

Uji efektivitas waktu aplikasi gel bromelain konsentrasi 10% terhadap degradasi jaringan karies pada dentin menggunakan *scanning electron microscope* (SEM)

Berlian Prihatiningrum^{1*}, Indah Widyanti¹, Pudji Astuti²

¹Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Indonesia

²Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Indonesia

*Korespondensi: berlian.fkg@unej.ac.id

Submisi: 12 Juli 2021; Penerimaan: 28 April 2022; Publikasi online: 28 April 2022

DOI: [10.24198/jkg.v34i1.34537](https://doi.org/10.24198/jkg.v34i1.34537)

ABSTRAK

Pendahuluan: Enzim bromelin dari bagian daging dan bonggol buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) berpotensi sebagai bahan *chemo-mechanical caries removal* (CMCR) berbasisenzim yang aman dan ekonomis. Namun, belum ada penelitian yang membahas lebih lanjut mengenai waktu aplikasi yang efektif bagi enzim bromelin dalam melakukan degradasi jaringan karies pada dentin. Tujuan penelitian adalah menganalisis waktu aplikasi yang efektif bagi enzim bromelin konsentrasi 10% dalam mendegradasi jaringan karies pada dentin dengan waktu aplikasi selama 1, 2, dan 3 menit. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories* menggunakan 36 sampel gigi premolar permanen rahang atas dengan kondisi karies klas I yang dibagi menjadi 9 kelompok penelitian. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian merupakan gel enzim bromelin konsentrasi 10% yang diperoleh melalui proses presipitasi menggunakan ammonium sulfat 60% dan dilanjutkan dengan proses sentrifugasi. Seluruh sampel diukur kedalaman degradasi jaringan karies yang terbentuk menggunakan SEM. Data yang diperoleh dilakukan uji statistik *Kruskall Wallis* kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney*. **Hasil:** Uji *Kruskall Wallis* menyatakan terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,002$ ($p<0,05$) rerata kedalaman degradasi jaringan karies pada dentin berdasarkan kelompok perlakuan (kontrol, plasebo dan perlakuan aplikasi gel bromelin 10%). Uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antarkelompok dengan lama waktu aplikasi bahan 1 menit dengan nilai $p=0,644$ ($p>0,05$), sedangkan pada kelompok dengan waktu aplikasi 2 menit dan 3 menit terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). **Simpulan:** Waktu aplikasi bahan gel bromelin konsentrasi 10% untuk memperoleh degradasi jaringan karies pada dentin yang efektif adalah 3 menit.

Kata kunci: gel bromelain; *chemo-mechanical caries removal*; degradasi jaringan karies

The effectiveness test of application time of 10% bromelain gel on the degradation of carious tissue in dentin using a scanning electron microscope (SEM)

ABSTRACT

Introduction: Bromelain enzyme from the flesh and tubers of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) has the potential as a safe and economical enzyme-based chemo-mechanical caries removal (CMCR) material. However, there has been no further study that discusses the effective application time of the bromelain enzyme in the degradation of carious tissue in dentin. The aim of the study was to analyze the effective application time of 10% bromelain enzyme in degrading carious tissue in dentin with application times of 1, 2, and 3 minutes. **Methods:** This study is a laboratory experimental study using 36 samples of maxillary permanent premolars with class I caries conditions which were divided into 9 study groups. The test material used in this study was a bromelain enzyme gel with a concentration of 10% which was obtained through a precipitation process using 60% ammonium sulfate and followed by a centrifugation process. All samples were measured the depth of caries tissue degradation using SEM. The data obtained were carried out by the *Kruskall Wallis* statistical test and then continued by the *Mann Whitney* test. **Results:** *Kruskall Wallis* test stated that there was a significant difference with p value = 0.002 ($p < 0.05$) in the mean depth of caries tissue degradation in dentin based on treatment groups (control, placebo and 10% bromelain gel application treatment). The *Mann Whitney* test showed that there was no statistically significant difference between the groups with 1 minute of application time with p value = 0.644 ($p > 0.05$), whereas in the group with 2 minutes and 3 minutes of application time there was a statistically significant difference with $p=0,000$ ($p<0,05$). **Conclusion:** The application time of 10% bromelain gel material to obtain effective degradation of caries tissue in dentin is 3 minutes.

Keywords: bromelain gel; *chemo-mechanical caries removal*; carious tissue degradation

PENDAHULUAN

Pusat data dan sistem informasi pertanian tahun 2016 menunjukkan, Indonesia menjadi negara penghasil nanas terbesarketiga di ASEAN dengan jumlah produksi mencapai 1,73 juta ton.¹ Daerah penghasil nanas di Indonesia pun tersebar hampir di seluruh wilayah termasuk wilayah Jawa Timur dengan total produksi mencapai 250,3 ribu ton di tahun 2019.² Namun, pengolahan dan pemanfaatan yang belum optimal menyebabkan limbah buah nanas yang cukup tinggi mencapai 48,6% dari total berat buah.^{3,4} Limbah terbanyak berasal dari bagian bonggol buah nanas, padahal bagian tersebut diketahui mengandung enzim bromelin hingga 60%.⁵

Bromelin merupakan enzim proteolitik dengan 95% campuran protease sistein yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana, seperti peptide rantai pendek dan asam amino.^{6,7} Enzim bromelin tersusun dari 212 asam amino dengan komposisi utama berupa fraksi proteolitik, sulfhidril, eskarase, peroksidase, asam fosfatase, beberapa inhibitor protease, dan kalsium terikat secara organik.^{8,9} Manfaat enzim bromelin di bidang kesehatan diketahui dapat membantu mengurangi tekanan darah, menghambat pertumbuhan sel kanker, dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh,¹⁰ sedangkan di bidang kedokteran gigi dapat dimanfaatkan sebagai bahan penghilang jaringan karies gigi atau dikenal sebagai metode *chemo-mechanical caries removal* (CMCR).^{11,12}

Metode CMCR adalah teknik eliminasi dentin terinfeksi yang non-invasif dengan menggunakan bahan kimia dan gaya mekanis non-traumatik untuk menghilangkan jaringan karies.¹³ Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh Goldman dan Kronman pada tahun 1976 dengan berbagai keunggulan antara lain, efisiensi biaya, nyaman bagi pasien, tidak memerlukan anestesi lokal, tidak menyebabkan iritasi pada pulpa, dan dapat memelihara dentin sehat beserta sisa jaringan dengan optimal.^{14,15} Metode CMCR cocok digunakan bagi pasien yang memiliki rasa takut terhadap penggunaan metode konvensional (*handpiece* dan bur), seperti pasien anak.^{12,16}

Penelitian menunjukkan bahwa enzim bromelin dapat digunakan dalam mengatasi jaringan karies.¹¹ Bentuk sediaan, konsentrasi, dan

waktu aplikasi yang digunakan pun beragam^{17,18,19}, Salah satu penelitian mengenai enzim bromelin dengan menggunakan gigi premolar sehat yang telah dilakukan preparasi terlebih dahulu untuk mereplikasi kondisi kolagen yang rusak akibat karies menunjukkan bahwa enzim bromelin konsentrasi 10% mampu mendegradasi jaringan dentin yang rusak akibat proses preparasi dengan waktu aplikasi selama 2 menit¹², tetapi sejauh ini belum ada penelitian yang membahas lebih lanjut mengenai waktu aplikasi yang efektif bagi enzim bromelin dalam mendegradasi jaringan karies pada dentin.¹¹ Pemilihan waktu pada penelitian ini mengacu pada penelitian terdahulu yang memanfaatkan enzim bromelin, tetapi dengan konsentrasi dan waktu aplikasi yang berbeda.^{11,17,18,19}

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis perbandingan efektivitas aplikasi gel bromelin konsentrasi 10% selama 1 menit, 2 menit, dan 3 menit terhadap degradasi jaringan karies pada dentin menggunakan *scanning electron microscope* (SEM).

METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian dilaksanakan bulan Januari-Maret 2021, bertempat di UPT pengembangan terpadu, Politeknik Negeri Jember; laboratorium biosains dan laboratorium teknik gigi, RSGM, Universitas Jember; laboratorium biofarmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Jember; laboratorium mikrobiologi, FMIPA, Universitas Jember; dan laboratorium biosains, Politeknik Negeri Jember.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah gigi premolar rahang atas dengan kriteria sebagai berikut: kondisi gigi utuh (mahkota dan akar masih ada), tidak terdapat anomali, kotoran atau kalkulus; gigi tidak ditumpat atau diberikan perawatan tumpatan sebelumnya; dan kondisi gigi karies oklusal (karies kelas I) yang mencapai kedalaman dentin dan dipreparasi hingga *dentino-enamel junction*. Berdasarkan perhitungan rumus, penentuan besar sampel minimum penelitian setiap kelompok adalah 4 sampel. Penelitian terdiri atas 9 kelompok penelitian sehingga jumlah total sampel yang digunakan adalah 36 sampel.

Sampel gigi premolar yang telah sesuai dengan kriteria kemudian ditanam dalam blok malam, kemudian dipotong secara vertical hingga akar pada arah buko-palatal untuk memisahkan bagian mesial dan distal gigi. Pemotongan dilakukan menggunakan *safe side separating diamond disc (low speed)* kecepatan 20 rpm). Setelah gigi terbagi menjadi dua, dilakukan preparasi pada bagian karies pit hingga mencapai *dentino-enamel junction*. Preparasi dilakukan menggunakan bur *diamond round* ($\varnothing$ 1,6 mm) dan bur *diamond cylinder flat end (low speed)* kecepatan 35 rpm). Setelah dilakukan preparasi gigi dipotong secara horizontal untuk memisahkan bagian mahkota dan akar gigi menggunakan *safe side separating diamond disc (low speed)* kecepatan 20 rpm), sebagaimana hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gigi yang telah dilakukan persiapan. (Sumber: dokumentasi pribadi)

Sampel yang telah dipersiapkan selanjutnya dibagi menjadi 9 kelompok penelitian, yaitu 3 kelompok diaplikasikan aquades sebagai kelompok control negatif (masing-masing dengan waktu aplikasi 1, 2, dan 3 menit), 3 kelompok diaplikasikan gel placebo sebagai kelompok control positif (masing-masing dengan waktu aplikasi 1, 2, dan 3 menit), dan 3 kelompok diaplikasikan gel bromelain konsentrasi 10% sebagai kelompok perlakuan (masing-masing dengan waktu aplikasi 1, 2, dan 3 menit) sehingga total sampel yang digunakan adalah 36 sampel. Aplikasi bahan dilakukan menggunakan *syringe* sebanyak 0,2 ml dari dasar kavitas yang terbuka sesuai dengan waktu aplikasi tiap kelompok penelitian. Setelah waktu yang ditentukan selesai, kavitas dikeringkan dengan cotton pellet untuk kelompok yang diaplikasikan aquades, sedangkan untuk kelompok yang diaplikasikan gel placebo dan gel bromelain konsentrasi 10% dilakukan ekskavasi kavitas terlebih dahulu secara manual menggunakan ekskavator tanpa tekanan. Setelah ekskavasi, kavitas di irigasi dengan aquades

steril kemudian dikeringkan menggunakan cotton pellet. Penelitian ini dibatasi waktu aplikasi dari 1, 2 dan 3 menit dikarenakan tujuan jangka panjang penelitian adalah untuk membuat bahan CMCR yang dapat digunakan pada pasien anak, sehingga waktu perawatan yang singkat menjadi faktor pertimbangan utama. Penggunaan SEM dengan resolusi tinggi diharapkan dapat membantu proses identifikasi dan karakterisasi permukaan jaringan karies pada dentin.

Sampel yang telah siap, selanjutnya dilakukan analisis pengukuran kedalaman degradasi jaringan karies menggunakan SEM *Hitachi® TM3030 Plus*. Analisis kedalaman degradasi jaringan karies dimulai dari permukaan dentin hingga dasar lubang atau kavitas dengan perbesaran 600x, apabila telah diperoleh kriteria gambaran yang sesuai simpan gambar.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah, mikromotor, mata bur (*diamond round, diamond cylinder flat end, safeside separating disk diamond disc*), *hand pieces low speed*, blok malam, sentrifugator, tabung *falcon* (50 ml), *magnetic stirrer*, blender, kain katun, *syringe* (3 ml). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, daging dan bonggol buah nenas, NaOH 0,1 N, buffer fosfat pH 7, ammonium sulfat 60%, basis gel HPMC (*hydroxypropyl methyl cellulose*), metil paraben, gliserin, aquades steril, larutan saline.

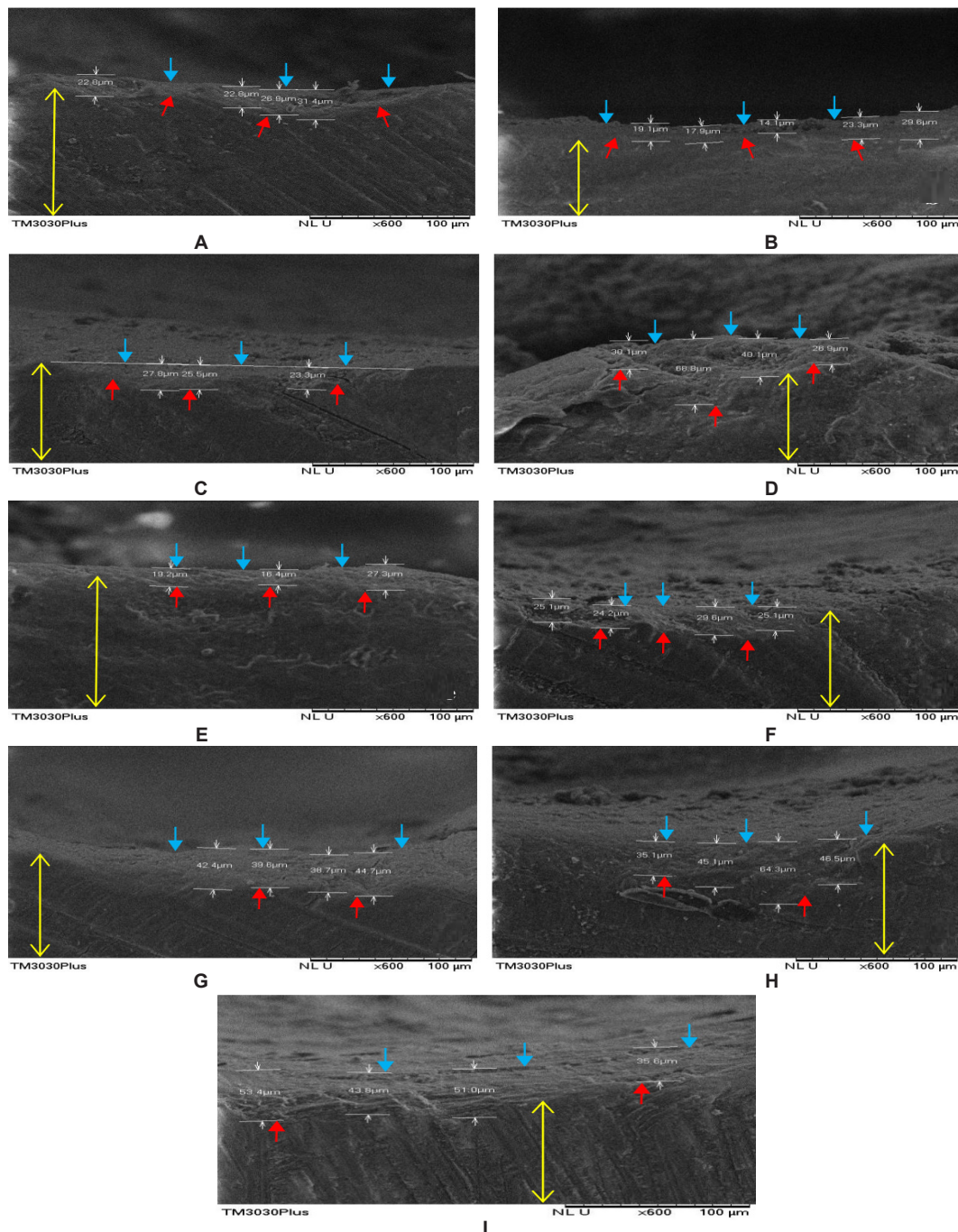
Isolasi enzim bromelin dilakukan dengan metode ekstraksi, sedangkan pemurnian enzim bromelin dilakukan dengan teknik presipitasi menggunakan ammonium sulfat 60%.^{20,21} Guna memastikan kandungan enzim bromelin maka dilakukan uji biuret pada enzim bromelin. Setelah isolasi dan pemurnian enzim selesai maka dilakukan pengenceran menjadi konsentrasi 10%.²² Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan gel bromelin^{12,16} Pembuatan sediaan gel placebo sama seperti pembuatan sediaan gel bromelin konsentrasi 10% hanya saja tidak ada penambahan enzim bromelin. Tujuan penggunaan gel placebo sebagai control positif adalah untuk melihat kemanjuran dari pengobatan atau bahan terbaru²³, sebagaimana gel bromelin konsentrasi 10% ini. Gel placebo sebagai control positif tidak mengandung substansi aktif, sehingga seharusnya tidak dapat memberikan efek ketika diaplikasikan. Apabila gel placebo memberikan efek yang sama dengan kelompok perlakuan, maka dapat dikatakan gel

bromelin konsentrasi 10% yang diharapkan dapat menjadi bahan CMCR, tidak memiliki efek seperti yang diharapkan.

Nilai rata-rata kedalaman degradasi tiap kelompok penelitian kemudian dianalisis menggunakan *software* pengolahan data statistik, yaitu program SPSS dengan nilai signifikansi

0,05. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Selanjutnya, dilakukan uji statistik non-parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

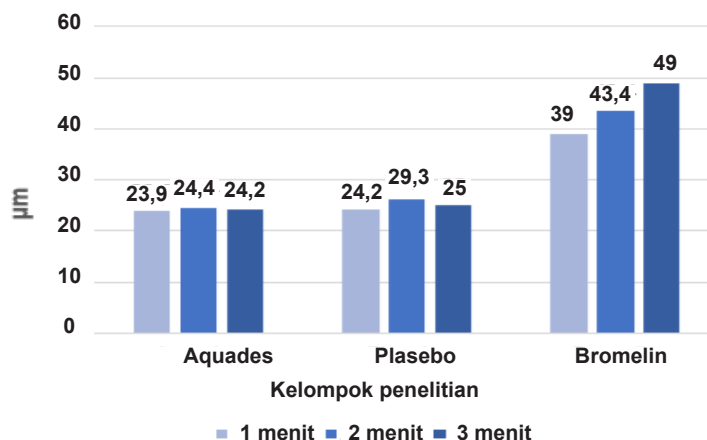
HASIL



Gambar 2. Nilai rerata kedalaman degradasi jaringan karies pada dentin. Pembesaran SEM 600x terdiri atas lapisan permukaan dentin (panah biru), titik dasar kavitas (panah merah) dan lapisan dentin (panah kuning); A. Sampel 1 kelompok kontrol negatif 1 menit (23,9 µm); B. Sampel 1 kelompok kontrol negatif 2 menit (24,4 µm); C. Sampel 1 kelompok kontrol negatif 3 menit (24,2 µm); D. Sampel 1 kelompok kontrol positif 1 menit (24,2 µm); E. Sampel 1 kelompok kontrol positif 2 menit (26,3 µm); F. Sampel 1 kelompok kontrol positif 3 menit (25,0 µm); G. Sampel 1 kelompok perlakuan 1 menit (39,0 µm); H. Sampel 1 kelompok perlakuan 2 menit (43,4 µm); I. Sampel 1 kelompok perlakuan 3 menit (49,0 µm). (Sumber: dokumentasi pribadi)

Analisis pengukuran kedalaman degradasi jaringan karies pada dentin menggunakan *software* yang terhubung dengan SEM (Gambar 2). Kriteria penilaian degradasi jaringan karies pada sampel dilihat dari hasil rata-rata kedalaman

degradasi lapisan dentin tiap kelompok penelitian. Berdasarkan analisis kedalaman degradasi jaringan karies yang telah dilakukan, diperoleh nilai rata-rata kedalaman degradasi sebagai berikut (Gambar 3).



Gambar 3. Perbandingan perolehan nilai rata-rata kedalaman degradasi tiap kelompok penelitian

Berdasarkan nilai rata-rata kedalaman degradasi pada Gambar 3, diketahui bahwa terjadi peningkatan kedalaman degradasi pada kelompok yang diaplikasikan gel bromelain konsentrasi 10% dari waktu 1 menit hingga waktu 3 menit, sedangkan pada kelompok kontrol negatif (aquades) dan kontrol positif (plasebo) diperoleh peningkatan kedalaman degradasi dari waktu aplikasi 1 menit ke waktu aplikasi 2 menit, tetapi terjadi penurunan kedalaman degradasi dari waktu aplikasi 2 menit ke waktu aplikasi 3 menit.

Tabel 1. Hasil uji normalitas (shapiro-wilk) data kelompok kontrol (aquades), plasebo dan aplikasi gel bromelin 10% (waktu 1, 2 dan 3 Menit)

Kelompok	Nilai statistik	Nilai p
Aquades 1 menit	0,921	0,544
Aquades 2 menit	0,852	0,232
Aquades 3 menit	0,874	0,314
Plasebo 1 menit	0,886	0,365
Plasebo 2 menit	0,995	0,980
Plasebo 3 menit	0,933	0,614
Bromelin 1 menit	0,977	0,884
Bromelin 2 menit	0,842	0,201
Bromelin 3 Menit	0,936	0,630

Tabel 2. Hasil uji homogenitas data (uji levene) kelompok kontrol (aquades), plasebo dan aplikasi gel Bromelin 10% (waktu 1, 2 dan 3 Menit)

Nilai degradasi	Statistik levene	Nilai p
Berdasarkan nilai Mean	3,130	0,012

Berdasarkan uji normalitas Shapiro-Wilk data masing-masing kelompok penelitian berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$ (tabel 1), sedangkan berdasarkan uji Homogenitas Levene diperoleh data tidak homogen dengan nilai signifikansi sebesar 0,012 ($p < 0,05$) (Tabel 2). Sehingga uji selanjutnya menggunakan uji statistic non-parametrik Kruskal Wallis.

Tabel 3. Uji beda kedalaman degradasi jaringan karies pada dentin berdasarkan kelompok penelitian dan waktu aplikasi bahan

Kelompok/Waktu aplikasi	Rerata kedalaman degradasi <i>Mean</i> ±SD	Nilai p
Kelompok perlakuan (Uji Kruskal Wallis)		
Kontrol	24,2±0,83	0,002
Plasebo	25,1±0,83	
Gel bromelin 10%	43,8±0,83	
Lama aplikasi bahan (uji Mann Whitney)		
1 menit	29,03±9,40	0,644
2 menit	31,27±9,89	0,000
3 menit	32,72±13,00	0,000

Tabel 3 menunjukkan Uji Kruskal Wallis menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) rerata kedalaman degradasi jaringan karies pada dentin berdasarkan kelompok perlakuan (kontrol, plasebo dan perlakuan aplikasi gel bromelin 10%). Uji Mann Whitney menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistic

antarkelompok dengan lama waktu aplikasi bahan 1 menit ($p>0,05$), sedangkan pada kelompok dengan lama waktu aplikasi 2 menit dan 3 menit terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ($p<0,05$).

PEMBAHASAN

Karies adalah suatu proses patologis yang menyebabkan terputusnya struktur kimiawi pada permukaan gigi disebabkan oleh aktivitas metabolik mikroba sehingga terjadi pelunakan jaringan keras pada gigi (proses demineralisasi). Jika terus dibiarkan maka dapat terbentuk kavitas pada gigi yang umumnya dimulai dari bagian enamel gigi.^{24,25} Kavitas pada enamel dapat meluas ke daerah dentin melalui proses difusi pada *dentino enamel junction*. Selanjutnya, mikroorganisme akan berpenetrasi ke dalam tubulus-tubulus dentin dan melakukan invasi lebih lanjut dengan memproduksi asam yang menyebabkan penurunan pH dan demineralisasi pada dentin.^{25,26}

Akibat proses demineralisasi tersebut, dentin akan terbagi menjadi dua zona demineralisasi, yaitu zona *infected dentin* dan zona *affected dentin*.²⁶ Perbedaan kedua zona tersebut terletak pada kondisi struktur fibril kolagen penyusun dentin. Saat kondisi normal, struktur fibril kolagen dentin berbentuk triple heliks yang disebut sebagai unit tropokolagen.¹³ Namun, akibat penetrasi bakteri beserta toksinnya terjadi perubahan integritas struktur fibril kolagen dentin sehingga ikatan unit tropokolagen terputus dan menyebabkan struktur fibril kolagen terurai menjadi peptida-peptida.²⁷ Struktur fibril kolagen yang terurai menjadi peptide tersebut hanya terjadi pada zona *infected dentin*, sedangkan kondisi struktur fibril kolagen pada zona *affected dentin* masih berupa unit tropokolagen yang utuh karena belum adanya invasi bakteri.²⁸ Hal ini pun yang menyebabkan struktur fibril kolagen pada zona *affected dentin* masih dapat di remineralisasi kembali, sedangkan struktur fibril kolagen pada zona *infected dentin* tidak dapat di remineralisasi kembali dan harus dihilangkan.¹³

Enzim bromelin sebagai bahan CMCR akan melakukan degradasi lebih lanjut secara spesifik pada zona *infected dentin*, diawali dengan pembentukan kompleks enzim-substrat dengan asam amino sistein sebagai sisi aktifnya dan peptida-peptida pada zona *infected dentin*

sebagai substratnya. Kemudian, enzim bromelin akan memutus ikatan peptida melalui penyisipan komponen air ($-H$ dan $-OH$) pada ikatan asam amino glisin-hidroksiprolin dan glisin-prolin.^{13,22} Enzim bromelin tidak akan bekerja pada *affected dentin* ataupun struktur dentin yang masih sehat dikarenakan adanya inhibitor protease plasmatik α -1-antitrypsin dan inhibitor escharase, sehingga enzim hanya bekerja pada struktur fibril kolagen yang rusak (*infected dentin*) tanpa menyebabkan kerusakan pada struktur fibril kolagen yang sehat (*affected dentin*).^{11,6}

Kinerja enzim bromelin dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah faktor waktu. Faktor waktu reaksi atau waktu kontak yang optimum menyebabkan enzim bekerja lebih efektif karena enzim memiliki kesempatan lebih panjang untuk memecah substrat.^{29,30} Proses penghilangan (degradasi) jaringan karies dapat dikatakan efektif apabila proses tersebut mampu mengidentifikasi zona *infected dentin* dan *affected dentin*. Kemudian, melakukan degradasi lebih lanjut pada zona *infected dentin* dan menyisakan zona *affected dentin* saja.¹³

Hasil penelitian pada Gambar 2 menunjukkan perolehan nilai rata-rata kedalaman degradasi kelompok perlakuan (aplikasi gel enzim bromelain 10%) lebih besar dibandingkan kelompok control negatif dan kontrol positif, sebagaimana yang tercantum pada gambar 3. Nilai kedalaman degradasi pada kelompok perlakuan menunjukkan efektivitas enzim bromelin dalam menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana.^{12,31} Selain itu, uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, baik kelompok control negative maupun kelompok kontrol positif, sehingga dapat dinyatakan gel enzim bromelin konsentrasi 10% memiliki efek dalam mendegradasi jaringan karies pada dentin.

Berdasarkan uji statistik *Mann Whitney* pada tabel 3, antarkelompok perlakuan waktu aplikasi 1, 2, dan 3 menit diperoleh perbedaan yang signifikan antarkelompok dengan lama aplikasi 2 dan 3 menit, sedangkan pada kelompok dengan lama aplikasi 1 menit tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Maka dapat dinyatakan bahwa waktu juga berkontribusi terhadap aktivitas enzim untuk bekerja optimal.^{29,30,32} Waktu reaksi atau waktu kontak yang optimum akan memberikan

kesempatan bagi enzim untuk memecah substrat secara optimum sehingga hasil reaksi (produk) semakin banyak,³⁰ tetapi pada batas tertentu peningkatan waktu reaksi atau waktu kontak tidak akan menambah jumlah produk karena semua substrat sudah berikatan dengan enzim atau telah terjadi umpan balik sehingga hasil reaksi akan menurun.³² Penelitian ini menunjukkan peningkatan kedalaman degradasi pada kelompok perlakuan dari waktu aplikasi 1 menit hingga waktu aplikasi 3 menit, tetapi penelitian ini tidak menunjukkan adanya penurunan kedalaman degradasi dalam jangka waktu tersebut. Hal ini dimungkinkan belum terjadi umpan balik pada kelompok perlakuan, sehingga tidak ada penurunan jumlah produk atau penurunan kedalaman degradasi.²⁹ Namun demikian, penelitian ini menunjukkan bahwa waktu aplikasi 3 menit mampu mendegradasi jaringan karies lebih efektif dibandingkan waktu aplikasi 1 dan 2 menit yang dibuktikan melalui nilai rata-rata kedalaman degradasi yang diperoleh.

Berdasarkan Uji *Kruskal Wallis* pada tabel 3, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik pada masing-masing kelompok. Semua kelompok menunjukkan peningkatan rata-rata kedalaman degradasi jaringan karies kemudian terjadi penurunan rata-rata nilai kedalaman degradasi. Kondisi tersebut mungkin disebabkan perbedaan derajat kerusakan jaringan karies pada sampel masing-masing kelompok penelitian, hal ini dapat terjadi berkaitan dengan variabel sampel. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada tingkat kedalaman karies dentin yang terjadi sebagai variabel yang terkontrol, sedangkan tingkat keparahan karies merupakan variabel yang tidak terkontrol. Sebagaimana telah disebutkan sebelumnya, tahap awal terjadinya karies dentin (proses demineralisasi) belum ditemukan adanya perubahan pada struktur fibril kolagen penyusun dentin (struktur fibril kolagen tetap utuh) karena pada tahap ini hanya toksin dari bakteri saja yang berpenetrasi. Struktur fibril kolagen baru mengalami perubahan ketika adanya invasi bakteri. Kehadiran bakteri menyebabkan kerusakan lebih parah pada jaringan dentin hingga membuat struktur fibril kolagen rusak dan terekspos.²⁸

Struktur fibril kolagen yang sudah rusak dan terekspos ketika dianalisis dengan SEM akan tampak sebagai gambaran kavitas irregular

berukuran mikro,^{12,30} sehingga dapat dinyatakan semakin parah derajat kerusakan maka semakin banyak dan dalam gambaran kavitas irregular berukuran mikro yang diperoleh. Berdasarkan kondisi tersebut, sampel dengan derajat kerusakan yang lebih parah ketika dianalisis dengan SEM akan memiliki gambaran kavitas irregular lebih banyak dan dalam. Hal ini pun yang mungkin terjadi pada sampel kelompok kontrol waktu aplikasi 2 menit.

Perubahan nilai rata-rata kedalaman degradasi jaringan karies yang terjadi pada kelompok kontrol kecil kemungkinan disebabkan oleh kandungan aquades maupun gel plasebo (bahan yang digunakan sebagai kelompok kontrol). Hal ini disebabkan kelompok kontrol tidak mengandung bahan aktif tertentu yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi jaringan karies pada dentin. Hal ini juga didukung uji statistik yang menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antarkelompok kontrol negatif waktu aplikasi 1, 2 dan 3 menit maupun antarkelompok kontrol positif waktu aplikasi 1, 2 dan 3 menit

SIMPULAN

Enzim bromelin mampu melakukan degradasi jaringan karies pada dentin dengan waktu aplikasi yang paling efektif adalah waktu aplikasi selama 3 menit dibandingkan dengan waktu aplikasi selama 1 dan 2 menit dengan konsentrasi yang sama (10%).

DAFTAR PUSTAKA

1. Suwandi, Nuryati L, Respati E. Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura (Nenas). Pusat Data dan Sistem Informasi. Sekretariat Jenderal. Kementerian Pertanian. 2016; p.18-21.
2. Kusumaningtyas C. Statistik hortikultura provinsi jawa timur. Surabaya: PT Sinar Murni Indo Printing. 2019; p. 37-38.
3. Wiyati PI, Tjitraresmi A. Review: karakterisasi, aktivitas dan isolasi enzim bromelin dari tumbuhan nanas (*ananas sp.*). Farmaka Suplemen. 2018;16(2):179-185. DOI: [10.24198/jf.v16i2.17521](https://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17521)
4. Marlina ET, Harlia E, Hidayati YA. Efektivitas limbah buah nanas (*ananas comosus*) sebagai desinfektan alami pada milk can. J Ilmu

- Ternak. 2018;18(1):60-64. DOI: [10.24198/jit.v18i1.19429](https://doi.org/10.24198/jit.v18i1.19429)
5. Silaban I, Rahmanisa S. Pengaruh enzim bromelin buah nanas (*ananas comosus* L.) terhadap awal kehamilan. *Med J Lampung University*. 2016;5(4):80-85.
 6. Sya'Bana M, Nawfa R. Optimasi amobilisasi bromelin menggunakan matriks pendukung kitosan. *J Sains dan Seni ITS*. 2016;5(2):2337-3520. DOI: [10.12962/j23373520.v5i2.17458](https://doi.org/10.12962/j23373520.v5i2.17458)
 7. Saptarini NM, Kusuma SAF, Rahayu D. Pemanfaatan limbah mahkota buah nanas (*ananas comosus* (L.) Merr) sebagai sumber bromelain. *Dharmakarya: J Aplikasi Ipteks untuk Masyarakat*. 2019;8(1):57-59. DOI: [10.24198/dharmakarya.v8i1.19931](https://doi.org/10.24198/dharmakarya.v8i1.19931)
 8. Astoko EP. Konsep pengembangan agribisnis nanas (*ananas comosus* L. merr.) di kabupaten Kediri provinsi jawa timur. *Habitat*. 2019;30(3):111-122. DOI: [10.21776/ub.habitat.2019.030.3.14](https://doi.org/10.21776/ub.habitat.2019.030.3.14)
 9. Reddy VK, Nagar P, Reddy S, Ragulakollu R, Tirupathi SP, Ravi R, Purumadla U. Bromelain vs papain gel for caries removal in primary teeth. *J Contemporary Dent Practice*. 2019;20(11):1343-1349.
 10. Kurniawati AW. Uji Efektivitas Enzim Bromelin Ekstrak Buah Nanas (*Ananas Comosus* L.merr) Berbasis Sediaan Gel Terhadap Degradasi Dentin Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM). *Fakultas Kedokteran Gigi Unej*. 2019; p. 22-38.
 11. Ganesh M, Parikh D. Chemomechanical caries removal (cmcr) agents: review and clinical application in primary teeth. *J Dent and Oral Hygiene*. 2011;3(3):34-45.
 12. Hamama HH, Yiu CKY, Burrow MF, King NM. Chemical, morphological and microhardness changes of dentine after chemomechanical caries removal. *Australian Dent J*. 2013;58:1-10. DOI: [10.1111/adj.12093](https://doi.org/10.1111/adj.12093)
 13. Thakur R, Patil SDS, Kush A, Madhu K. SEM analysis of residual dentin surface in primary teeth using different chemomechanical caries removal agents. *J Clinical Pediatric Dentistry*. 2017;41(4):289-293. DOI: [10.17796/1053-4628-41.4.289](https://doi.org/10.17796/1053-4628-41.4.289)
 14. Alfianti RD. Efek enzim bromelin buah nanas (*ananas cosmosus* (L.) merr) berbasis sediaan gel terhadap lebarinter tubulus dentin. *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*. 2019; p. 1-3.
 15. Sharafeddin F, Haghbin N. Comparison of bromelain enzyme, sodium hypochlorite, and titanium tetrafluoride on shear bond strength of restorative composite to dentin: an in vitro study. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*. 2019;20(4):264-270. DOI: [10.30476/DENTJODS.2019.44990](https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.44990)
 16. Kasraei S, Yarmohammadi E, Farhadian M, Malek M. Effect of proteolytic agents on microleakage of etch and rinse adhesive systems. *Brazilian J Oral Sciences*. 2017;16:1-11. DOI: [10.20396/bjos.v16i0.8651051](https://doi.org/10.20396/bjos.v16i0.8651051)
 17. Dayem RN, Tameesh A. A new concept in hybridization: bromelain enzyme for deproteinizing dentin before application of adhesive system. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2013;4(4):421-426. DOI: [10.4103/0976-237X.123015](https://doi.org/10.4103/0976-237X.123015)
 18. Sujatno A, Salam R, Bandriyana, Dimiyati A. Studi scanning electron microscopy (sem) untuk karakterisasi proses oksidase paduan zirkonium. *J Forum Nuklir (JFN)*. 2015;9(2):44-50.
 19. Daniel WW, Cross CL. *Biostatistics A Foundation For Analysis In The Health Sciences*. 10th ed. 2013. p. 7-9.
 20. Tavel ME. The placebo effect: the good, the bad, and the ugly. *American J Medicine*. 2014;127(6): 484-492. DOI: [10.1016/j.amjmed.2014.02.002](https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.02.002)
 21. Sikri VK. *Dental caries*. India: CBS Publishers & Distributors Pvt. 2017. p. 27-30.
 22. Kidd E, Fejerskov O. *Essentials of dental caries*. 4th ed. United Kingdom: Oxford University Press. 2016; p. 32-34.
 23. Goldberg M. *Understanding dental caries*. Switzerland: Springer International Publishing. 2016; p. 22-37.
 24. Lopez LA, Penaloza AM, Juarez VMM, Torres AV, Zeugolis DI, Alvarez GA. Hydrolyzed collagen – sources and applications. *Molecules*. 2019;24(4031):1-16. DOI: [10.3390/molecules24224031](https://doi.org/10.3390/molecules24224031)
 25. Lager AH. Dentine caries: acid-tolerant micro-organisms and aspects on collagen degradation. *Swedish Dent J*. 2014;(233):9-94.
 26. Khushali C, Rupali K, Satish S. Formulation optimization and performance evaluation of papain and clove oil based chemo-mechanical

- caries removing gel. *J Young Pharmacists*. 2018;10(1):24-26. DOI: [10.5530/jyp.2018.10.7](https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.7)
27. Syahbana R. Pemanfaatan enzim bromelin yang diisolasi dari bonggol nanas (*Ananas comosus* L.) Sebagai pengempuk daging sapi (*bos taurus*). Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam USU. 2017; p. 22.
28. Mulidasari W, Sulastri, Rahmayani RFI. Pemanfaatan crude enzim bromelin dari ekstrak nanas (*Ananas comosus* L.) untuk pembuatan kecap tongkol (*Euthynnus affinis*). *J Ilmiah Mahasiswa Jurusan Pend Kimia*. 2019;4(1):10-16
29. A'la HI. Pengaruh konsentrasi ekstrak enzim papain kasar dari daun pepaya (*Carica papaya* L.) Dan lama pemeraman terhadap rendaman dan kualitas minyak kelapa (*Cocosnucifera* L.). Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. 2016; p. 45.
30. Onyeogaziri FC, Papanephytou C. A general guide for the optimization of enzyme assay conditions using the design of experiments approach. *SLAS Discovery*. 2019;24(5):587-596. DOI: [10.1177/2472555219830084](https://doi.org/10.1177/2472555219830084)
31. Soeka YS, Sulistiani. Karakterisasi enzim protease dari bakteri *Stenotrophomonas* sp. asal gunung bromo, Jawa timur. *J Ilmu-Ilmu Hayati*. 2017;16(2):203-210.
32. Takahashi N, Nyvad B. Ecological hypothesis of dentin and root caries. *Caries Research*. 2016;50:422-431. DOI: [10.1159/000447309](https://doi.org/10.1159/000447309)