



Studi Sitoksisitas dan Sifat Mekanik Nano Hidroksiapatit Dari Cangkang Kerang Pokea (*Batissa violacea var. celebensis*, von Martens 1897)

Agusriyadin¹, Fahmiati², Faradissa¹, Armid² dan Laode A. Kadir^{2*}

¹) Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sembilanbelas November Kolaka, Kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara 93561 (agusriyadin85@gmail.com) (faradisaanindita66@gmail.com)

²) Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara 93232 (fahmiati@uho.ac.id) (armid@uho.ac.id) (laode.kadir90@uho.ac.id)

* e-mail korespondensi: laode.kadir90@uho.ac.id

Diterima: November 2023 – Disetujui: November 2023 – Dipublikasi: November 2023

© 2023 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

Abstrak

Sintesis nano hidroksiapatit (NHAp) dan studi sifat mekaniknya telah berhasil dilakukan. NHAp dibuat dengan metode hidrotermal selanjutnya dilakukan variasi suhu kalsinasi pada 300°C, 600°C, 900°C, dan 1200°C untuk mengetahui sifat mekanik NHAp berdasarkan sifat kekerasan (*hardness*), dan kuat tekan. Suhu kalsinasi memiliki pengaruh terhadap nilai kekerasan (*hardness*) NHAp. Hasil nalisis pada suhu 300 °C memperoleh nilai kekerasan terendah yakni 18,24VHN, sedangkan angka kekerasan optimum yaitu sebesar 36,57VHN pada suhu kalsinasi 1200°C. Nilai kuat tekan optimum berada pada suhu kalsinasi 900°C sebesar 3,12 MPa. Sedangkan pada suhu kalsinasi 1200°C menurun menjadi 0,93 MPa. Penurunan nilai kuat tekan pada suhu 1200°C diakibatkan oleh sifat porous material yang disintesis. Hal ini juga dikonfirmasi dari data SEM terlihat bahwa Pola porous interkoneksi yang teramati pada suhu kalsinasi yang tinggi mengakibatkan dinding nano hidroksiapatit (NHAp) akan berubah menjadi tipis dan jari-jari porous interkoneksi semakin besar sehingga menurunkan sifat mekanik. Hasil uji MTT assay persentase sel hidup optimum diperoleh pada variasi konsentrasi NHAp 30 µg/mL dengan persentase sel hidup sebesar 112,23%. Hal ini membuktikan bahwa NHAp tidak bersifat toksik pada jaringan fibroblast sehingga memungkinkan untuk diaplikasi dalam bidang *bone grafting*

Kata kunci: Hidroksiapatit, Sifat mekanik, Cangkang kerang pokea, Uji MTT.

Abstract

Nano hydroxyapatite (NHAp) synthesis and study of the mechanical properties have been conducted. NHAp was prepared using the hydrothermal method and then the calcination temperature was varied at 300°C, 600°C, 900°C and 1200°C to determine the mechanical properties of NHAp based on hardness and compressive strength. The calcination temperature has an influence on the hardness of NHAp. The results showed at 300°C obtained the lowest hardness value, namely 18.24VHN, while the optimum hardness number was 36.57VHN at 1200 °C. The optimum compressive strength value is at 900°C calcination temperature of 3.12 MPa. Whereas at 1200°C decreased to 0.93 MPa. The decrease in compressive strength at 1200°C is due to the porous nature of the synthesized material. This was also confirmed from the SEM data showing that the porous interconnect pattern observed at high calcination temperatures resulted in the nano hydroxyapatite (NHAp) walls becoming thinner and the porous interconnection diameter becoming larger thereby reducing the mechanical properties. The results of the MTT assay for the optimum percentage of live cells were obtained at varying NHAp concentrations of 30 µg/mL with a percentage of live cells of 112.23%. This proves that NHAp is not toxic to fibroblast tissue, making it possible to apply it in the field of bone grafting.

Keywords: Hydroxyapatite, Mechanical properties, Pokea clam shell, MTT assay

PENDAHULUAN

Nano hidroksiapatit (NHAp) adalah biokeramik aktif yang penggunaannya sudah luas pada bidang *bonegraft* misalnya *coating* logam *prostese* guna mendapatkan sifat mekanik yang baik (Lavigueur & Zhu, 2011). Selanjutnya, NHAp sudah cukup lama diaplikasikan sebagai bahan untuk memperbaiki gusi gigi karena mempunyai toksisitas yang rendah jika dibandingkan paduan logam yang beredar dipasaran (Irwansyah et al., 2022). Untuk keperluan material sebagai penambal gigi, NHAp sebaiknya mempunyai *particle size* yang baik yakni dalam skala nanometer, ukuran ini bisa diperoleh melalui proses hidrotermal atau Teknik lainnya (Bozkurt et al., 2015).

NHAp adalah oksida dari molekul kalsium fosfat apatit yang berbentuk kristal garam dengan rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Wang & Yeung, 2017). NHAp adalah material yang sangat stabil jika dibandingkan dengan biomaterial lain seperti, oktakalsium fosfat (OKF), dikalsium fosfat dihidrat (DKFD) dan trikalsium fosfat (TKF) (Bulina et al., 2021).

Ada begitu banyak bahan baku dari alam yang bisa dimanfaatkan untuk membuat NHAp, misalnya batugamping (Jamarun et al., 2015), tulang ikan (Cahyanto et al., 2017), kulit telur (Sitohang et al., 2016), karang (Maryani et al., 2018) dan kulit kerang (Purwo Ningsih et al., 2014). Dalam studi kami, cangkang kerang pokea (*Batissa violacea* var. *celebensis*, von Martens 1897) digunakan sebagai sumber kalsium dalam produksi NHAp. Pemilihan limbah cangkang pokea dalam penelitian ini sebagai sumber kalsium, dikarenakan di Sulawesi Tenggara jumlah limbah cangkang

kerang pokea cukup besar. Selain itu, kulit terluar kerang tebal dan keras karena kandungan kalsium (Ca) yang tinggi, terhitung 94% (Kadir et al., 2022). Mineral kalsium (Ca) terdapat pada cangkang kerang pokea dalam bentuk karbonat (CaCO_3) (Pokhrel & Pokhrel, 2018)

Penelitian ini bertujuan untuk membuat NHAp dari cangkang kerang pokea. NHAp dibuat dengan metode hidrotermal selanjutnya dilakukan variasi suhu kalsinasi pada 300°, 600°, 900°, dan 1200°C untuk mengetahui sifat mekanik dan toksisitasnya NHAp pada jaringan. Berdasarkan sifat kekuatan tariknya, perpanjangan putus, sifat *hardness* dan sitoksisitasnya akan memberikan informasi penting mengenai aplikasi NHAp untuk aplikasi medis terutama pada bidang *bone grafting*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fisika FMIPA Universitas Halu Oleo. Uji sitoksisitas (MTT Assay) dilaksanakan di *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

Alat

Alat penelitian yang digunakan adalah alat XRF (Rigaku Nex CG), Universal Testing Machine (UTM) Instron 5944. Scanning Electron Microscope (SEM) EVOMA10, Mikro ELISA Reader.

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah cangkang kerang pokea yang

diperoleh dari sungai pohara Sulawesi Tenggara, Amonium dihidrogen fosfat (Merck CAS 7722-76-1) dan kultur sel osteoblast MC3T3-E1.

Prosedur Penelitian

Pembuatan CaO dari cangkang kerang pokea

Cangkang kerang pokea dibersihkan, dihaluskan serta diayak dengan menggunakan ayakan 100 mesh. Serbuk hasil ayakan dikalsinasi pada suhu 900°C selama 3 jam (Kadir et al., 2022). Selanjutnya hasil kalsinasi dikarakterisasi komposisinya dengan XRF.

Pembuatan Nano Hidroksiapatit (NHAp)

CaO dimasukkan kedalam larutan ammonium dihidrogenfosfat dengan rasio mol substrat CaO: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1,67. Kedua campuran zat preparasi kedalam autoklaf untuk dipanaskan dalam oven pada suhu 230°C selama 48 jam. Hasil autoklaf berupa padatan disaring dengan kertas saring *whatman* dan dicuci hingga pH netral. Proses penghilangan sisa air dalam padatan dilakukan dengan memanaskan padatan pada 105°C selama 24 jam dan dilanjutkan dengan proses sintering pada 300°, 600°, 900°, dan 1200°C. Uji sifat mekanik dilakukan pada masing-masing variasi suhu kalsinasi (Prawira et al., 2019)

Uji Sifat Mekanik

Analisis mekanik dilakukan menggunakan mesin uji mekanis (UTM Instron 5944) dalam mode kompresi. Pelet dibentuk silinder dengan dimensi diameter 1,2 cm dan panjang-tinggi 2,5 cm, karakteristik mekanik sampel diukur pada suhu 28 °C selama karakterisasi.

Uji Sitoksisitas

Uji sitotoksisitas dilakukan dengan mengadaptasi metode yang dilakukan (Sirait & Aulia, 2021) dengan mengkultur sel osteoblast MC3T3-E1 guna selanjutnya dikontakan dengan NHAp menggunakan metode MTT Assay. Viabilitas sel dihitung berdasarkan perubahan warna formazan

HASIL DAN PEMBAHASAN

CaO Dari Cangkang Kerang Pokea

Pada penelitian ini CaO dari cangkang kerang pokea dihasilkan melalui proses kalsinasi pada suhu 900°C. hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Oktaviana Maisyarah & Shofiyani, 2019) bahwa CaO akan dihasilkan pada temperature kalsinasi diatas 800°C. Dari hasil analisis XRF diperoleh kadar CaO 93,89% setelah kalsinasi. Hasil ini tidak terlalu jauh berbeda dengan hasil yang peroleh (Kadir et al., 2022) yakni sebesar 94,23%. Data hasil XRF ditunjukkan pada Tabel 1.

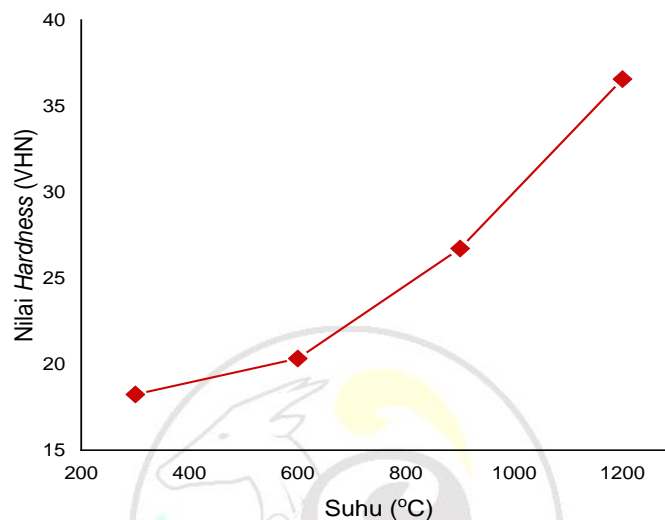
Tabel 1. Hasil analisis CaO dari Kerang Pokea

No	Mineral	Kadar (%)	
		Sebelum kalsinasi	Setelah kalsinasi
1	CaO	42,3	93,89
2	SiO ₂	1,69	2,9
3	Al ₂ O ₃	0,029	0,42
4	Fe ₂ O ₃	0,34	0,13
5	MgO	2,05	1.46

Morfologi dan Sifat Mekanik NHAp

Suhu kalsinasi memiliki pengaruh terhadap nilai kekerasan (*hardness*) NHAp. Hal itu dibuktikan dengan

pengujian *hardness* yang dilakukan. Data hasil uji *hardness* dari beberapa variasi suhu kalsinasi ditunjukkan pada Gambar 1.



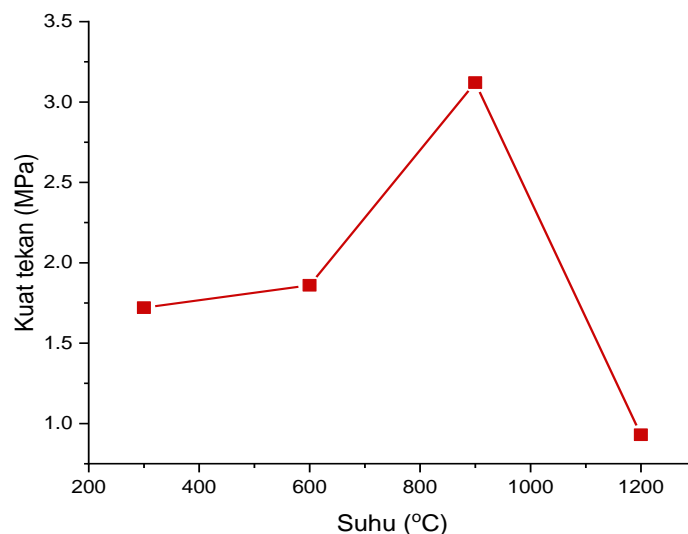
Gambar 1. Grafik Uji Kekerasan NHAp

Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan Gambar 1, menunjukkan bahwa nilai *hardness* NHAp memiliki tren yang meningkat dari variasi temperatur kalsinasi 300°C hingga 1200°C. Hasil nalisis pada suhu 300°C memperoleh nilai kekerasan terendah yakni 18,24VHN, sedangkan pada variasi temperatur kalsinasi 600°C, nilai kekerasan naik menjadi 20,33VHN. Nilai *hardness* NHAp terus meningkat hingga mencapai angka *hardness* optimum

sebesar 36,57VHN pada suhu kalsinasi 1200°C. Fenomena ini disebabkan adanya proses dekarbonasi dan dehidroksilasi material NHAp (Levingstone, 2008).

Suhu kalsinasi juga mempengaruhi nilai kekuatan tekan NHAp. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji kuat tekan yang telah dilakukan. Data hasil uji kuat tekan dari beberapa variasi suhu kalsinasi ditunjukkan pada Gambar 2.



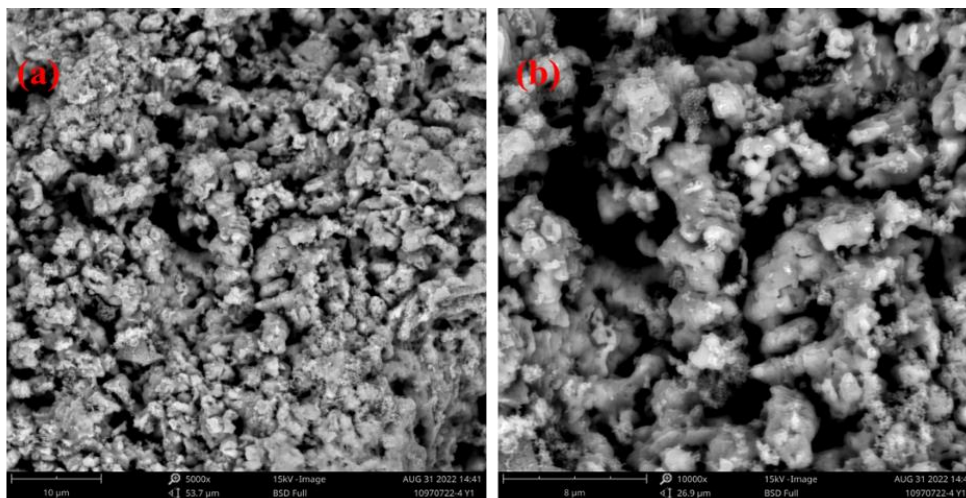
Gambar 2. Grafik Uji Kuat Tekan NHAp

Gambar 2 menunjukkan bahwa NHAp dari cangkang poka untuk variasi suhu 300°C memiliki nilai kuat tekan paling kecil yaitu 1,72 MPa, pada suhu 600°C nilai kuat tekannya naik menjadi 1,86 MPa. Nilai kuat tekan optimum berada pada suhu kalsinasi 900°C sebesar 3,12 MPa. Sedangkan pada suhu kalsinasi 1200°C menurun menjadi 0,93 MPa. Peningkatan nilai kuat tekan NHAp pada suhu kalsinasi 300-900°C ini terjadi karena diakibatkan mulai terbentuk NHAp murni. Selain itu, naiknya nilai kuat tekan tersebut juga dikarenakan adanya peningkatan kristalinitas ketika NHAp dikalsinasi pada temperatur 600-900°C (Khoo et al., 2015). hal ini juga pernah dilaporkan sebelumnya oleh (Solechan, 2015) yang menyatakan bahwa meningkatnya derajat kristalinitas hidroksiapatit pada sampel BHA ketika temperatur kalsinasinya mencapai 600°C sampai 1000°C.

Berdasarkan data pada Gambar 2 menjelaskan bahwa nilai kuat tekan NHAp menurun setelah proses kalsinasi di atas suhu 1000°C. Nilai kuat tekan

NHAp pada suhu 1200°C sebesar 0,93 MPa. Hal ini diakibatkan oleh sifat porous material yang disintesis. Suhu kalsinasi berbanding terbalik dengan sifat porous material. Semakin tinggi suhu kalsinasi yang digunakan pada sintesis NHAp maka porous interkoneksi yang terjadi pada NHAp juga semakin besar. Porous interkoneksi NHAp terjadi pada suhu kalsinasi $\geq 1000^\circ\text{C}$. selanjutnya, menurut penelitian (Triyono et al., 2019) suhu kalsinasi yang tinggi akan membuat NHAp menjadi rapuh, selain itu kekuatan ikatan partikel penyusun materi menjadi semakin lemah. Lemahnya interaksi partikel ini menyebabkan NHAp menjadi sangat getas, dan nilai kuat tekannya menjadi rendah.

Analisis permukaan NHAp ditunjukkan pada Gambar 3. Gambar 3(a) menunjukkan morfologi permukaan NHAp memiliki *relief* yang homogen. Untuk perbesaran 5000X tampak permukaan berpori dan berpola pada NHAp. Permukaan berpori nampak seperti ruang kosong dan tersebar merata dipermukaan membran.



Gambar 3. Hasil SEM NHAp pada suhu 900°C: (a) NHAp perbesaran 5000x; (b) NHAp perbesaran 10000x

Gambar 3(b) merupakan morfologi permukaan lintang NHAp dengan perbesaran 10000X. Berdasarkan gambar tersebut menunjukkan keadaan permukaan berpori/berongga pada NHAp. Permukaan berongga ini merata pada permukaan yang nampak jelas pada perbesaran 10000X. Pola porous interkoneksi yang teramati pada suhu kalsinasi yang tinggi mengakibatkan dinding nano hidroksiapatit (NHAp) akan berubah menjadi tipis dan jari-jari porous interkoneksi semakin besar sehingga menurunkan sifat mekanik.

Analisis Sitoksisitas

Analisis sitoksisitas dilakukan dengan metode MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]. Metode

ini merupakan metode pewarnaan, reagen MTT adalah garam tetrazolium yang bisa terurai menjadi formazan oleh suksinat tetrazolium reductase yang berada pada jalur respirasi sel mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Formazan ini akan memberikan warna spesifik (warna ungu) yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan ELISA reader.

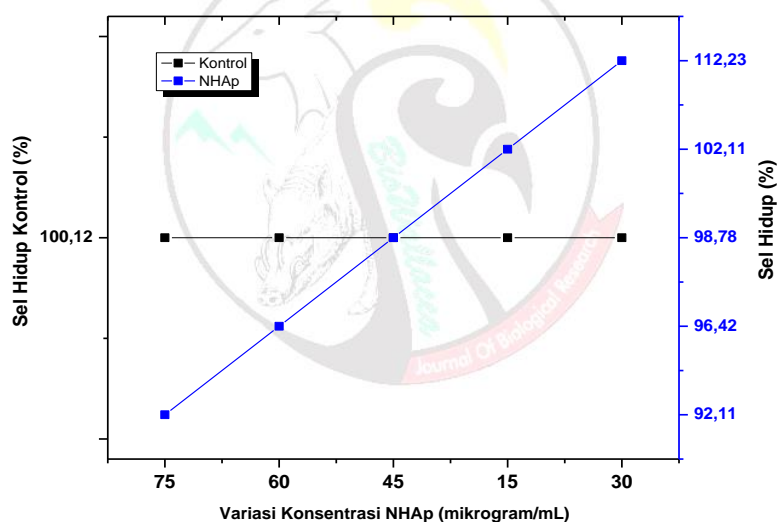
Berdasarkan hasil uji MTT assay pada sampel NHAp (kalsinasi 900°C) dengan berbagai variasi konsentrasi 15μg/mL, 30μg/mL, 45μg/mL, 60μg/mL, dan 75μg/mL, sementara wadah tanpa pengenceran ekstrak sampel digunakan sebagai kontrol. Hasil uji MTT assay ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji MTT assay

No	Kontrol		Hidroksiapatit		
	Persentase sel hidup	Standar deviasi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase sel hidup (%)	Standar deviasi
1	100,12	4,12	15	102,11	3,82
2			30	112,23	3,62
3			45	98,78	3,96
4			60	96,42	3,46
5			75	92,11	3,21

Berdasarkan Tabel 2, persentase sel hidup control sebesar 100,12% dengan deaviasi 4,12. Persentase sel hidup konsentrasi nano Hidroksiapatit 15 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 102,11%, NHAp 30 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 112,23, NHAp 45

$\mu\text{g/mL}$, sebesar 98,78%, NHAp 60 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 96,42% dan NHAp 75 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 92,11%. Grafik hubungan antara persentase sel hidup dengan variasi konsentrasi NHAp ditampilkan pada Gambar 4.

**Gambar 4.** Grafik persentase sel hidup dengan variasi konsentrasi NHAp

Persentase sel hidup NHAp variasi konsentrasi 75, 60, dan 45 $\mu\text{g/mL}$ berada dibawah persentase sel hidup kontrol sedangkan NHAp konsentrasi 15 dan 30 $\mu\text{g/mL}$ berada diatas kontrol. Dari hasil uji MTT assay persentase sel hidup optimum diperoleh pada variasi konsentrasi NHAp 30 $\mu\text{g/mL}$ dengan persentase sel hidup sebesar 112,23%. Hal ini membuktikan bahwa senyawa

NHAp tidak bersifat toksik pada jaringan fibroblast sehingga memungkinkan untuk diaplikasi dalam bidang *bone grafting*.

KESIMPULAN

Suhu kalsinasi memiliki pengaruh terhadap nilai kekerasan (*hardness*) NHAp. Hasil nalisis pada suhu 300°C memperoleh nilai kekerasan terendah yakni 18,24VHN, sedangkan angka

kekerasan optimum yaitu sebesar 36,57VHN pada suhu kalsinasi 1200°C.

Nilai kuat tekan optimum berada pada suhu kalsinasi 900°C sebesar 3,12 MPa. Sedangkan pada suhu kalsinasi 1200°C menurun menjadi 0,93 MPa. Penurunan nilai kuat tekan pada suhu 1200°C diakibatkan oleh sifat porous material yang disintesis. Hal ini juga dikonfirmasi dari data SEM terlihat bahwa Pola porous interkoneksi yang teramati pada suhu kalsinasi yang tinggi mengakibatkan dinding nano hidroksiapatit (NHAp) akan berubah menjadi tipis dan jari-jari porous interkoneksi semakin besar sehingga menurunkan sifat mekanik.

Dari hasil uji MTT assay persentase sel hidup optimum diperoleh pada variasi konsentrasi NHAp 30 µg/mL dengan persentase sel hidup sebesar 112,23%. Hal ini membuktikan bahwa senyawa NHAp tidak bersifat toksik pada jaringan fibroblast sehingga memungkinkan untuk diaplikasi dalam bidang *bone grafting*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak yang telah membantu penelitian dalam bentuk Hibah Penelitian, terutama Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Kemendikbud-Dikti serta LPPM Universitas Halu Oleo. Terimakasih Kepada Laboratorium Kimia FMIPA UHO serta Laboratorium Fakultas Kedokteran UHO.

DAFTAR PUSTAKA

Bozkurt, Y., Pazarlioglu, S., Gokce, H., Gurler, I., & Salman, S. (2015). Hydroxyapatite lanthanum oxide composites. *Acta Physica Polonica A*, 127(4), 1407–1409. <https://doi.org/10.12693/APHYSPOLA.127.1407>

Bulina, N. v., Makarova, S. v., Baev, S. G., Matvienko, A. A., Gerasimov, K. B., Logutenko, O. A., & Bystrov, V. S. (2021). A Study of Thermal Stability of Hydroxyapatite. *Minerals* 2021, Vol. 11, Page 1310, 11(12), 1310.

<https://doi.org/10.3390/MIN11121310>

Cahyanto, A., Kosasih, E., Aripin, D., & Hasratiningsih, Z. (2017). Fabrication of hydroxyapatite from fish bones waste using reflux method. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 172(1).

<https://doi.org/10.1088/1757-899X/172/1/012006>

Irwansyah, F. S., Yusuf, A., Eddy, D. R., Risdiana, R., & Noviyanti, A. R. (2022). Effect of Sensitive pH on Hydroxyapatite Properties Synthesized from Chicken Eggshell. *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(5), 1418–1426. <https://doi.org/10.22146/IJC.72959>

Jamarun, N., Asril, A., Zuhadjri, Z., Azharman, T., & Permata, S. (2015). Effect of hydrothermal temperature on synthesize of hydroxyapatite from limestone through hydrothermal method. *Available Online Www.Jocpr.Com Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(6), 832–837. www.jocpr.com

Kadir, L. A., Permana, D., Azis, T., Kimia, J., Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, F., Halu Oleo, U., Hijau Bumi Tridharma, K., Kendari, K., & Tenggara, S. (2022). Sintesis dan Karakterisasi Bionano Hidroksiapatit (HAp) Secara Insitu Dengan Metode Hidrotermal.

- Cokroaminoto Journal of Chemical Science*, 4(2), 1–4.
<https://science.e-journal.my.id/cjcs/article/view/118>
- Khoo, W., Nor, F. M., Ardhyanta, H., & Kurniawan, D. (2015). Preparation of Natural Hydroxyapatite from Bovine Femur Bones Using Calcination at Various Temperatures. *Procedia Manufacturing*, 2, 196–201.
<https://doi.org/10.1016/J.PROMFG.2015.07.034>
- Lavigueur, C., & Zhu, X. X. (2011). Recent advances in the development of dental composite resins. *RSC Advances*, 2(1), 59–63.
<https://doi.org/10.1039/C1RA00922B>
- Levingstone, T. (2008). Optimisation of plasma sprayed hydroxyapatite coatings. *Undefined*.
- Maryani, E., Cich Kurniasih, S., Sofiyansih, N., & Priyanto. (2018). The Preparation of Hydroxyapatite ± Zirconia Composites as Bioceramic Materials. *Jurnal Keramik Dan Gelas Indonesia*, 27(Juni), 40–50.
- Oktaviana Maisyarah, A., & Shofiyani, A. (2019). Sintesis CaO Dari Cangkang Kerang Ale-Ale (Meretrix meretrix) PADA SUHU KALSINASI 900oC. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(1), 32–35.
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/32529>
- Pokhrel, S., & Pokhrel, S. (2018). Hydroxyapatite: Preparation, Properties and Its Biomedical Applications. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 8(4), 225–240.
<https://doi.org/10.4236/ACES.2018.84016>
- Prawira, S. E., Triyono, J., & Triyono, T. (2019). Pengaruh Temperatur Kalsinasi Terhadap Sifat Mekanik Material Scaffold Hidroksiapatit Dari Tulang Kambing. *Mekanika: Majalah Ilmiah Mekanika*, 18(1).
<https://doi.org/10.20961/MEKANIK.A.V18I1.35042>
- Purwo Ningsih, R., Wahyuni, N., & Destianti, L. (2014). Sintesis Hidroksiapatit Dari Cangkang Kerang Kepah (Polymesoda erosa) Dengan Variasi Waktu Pengadukan. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(1).
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/5021>
- Sitohang, F., Azis, Y., Zultiniar, dan, Jurusan Teknik Kimia, M., & Jurusan Teknik Kimia, D. (2016). Sintesis Hidroksiapatit Dari Precipitated Calcium Carbonate (PCC) Kulit Telur Ayam Ras Melalui Metode Hidrotermal. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Teknik Dan Sains*, 3(2), 1–7.
<https://jom.unri.ac.id/index.php/JO MFTEKNIK/article/view/10316>
- Sirait, Makmur., B.M., Aulia. (2021). Sintesis Dan Uji Sitotoksitas Hidroksiapatit Batu Kapur Sebagai Bahan Graft Tulang. *Einsten (e-Journal)*. 9(3),
<https://doi.org/10.24114/einstein.v9i3.28900>
- Solechan, R. J. (2015). Pembuatan Material Sintesis Nano Hydroxyapatite Untuk Aplikasi Scaffolds Tulang Mandibula Dari Tulang Cumi Sotong Menggunakan Metode Kalsinasi. *Iteks*, 7(1). <https://www.ejournal.stt-wiworotomo.ac.id/index.php/iteks/article/view/239>

- Triyono, J., Prawira, S. E., & Triyono, T. (2019). The Effect of Calcination Temperature to Mechanical Properties of Sheep Hydroxyapatite. *KnE Life Sciences*, 4(12), 10. <https://doi.org/10.18502/KLS.V4I12.4152>
- Wang, W., & Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*, 2(4), 224–247. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTM.AT.2017.05.007>

