatasari, 2009). Preparasi konvensional adalah teknik preparasi kavitas menggunakan instrumen bur putar berkecepatan tinggi. Umumnya pasien terutama anak-anak mengalami rasa cemas dan takut saat dilakukan preparasi konvensional karena suara bising yang ditimbulkan sehingga menyulitkan dokter gigi dalam memberikan perawatan. Selain menyebabkan suara yang bising, instrumen bur putar juga memiliki kelemahan lain yaitu pengambilan jaringan sehat yang berlebihan, dapat menimbulkan panas, dan mengiritasi pulpa sehingga menyebabkan rasa tidak nyaman pada pasien. (Fernanda, dkk, 2007). Metode penghilangan jaringan karies lainnya seperti abrasi udara dan laser merupakan metode yang membutuhkan biaya yang mahal. Kerugian metode konvensional maupun laser dan abrasi udara telah mengarah pada pengembangan metode pengambilan jaringan karies yang tidak menyebabkan perubahan termal, getaran minimal dan lebih sedikit rasa sakit, pembuangan hanya pada jaringan yang terinfeksi saja serta biaya yang tidak melambung tinggi sehingga dikembangkan metode alternatif yaitu preparasi menggunakan bahan kemomekanikal (*Chemo-Mechanical Caries Removal*) (Ganesh dkk, 2011).

Chemo-Mechanical Caries Removal (CMCR) telah dikembangkan sejak tahun 1975 sebagai teknik preparasi kavitas berprinsip minimal invasif. Metode CMCR merupakan teknik non invasif yang hanya mengeliminasi dentin yang terinfeksi menggunakan agen kimiawi. Proses ini tidak hanya menghancurkan jaringan terinfeksi, namun juga menjaga struktur gigi yang sehat, mencegah iritasi pada pulpa dan ketidaknyamanan pasien. Setelah jaringan karies diberi agen kimia, struktur lunak karies disingkirkan menggunakan ekskavator atau alat *hand-instrument* khusus. CMCR kemudian dikembangkan dalam bentuk gel pada tahun 2003 dengan berbahan dasar enzim papain (Manurung dkk, 2013).

Enzim papain merupakan enzim proteolitik yang bekerja dengan cara memotong molekul kolagen yang sudah rusak oleh proses karies. Dalam proses degradasi dentin pada karies, aksi proteolitik enzim papain hanya bekerja pada bagian *infected* dentin karena pada bagian tersebut tidak terdapat penghambat protease yaitu *alpha-1-antitrypsin*, dimana penghambat protease tersebut hanya ditemukan pada jaringan yang sehat (Ganesh dkk, 2011). Gel CMCR berbahan dasar papain ini kemudian dikembangkan lagi pada tahun 2014 di Argentina bernama *Brix3000*©. Konsentrasi enzim papain dalam produk ini adalah sebesar 10% tiap 100 ml dengan waktu aplikasi selama 2 menit. Enzim papain juga memiliki sifat anti bakteri dan dapat ditemukan pada buah pepaya spesies *Carica papaya*. Selain pada buah pepaya, enzim proteolitik juga ditemukan pada getah tanaman widuri, buah kiwi dan tanaman nanas (Beeley, dkk, 2000).

Tanaman nanas mempunyai kontribusi sebesar 8% dari produksi buah segar dunia, dan Indonesia merupakan negara penghasil nanas terbesar ketiga setelah Thailand dan Philipina, sehingga tanaman nanas mempunyai potensi besar dalam meningkatkan perekonomian Indonesia apabila pemanfaatan tanaman tersebut dilakukan secara maksimal (Hadiati, dkk, 2008). Tanaman nanas mengandung enzim proteolitik yang memiliki efektifitas serupa dengan papain dalam mendegradasi kolagen yaitu enzim bromelin. Enzim bromelin merupakan jenis enzim proteolitik asal nabati yang dapat diekstrak dari tanaman nanas dimana enzim ini dapat menghidrolisis ikatan peptida pada kandungan protein

menjadi asam amino. Kandungan enzim bromelin ditemukan pada setiap bagian dari tanaman nanas yaitu daun, batang, kulit dan daging buah (Donald, 1997).

Kandungan enzim bromelin tertinggi terdapat pada daging dan bonggol buah nanas yang telah masak yang memiliki aroma manis, kulit kuning keemasan, daun berwarna hijau segar, mata nanas berkembang dan tidak keras (Supartono, 2004) dan (Rahmat,2016). Salah satu manfaat bromelin pada buah nanas yang telah banyak digunakan oleh masyarakat adalah sebagai bahan pengempuk daging (Anam, 2003). Penelitian yang dilakukan Lismawati, dkk pada tahun 2017, enzim bromelin terbukti memiliki daya pengempukan terhadap daging lebih kuat dibandingkan dengan pengempukan menggunakan enzim papain yang diekstrak dari daun pepaya (*Carica papaya*). Selain memiliki kemampuan proteolitik enzim bromelin juga memiliki senyawa fitokimia yang memiliki banyak khasiat medis antara lain dapat menghilangkan nyeri, mengatasi radang, mempercepat penyembuhan luka dan memiliki antibakteri (Cooreman dkk,1976). Enzim bromelin juga memiliki manfaat di bidang kedokteran gigi yang dibuktikan pada beberapa penelitian sebelumnya yaitu sebagai bahan anti inflamasi pasca pencabutan molar tiga (Singh dkk, 2016) dan bahan deproteinasi dentin sebelum aplikasi bonding sehingga bahan tumpatan menjadi lebih adesif (Raad dkk, 2013).

Bahan-bahan aktif tersedia dalam berbagai sediaan, antara lain solution, pasta hingga gel. Gel merupakan sistem semi padat yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh cairan (Danimayostu dkk, 2017). Sediaan gel mempunyai kelebihan diantaranya adalah memiliki viskositas dan daya lekat tinggi sehingga tidak mudah mengalir pada saat aplikasi yang membuat sediaan gel terfokus pada bagian yang ingin dioles, memiliki sifat tiksotropi sehingga mudah merata bila dioles, hanya membutuhkan selapis tipis gel, mudah dibilas dengan air, tahan lama dan memberikan sensasi dingin setelah digunakan (Sharma, 2008).

Berdasarkan manfaat enzim bromelin sebagai enzim proteolitik pada buah nanas tersebut, potensi buah nanas di Indonesia serta beberapa manfaat dari sediaan berbentuk gel penulis ingin mengkaji efektifitas enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) berbasis sediaan gel terhadap degradasi dentin

yang diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang memiliki kelebihan perbesaran obyektif yang mencapai dua juta kali sehingga kedalaman degradasi dentin dapat terlihat (Sandrasegaram, 2015). Sediaan berbentuk gel ini diharapkan menjadi suatu upaya dalam pengembangan bahan kedokteran gigi yang lebih ramah lingkungan oleh karena dapat mengurangi pemakaian listrik dan air secara berlebihan.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan uraian diatas, dapat dirumuskan suatu permasalahan bagaimana efektifitas enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) berbasis sediaan gel terhadap degradasi dentin dalam konsentrasi 8%, 10% dan 12% menggunakan *Scanning Electro Microscope* (SEM).

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengkaji efektifitas enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) berbasis sediaan gel terhadap degradasi dentin dalam konsentrasi 8%, 10% dan 12% menggunakan *Scanning Electro Microscope* (SEM).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk Klinisi

Menambah informasi mengenai kemampuan enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) terhadap degradasi dentin sehingga dapat menjadi pertimbangan alternatif bahan preparasi kemomekanikal.

1.4.2 Manfaat untuk IPTEK

Sebagai bahan kajian untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat untuk masyarakat

Untuk memberikan informasi ilmiah tentang manfaat buah nanas (*Ananas comosus*) di bidang kesehatan gigi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*)

Nanas (*Ananas comosus L. Merr*) merupakan tanaman buah yang berasal dari Amerika tropis yaitu Brazil, Argentina dan Peru. Nanas mempunyai kontribusi sebesar 8% dari produksi buah segar dunia, dan Indonesia merupakan negara penghasil nanas terbesar ketiga setelah Thailand dan Philipina (Hadiati dkk, 2008). Usaha -usaha pengembangan nanas masih kurang, hal ini dapat dilihat dari rendahnya produksi, kualitas buah dan industri olahan. Kualitas buah nanas yang baik dapat dilihat dari daun yang tidak berduri, diameter tajuk s empit, jumlah anakan sedikit, bentuk buah silindris, mata buah datar, mahkota buah kecil, jumlah anakan sedikit, kematangan buah seragam, warna daging buah orange atau kuning, dan daging buah renyah untuk nanas konsumsi langsung (Deptan, 2000).

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*)

Tanaman nenas telah tersebar ke seluruh penjuru dunia, terutama di sekitar daerah khatulistiwa yaitu antara 25 °LU dan 25 °LS. Di Indonesia tanaman nenas sangat terkenal dan banyak dibudidayakan di tegalan dari dataran rendah sampai ke dataran tinggi. Daerah penghasil nenas di Indonesia yang terkenal adalah Subang, Bogor, Riau, Palembang dan Blitar (Rahmat dan Fitri, 2007). Tata nama atau sistematik (taksonami) tumbuhan, buah nanas (*Ananas comosus*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Collins, 1968 dalam Surtiningsih 2008):

Kingdom	: Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Kelas	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Ordo	: Farinosae (Bromeliales)
Famili	: Bromeliaceace
Genus	: Ananas
Spesies	: Ananas Comosus (L.) Merr.



Gambar 2.1. Departement of Horticulture and Soil Conservation, Government of Tripura, India (2007).

Nanas merupakan tanaman buah yang selalu tersedia sepanjang tahun dan merupakan tanaman yang tergolong dalam tanaman yang tahan terhadap kemarau dan dapat hidup baik pada suhu sekitar 30°C dengan taburan hujan sebanyak 1250 mm setahun (Rukmana, 1996). Susunan yang terdapat pada buah nanas antara lain akar, batang, daun, bunga dan buah. Akar nanas dapat dibedakan menjadi akar tanah dan akar samping. Akar tanaman nanas memiliki kedalaman perakaran pada media tanah yang baik antara 30-50 cm. Batang merupakan tempat melekatnya akar, daun, bunga, tunas dan buah. Batang tanaman nanas cukup panjang 20-25 cm, tebal dengan diameter 2,0-3,5 cm, beruasruas pendek. Daun nanas memiliki panjang 130-150 cm, lebar antara 3-5 cm, daun berduri tajam meskipun ada yang tidak berduri dan tidak memiliki tulang daun. Jumlah daun tiap batang sangat bervariasi antara 70-80 helai. (Suprianto, 2016). Nanas memiliki kulit buah yang keras dan kasar. Saat menjelang panen, warna hijau buah mulai memudar. Diameter dan berat buah nanas semakin bertambah sejalan dengan pertambahan umurnya, sebaliknya untuk tekstur buah nanas, semakin tua umur buah maka teksturnya akan semakin lunak (Riana, 2012).

2.1.2 Kandungan Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*)

Buah nanas mengandung enzim proteolitik bernama bromelin, yang digunakan untuk melunakkan daging dan sebagai tujuan pengobatan. Nanas

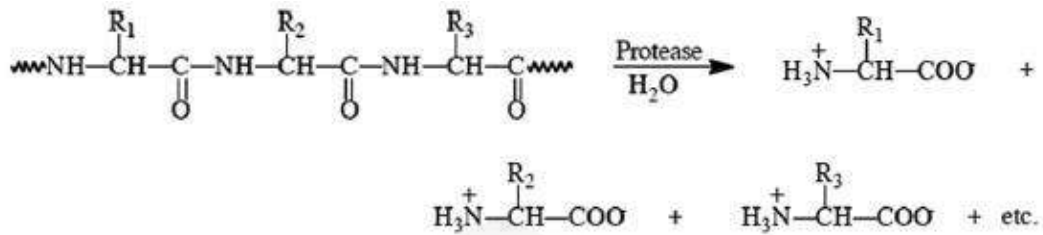
merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat pada hampir semua bagiannya, yaitu untuk pangan, pakan, maupun bahan baku industri (Bartholomew dkk (2003.) Nanas juga mengandung serat yang berguna untuk membantu proses pencernaan, menurunkan kolesterol dalam darah dan mengurangi resiko diabetes dan penyakit jantung. Serat dari 150 gram nanas setara dengan separuh dari jeruk. Selain kandungan vitamin dan mineral, nanas juga dijadikan sebagai sumber vitamin C yang bagus (Winastia, 2011). Kandungan lain dari buah terdapat pada tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1 Kandungan buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*)

Kandungan	Unit	Nilai per 100 gram
Vitamin C	mg	16,9
Thiamin	mg	0,078
Riboflavin	mg	0,029
Niacin	mg	0,470
Asam Pantothenic	mg	0,193
Vitamin B-6	mg	0,106
Asam folat	mg	11
Kolin	mg	5,6
Betaine	mg	0,1
Vitamin A	mcg	3
Beta Karoten	mcg	31
Vitamin K (phylloquinone)	mcg	0,7
Serotonin	%	15-25
Enzim Bromelin	%	24-39
Vitamin B-6	mg	0,106
Asam folat	mg	11
Kolin	mg	5,6

2.2 Enzim Bromelin

Enzim bromelin adalah jenis enzim proteolitik asal nabati yang dapat diekstrak dari tanaman nanas dimana enzim ini dapat menghidrolisis ikatan peptida pada kandungan protein menjadi asam amino. Penelitian yang dilakukan Bartholomew dkk (2003), diketahui tiap 100 gram buah nanas mengandung 24-39 % enzim bromelin. Enzim ini menguraikan protein dengan jalan memutuskan ikatan peptida dan menghasilkan protein yang lebih sederhana. Enzim bromelin terdapat pada seluruh bagian tanaman nanas, namun kandungan tertinggi enzim bromelin ada pada bagian daging dan bonggolnya (Rahmat, 2016).



(Sumber: Raad dkk, 2013)

Enzim bromelin terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas. Sekitar setengah dari protein dalam nanas mengandung protease bromelin. Di antara berbagai jenis buah, nanas merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi dalam buah yang masak (Irfan, 2016). Bromelin telah diketahui fungsinya semenjak 1876. Bromelin mulai diperkenalkan sebagai agen terapi dimulai dari tahun 1957, oleh heinicke dan Gortner saat menemukan konsentrasi bromelin yang tinggi pada stem nanas. Komponen utama dari protease bromelain adalah fraksi proteolitik sulfhidril. Selain itu juga terdiri dari peroksidase, asam fosfat dan beberapa inhibitor protease lainnya. Aktivitas enzim bromelin dipengaruhi oleh kematangan buah, pH, konsentrasi dan waktu. Buah yang masak menunjukkan pH 3,0-3,5 dan pada suasana asam, enzim bromelin terdenaturasi dan mengalami perubahan konformasi struktur sehingga keaktifannya berkurang (Tochi BN, dkk, 2008).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa enzim bromelin memiliki banyak manfaat, salah satunya yang telah banyak digunakan oleh masyarakat adalah sebagai bahan pengempuk daging (Anam, 2003). Enzim bromelin terbukti memiliki daya pengempukan terhadap daging lebih kuat dibandingkan dengan pengempukan menggunakan enzim papain yang diekstrak dari daun pepaya (Lismawati dkk, 2017). Kemampuan proteolitik bromelin digunakan pula untuk aplikasi industri pada pelarutan protein gandum (Ketnawa dkk, 2009). Selain memiliki kemampuan proteolitik enzim bromelin juga memiliki senyawa fitokimia yang memiliki banyak khasiat medis antara lain dapat menghilangkan nyeri, mengatasi radang, mempercepat penyembuhan luka, membantu pencernaan, meningkatkan penyerapan obat, meningkatkan imunitas, peningkatan kualitas *kardiovaskular* dan sirkulasi anti tumor serta memiliki antibakteri (Cooreman

dkk.,1976). Enzim bromelin juga memiliki manfaat di bidang kedokteran gigi yang dibuktikan pada beberapa penelitian sebelumnya yaitu sebagai bahan anti inflamasi pasca pencabutan molar tiga (Singh dkk, 2016) dan bahan deproteinasi dentin sebelum aplikasi bonding sehingga bahan tumpatan menjadi lebih adesif (Raad dkk, 2013).

2.3 Prinsip Preparasi Intervensi Minimal

Dunia kesehatan belakangan ini telah mengembangkan praktik yang lebih ramah lingkungan, termasuk bidang kedokteran gigi yang dikenal dengan *Eco-dentistry*. *Eco-dentistry* adalah suatu praktik dalam kedokteran gigi yang berprinsip menurunkan kadar polusi dan limbah, menghemat energi, air serta biaya menggunakan berbagai inovasi. Salah satu tindakan dalam praktik kedokteran gigi yang menganut prinsip *eco-dentistry* adalah dengan menggunakan konsep intervensi minimal (Gharla, 2013). Intervensi minimal dalam merestorasi gigi merupakan sebuah filosofi yang mengkombinasikan pengetahuan mengenai prinsip pencegahan, remineralisasi lesi karies dan perkembangan bahan tumpat adesif. Intervensi minimal merupakan tindakan pencegahan pada lesi non kavitas, deteksi dini karies, remineralisasi dan preparasi minimal untuk restorasi langsung dengan tumpatan adesif bila perawatan diindikasikan. Salah satu tujuan dari konsep intervensi minimal adalah mengatasi kerusakan jaringan gigi akibat karies dengan mengurangi atau meminimalkan tindakan invasif yaitu dengan mempertahankan enamel dan dentin yang sehat (Permatasari, 2009).

Prinsip intervensi minimal berkaitan erat dengan desain preparasi kavitas minimal dan alat-alat preparasi modern. Salah satu desain preparasi kavitas minimal yang menganut intervensi minimal berupa teknik preparasi mikro. Hal tersebut dikarenakan pada teknik preparasi mikro dalam prosedurnya mendapatkan akses ke kavitas seminimal mungkin, tanpa banyak membuang jaringan gigi. Teknik preparasi mikro ini melibatkan sejumlah instrumen modern, diantaranya bur *micro-preparation* dan *fissurotomy*, *air abrasion*, dental laser dan metode kemomekanikal (Permatasari, 2009). Prinsip intervensi minimal memiliki kelebihan bila melakukan penumpatan yaitu sisa jaringan gigi tetap kuat, cedera

terhadap pulpa minimal, pengembalian bentuk anatomi lebih mudah sehingga estetika lebih terjamin sehingga pekerjaan dokter gigi menjadi lebih baik, mudah, cepat dan lebih ramah lingkungan (Manurung, 2013).

2.4 Chemo-Mechanical Caries Removal

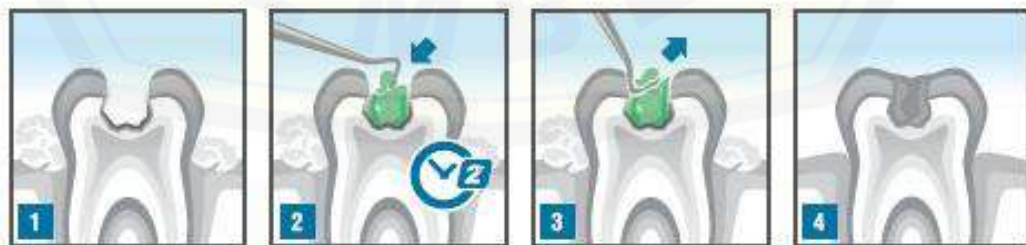
Chemo-Mechanical Caries Removal (CMCR) adalah tindakan non-invasif pembuangan jaringan karies gigi dengan cara melunakkan jaringan menggunakan bahan kimia kemudian diikuti tindakan ekskavasi jaringan yang rusak (Gartika, 2010). Proses ini tidak hanya menghancurkan jaringan terinfeksi, namun juga menjaga struktur gigi yang sehat, mencegah iritasi pada pulpa dan ketidaknyamanan pasien. Metode ini tidak menggunakan teknik pengeburan dan dibantu oleh gaya mekanikal yang atraumatik menggunakan ekskavator untuk menghilangkan struktur lunak karies (Ganesh dkk, 2011). Teknik yang biasanya digunakan untuk menghilangkan jaringan karies adalah dengan metode konvensional. Metode ini dapat menyebabkan rasa sakit dan tidak nyaman bagi pasien. Oleh karena itu CMCR dikembangkan sebagai salah satu teknik alternatif terhadap metode konvensional. Metode CMCR ini disebut *patient and user friendly* karena dapat mendegradasi kolagen yang tidak terdegradasi sempurna di jaringan gigi yang terinfeksi tanpa merusak jaringan sehat (Kumar, 2011).

Metode CMCR mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan pengeburan tradisional, antara lain (Ganesh dkk, 2011):

1. Persepsi pasien akan rasa nyeri berkurang dan lebih nyaman
2. Kurangnya ketakutan dan kecemasan mengurangi ketidaknyamanan pasien terutama pada pasien anak
3. Menyingkirkan hanya lapisan yang terinfeksi dan tidak merusak jaringan lain
4. Tidak menyebabkan iritasi pulpa
5. Cocok untuk pengobatan gigi desidui dan pasien yang mempunyai phobia
6. Sangat membantu ketika melakukan tindakan *caries removal* pada pasien yang kurang kooperatif
7. Berguna untuk pasien cacat fisik dan pasien yang infeksi.

Prinsip CMCR didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Goldman dan Kronman di Amerika pada tahun 1970-an, yaitu menggunakan sodium hipoklorit 5%, tetapi ditinggalkan karena bersifat toksik terhadap jaringan sehat. Pada tahun 1980-an dikembangkan suatu teknik baru perawatan gigi yaitu *Atraumatic Restorative Treatment* (ART) yang hanya menggunakan instrument tangan. Teknik ini dapat mengurangi rasa takut terhadap perawatan gigi yang menggunakan bur dan pembuangan jaringan sehat tidak berlebihan. Keberhasilan teknik ART terbatas pada karies satu permukaan dan kavitas yang kecil (Banerjee dkk, 2000). Perkembangan selanjutnya adalah N-monokloroaminobutirat (NMAB) yang dipasarkan dengan nama dagang *Caridex*© dan *Carisolv*©. Kedua produk tersebut lebih dapat diterima oleh jaringan tubuh, namun harga mahal dan larutan yang digunakan dalam jumlah banyak (Bussadori dkk, 2005).

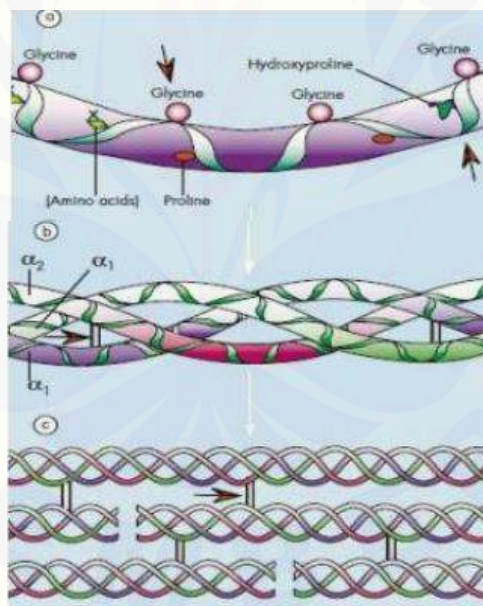
Selanjutnya pada 2003 sebuah gel CMCR dikembangkan di Brazil. Gel ini terbuat dari enzim papain, kloramin dan *toluidin blue* yang bernama *Papacarie*©. Gel ini diaplikasikan pada gigi yang karies. Khasiat proteolitik, klorinasi dan oksidasinya akan bereaksi pada kolagen gigi karies tanpa merusak jaringan yang sehat (Lopes dkk, 2007). Tahun 2014 di Argentina, dikembangkan bahan CMCR sejenis *Papacarie*© yang berbahan dasar enzim papain bernama *Brix3000*©. Produk berbahan gel ini memiliki aktifitas enzim papain 30000 U/mg. Tiap 100 ml gel *Brix3000*© mengandung 10% enzim papain. *Brix3000*© diaplikasikan pada gigi yang karies dengan waktu aplikasi selama 2 menit kemudian jaringan karies diambil dengan instrumen manual (BRIX S.R.L, 2014)



Gambar 2.2. Prosedur pemakaian *Brix3000*© (Sumber: BRIX S.R.L, 2014)

2.5 Mekanisme Kerja Bahan *Chemo-Mechanical Caries Removal*

Chemo-Mechanical Caries Removal (CMCR) berkaitan erat dengan penggunaan bahan kimia yang berfungsi melunakkan jaringan menggunakan bahan kimia kemudian diikuti tindakan ekskavasi jaringan yang rusak (Gartika, 2010). Jaringan gigi terdiri dari enamel dan dentin. Dentin terdiri dari mineral (70%), air (10%) serta matriks organik (20%). Matriks organik dentin terdiri dari 18% kolagen dan 2% non kolagen. Kolagen merupakan protein yang banyak mengandung prolin dan 1/3 asam aminonya mengandung glisin. Rantai polipeptidanya membentuk tripel heliks yang disebut tropokolagen. Unit tropokolagen akan saling berhadapan membentuk fibril. Ikatan kovalen antara rantai polipeptida dari unit tropokolagen berbentuk ikatan silang yang dapat menstabilkan fibril kolagen. Struktur fibril dalam dentin membentuk rangkaian padat tidak beraturan yang termineralisasi (Kumar dkk, 2011).



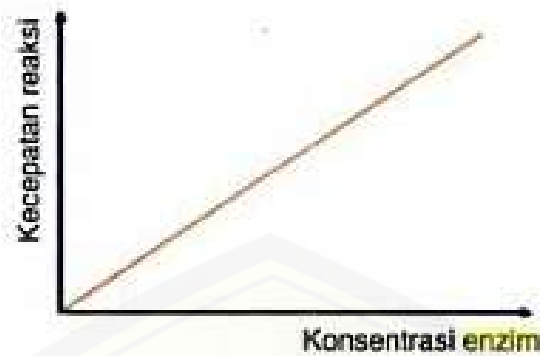
Gambar 2.3. (a) Rantai polipeptida. Tempat bahan *chemo-mechanical carries removal* dalam mendegradasi glisin atau *hydroproline* ditunjukkan panah merah (b) *triple helix*, tempat dimana terjadi degradasi ikatan silang intra molekuler (panah merah), (c) unit tropokolagen yang membentuk kolagen fibril (Ganesh dkk,2011).

Plak gigi merupakan penyebab awal terjadinya karies karena mengandung bakteri yang mnghasilkan asam melalui fermentasi karbohidrat. Keasaman pH

plak menyebabkan pelarutan mineral enamel. Paparan asam yang berlangsung lama dan terus-menerus terhadap enamel akan menyebabkan proses demineralisasi berlanjut sehingga mencapai dentin (Beeley dkk, 2000). Apabila terjadi demineralisasi, maka kolagen dan komponen matriks yang lain menjadi rentan terhadap degradasi protein oleh enzim yang dihasilkan bakteri dan enzim hidrolase. Degradasi kolagen pada lesi dapat dibedakan menjadi 2 zona yaitu lapisan dalam (*inner layer*) dan lapisan luar (*outer layer*). *Inner layer* merupakan daerah yang mengalami demineralisasi sebagian, tetapi masih dapat mengalami remineralisasi dan struktur fibril kolagenya masih utuh. *Outer layer* merupakan daerah yang fibril kolagennya telah mengalami degradasi sebagian serta tidak dapat mengalami remineralisasi. Agen CMCR dapat menyebabkan degradasi lebih lanjut terhadap kolagen yang telah terdegradasi sebagian dengan cara pemutusan rantai polipeptida dalam struktur tripel heliks. Proses degradasi dentin pada karies, aksi proteolitik agen CMCR hanya bekerja pada bagian *infected* dentin karena pada bagian tersebut tidak terdapat penghambat protease yaitu *alpha-1-antitrypsin*, dimana penghambat protease tersebut hanya ditemukan pada jaringan yang sehat (Ganesh dkk, 2011).

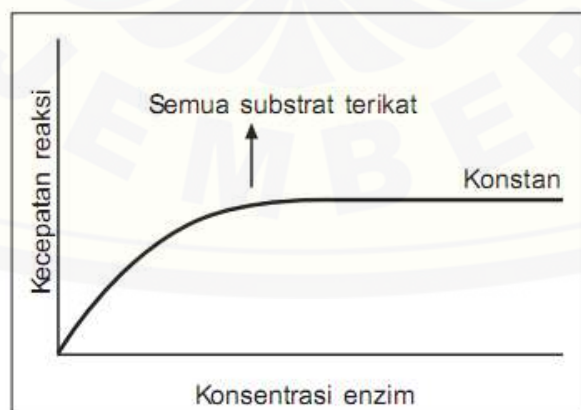
2.6 Kinetika Kerja Enzim

Enzim merupakan senyawa protein yang dapat mengkatalisis seluruh reaksi kimia dalam sistem biologis. Semua enzim murni yang telah diamati sampai saat ini adalah protein. Aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim mengikat molekul substrat membentuk kompleks enzim substrat yang bersifat sementara dan lalu terurai membentuk enzim bebas dan produknya (Lehninger, 1990). Menurut kaidah kinetika enzim, kecepatan reaksi bergantung pada konsentrasi enzim yang berperan dalam katalisator reaksi. Peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik. Dapat dikatakan bahwa kecepatan reaksi enzimatik (v) berbanding lurus dengan konsentrasi enzim (E), yang ditunjukkan dalam kurva berikut (Soewoto dkk, 2000):



Gambar 2.4. Grafik hubungan antara kecepatan reaksi dan konsentrasi enzim

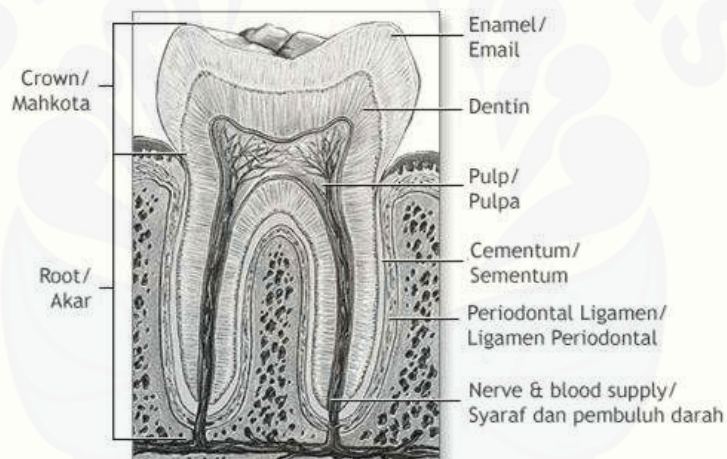
Suatu reaksi enzimatik apabila konsentrasi substrat diperbesar, sedangkan kondisi lainnya tetap, maka kecepatan reaksi enzimatik (v) akan meningkat sampai suatu batas kecepatan maksimum (V). Enzim akan mengikat substrat membentuk kompleks enzim-substrat (ES), kemudian kompleks ini akan terurai menjadi (E) dan produk (P). Makin banyak kompleks (ES) terbentuk, makin cepat reaksi berlangsung sampai batas kejenuhan (ES). Saat konsentrasi substrat (S) melampaui batas kejenuhan, kecepatan reaksi akan konstan, pada titik maksimum ini enzim telah mencapai titik jenuh yang ditunjukkan pada gambar 2.5 (Soewoto dkk, 2000). Kemudian selain konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat, kerja enzim juga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, inhibitor, kofaktor dan pelarut organik (Shahib, 2005).



Gambar 2.5. Grafik hubungan antara kecepatan reaksi dan konsentrasi substrat (Campbell dkk, 2008)

2.7 Struktur Gigi

Umumnya, gigi terdiri dari beberapa bagian utama yaitu enamel, dentin, pulpa dan akar gigi (Gambar 2.6). Enamel merupakan substansi yang mengalami kalsifikasi tinggi yang melapisi bagian gigi yang terlihat, dan merupakan jaringan gigi yang terkeras. Enamel memiliki ketebalan yang bervariasi, serta mengandung bahan anorganik (hidroksiapatit) dalam jumlah 95%-98% dan bahan organik 1%-2% (Combe, 1992). Dentin merupakan bagian paling tebal pada jaringan gigi, serta memiliki sifat menyerupai tulang. Pulpa gigi adalah suatu jaringan lunak, berisi syaraf dan pembuluh darah. Pulpa sangat peka terhadap estimulasi zat kimia dan termis. Sedangkan akar gigi dilapisi oleh *cementum* yang merupakan jaringan ikat menyerupai tulang (Ismiawati, 2009).



Gambar 2.6. Potongan Penampang Gigi (Combe, 1992)

2.5.1 Dentin

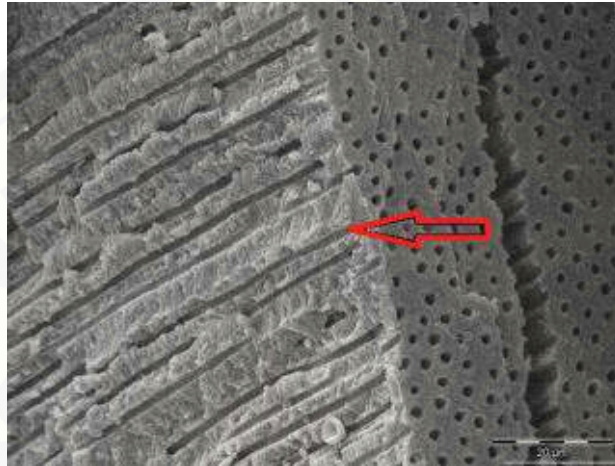
Dentin merupakan bagian yang terluas dari struktur gigi yang meliputi seluruh panjang gigi mulai dari mahkota hingga akar. Dentin terletak di bawah enamel pada bagian mahkota dan terletak di bawah sementum pada bagian akar serta mengelilingi pulpa dan merupakan jaringan termineralisasi yang membentuk ketebalan gigi yang dibentuk dari odontoblast yang berasal dari ektomesenkim. Dentin terdiri dari 70% bahan anorganik terutama kristal hidroksiapatit ($(Ca_{10}(PO)_4)_6(OH)_2$), 20% matriks organik, sebagian besar terdiri dari kolagen (sekitar 90%) dan 10% air. Kristal hidroksiapatit ini mirip dengan yang ditemukan

pada enamel tetapi dengan presentase yang lebih rendah sehingga dentin lebih lunak mudah dipotong menggunakan bur gigi daripada enamel (Nasution,2016). Dentin lebih lembut daripada enamel dan membusuk lbih cepat serta lebih mudah untuk mengalami kerusakan jika tidak diraat sebagaimana mestinya. Namun tetap berfungsi sebagai lapisan protektif/ pelindung dan penyokong mahkota gigi (Combe, 1992).

Berdasarkan waktu pembentukannya, dentin dapat dibagi atas tiga macam yaitu dentin primer, dentin sekunder dan dentin tersier. Dentin primer adalah dentin yang dibentuk pada saat pre-natal. Bagian ini merupakan bagian dentin yang paling keras belum termineralisasi dan berada langsung di bawah lapisan enamel. Bagian ini terdapat mantel dentin yang dibawahnya terdapat sirkum pulpa, dengan ketebalan sekitar 6-8 mm pada area mahkotanya, dentin sirkumpulpa menjadi bagian terbesar dentin primer. Dentin sekunder (*irregular dentin*) merupakan dentin yang mengisi sepanjang dinding terluar dari pulpa. Pembentukan dentin sekunder lebih lambat dan termineralisasi lebih sedikit dibandingkan dentin primer. Beberapa gigi seperti gigi molar, dentin sekunder terdeposisi lebih banyak pada atap dan lantai kamar pulpa untuk melindungi pulpa dari tekanan oklusal. Proses pembentukan dentin sekunder menyebabkan ruang saraf berubah volumenya menjadi semakin kecil (Nasution, 2016). Dentin tertier (*reparative dentin*) adalah dentin yang terbentuk sebagai respon terhadap rangsangan eksternal (karies, kebocoran mikro). Dentin ini dideposisi di bawah lokasi cedera (Patel, 2013).

Dentin tersusun dalam bentuk tubulus yang didukung oleh anyaman serabut-serabut kolagen yang mengalami kalsifikasi. Tubulus tersebut berisi perluasan odontoblas yang hidup, yang badan sel-selnya berada pada pinggir pulpa dan bersebelahan dengan dentin yang sedang dibentuk. Jumlah tubulus per unit di dekat pulpa adalah lebih banyak bila dibandingkan dengan yang terdapat pada pertautan enamel-dentin. Tubulus tersebut cenderung lebih kecil pada pertautan enamel, karena dinding tubulus cenderung mengalami kalsifikasi, menghasilkan lumen yang lebih kecil. Tubulus dentin dipenuhi dengan lubang-lubang kecil di seluruh ketebalan dentin, yang menunjukkan bahwa dentin

tersebut terisi anyaman saluran-saluran yang kecil. Saluran ini mengandung perluasan odontoblast yang vital, dan biasanya jumlahnya begitu banyak sehingga setiap saat dentin tersebut tersentuh akan terasa sakit (Baum dkk, 2002). Struktur mikro tubuli dentin memiliki diameter antara 0,8 hingga 2,2 mikrometer dan panjangnya tergantung radius gigi (Combe, 1992).



Gambar 2.7. Tubuli dentin yang normal (Combe,1992)

2.8 Scanning Electron Microscope (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah sebuah mikroskop elektron yang didesain untuk mengamati permukaan objek solid secara langsung. SEM memiliki perbesaran 10 – 3.000.000 kali, depth of field 4 – 0.4 mm dan resolusi sebesar 1 – 10 nm. Kombinasi dari perbesaran yang tinggi, depth of field yang besar, resolusi yang baik, kemampuan untuk mengetahui komposisi dan informasi kristalografi membuat SEM banyak digunakan untuk keperluan penelitian dan industri. SEM memfokuskan sinar elektron (electron beam) di permukaan obyek dan mengambil gambarnya dengan mendeteksi elektron yang muncul dari permukaan obyek. (Farikhin, 2016). SEM tidak memerlukan sampel yang ditipiskan sehingga gambar yang ditampilkan dalam layer dapat dilihat secara 3 dimensi. (Abdullah dkk, 2008).

Pengembangan mikroskop elektron mulai pada tahun 1920-an. Dengan pimpinan ilmuwan asal Jerman Ernst Ruska dan Max Knoll, *Transmission Electron Microscopy* (TEM) dikembangkan pada tahun 1930-an oleh Ruska.

Karena hasil penemuan tersebut yang mengejutkan dunia, Ernst Ruska mendapat penghargaan Nobel Fisika pada tahun 1986. Tidak jauh dari lahirnya TEM, SEM dikembangkan pertama kali tahun 1938 oleh Manfred von Ardenne. Cara terbentuknya gambar pada SEM berbeda dengan apa yang terjadi pada mikroskop optik dan TEM. Pada SEM gambar dibuat berdasarkan deteksi elektron baru (elektron sekunder) atau elektron pantul yang muncul dari permukaan sampel ketika permukaan sampel tersebut diberi sinar elektron. Elektron sekunder atau elektron pantul yang terdeteksi selanjutnya diperkuat sinyalnya, kemudian besar amplitudonya ditampilkan dalam gradasi gelap-terang pada layar monitor cathode ray tube (CRT). Di layar CRT inilah gambar struktur obyek yang sudah diperbesar supaya bisa dilihat (Sandrasegaram, 2015). Identifikasi struktur mikro menggunakan SEM tidaklah sekedar pengambilan gambar dan fotografi, tetapi harus dilakukan dengan teknik dan metode operasi yang benar mengingat proses pembentukan image pada alat ini merupakan proses fisika yang merupakan interaksi korpuskular antara elektron sumber dengan atom pada bahan. Meskipun sinyal data yang dihasilkan cukup kuat dibanding mikroskop optik atau XRD, tetapi karena seringkali obyek pengamatan yang terbilang kecil, SEM dapat memberikan kontras yang relatif rendah terlebih pada perbesaran tinggi. Oleh karena itu SEM harus dioperasikan dengan pengaturan parameter elektron seperti high voltage, spot size, bias dan beam current juga parameter optik seperti kontras, fokus dan astigmatismus yang tepat sehingga diperoleh hasil gambar yang optimal secara ilmiah dan tidak memberikan interpretasi ganda. Selain itu, proses pengambilan gambar dan analisis kimia dengan SEM sangatlah dipengaruhi oleh jenis sampel berikut cara penanganannya serta teknik preparasinya disamping kemampuan operasional dari operator nya (Sujatno dkk, 2015).

Penggunaan SEM pada penelitian untuk melihat struktur enamel maupun dentin telah banyak dilakukan, karena SEM memiliki perbesaran hingga dua juta kali sehingga lebih akurat dalam melihat struktur enamel maupun dentin (Widyaningtyas, 2013). Struktur permukaan dentin gigi dapat dilihat menggunakan SEM, sedangkan pengukuran kedalaman dengan menggunakan

SEM dilakukan dengan memotong melintang sampel sehingga kedalaman degradasi dentin akan terlihat (Sandrasegaram, 2015).

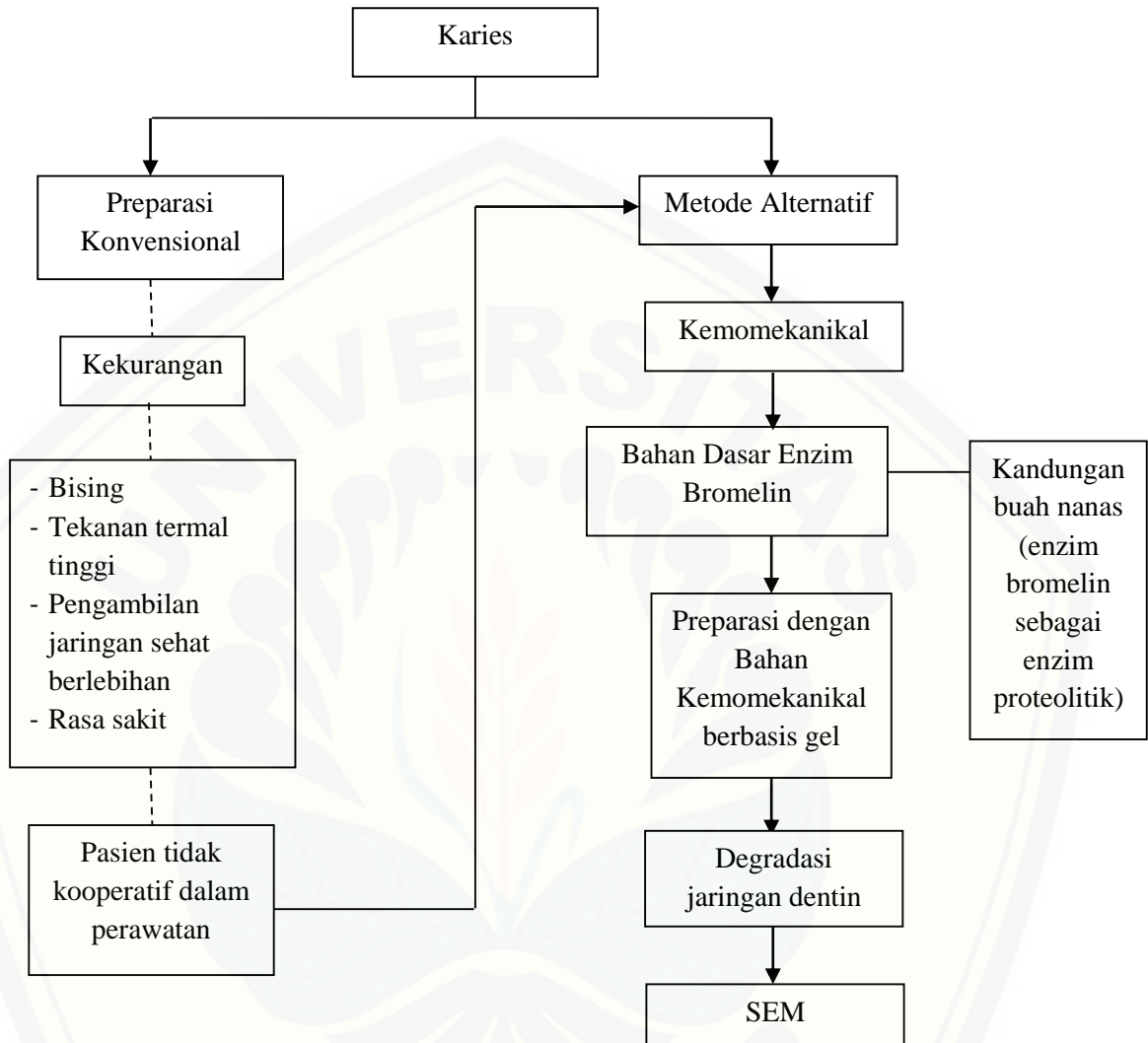


Gambar 2.8. *Scanning Electron Microscope* (Sumber: JEOL,2013).

2.9 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L.Merr*) yang diaplikasikan pada lapisan dentin dengan konsentrasi 12% memiliki kedalaman degradasi lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 8% dan 10%.

2.10 Kerangka Konsep



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian eksperimental laboratoris merupakan suatu penelitian yang ditujukan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memberikan intervensi atau memanipulasi variabel satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat, kemudian membandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak dimanipulasi atau diintervensi aktif (Notoatmojo, 2010).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design* yaitu dengan mengukur kedalaman degradasi dentin setelah diberi perlakuan aplikasi sediaan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) secara digital menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Kebun Raya Purwodadi – Pasuruan, Jawa timur untuk identifikasi buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*), Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dan aplikasi enzim pada lapisan dentin, Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu untuk pemotongan gigi dan Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember untuk analisa kedalaman degradasi dentin menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2018.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah enzim bromelin buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) berbasis sediaan gel yang diaplikasikan pada dentin gigi manusia dengan konsentrasi 8%, 10% dan 12%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kedalaman degradasi lapisan dentin.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Prosedur penelitian.
- b. Tingkat ketelitian alat yang digunakan (sentrifugator, neraca digital, *Scanning Electron Microscope* (SEM).
- c. Waktu aplikasi enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) berbasis sediaan gel pada gigi premolar rahang atas.
- d. Sampel gigi premolar manusia rahang atas.

3.4.4 Variabel Tidak Terkendali

- a. pH daging buah nanas.
- b. Tekanan dan kestabilan instrumen bur pada saat preparasi gigi premolar rahang atas.
- c. Struktur kimia gigi.

3.5 Definisi Operasional Penelitian

3.5.1 Enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) berbasis sediaan gel.

Enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) merupakan hasil dari ekstrak daging dan bonggol buah nanas yang sudah matang varietas Kabupaten Blitar yang didapat dari metode ekstraksi yang dilanjutkan dengan penambahan basis gel sehingga sediaan yang dihasilkan berbentuk gel. Sediaan gel yang dihasilkan berwarna bening

dengan konsistensi semi padat yang dibuat menjadi 3 konsentrasi yaitu sebesar 8%, 10% dan 12% dengan waktu aplikasi selama 2 menit.

3.5.2 Degradasi dentin

Degradasi dentin adalah rusaknya lapisan dentin yang ditunjukkan dengan bentukan lubang-lubang irregular berukuran mikro pada lapisan permukaan dentin yang terbentuk setelah aplikasi enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) pada permukaan dentin yang telah dipreparasi kemudian diamati kedalamannya dengan menggunakan *SEM* yang diukur dari permukaan dentin sampai dasar lubang atau kavitas.

3.5.3 *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah sebuah mikroskop elektron yang memiliki perbesaran obyektif mencapai dua juta kali untuk mengukur kedalaman degradasi dentin setelah aplikasi enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) pada gigi premolar rahang atas. Penelitian ini menggunakan SEM dengan merk *Hitachi*® *TM3030 Plus*.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Gigi premolar rahang atas yang utuh dan bukan merupakan gigi yang baru diekstraksi.
- b. Permukaan enamel dan dentin gigi premolar rahang atas tanpa karies.
- c. Tidak terdapat anomali.
- d. Tidak terdapat kotoran atau karang gigi pada mahkota gigi premolar rahang atas.

3.6.2 Besar Sampel Penelitian

Menurut Daniel (2005:12), penentuan besar sampel menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

n = jumlah sampel minimum

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

Z = nilai koefisien kepercayaan, bila besarnya 95%, maka $Z = 1,96$

Hasil perhitungan sampel adalah sebagai berikut:

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

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84 = 4$$

Besar sampel yang diperoleh dari rumus diatas adalah minimum 4 sampel untuk masing-masing kelompok.

3.6.3 Pengelompokkan Sampel

Sampel dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, masing-masing perlakuan terdapat 4 sampel dengan rincian sebagai berikut:

- a. Kelompok A (kelompok kontrol) menggunakan 4 sampel gigi premolar rahang atas tanpa diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*).
- b. Kelompok B, menggunakan 4 sampel gigi premolar rahang atas yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan konsentrasi 8% selama 2 menit.
- c. Kelompok C, menggunakan 4 sampel gigi premolar rahang atas yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan konsentrasi 10% selama 2 menit.

- d. Kelompok D, menggunakan 4 sampel gigi premolar atas yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan konsentrasi 12% selama 2 menit .

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Safeside separating disk
2. Minigrinder
3. Sentrifugator *Hettich*© *Mikro 22R*
4. Tabung ependorf 2 ml
5. Lemari pendingin
6. Tabung reaksi *Pyrex*©
7. Labu ukur *Pyrex*©
8. Gelas kimia *Pyrex*©
9. Kain katun (saringan kain)
10. Pisau
11. Panci
12. Kompor
13. Sendok
14. Mangkuk besar
15. Neraca digital *Pioneer*© *PA323, USA*.
16. Blender
17. Mikropipet
18. Stopwatch
19. Termometer
20. Pinset
21. Pipet volume
22. *Erlemeyer Pyrex*©
23. Pot obat.
24. pH meter.
25. Spidol, isolasi, kertas label.

26. *Scanning Electro Microscope (SEM) Hitachi© TM3030Plus.*

27. Mikrobrush.

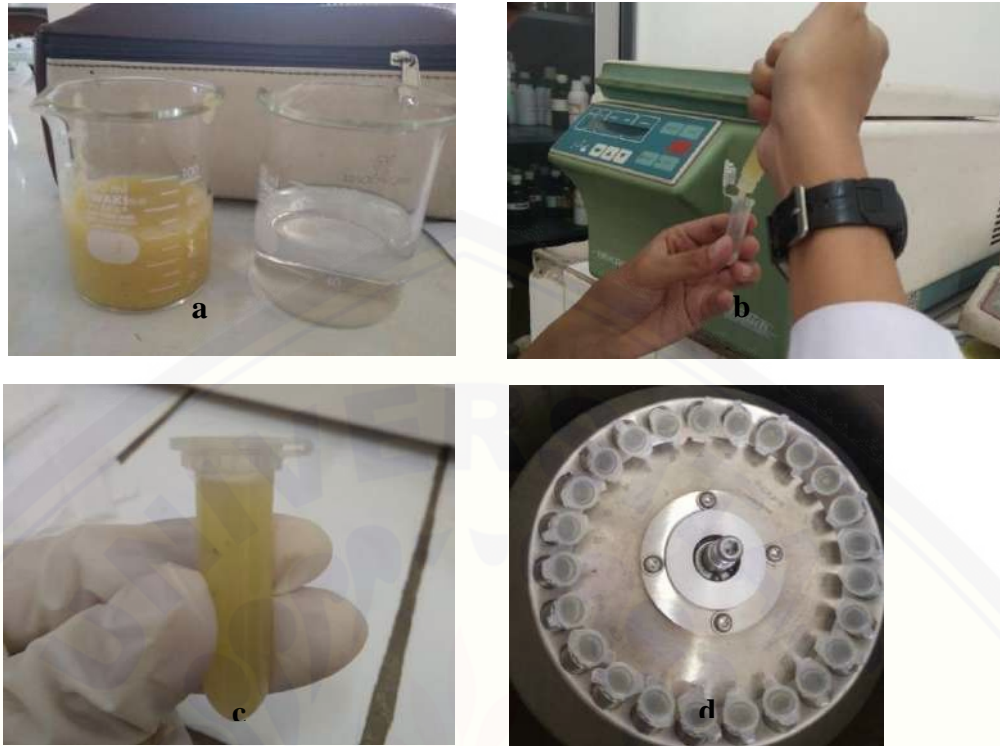
3.7.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Daging buah dan bonggol nanas (*Ananas comosus L. Merr*) matang yang memiliki aroma manis, kulit kuning keemasan, daun berwarna hijau segar, mata nanas berkembang dan tidak keras yang diambil dari Kabupaten Blitar.
2. Gigi premolar rahang atas.
3. NaOH 0,1 N.
4. Buffer fosfat pH 7,5
5. Etanol 80%
6. Basis gel HPMC (Hydroxypropyl Metyl Cellulose)
7. Metil paraben
8. Gliserin
9. Aquades steril
10. Larutan saline.

3.8 Prosedur Penelitian

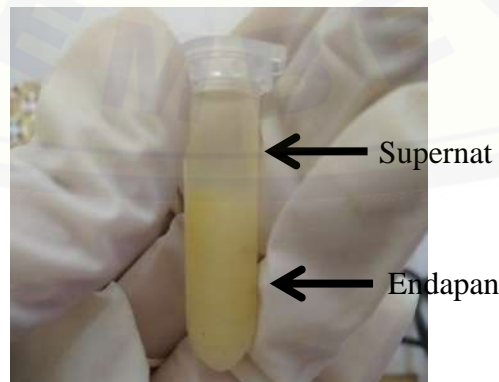
3.8.1 Tahap isolasi enzim bromelin

- a. Daging buah nanas dan bonggol dibersihkan, dipotong-potong dan dihaluskan menggunakan blender kemudian dicampurkan dengan bufer fosfat pH 7,5 dingin sedikit demi sedikit sampai 1: 1. Larutan yang diperoleh disentrifugasi pada 3000 rpm selama kira-kira 15 menit pada suhu 15°C. Isolasi enzim ini dilakukan dengan metode ekstraksi. Tujuan ekstraksi adalah untuk mengeluarkan enzim dari dalam sel-sel jaringan buah nanas (Wuryanti, 2004).



Gambar 3.1. (a) Daging dan bonggol buah nanas yang sudah dihaluskan dan buffer fosfat pH 7, (b) Buah nanas dan buffer fosfat telah dihomogenisasi dengan perbandingan 1:1 dimasukkan ke dalam tabung ependorf 2 ml, (c) Tabung ependorf 2 ml yang berisi campuran buah nanas dan buffer fosfat yang sudah dihomogenisasi, (d) Tabung ependorf dimasukkan ke dalam sentrifugator untuk proses pemisahan campuran (dokumentasi pribadi, 2018).

- b. Selanjutnya supernatan dipisahkan dari endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) kasar.

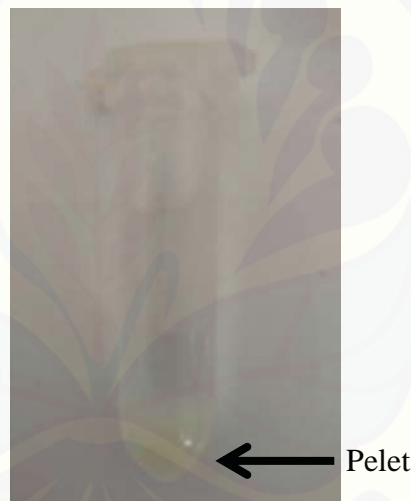


Gambar 3.2. Tabung ependorf yang telah dilakukan sentrifugasi. Nampak terbentuk supernatan dan endapan (dokumentasi pribadi, 2018)

3.8.2 Tahap pemurnian enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*).

Pemurnian enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dilakukan menurut Sebayang (2006) yang dimodifikasi.

- a. Enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) kasar dipresipitasi menggunakan etanol 80 % dengan perbandingan enzim bromelin ekstrak daging buah nanas (*Ananas comosus*) kasar dengan etanol adalah 1:4 dan didiamkan semalam pada temperatur kurang lebih 6°
- b. Campuran disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 13000 rpm pada temperatur 4°C.
- c. Pelet kemudian dilarutkan dengan buffer fosfat pH 7.



Gambar 3.3. Tabung ependorf yang telah dilakukan sentrifugasi. Nampak terbentuk pelet (dokumentasi pribadi, 2018)

3.8.3 Pengenceran enzim bromelin ekstrak 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):

$$M1.V1=M2.V2$$

M1 : Konsentrasi awal

- V1 : Volume awal
M2 : Konsentrasi akhir
V2 : Volume akhir

3.8.4 Pembuatan Sediaan Gel

- 7 gr bahan dasar gel HPMC dilarutkan kedalam 30 ml aquades pada suhu 80°C hingga mengembang dan diaduk sampai terbentuk basis gel.
- Metil paraben 0,2 gr dilarutkan pada aquades dan dipanaskan hingga larut kemudian ditambahkan pada basis.
- Ekstrak enzim bromelin sebesar 10 gr dibasakan dengan NaOH 2 ml kemudian ditambahkan kedalam gliserin sebesar 15 gr.
- Campuran ekstrak dan gliserin kemudian ditambahkan ke dalam basis gel dan diaduk hingga homogen.
- Sisa aquades ditambahkan hingga berat gel menjadi 100 gr.
- Sediaan gel yang didapat disimpan pada wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar.



Gambar 3.4. Sediaan gel yang telah disimpan pada wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar (dokumentasi pribadi, 2018)

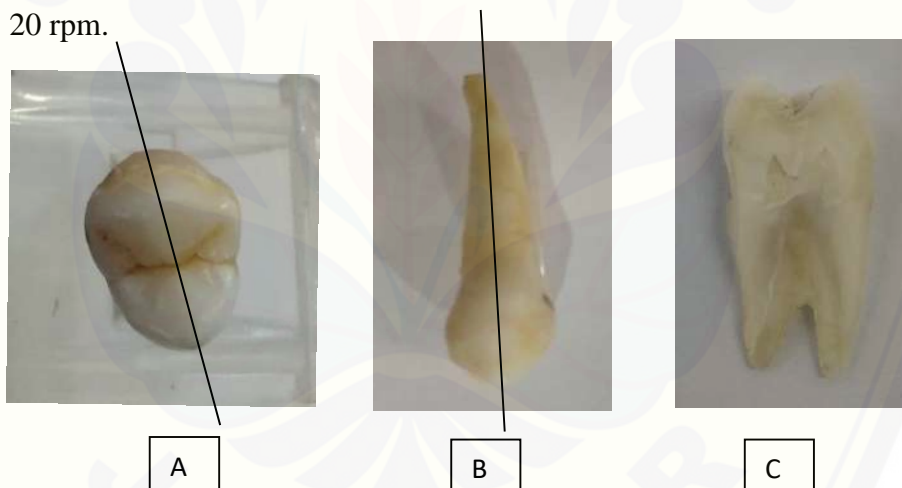
3.8.5 Persiapan Sampel

- a. Mempersiapkan gigi premolar rahang atas.



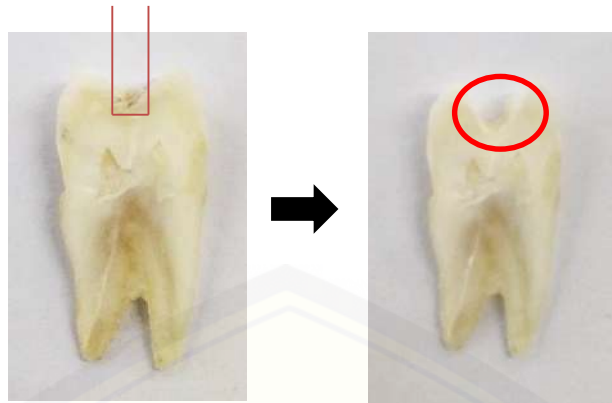
Gambar 3.4. Gigi premolar atas pandangan mesial (dokumentasi pribadi, 2018)

- b. Memotong mahkota gigi secara vertikal sampai akar pada arah buko-palatal sehingga memisahkan bagian mesial dan distal menggunakan diamond disc. Pemotongan gigi menggunakan lowspeed dengan kecepatan 20 rpm.



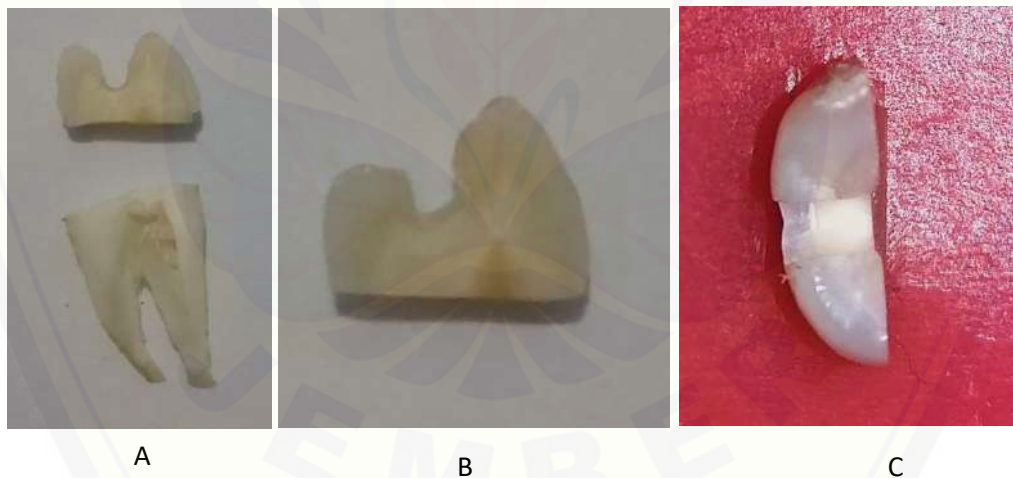
Gambar 3.5. (a) Gigi premolar atas dipotong secara vertikal dari mahkota sampai akar dilihat dari pandangan oklusal (b) Gigi premolar atas dipotong secara vertikal dari mahkota sampai akar dilihat dari pandangan labial (c) Potongan gigi premolar yang telah dipotong secara vertikal dilihat dari pandangan mesial (dokumentasi pribadi, 2019).

- c. Potongan gigi yang telah dipotong secara vertikal tersebut dilakukan preparasi pada bagian pit hingga mencapai dentin dengan kedalaman 2 mm dari pit menggunakan bur bulat yang dilanjutkan dengan bur silindris dan melebar ke arah bukal dan palatal. Preparasi gigi menggunakan lowspeed dengan kecepatan 35 rpm.



Gambar 3.6. Preparasi pada bagian pit hingga mencapai dentin dengan kedalaman 2 mm dari pit

- d. Setelah dilakukan preparasi diatas, dilakukan pemotongan secara horizontal menggunakan diamond disc pada semento enamel junction untuk memisahkan bagian akar gigi dan mahkota gigi, bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel pada saat dilakukan analisa SEM.



Gambar 3.7. (a) Gigi premolar yang telah dipotong secara horizontal pada semento enamel junction sehingga mahkota dan akar terpisah (b) Sampel yang dilakukan penelitian adalah bagian mahkota gigi (c) Sampel nampak oklusal (dokumentasi pribadi, 2018).

- e. Sampel disimpan ke dalam larutan saline pada suhu kamar.
f. Larutan saline diganti setiap 2 hari sekali sampai penelitian akan dilaksanakan dengan tujuan untuk menjaga kelembaban gigi sehingga gigi

tidak mengalami perubahan saat dilakukannya penelitian, karena gigi yang kering dapat mempengaruhi ketahanan gigi terhadap suatu beban (Sintawati, 2008)

- g. Jika sampel akan digunakan, sampel dicuci terlebih dahulu menggunakan aquades steril.

3.8.6 Tahap Perlakuan Sampel

1. Sampel dicuci menggunakan aquades steril dan dikeringkan menggunakan tisu.
2. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yang masing-masing diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) ± 0.5 mm dari dasar kavitas yang terbuka menggunakan microbrush dengan rincian sebagai berikut (Felizardo dkk, 2018) (Gambar 3.8):
 - a. Kelompok A (kelompok kontrol) menggunakan 4 sampel gigi premolar atas tanpa diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*).
 - b. Kelompok B, menggunakan 4 sampel gigi premolar atas yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan konsentrasi 8% selama 2 menit.
 - c. Kelompok C, menggunakan 4 sampel gigi premolar atas yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan konsentrasi 10% selama 2 menit.
 - d. Kelompok D, menggunakan 4 sampel gigi premolar atas yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dengan konsentrasi 12% selama 2 menit.
3. Sampel yang sudah didiamkan selama 2 menit, gel dibersihkan menggunakan ekskavator kemudian dilakukan pembilasan pada dasar kavitas menggunakan aquades steril sehingga sisa-sisa gel menghilang.



Gambar 3.8. Area yang diaplikasikan gel enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) yaitu pada permukaan luar dentin yang telah dipreparasi (dokumentasi pribadi, 2018).

3.8.7 Tahap Pembuatan Spesimen SEM

3.8.7.1 Persiapan Sampel (Husniah, 2017)



- a. Cuci sampel dan bersihkan permukaan dentin dari kotoran atau sisa-sisa serbuk gigi yang menempel.
- b. Keringkan sampel dengan chip blower
- c. Setelah 24 jam, sampel diambil dan siap dianalisa menggunakan SEM tanpa coating.
- d. Letakkan *conductive tape* pada *stube* yang terletak pada *holder* dengan ukuran 1 cm x 1 cm.
- e. Letakkan sampel yang akan diteliti diatas *conductive tape* agar sampel menempel dan tidak terjatuh ketika dimasukkan dalam unit SEM. Sampel diletakkan dengan bagian dentin dan pulpa yang terekspose pasca pemotongan secara vertikal menggunakan diamond disc berada di atas (Gambar 3.9).
- f. Mengatur permukaan spesimen yang berada pada *stube* agar tidak bersentuhan dengan *height gauge*.



Gambar 3.9. Posisi sampel yang diletakkan pada holder (dokumentasi pribadi,2018).

3.8.7.2 Proses Pengambilan Gambar menggunakan SEM

Proses pengambilan gambar menggunakan unit SEM *Hitachi*© *TM3030Plus* sebagai berikut (Husniah, 2017)

- a. Letakkan sampel yang telah diatur di dalam unit SEM.
- b. Apabila telah didapatkan gambaran yang sesuai dan diinginkan, maka ambil gambar dengan perbesaran yang sesuai.
- c. Pilih *freeze* untuk mengambil gambar, lalu klik menu edit. Selanjutnya pilih *data entry/set measurement*. Klik icon  pilih daerah degradasi yang akan diukur kedalamannya dengan cursor dengan menarik garis dari dasar kavitas irregular sampai permukaan dentin, maka akan terlihat kedalaman degradasi secara otomatis dalam skala μm . Untuk memberikan text pada hasil yang diperoleh, klik icon .
- d. Pilih *save* untuk menyimpan gambar.

3.8.8 Kriteria Penilaian Sampel

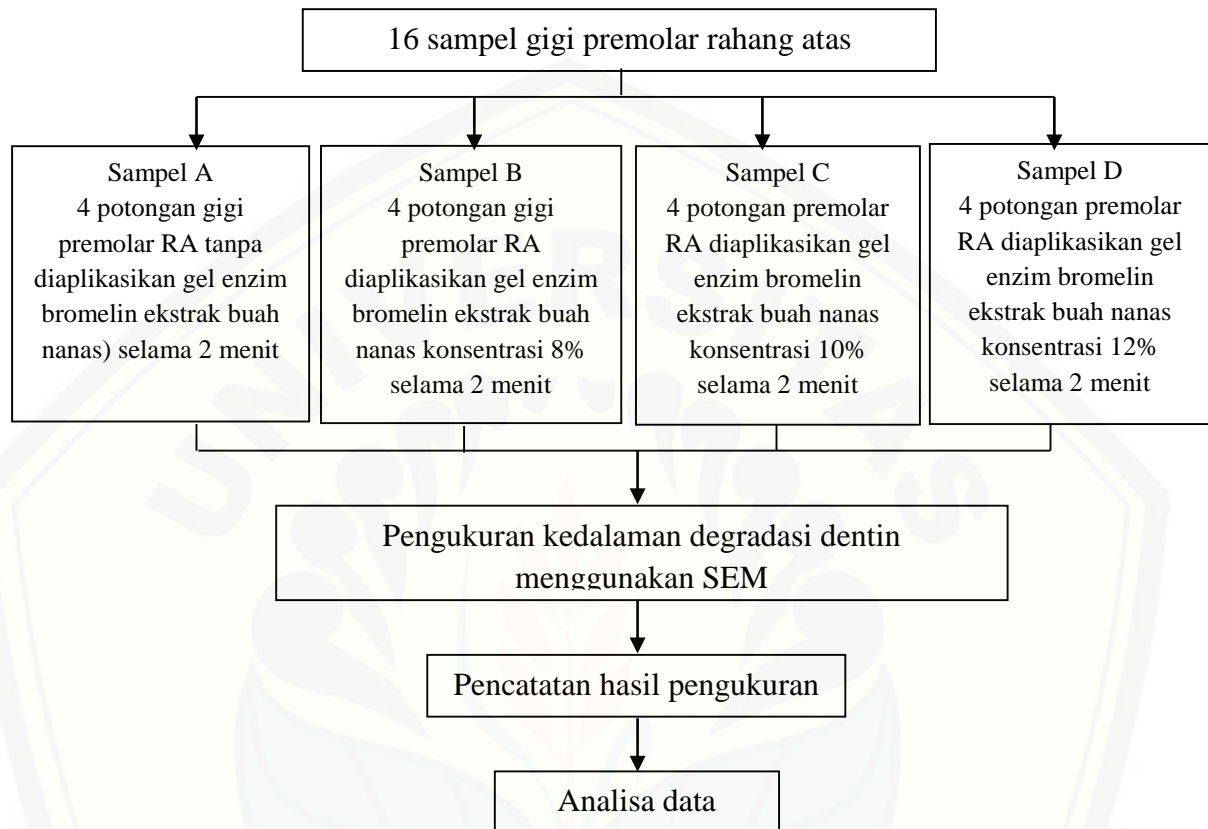
Kriteria penilaian sampel adalah berdasarkan kedalaman degradasi dentin yang terjadi yang kemudian dihitung rata-rata kedalaman degradasi lapisan dentin yang diukur dari permukaan dentin sampai dasar lubang atau kavitas menggunakan software SEM *Hitachi*© *TM3030Plus* . Hasil rata-rata kedalaman degradasi lapisan dentin tiap sampel menunjukkan tingkat degradasi pada dentin.

3.9 Analisa Data

Data hasil penelitian yang didapat dilakukan adalah uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena sampel penelitian kurang dari 50 sedangkan uji homogenitas dengan menggunakan *levene test*. Selanjutnya apabila data berdistribusi normal dan homogen dilakukan uji statistik *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji beda yaitu uji LSD untuk mengetahui signifikansi perbedaan yang diperoleh. Jika data menunjukkan terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji statistik non-parametrik *Kruskal Wallis* untuk membandingkan data masing-masing kelompok perlakuan dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna antar kelompok peneliti.

3.3 Alur Penelitian

3.10.4 Alur Perlakuan



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa enzim bromelin ekstrak buah nanas (*Ananas comosus L. Merr*) berbasis sediaan gel pada konsentrasi 10% efektif dalam mendegradasi kolagen pada lapisan dentin dibandingkan konsentrasi 8% dan 12%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, penulis dapat memberikan saran sebagai berikut; untuk penelitian selanjutnya:

1. Perlu dilakukan penambahan variabel waktu pada setiap kelompok penelitian.
2. Sampel yang digunakan dapat diganti menggunakan elemen gigi yang telah mengalami karies.
3. Perlu dilakukan pengukuran unit aktifitas enzim untuk mengetahui tingkat kemurnian pada suatu konsentrasi.
4. Perlu dilakukan fiksasi sampel gigi pada balok malam sehingga pada saat dilakukan preparasi menggunakan bur dapat stabil.
5. Perlu penggantian mata bur tiap beberapa sampel agar tetap terjaga dari keausan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M., Virgius, Yudistira, Nirmin dan Khairurrijal. 2008. Sintesis Nanomaterial, Jurnal Nanosains dan Nanoteknologi Vol. I : 33 – 57.
- Anam, C., N, S. Rahayu, dan M, Baedowi. 2003. Aktivitas Enzim Bromelin terhadap Mutu Fisik Daging. Seminar Nasional dan Pertemuan Tahunan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). Yogyakarta.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI Riset Kesehatan Dasar 2018.
<http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-risikesdas-2018.pdf> [Diakses pada 26 April 2019].
- Banerje, A., T.F Watson, E.A.M Kidd., 2000, Dentine Caries Excavation: a Review of Currnt Clinical Techniquis, British Dental Journal, 188 (9): 476-82
- Bartholomew, D.P., R.E. Paull, and K.G. Rohrbach (eds). 2003. The pineapple: botany, production, and uses. CABI, Wallingford, UK.301 p
- Baum, L., Phillips R. W., dan Lund, M. R. 2002. Buku Ajar Ilmu Konservasi Gigi. Alih bahasa Rasinta Tarigan. Jakarta. EGC.
- Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemomechanical Caries Removal: A review of the Techniques and Latest Development. British Dental Journal.2000: 188:427-430.
- BRIX S.R.L, 2014. <http://www.brix-lab.com/index.php/en/brix3000-3> [2 Agustus 2018]
- Bussadori, S.K., Castro, L.C., Galvao, A. C., 2005. Papain Gel: A New Chemo-Mchanical Caries Rmoval Agent, J Clin Pediatr Dent, 30 (20): 115-120

- Cambell, Neil A. dan Reece, Jane B. 2008. *Biologi Edisi kedelapan Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Collins, J. L. 1968. *Pineapple Botany, Cultivation and Utilization*. Leonard Hill Book. London. 292 p.
- Combe, E.C., 1992, *Sari Dental Material* (terj.), Balai Pustaka, Jakarta, h. 270- 276.
- Cooreman. W.M., S. Scharpé, J. Demeester, and A. Lauwers. 1976. Bromelain, biochemical and farmakologis properties. *Pharm. Acta Helv.* 4: 73-97.
- Daniel, W. W. 2005. *Biostatic A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Eight Edition. Georgia: Willey. h.12
- Danimayostu, A. A., Shofiana, N. M., & Permatasari, D. (2017). Pengaruh Penggunaan Pati Kentang (*Solanum tuberosum*) Termodifikasi Asetilasi- Oksidasi sebagai Gelling agent terhadap Stabilitas Gel Natrium Diklofenak The Effect of Acetylation – Oxidation Modified Potato Starch (*Solanum tuberosum*) as Gelling agent o. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 3(1), 25–32.
- Departement of Horticulture and Soil Conservation, Government of Tripura, India (2007)
- Deptan (Direktorat Jendral Tanaman Pangan dan Hortik ultura. Direktorat Bina Produksi Hortikultura). 2000. *Informasi Hortikultura dan Aneka Tanaman*. Jakarta
- Donald, K.T.,1997, *Fruit and vegetabel Juice Processing Technology*, 2nd, The AUI publising, p.180.
- Farikhin, F. 2016. *Analisa Scanning Electron Microscope Komposit Polyester dengan Filler Karbon Aktif dan Karbon Non Aktif. Skripsi*. Surakarta: Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Felizardo, Klissia R., Barradas, Nayara P. A., Guedes, Gabriella F. 2018. *Use of Brix-3000 Enzymatic Gel in Mechanical Chemical*

Removal of Caries: Clinical Case Report. Journal Health Science
Vol. 20(2): 87-93

Fernanda NPC, Leonardo ERF, Celia RMD. Chemical Versus conventional Caries Removal Techniques in Primary Teeth: A Microhardness Study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry.* 2007;31:189-194

Ganesh, M., Parikh, D., 2011, Chemomechanical Caries Removal (CMCR) Agents: Review and Clinical Application in Primary Teeth, *Journal of Dentistry and Oral Hygiene*, 3 (3): 34-45

Gartika, M., Satari, M.H., 2010, Chemo-Mechanical Caries Removal dengan Hipoklorit Sebagai Alternatif Pembuatan Jaringan Karies Dentin pada Gigi Sulung, *Proceedings Dies Natalis Universitas Padjajaran ke-52.*

Gharla, B. K., 2013, *Green Dentistry: Ecofriendly Dentistry: Benefical for Patients, Benefical for Environment, Annals and Essences of Dentistry*, 4 (1): 72-74

Hadiati, Sri dkk. 2008. *Budidaya Nenas.* Solok: Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika

Irfan S, Rahmanisa S. Pengaruh Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas Comosus L.*) terhadap Awal Khamilan. 2016. *Journal of Medical.* Lampung: Universitas Lampung. Vol 5. No 4

Ismiawati, I.D., 2009. Analisis Sifat Mekanik dan Struktur Kristal Hidroksiapatit pada Enamel Gigi Akibat Paparan Laser Nd-YAG. Skripsi Program Sarjana. Surabaya : UNAIR

JEOL, 2013. JSM-7600F Scanning Electron Microscope. <http://www.jeol.com/PRODUCTS/ElectronOptics/ScanningElectronMicroscopesSEM/SemiinLensFE/JSM7600F/tabid/519/Default.aspx>. [1 Agustus 2018].

Ketnawa, Sai-Ut, Theppakorn, Chaiwut & Rawdkuen, S. 2009. Partitioning Of Bromelain From Pineapple Peel (Nang Lae

- Cultv.) By Aqueous Two Phase System. *As. J. Food Ag-Ind*, 2 (04): 457-468.
- Kumar, M. P., Nandakumar, K., Sambashivarao, P., Sandhya, P.S., 2011, Chemo Mechanical Caries Removal- A New Horizon, *Indian Journal of Dental Advancement*, 3 (4): 668-672.
- Kurniawati, Vinna. 2014. *Jurnal Ilmiah Universitas Kristen Maranatha volume 3:Manfaat Keasaman Yoghurt dalam Pecegahan Karies Gigi*. Bandung: Universitas Kristen Maranatha
- Lehninger, Albert L., (1990), *Dasar-dasar Biokimia jilid I*, Jakarta: Erlangga
- Lismawati, Razali dan Teuku R.F. 2017. Daya Pengempukan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) dan Buah Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Daging Paha Ayam Dinilai Dari Daya Putus dan Gambaran Mikroskopis. *Jurnal Fakultas Kedokteran Hewan. Aceh: Universitas Syiah Kuala*. Vol.01(4): 788-793
- Lopes, M.C., Mascarini, R.C., Garcia da Saliva, B. M. C., Florio, F. M., Basting, R.T., 2007, Effect of a Papain-based Gel for Chemomechanical Caries
- Manurung, Nasriana S., Dewi, Aninda K., Dhartono, Agus P., 2013. *Jurnal Berkala Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Gigi Indonesia Vol. 2 Edisi 1: Papain-Based Gel Sebagai Agen Chemo-Mechanical Caries Removal yang Ramah Lingkungan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Nasution, Abdillah. 2016. *Jaringan Keras Gigi- Aspek Mikrostruktur dan Aplikasi Riset*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta. h.67
- Nurliyani. 2009. *Metode Isolasi Enzim Bromelin dan Papain*. Materi Ajar Praktikum Mata Kuliah Bioproses Hasil Ternak. Program Pascasarjana Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Patel, Shanon. 2013. *The principles of endodontics*. Second Edition. Oxford: Oxford Univ. Press.
- Permatasari, R. 2009. Concept of Minimal Intervention in Restorative Dentistry, Proceedings of the 15th scientific meeting and refresher cours in dentistry, Universitas Indonesia..
- Raad Niama Dayem, Mona Adnan Tameesh.2013. Journal Contemporary Clinical Dentistry:A new concept in hybridization: Bromelain enzyme for deproteinizing dentin before application of adhesive system
- Rahmat, Deni., Ratih, Dian., Bathini, Meilda A., 2016. *Peningkatan Aktifitas Antimikroba Ekstrak Nanas (Ananas comosus L.Merr) dengan Pembentukan Nanopartikel*. Jurnal Sains dan Kesehatan. Vol 1 No 5.
- Rakhmat. F dan H. Fitri. 2007. Budidaya dan Pasca Panen nanas. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Kalimantan Timur.
- Riana, E. 2012. Keanekaragaman Genetik Nenas (Ananas comosus L.Merr.) di Kabupaten Kampar Provinsi Riau Berdasarkan Karakterisasi Morfologi dan Pola Pita Isozim Peroksinase. Skripsi. Fakultas Matematika dan Jurusan Ilmu Pengetahuan Alam. Univesitas Riau
- Robinson, R.C. Shor, S.J Brookes, S. Stafford, S.R. Wood and J. Kirkham. 2000. The Chemistry of Enamel Caries. Journal of Oral Biology. United Kingdom: University of Leeds. Vol.1 (4) 481-495
- Rukmana Rahmat. 1996. Nanas Budidaya dan Pascapanen. Yogyakarta : Kanisius
- Sadikin, Mohamad. 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta : Widya Medika.
- Sandrasedgaram, D. 2015. Mikrostruktur Dentin Tertier Gigi Molar Penyirih di Pancur Batu Medan dengan Scanning Electron Miroscope. *Skripsi*. Medan: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara

- Sebayang, F. 2006. *Pengujian Stabilitas Enzim Bromelin yang Diisolasi dari Bonggol Nenas serta Imobilisasi Menggunakan Kappa Karagenan*. Jurnal Sains Kimia, 10 (1): 20-26.
- Shahib, N. 2005. *Biologi Molekular Medik I*. Unpad Press. Bandung. 164-167
- Sharma, S., 2008, Topical Drug Delivery System : a Review, Pharmaceut. Rev., 6, 1- 29.
- Singh, T., V. More, U. Fatima, T. Karpe, M. Alem, J. Prameela. 2016. *Effect of proteolytic enzyme bromelain on pain and swelling after removal of third molars*. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*. 6(3): 197-204.
- Sintawati, J., S. H. Soemartino, dan M. Suharsini. 2008. Pengaruh Durasi Aplikasi Asam Fosfat 37% terhadap Kekuatan Tekan Geser Restorasi Resin Komposit pada Enamel Gigi Tetap. *Indonesian Journal of Dentistry*. 15(2). 97-103
- Soewoto, Hafiz, dkk. 2000. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Jakarta: Widya Medika.
- Sujatno, Agus. 2015. "Studi Scanning Electron Microscopy (SEM) untuk Karakterisasi Proses Oksidasi Paduan Zirkonium" Jurnal Forum Nuklir (JFN). Pusat Sains dan Teknologi Bahan Maju. PSTBM-BATAN
- Supartono. 2004. Karakterisasi Enzim Protease Netral dari Buah Nenas Segar. Jurnal MIPA Universitas Negeri Semarang 27 (2): 134-142
- Suprianto, Cahyo., (2016). *Grow your own fruits- panduan praktis menanam 28 tanaman buah populer di perkarangan*. Yogyakarta : Lily Publisher, Penerbit Andi.
- Surtiningsih, P. 2008. Keragaman Genetik Nenas (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) Berdasarkan Penanda Morfologi Dan Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). Tesis. Institut Pertanian Bogor.

- Tochi BN, Wang Z, Xu S, Zhang W. Therapeutic application of pineapple protease (bromelain). *Pakistan Journal of Nutrition (PJN)*. 2008;7(4):513-20.
- Vasty I. 2012. Perbedaan Kekerasan Mikro Affected Dentin Setelah Pembuangan Infected Dentin Secara Mekanis dan Kemomekanis (Eksperimental Laboratorik). Tesis. Jakarta : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Widyaningtyas, V., Y.C. Rahayu., dan I. Barid. 2014. Analisis Peningkatan Remineralisasi Gigi setelah Direndam dalam Susu Kedelai Murni (*Glycine Max (L.) Meril*) Menggunakan Scanning Elctron Microscope (SM), *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 2(2): 258-262
- Winastia, B. 2011. "Analisa Asam Amino pada Enzim Bromelin dalam Buah Nanas. (*Ananas Comusus*) Menggunakan Spektrofotometer". (Tugas Akhir Program Studi Diploma III progdi Teknik Kimia). Semarang: Universitas Diponegoro.
- Wuryanti. 2004. *Isolasi dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus L.*)*. Semarang : Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Diponegoro. 7(3): 83

LAMPIRAN A: SURAT IJIN PENELITIAN



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

Nomor : 329/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

21 MAY 2018

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Biosains
Politeknik Negeri 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 : Anindya Wahyu K
- 2 NIM : 151610101032
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Baturaden II No. 008 Jember
- 6 Judul Penelitian : Pengaruh Enzim Bromelin Tanaman Nanas (Ananas Comosus) Terhadap Proses Demineralisasi Gigi Dengan Menggunakan Scanning Electro Microscope (SEM)
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : Scanning Electro Microscope (SEM)
- 9 Waktu : Mei 2018 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Menganalisis Pengaruh Enzim Bromelin Tanaman Nanas (Ananas Comosus) Terhadap Proses Demineralisasi Gigi Dengan Menggunakan Scanning Electro Microscope (SEM)
- 11 Dosen Pembimbing : 1. drg. Berlian Prihatiningrum, MDSc, Sp.KGA
2. drg. Niken Probosari, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



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

Nomor : 1908/UN25.8.TL/2018
Perihal : Pembuatan Ekstrak

21 MAY 2018

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium 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 : Anindya Wahyu K
- 2 NIM : 151610101032
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Baturaden II No. 008 Jember
- 6 Judul Penelitian : Pengaruh Enzim Bromelin Tanaman Nanas (Ananas Comosus) Terhadap Proses Demineralisasi Gigi Dengan Menggunakan Scanning Electro Microscope (SEM)
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : Sentifugator, Inkubator, Neraca, Spektofotometri
- 9 Waktu : Mei 2018 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Menganalisis Pengaruh Enzim Bromelin Tanaman Nanas (Ananas Comosus) Terhadap Proses Demineralisasi Gigi Dengan Menggunakan Scanning Electro Microscope (SEM)
- 11 Dosen Pembimbing : 1. drg. Berlian Prihatiningrum, MDSc, Sp.KGA
2. drg. Niken Probosari, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



an. Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



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

Nomor : 307UN25.8.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 : Anindya Wahyu Kurniawati
- 2 NIM : 151610101032
- 3 Semester/Tahun : 2018/2019
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Baturaden 2 No. 8
- 6 Judul Penelitian : Uji Efektivitas Enzim Bromelin Ekstrak Daging Buah Nanas (*Ananas comosus*) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Enamel dengan Menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : *Safeside separating disk*, micromotor, handpiece low speed
- 9 Waktu : September 2018 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Menganalisis Efektivitas Enzim Bromelin Ekstrak Daging Buah Nanas (*Ananas comosus*) Berbasis Sediaan Gel terhadap Degradasi Enamel dengan Menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)
- 11 Dosen Pembimbing : 1. drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc, Sp. KGA
: 2. drg. Niken Probosari, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001





**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 : Anindya Wahyu Kurniawati
NIM : 151610101032
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

Kepala
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Dr. Sugeng Budiharta, M.Sc

LAMPIRAN B: DATA DAN HASIL PENELITIAN

Sampel	Kontrol	Perlakuan		
		Konsentrasi enzim bromelin 8 %	Konsentrasi enzim bromelin 10 %	Konsentrasi enzim bromelin 12 %
Sampel 1	9,00 μm	7,96 μm	11,70 μm	10,55 μm
Sampel 2	6,42 μm	10,23 μm	13,96 μm	11,90 μm
Sampel 3	6,95 μm	10,80 μm	14,40 μm	9,67 μm
Sampel 4	5,59 μm	8,19 μm	10,00 μm	9,70 μm
Rata-rata	6,99 μm	9,30 μm	12,52 μm	10,46 μm

LAMPIRAN C: ANALISIS DATA

Uji Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.261	4	.	.935	4	.622
Perlakuan 8%	.280	4	.	.855	4	.241
Perlakuan 10%	.259	4	.	.915	4	.510
Perlakuan 12%	.273	4	.	.868	4	.289

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances

Nilai degradasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.411	3	12	.288

Uji Parametrik (One Way Anova)

ANOVA

Nilai degradasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63.802	3	21.267	8.992	.002
Within Groups	28.383	12	2.365		
Total	92.186	15			

Uji Beda (menggunakan LSD)

Multiple Comparisons

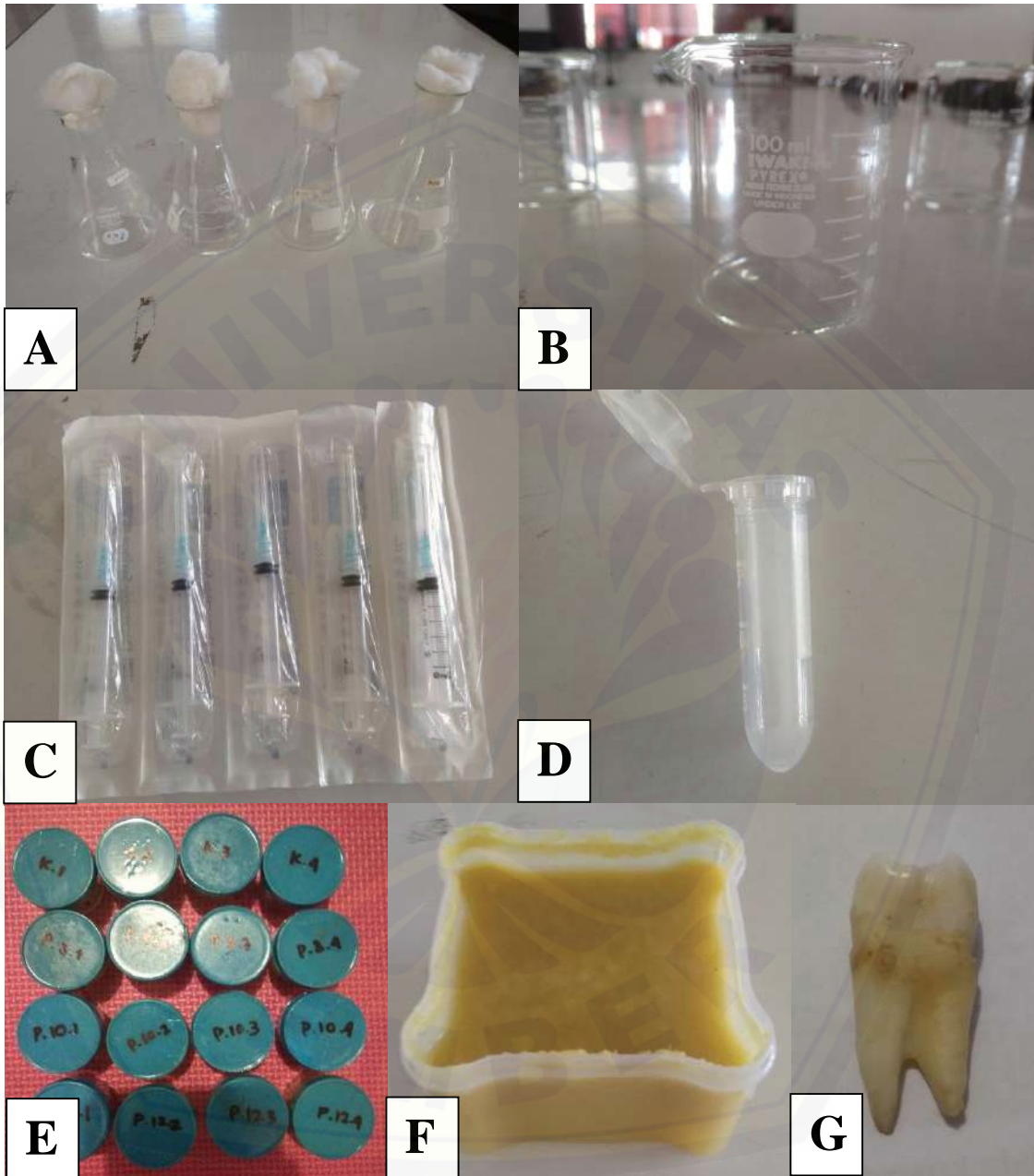
Dependent Variable: Nilai degradasi

	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	kontrol	perlakuan 8%	-2.30500	1.08749	.202	-5.5336	.9236
		perlakuan 10%	-5.52500*	1.08749	.001	-8.7536	-2.2964
		perlakuan 12%	-3.46500*	1.08749	.034	-6.6936	-.2364
	perlakuan 8%	kontrol	2.30500	1.08749	.202	-.9236	5.5336
		perlakuan 10%	-3.22000	1.08749	.051	-6.4486	.0086
		perlakuan 12%	-1.16000	1.08749	.715	-4.3886	2.0686
	perlakuan 10%	kontrol	5.52500*	1.08749	.001	2.2964	8.7536
		perlakuan 8%	3.22000	1.08749	.051	-.0086	6.4486
		perlakuan 12%	2.06000	1.08749	.281	-1.1686	5.2886
	perlakuan 12%	kontrol	3.46500*	1.08749	.034	.2364	6.6936
		perlakuan 8%	1.16000	1.08749	.715	-2.0686	4.3886
		perlakuan 10%	-2.06000	1.08749	.281	-5.2886	1.1686
LSD	kontrol	perlakuan 8%	-2.30500	1.08749	.056	-4.6744	.0644
		perlakuan 10%	-5.52500*	1.08749	.000	-7.8944	-3.1556
		perlakuan 12%	-3.46500*	1.08749	.008	-5.8344	-1.0956
	perlakuan 8%	kontrol	2.30500	1.08749	.056	-.0644	4.6744
		perlakuan 10%	-3.22000*	1.08749	.012	-5.5894	-.8506
		perlakuan 12%	-1.16000	1.08749	.307	-3.5294	1.2094
	perlakuan 10%	kontrol	5.52500*	1.08749	.000	3.1556	7.8944
		perlakuan 8%	3.22000*	1.08749	.012	.8506	5.5894
		perlakuan 12%	2.06000	1.08749	.083	-.3094	4.4294
	perlakuan 12%	kontrol	3.46500*	1.08749	.008	1.0956	5.8344
		perlakuan 8%	1.16000	1.08749	.307	-1.2094	3.5294
		perlakuan 10%	-2.06000	1.08749	.083	-4.4294	.3094

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

LAMPIRAN D: GAMBAR PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian





H



I



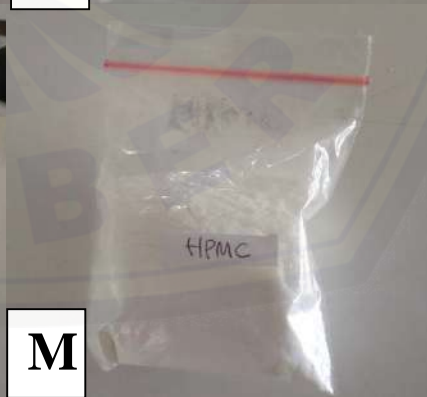
J



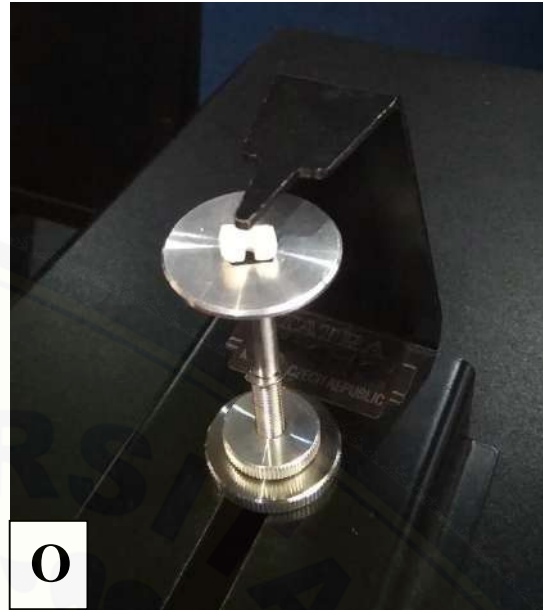
K



L



M



Keterangan Gambar:

- A : Erlenmeyer
- B : Gelas Kimia
- C : Syringe
- D : Tabung Ependorf 2 ml

- E : Pot Obat
- F : Daging dan bonggol nanas yang telah dihaluskan
- G : Gigi premolar rahang atas
- H : Etanol 98%
- I : Buffer pH 7
- J : Glycerin
- K : Metil Paraben
- L : Aquades Steril
- M : Basis gel HPMC
- N : Sentrifugator *Hettich*© *Mikro 22R*
- O : Mini sputter coater
- P : *Scanning Electron Microscope Hitachi*© *TM3030 Plus*

Prosedur Penelitian



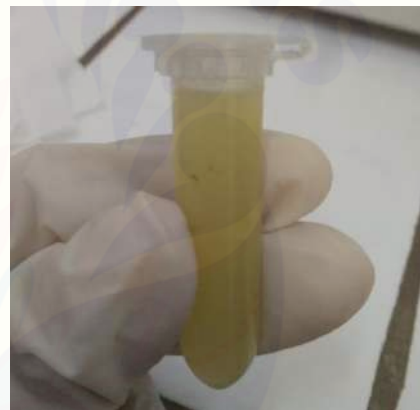
Gambar 1: Daging dan bonggol buah nanas yang telah dihaluskan dan buffer fosfat pH 7



Gambar 2: Buah nanas dan buffer fosfat telah dihomogenisasi dengan perbandingan 1:1 dimasukkan ke dalam tabung ependorf 2 ml



Gambar 4 :Tabung ependorf dimasukkan ke dalam sentrifugator untuk proses pemisahan campuran



Gambar 3: Tabung ependorf 2 ml yang berisi campuran buah nanas dan buffer fosfat yang sudah dihomogenisasi



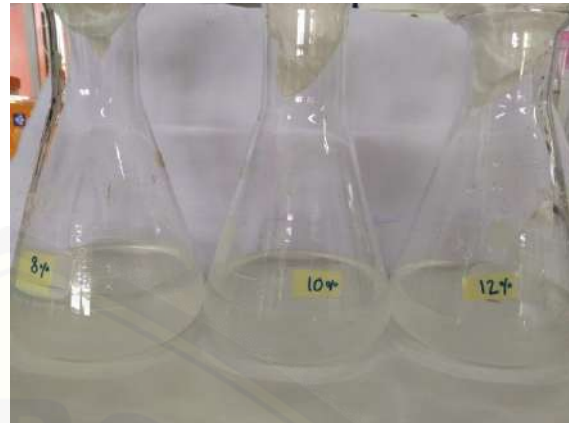
Gambar 5: Tabung ependorf yang telah dilakukan sentrifugasi. Nampak terbentuk supernatan dan endapan. Supernatan kemudian dipisahkan dari endapannya



Gambar 6: Supernatan yang telah dipisahkan dimasukkan tabung ependorf dan disentrifugasi kembali



Gambar 7: Hasil sentrifugasi kedua menghasilkan pelet. Selanjutnya pelet dipisahkan untuk diencerkan



Gambar 8: Pengenceran enzim bromelin menjadi 3 konsentrasi. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan sediaan gel. Sediaan gel tersebut dicampurkan dengan enzim bromelin



Gambar 10: Gel enzim bromelin diaplikasikan pada dentin gigi premolar yang telah dipreparasi selama 2 menit. Kemudian bilas hingga bersih



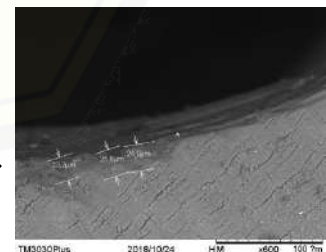
Gambar 9: Enzim Bromelin yang telah menjadi sediaan gel dalam 3 konsentrasi



Gambar 11: Mengatur posisi sampel pada holder untuk dianalisa menggunakan SEM



Gambar 12: Sampel yang telah diatur pada holder dimasukkan pada tabung SEM untuk dianalisa



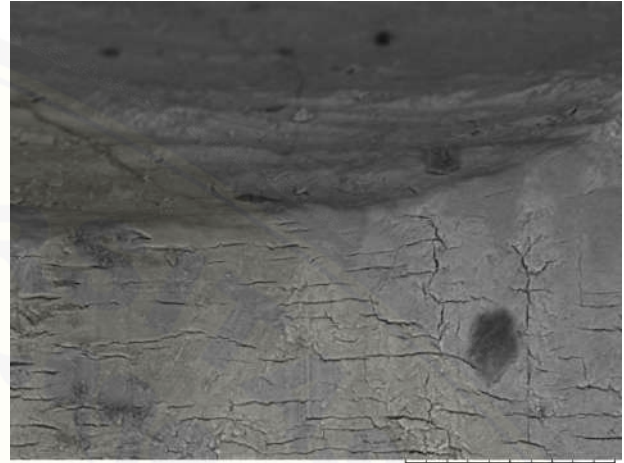
Gambar 13: Mengatur perbesaran yang diinginkan dan mengukur kedalaman degradasi dentin. Selanjutnya klik save

LAMPIRAN E: GAMBAR HASIL PENELITIAN



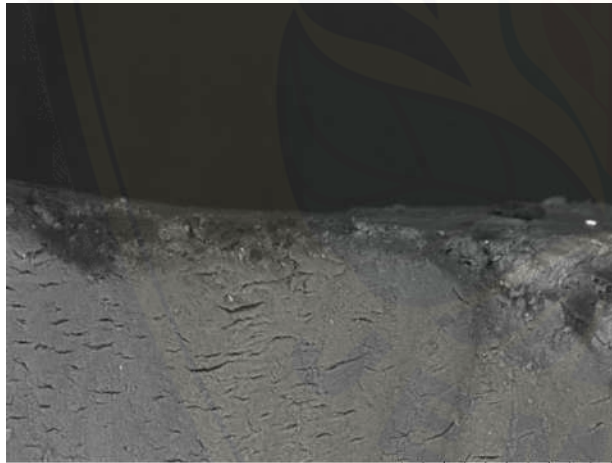
TM3030Plus 2018/10/18 HM x600 100 ?m

Gambar 1: Sampel 1 Kelompok Kontrol



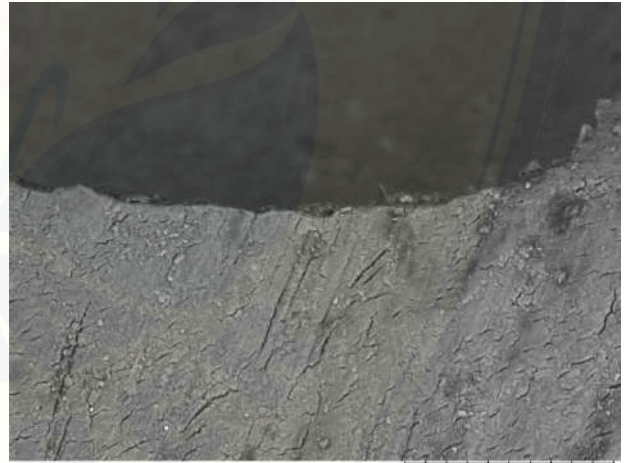
TM3030Plus 2018/10/22 HM x600 100 ?m

Gambar 2: Sampel 2 Kelompok Kontrol



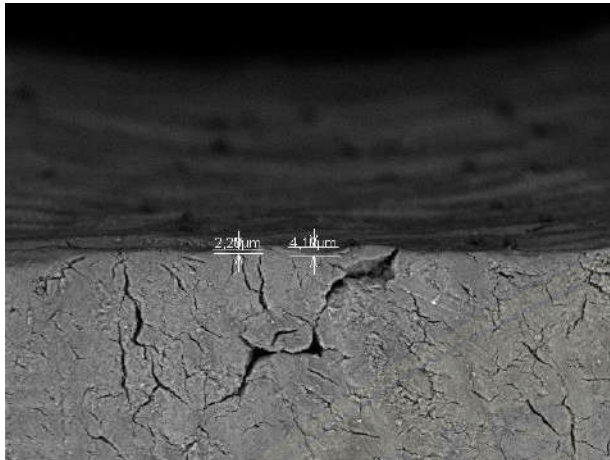
TM3030Plus 2018/10/22 HM x600 100 ?m

Gambar 3: Sampel 3 Kelompok Kontrol



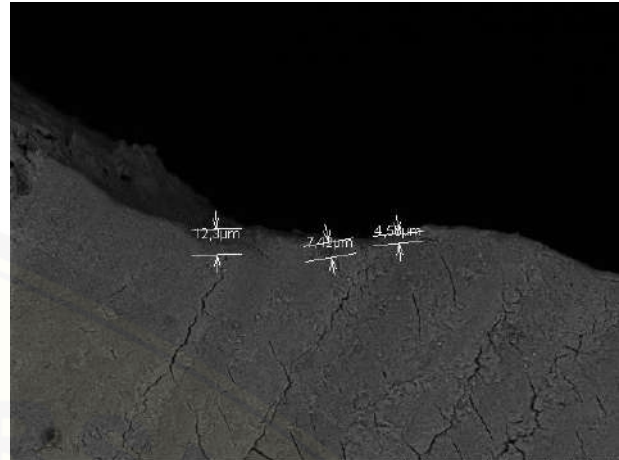
TM3030Plus 2018/10/22 HM x600 100 ?m

Gambar 4 :Sampel 4 Kelompok Kontrol



TM3030Plus 2018/10/23 HM x600 100 μm

Gambar 5: Sampel 1 Kelompok Perlakuan 1



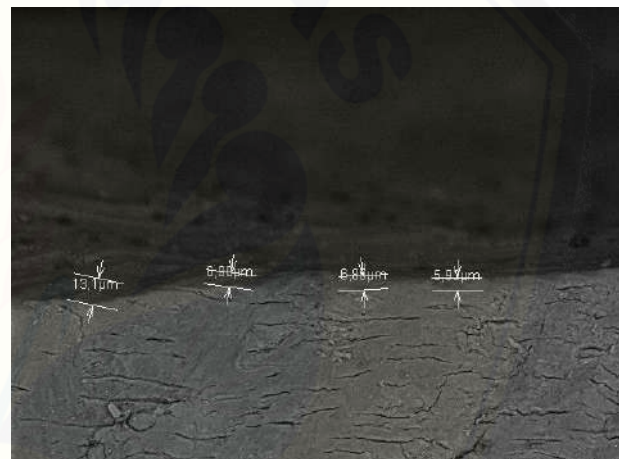
TM3030Plus 2018/10/23 HM x600 100 μm

Gambar 6: Sampel 2 Kelompok Perlakuan 1



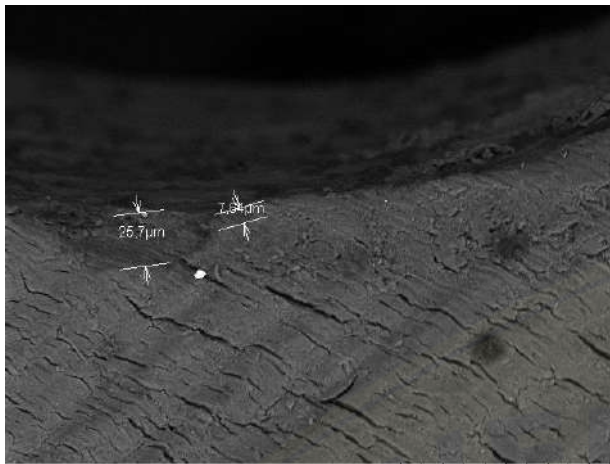
TM3030Plus 2018/10/23 HM x600 100 μm

Gambar 7: Sampel 3 Kelompok Perlakuan 1



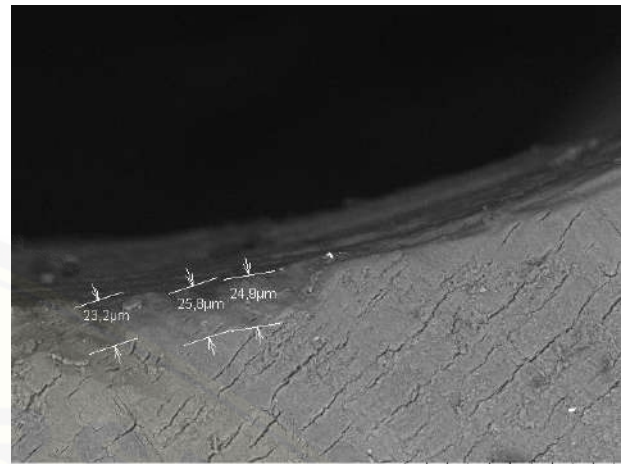
TM3030Plus 2018/10/23 HM x600 100 μm

Gambar 8: Sampel 4 Kelompok Perlakuan 1



TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 9: Sampel 1 Kelompok Perlakuan 2



TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 10: Sampel 2 Kelompok Perlakuan 2



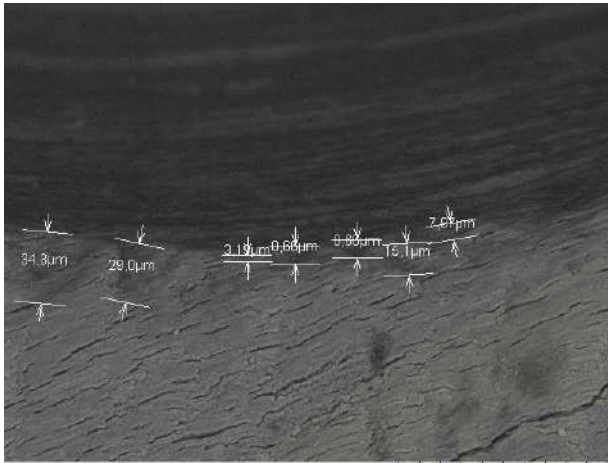
TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 11: Sampel 3 Kelompok Perlakuan 2



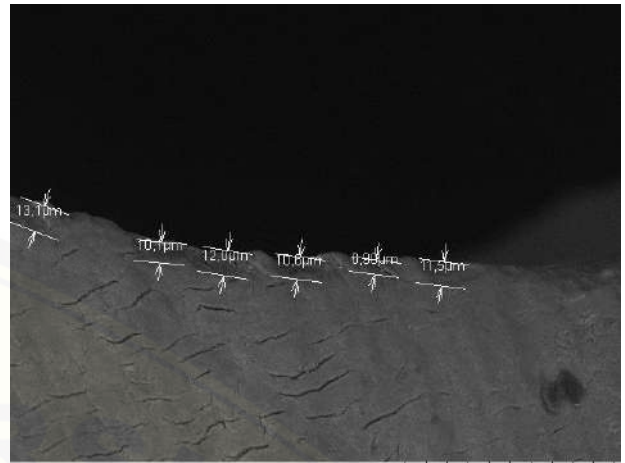
TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 12: Sampel 4 Kelompok Perlakuan 2



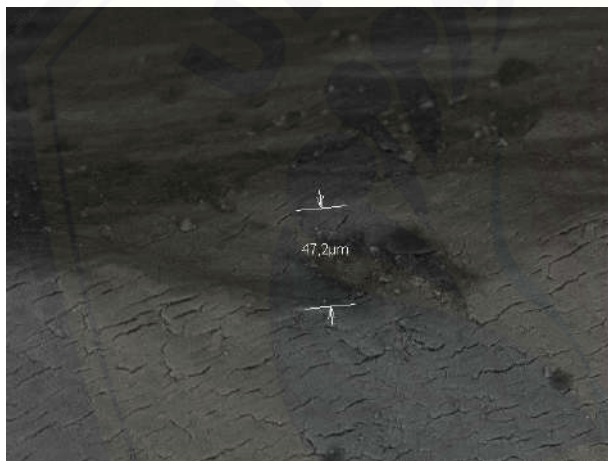
TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 13: Sampel 1 Kelompok Perlakuan 3



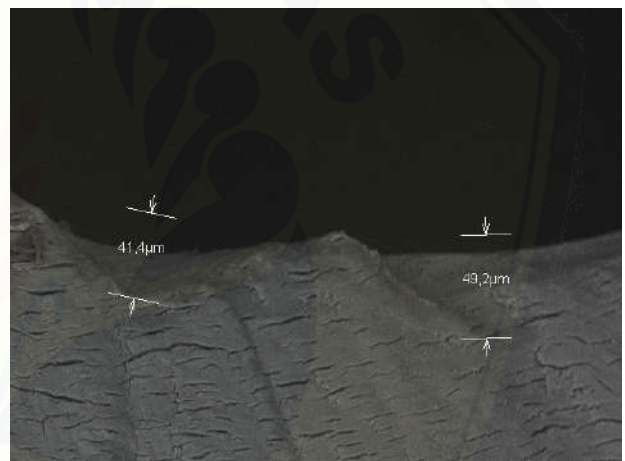
TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 14: Sampel 2 Kelompok Perlakuan 3



TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 15: Sampel 3 Kelompok Perlakuan 3



TM3030Plus 2018/10/24 HM x600 100 ?m

Gambar 16: Sampel 4 Kelompok Perlakuan 3