



**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM *Streptococcus mutans* DARI ENZIM
BROMELIN KULIT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr)
SECARA *IN VITRO***

Skripsi

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**Disusun Oleh:
Dhearany Zahara
1404015084**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2019**

Skripsi dengan Judul

**UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM *Streptococcus mutans* DARI ENZIM
BROMELIN KULIT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr)
SECARA *IN VITRO***

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh :
Dhearany Zahara, NIM 1404015084

Tanda Tangan

Tanggal

Ketua

Wakil Dekan I

Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt.



14/6/19

Penguji I

Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed.



14-03-19

Penguji II

Dra. Fitriani, M.Si.



05-03-19

Pembimbing I

Dr. Priyo Wahyudi, M.Si.



15-03-19

Pembimbing II

Hanifah Rahmi, S.Si., M.Biomed.



19-03-19

Mengetahui:



21/3 '19

Ketua Program Studi

Kori Yati, M.Farm., Apt.

Dinyatakan lulus pada tanggal: **16 Februari 2019**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM *Streptococcus mutans* DARI ENZIM BROMELIN KULIT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr) SECARA *IN VITRO*

Dhearany Zahara

1404015084

Streptococcus mutans merupakan bakteri utama pembentuk biofilm gigi. Bakteri pembentuk biofilm gigi dapat dikendalikan dengan menggunakan agen antibiofilm sintesis seperti klorheksidin glukonat, namun klorheksidin glukonat memiliki efek samping yang dapat dihindari dengan menggantinya menggunakan antibiofilm enzimatis seperti enzim bromelin. Enzim bromelin merupakan enzim protease yang berasal dari tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dan memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan cara merusak struktur dinding sel luar dari protein bakteri. Sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antibiofilm *Streptococcus mutans* dari enzim bromelin kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) secara *in vitro*. Kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) yang digunakan merupakan limbah dari pedagang buah. Uji aktivitas antibiofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate assay*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, enzim bromelin dari kulit buah nanas memiliki aktivitas antibiofilm *Streptococcus mutans* dengan nilai IC_{50} sebesar 330,98 $\mu\text{g/ml}$ dan memiliki potensi relatif sebesar 3,0917 kali dari klorheksidin glukonat sebagai antibiofilm.

Kata Kunci : *Streptococcus mutans*, Enzim Bromelin, Aktivitas Antibiofilm, Kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, penulis memanjatkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBIOFILM *Streptococcus mutans* DARI ENZIM BROMELIN KULIT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L) Merr) SECARA IN VITRO”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi dan Sains Program Studi Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
2. Bapak Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt, selaku Wakil Dekan I Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si, selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
4. Ibu Ari Widayanti, M.Farm., Apt, selaku Wakil Dekan III Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag, selaku Wakil Dekan IV Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
6. Ibu Kori Yati, M.Farm., Apt, selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
7. Ibu Maifitrianti, M.Farm., Apt, selaku Dosen Pembimbing Akademik Kelas B Angkatan 2014 Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
8. Bapak Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si, selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
9. Ibu Hanifah Rahmi M.Biomed, selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
10. Kedua orang tua saya (Bapak Hermadani, S.E dan Ibu Miftahul Jannah, S.Pd) dan adik - adik saya (Fikar dan Azhar) yang tiada hentinya memberikan doa dan dukungan baik moril maupun materil.
11. Teman satu kelompok penelitian saya (Febrinda dan Kartika) yang telah bekerjasama dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
12. Sahabat-sahabat saya yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
13. Seluruh teman angkatan 2014 di Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
14. Seluruh staf kesekretariatan yang telah membantu segala administrasi yang berkaitan dengan skripsi ini dan telah banyak membantu dalam penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan.

Jakarta, Januari 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr)	4
2. <i>Streptococcus mutans</i>	5
3. Biofilm	6
4. Klorheksidin glukonat	7
5. Enzim Bromelin	8
6. Metode <i>Microtitter Plate Assay</i>	9
B. Kerangka Berfikir	10
C. Hipotesis	11
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	12
A. Tempat dan Waktu Penelitian	12
B. Alat dan Bahan	12
C. Prosedur Penelitian	13
1. Pengumpulan Kulit Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr)	13
2. Preparasi Enzim Bromelin Kasar	13
3. Uji Kadar Protein Enzim Bromelin	13
4. Uji Aktivitas Enzim Bromelin	14
5. Pembuatan Konsentrasi Enzim Bromelin untuk Aktivitas Antibiofilm	16
6. Pembuatan Larutan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif	16
7. Pembuatan Biakan Bakteri	16
8. Pewarnaan dan Uji Mikroskopik Bakteri	16
9. Pembuatan Suspensi Bakteri	16
10. Uji Aktivitas Penghambatan Biofilm	17
11. Analisis Data	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	18
A. Determinasi Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr)	18
B. Preparasi Enzim Bromelin Kasar	18
C. Uji Kadar Protein Enzim Bromelin	19
D. Uji Aktivitas Enzim Bromelin	20

	Halaman
E. Uji Karakterisasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	22
F. Uji Aktivitas Antibiofilm	23
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	27
A. Simpulan	27
B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	33



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Enzim Bromelin dari Kulit Nanas	19
Tabel 2. Hasil Uji Kadar Protein Enzim Bromelin dari Kulit Nanas	20
Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Enzim Bromelin dari Kulit Nanas	21
Tabel 4. Hasil Perhitungan Nilai IC ₅₀ Enzim Bromelin dari Kulit Nanas terhadap Uji Aktivitas Antibiofilm <i>Streptococcus mutans</i>	24



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Penelitian	33
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr)	34
Lampiran 3. Sertifikat Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	35
Lampiran 4. Sertifikat Standar <i>Bovine Serum Albumin</i>	36
Lampiran 5. Skema Preparasi Enzim Bromelin Kasar	37
Lampiran 6. Preparasi Enzim Bromelin Kasar	38
Lampiran 7. Skema Uji Kadar Protein	40
Lampiran 8. Kurva Kalibrasi Standar BSA dan Penentuan Kadar Protein	41
Lampiran 9. Skema Uji Aktivitas Enzim Bromelin	42
Lampiran 10. Kurva Kalibrasi Standar Tirosin Untuk Penentuan Aktivitas Bromelin	43
Lampiran 11. Skema Pembuatan Biakan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	44
Lampiran 12. Skema Pewarnaan Gram Bakteri dan Uji Mikroskopik	45
Lampiran 13. Hasil Uji Karakterisasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	46
Lampiran 14. Skema Uji Aktivitas Antibiofilm	47
Lampiran 15. Hasil Pembacaan dan Perhitungan <i>Microplate Reader</i> pada Enzim Bromelin Kulit Buah Nanas	48
Lampiran 16. Hasil Pembacaan dan Perhitungan <i>Microplate Reader</i> pada Klorheksidin Glukonat	50
Lampiran 17. Perhitungan Pembuatan Larutan Konsentrasi Klorheksidin Glukonat	52
Lampiran 18. Perhitungan Pembuatan Larutan Konsentrasi Enzim Bromelin	53
Lampiran 19. Pembuatan Larutan Klorheksidin Glukonat	55
Lampiran 20. Pembuatan Larutan Enzim Bromelin	56
Lampiran 21. Alat – Alat yang Digunakan	57
Lampiran 22. Bahan – Bahan yang Digunakan	60

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri yang sering dijumpai di dalam mulut merupakan flora normal yang sudah ada sejak beberapa jam setelah manusia lahir dan akan terus tumbuh sampai dewasa (Gupte 2012). Spesies bakteri flora normal biasanya terdiri dari *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseriae*, dan *Lactobacillus* (Samaranayake 2006). *Streptococcus* adalah bakteri kelompok asam laktat yang banyak hidup di rongga mulut manusia. Sel bakteri *Streptococcus* termasuk Gram-positif, hidup dalam suasana anaerob fakultatif, berbentuk steris atau ovoid, dan tersusun berpasangan atau berbentuk rantai. Beberapa galur *Streptococcus* berperan penting dalam ekologi dan flora normal manusia. Beberapa galur diantaranya bersifat patogen, seperti *Streptococcus mutans* (Soedarto 2015).

Streptococcus mutans termasuk dalam bakteri yang sangat resisten terhadap asam dan penghasil asam yang kuat (Cramwinckel *et al.* 1993). *Streptococcus mutans* memproduksi asam laktat dari sukrosa dan hidup pada pH yang rendah sekitar 4,2. Aktivitas *Streptococcus mutans* di permukaan gigi menyebabkan penyakit infeksi yaitu karies gigi. Penyakit karies gigi merusak secara lokal jaringan keras gigi dengan asam yang terdapat di dalam deposit mikroba (biofilm), menempel pada permukaan gigi, dan menghasilkan kavitas pada mahkota gigi. Berdasarkan etiologinya, penyakit karies gigi merupakan penyakit multifaktorial yang dipengaruhi oleh empat faktor. Faktor-faktor karies gigi diantaranya adalah permukaan gigi yang rentan, saliva (faktor inang), substrat bakteri yang dapat difermentasikan dari makanan seperti gula atau karbohidrat, dan biofilm gigi (Lombardi dan Mendis 2014).

Biofilm yang dihasilkan oleh bakteri dapat melindungi bakteri dari pertahanan tubuh inang, juga mampu menetralkan pengaruh buruk lingkungan seperti pH dan suhu yang ekstrim (Kining dkk. 2016). Penempelan mikroba kepada permukaan mulut merupakan prasyarat untuk kolonisasi dan ini merupakan langkah awal menuju infeksi atau invasi terhadap jaringan berikutnya (Samaranayake 2006). Masyarakat menganggap bahwa biofilm merupakan sumber penting dari suatu patogen (Miquel *et al.* 2016). Sel-sel biofilm dapat

saling memisahkan diri dan bergabung dengan sistem matriks lainnya. Hal ini menyebabkan sel-sel penyusun biofilm lebih sulit untuk ditekan populasinya dibandingkan dengan bakteri non biofilm (Kining dkk. 2016). Untuk mengendalikan pertumbuhan biofilm, dapat diberikan agen antibiofilm sintetis seperti klorheksidin.

Klorheksidin merupakan agen antibakteri spektrum luas yang banyak digunakan dalam pengobatan penyakit gigi dan mulut. Sediaan klorheksidin yang umum di pasaran Indonesia untuk mengatasi masalah pada mulut adalah obat kumur 0,1%, 0,2% (Minosep gargle), dan 2% (Indodent hex). Pemakaian obat kumur klorheksidin dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan efek samping diantaranya, timbulnya bercak pada mulut, masalah pada indera perasa, dan perubahan warna gigi (Prasanna dan Lakshamanan 2016). Efek samping dari pemakaian klorheksidin dapat dihindari dengan menggunakan antibiofilm enzimatik yang berasal dari alam. Salah satu enzim yang berpotensi dalam penghambatan biofilm gigi adalah enzim protease. Enzim protease dapat diperoleh dari berbagai jenis tanaman, salah satunya adalah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) adalah tanaman dari keluarga *Bromeliaceae*, yang mengandung enzim bromelin (Depkes 1989). Enzim bromelin termasuk ke dalam golongan enzim protease yang dapat menguraikan dan memecah protein (Toha 2011). Enzim bromelin pada nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dapat ditemukan di seluruh bagian nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) seperti pada bagian buah dan batang bahkan pada bagian yang dianggap sebagai limbah yaitu daun dan kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) merupakan sumber potensial untuk pemanfaatan dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya, terutama enzim bromelin (Ketnawa *et al.* 2011). Enzim bromelin dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian Hanif (2017) menunjukkan bahwa, enzim bromelin dari limbah kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dapat diformulasikan sebagai obat kumur untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dilakukan uji aktivitas antibiofilm *Streptococcus mutans* dari enzim bromelin kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) secara *in vitro*. Penelitian ini diawali dengan preparasi enzim bromelin kasar dari kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Hasil preparasi enzim bromelin kasar kemudian dilakukan uji aktivitas antibiofilmnya. Penelitian uji aktivitas antibiofilm menggunakan metode *microtiter plate assay* dengan pewarnaan kristal violet. Uji aktivitas antibiofilm yang dilakukan adalah uji penghambatan biofilm. Pengamatan aktivitas antibiofilm didasarkan pada besarnya *optical density* penghambatan biofilm.

B. Permasalahan Penelitian

Apakah enzim bromelin dari kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) memiliki aktivitas antibiofilm *Streptococcus mutans* secara *in vitro* ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibiofilm *Streptococcus mutans* dari enzim bromelin kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat dan menambah informasi tentang obat antibiofilm gigi yang berasal dari bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardani M, Pratiwi SUT, Hertiani T. 2010. Efek Campuran Minyak Atsiri Daun Cengkeh dan Kulit Batang Kayu Manis Sebagai Antiplak Gigi. *Majalah Farmasi Indonesia*. **21**(3): 191 – 201.
- Arjuna A, Pratama WS, Sartini, Mufidah. 2018. Uji Pendahuluan Anti-biofilm Ekstrak Teh Hijau dan Teh Hitam pada *Streptococcus mutans* Melalui Metode *Microtiter Plate*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*. **4**(1): 44 – 49.
- Asim M, Abdan K, Jawaid M, Nasir M, Dashtizadeh Z, Ishak MR, Hoque ME. 2015. A Review on Pineapple Leaves Fibre and Its Composites. *International Journal of Polymer Science*. Hindawi Publishing Corporation. **2010**: 1-16.
- Azeredo J, Azevedo NF, Briandet R, Cerca N, Coenye T, Costa AR, Desvaux M, Giovanni Di Bonaventura, Hébraud M, Jaglic Z, Kačániová M, Knöchel S, Lourenço A, Mergulhão F, Meyer RL, Nychas G, Simões M, Tresse O, Sternberg C. 2017. Critical Review on Biofilm Methods. *Critical Reviews in Microbiology*. **43**(3): 313–351.
- Bendaoud M, Vinogradov E, Balashova NV, Kadouri DE, Kachlany SC, Kaplan JB. 2011. Broad-Spectrum Biofilm Inhibition by *Kingella kingae* Exopolysaccharide. *Journal of Bacteriology*. **193**(15): 3879-3886.
- Bintang M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm. 8, 21, 103.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Dalam: Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertaniasih NM, Harsono S, Alimsardjono L (Eds). Salemba Medika. Jakarta. Hlm. 49, 93, 329.
- Cappuccino JG, Sherman N. 2011. *Microbiology a Laboratory Manual Ninth Edition*. Pearson. San Francisco. Hlm. 69, 70, 71.
- Cramwinckel AB, Crielaers PJA, Dermaut LR, Dirks OB, Eukman MAJ, Helderma WHVP, Houwink B, Huis In't veld JHJ, König KG, Moltzer G, Pilot T, Roukema PA, Schutteet H, Tan HH, Mevr. I. van de Velden-Veldkamp, Woltgens JHM. 1993. *Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan*. Terjemahan: Sutatmi S. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm. 82.
- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 2*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. Hlm. 17-18.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 896.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Edisi V. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 40.
- Durand A, Chase Z, Remenyi T, Quéroué F. 2013. Microplate-reader Method for The Rapid Analysis of Copper in Natural Waters with Chemiluminescence Detection. *Frontiers in Microbiology*. 3(437): 1-9.
- Eshamah H, Han I, Naas H, Rieck J, Dawson P. 2013. Bactericidal Effects of Natural Tenderizing Enzymes on *Escherichia coli* and *Listeria Monocytogenes*. *Journal of Food Research*. 2(1): 8-18.
- Fitri L, Yasmin Y. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*. 3(2): 20-25.
- Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. 2010. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. *Nutrients*. 2: 290-298.
- Gandjar IG, Rohman A. 2015. *Spektroskopi Molekuler untuk Analisis Farmasi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm. 72, 75.
- Gautam SS, Mishra SK, Dash V, Goyal AK, Rath G. 2010. Comparative Study of Extraction, Purification and Estimation of Bromelain from Stem and Fruit of Pineapple Plant. *Thai Journal Pharmaceutical Sciences*. 34: 67-76.
- Grzonka Z. 2007. *Peptidases: Cysteine Proteases*. Dalam: Polaina J, MacCabe AP (Eds). *Industrial Enzymes Structure, Function, and Application*. Netherland. Hlm. 185.
- Gupte S. 2012. *The Short Text Book of Medical Microbiology for Dental Students*. Jaypee Brothers Publishers (P) Ltd. New Delhi. Hlm. 197,200.
- Hanif A. 2017. Formulasi Sediaan Obat Kumur Menggunakan Enzim Bromelin dari Limbah Kulit Buah Nanas yang Efektif Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA. Jakarta. Hlm. 31.
- Hariyadi P. 2013. Freeze Drying Technology: for Better Quality & Flavor of Dried Products. *Food Review Indonesia*. 8(2): 52-57.
- Haryanto S. 2012. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Palmall. Yogyakarta. Hlm. 351.
- Jamal M, Tasneem U, Hussain T, Andleeb S. 2015. Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 4(3): 1-14.

- Kaplowitz GJ, Cortell M. 2008. *Clorhexidine: A Multi – Functional Antimicrobial Drug*. PennWeel. Tulsa. Hlm. 2.
- Ketnawa S, Chaiwut P, Rawdkuen S. 2011. Extracion of Bromelain from Pineapple Peels. *Food Science and Technology International*. 17(4): 395-402.
- Kining E, Falah S, Nurhidayat N. 2016. Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*. *Current Biochemistry*. 2(3): 150-163.
- Kumaunang M, Kamu V. 2011. Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kulit Nenas (*Ananas comosus*). *Jurnal Ilmiah Sains*. 11(2): 19-201.
- Lombardi L, Mendis R. 2014. Pathology of Dental Caries. Dalam: Warnakulasuriya S, Tilakaratne WM (Eds). *Oral Medicine and Pathology: A Guide to Diagnosis and Management*. Jaypee Brothers Publishers (P) Ltd. New Delhi. Hlm. 26, 27.
- Makalew MAJ, Nangoy E, Wowor PM. 2016. Uji Efek Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonie*. *Jurnal e-Biomedik*. 4(1): 1-6.
- Malle D, Tellusa I, Lasamahu AA. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Papain dari Buah Pepaya (*Carica papaya* L) Jenis Daun Kipas. *Indonesian Journal Of Chemical Research*. 2: 182-189.
- Miquel S, Lagrèfeuille R, Soweine B, Forestier C. 2016. Anti-biofilm Activity as a Health Issue. *Frontiers Media*. 7(592): 1-14.
- Naritasari F, Susanto H, Supriatno. 2010. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Bonggol Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) terhadap Apoptosis Karsinoma Sel Skuamosa Lidah Manusia. *Majalah Obat Tradisional*. 15(1): 16-25.
- Neldawati, Ratnawulan, Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat, *Pillar of Physics*. 2: 76-83
- Nurhidayah, Masriyani, Masri M. 2013. Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Batang Nanas (*Ananas comosus*) Berdasarkan Variasi pH. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. 1(2): 116-122.
- O'Toole GA. 2011. Microtiter Dish Biofilm Formation Assay. *Journal of Visualized Experiments*. 47: 1-2.
- Parkin KL. 2013. General Characteristics of Enzymes. Dalam: Nagodawithana T, Reed G (Eds). *Enzymes in Food Processing Third Edition*. Academic Press INC. California. Hlm. 34, 35.

- Pleszczynska M, Wiater A, Bachanek T, Szczodrak J. 2016. Enzymes in Therapy of Biofilm-Related Oral Diseases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. **2016**: 337-346.
- Prasanna SGV, Lakshamanan R. 2016. Characteristics, Uses and Side Effects of Chlorhexidine. *International Organization of Scientific Research Journal of Dental and Medical Sciences*. **15**(6): 57-59.
- Praveen NC, Rajesh A, Madan M, Chaurasia VR, Hiremath NV, Sharma AM. 2014. *In vitro* Evaluation of Antibacterial Efficacy of Pineapple Extract (Bromelain) on Periodontal Pathogens. *Journal of International Oral Health*. **6**(5): 96-98.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 154.
- Rini ARS, Supartono, Wijayati N. 2017. *Hand Sanitizer* Ekstrak Kulit Nanas Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. **6**(1): 61-66.
- Rusdi NK, Sediarto, Fadila SH. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol 70% dari Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. **1**(2): 89-94.
- Salahudin F. 2011. Pengaruh Bahan Pengendap pada Isolasi Enzim Bromelin dari Bonggol Nanas. *Biopropal Industri*. **2**(1): 27-31.
- Samaranayake L. 2006. *Essential Microbiology for Density Third Edition*. Churchill Livingstone Elsevier. London. Hlm. 261, 263, 272.
- Schuurs A. 2013. *Pathology of The Hard Dental Tissues First Edition*. Wiley Blackwell Publishing Ltd. Amsterdam. Hlm. 146.
- Sholichah NA, Aulanni'am, Mahdi C. 2012. Efek Terapi Ekstrak Air Daun Kedondong (*Lannea coromandelica*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Protease pada Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Inflammatory Bowel Disease (IBD) Akibat Paparan Indometasin. *Veterinaria medika*. **5**(3): 187-194.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Sagung Seto. Jakarta. Hlm. 38, 39, 212, 215.
- Thenawidjaja M, Ismaya WT, Retnoningrum DS. 2017. *Protein Serial Biokimia Mudah dan Menggugah*. Grasindo. Jakarta. Hlm. 171, 172, 178.
- Toha AHA. 2011. *Ensiklopedia Biokimia & Biologi Molekuler*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 238, 242, 243, 245, 250, 664, 665.

- Valle J, Re SD, Henry N, Fontaine T, Balestrino D, Lambert PL, Ghigo JM. 2006. Broad-Spectrum Biofilm Inhibition by a Secreted Bacterial Polysaccharide. *Proceedings of the United States of America*. **103**(33): 12558–12563.
- Wassel MO, Khattab MA. 2017. Antibacterial Activity against *Streptococcus mutans* and Inhibition of Bacterial Induced Enamel Demineralization of Propolis, Miswak, and Chitosan Nanoparticles Based Dental Varnishes. *Journal of Advanced Research*. **8**(4): 387-392.
- Watters CM, Burton T, Kirui DK, Millenbaugh NJ. 2016. Enzymatic Degradation of In Vitro *Staphylococcus aureus* Biofilms Supplemented with Human Plasma. *Infection and Drug Resistance*. **2016** (9): 71-78.
- Widyarti S. 2011. Isolasi Protein. Dalam: Astikawati R (ed). *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. PT. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm 101, 109.
- Wuryanti. 2004. Isolasi dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus* L). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. **7**(3): 78-82.
- Yusriah, Kuswyasari ND 2013. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Protease *Penicillium* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2** (1): 48-50.

