

UJI ANTIBAKTERI DAN MODIFIKASI HIDROKSIAPATIT DARI LIMBAH KERABANG TELUR BEBEK (*A. platyrhynchos javanica*)

Agung Rimayanto Gintu^{1*}, Elizabeth Betty Elok Kristiani¹, Yohanes Martono¹

¹ Universitas Kristen Satya Wacana,
Salatiga

*e-mail korespondensi:
agunggintu911@gmail.com

Abstrak. *Hydroxyapatite (HAp)* adalah salah satu komponen sintetik yang dapat disintesis dari bahan mentah seperti cangkang telur. HAp digagaskan untuk diaplikasikan sebagai bahan aktif dalam formula pasta gigi yang berperan sebagai abrasive, agen remineralisasi dan antibakteri terhadap karies. Tujuan dari penelitian ini adalah mengukur daya antibakteri HAp yang disintesis dari cangkang telur bebek (*A. platyrhynchos javanica*) terhadap 4 species bakteri karies: *S. mutans*, *L. acidophyllus*, *N. asteroides* and *N. asteroides*. Konsentrasi HAp dibedakan menjadi 3 yaitu: 100, 500 dan 1000ppm, diameter daerah hambat hanya ditunjukkan oleh HAp 1000ppm terhadap bakteri *L.acidophyllus* sebesar $5,19 \pm 0,0203\text{mm}$, dan tergolong antibakteri lemah, sehingga butuh modifikasi untuk meningkatkan daya antibakteri HAp. HAp dimodifikasi dengan pencampuran dan doping. Daya antibakteri terkuat dihasilkan oleh HAp yang di doping Perak (Ag) dengan diameter hambatan terhadap 4 bakteri karies secara berurutan adalah: $17,91 \pm 0,1723\text{mm}$; $23,10 \pm 0,0361\text{mm}$; $19,06 \pm 0,0348\text{mm}$; dan $19,12 \pm 0,0493\text{mm}$; semua proses modifikasi berhasil meningkatkan daya antibakteri HAp dari kisaran sangat lemah menjadi kuat dan sangat kuat.
Kata kunci: Biokeramik, Cangkang telur, Hydroxyapatite

Abstract. *Hydroxyapatite (HAp)* was one of synthetic compounds synthesized from raw materials like eggshells, HAp initiated to applied in toothpaste formulations as active compounds role as abrasives, remineralitation agents and antibacteries against caries. The aim of this study was to measured the antibacterial activity of HAp synthesized from Local Duck (*A. platyrhynchos javanica*) eggshells against 4 species of caries bacteries: *S. mutans*, *L. acidophyllus*, *N. asteroides* and *N. asteroides*. The concentration of HAp separated into 3 levels: 100, 500 and 1000ppm, the antibacterial activity of HAp only produced against *L. acidophyllus* at 1000ppm concentration of HAp, the diameter of inhibitory showed $5,19 \pm 0,0203\text{mm}$, this activity belongs to weak activity then need to modified the HAp to increasing the antibacterial activity. The HAp modified by Mix and Doped. The strongest antibacterial showed by Silver (Ag) doped, with diameter of inhibitory against 4 caries bacteries sequentaly $17,91 \pm 0,1723\text{mm}$; $23,10 \pm 0,0361\text{mm}$; $19,06 \pm 0,0348\text{mm}$; and $19,12 \pm 0,0493\text{mm}$; those modifications increating the antibacterial from weak to strong and very strong range.

Key Words: Biocheramics, Eggshells, Hydroxiapatite

PENDAHULUAN

Biokeramik Hidroksiapatit (HAp) adalah salah satu material sintetik yang disintesis untuk keperluan perbaikan tulang dan/atau gigi. HAp merupakan turunan dari CaCO_3 dan CaPO_4 melalui proses sintesis menghasilkan struktur baru $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ (Agrawal *et al.*, 2011; Elkayar *et al.*, 2009; Feraz *et al.*, 2004) yang diberi nama Hidroksiapatit (Agrawal *et al.*, 2011; Elkayar *et al.*, 2009; Feraz *et al.*, 2004; Ramya *et al.*, 2014; Chandra *et al.*, 2012). Saat ini modifikasi HAp untuk memperbanyak aplikasinya, salah satu metode modifikasi HAp adalah dengan mendopingnya menggunakan ion logam (Ramya *et al.*, 2014; Chandra *et al.*, 2012; Veerla *et al.*, 2019). Doping bertujuan untuk mensubstitusikan ion logam kedalam struktur HAp pada beberapa posisi Ca (Ramya *et al.*, 2014; Chandra *et al.*, 2012; Veerla *et al.*, 2019; Kunthaivel *et al.*, 2016; Predoi *et al.*, 2021), diperkirakan substitusi ini dapat meningkatkan stabilitas dan beberapa kemampuan fisikokimia HAp dari level rendah ke tinggi (Kunthaivel *et al.*, 2016; Predoi *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2019). Proses sintesis, modifikasi serta produksi HAp harus terus dilanjutkan karena HAp sangat dibutuhkan sebagai salah satu komponen perbaikan jaringan keras dalam dunia medis (Veerla *et al.*, 2019; Kunthaivel *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2019; Liang *et al.*, 2019) sementara di sisi lain material substitusi dan donor tulang berada pada kondisi terbatas (Veerla *et al.*, 2019; Kunthaivel *et al.*, 2016). HAp dapat disintesis dari bahan mentah yang kaya akan kandungan Kalsium (Ca) dan Fosfor (P) seperti cangkang telur (Agrawal *et al.*, 2011; Elkayar *et al.*, 2009; Feraz *et al.*, 2004). Karena HAp dilaporkan memiliki kesamaan struktur dengan Enamel gigi (Kunthaivel *et al.*, 2016; Dos Santos *et al.*, 2015; Iconaru *et al.*, 2013; Victor *et al.*, 2017; Chi *et*

al., 2019), sehingga digagaskan untuk menggunakan HAp dalam perawatan gigi seperti pasta gigi (Wadu *et al.*, 2017; Wadu *et al.*, 2018). Dalam pasta gigi, HAp berperan sebagai komponen abrasive (pengikis kotoran gigi) (Wadu *et al.*, 2017; Wadu *et al.*, 2018; Ahmad, 2017; Gintu *et al.*, 2020; Gintu *et al.*, 2017), agen remineralisasi (Nurlaela *et al.*, 2014; Saleha *et al.*, 2015; Rahmawati *et al.*, 2012), sekaligus sebagai antibakteri (Wadu *et al.*, 2017). Tidak hanya kemampuan remineralisasi, tapi juga daya antibakteri dibutuhkan dari HAp untuk mengatasi infeksi bakteri Karang Gigi (Karang Gigi) (Wadu *et al.*, 2017; Wadu *et al.*, 2018; Gintu *et al.*, 2017).

Karang Gigi merupakan salah satu masalah pada gigi yang dapat merusak keindahan ketampakan gigi (Dave *et al.*, 2014; Gibrael *et al.*, 2014), karena bakteri karies menghasilkan karang gigi dengan warna lain (umumnya kuning) yang berbeda dengan warna gigi dan melekat kuat pada gigi (Dave *et al.*, 2014; Gibrael *et al.*, 2014; Maldupa *et al.*, 2012; Prasetya, 2008). Selama selang waktu tertentu, karies dapat merapuhkan fisik enamel gigi karena biomassa karies menjadi sarang bagi beberapa bakteri mulut (Zaenab *et al.*, 2004), lalu aktivitas bakteri-bakteri tersebut menyebabkan suasana asam disekitar enamel gigi, suasana asam ini dapat mengurai atau menggerus Ca dan P dari enamel serta merapuhkan enamel gigi (Wadu *et al.*, 2017; Wadu *et al.*, 2018; Zaenab *et al.*, 2004). Terkadang peluruhan juga diikuti oleh karies karena karies menempel kuat pada enamel (Dave *et al.*, 2014; Gibrael *et al.*, 2014; Zaenab *et al.*, 2004), lalu titik dimana terjadi penggerusan / peluruhan enamel harus diremineralisasi segera untuk alasan kesehatan gigi juga untuk mencegah pembentukan karies lagi pada titik yang sama (Wadu *et al.*, 2017; Wadu *et al.*, 2018). Karena masalah ini sehingga dibutuhkan bahan aktif

yang dapat menghambat karies sekaligus remineralisasi enamel, dan bahan yang sesuai adalah Hidroksiapatit (Gintu *et al*, 2020).

Di Indonesia, material untuk perawatan gigi dan tulang termasuk HAp masih menggunakan bahan import dari luar negeri (Nurlaela *et al*, 2014; Saleha *et al*, 2015; Rahmawati *et al*, 2012; Juliastri *et al*, 2015; Matulesy *et al*, 2020; Susanto *et al*, 2014), meskipun di sisi lain sebenarnya Indonesia memiliki banyak material yang dapat disintesis untuk menghasilkan HAp, salah satunya adalah (limbah) kerabang telur (Nurlaela *et al*, 2014; Saleha *et al*, 2015; Rahmawati *et al*, 2012). Pada umumnya limbah kerabang telur yang dijadikan HAp di Indonesia adalah kerabang telur ayam (Wadu *et al*, 2017; Wadu *et al*, 2018; Nurlaela *et al*, 2014; Saleha *et al*, 2015) sedangkan untuk kerabang telur bebek belum dimanfaatkan khususnya dalam sintesis HAp (Gintu *et al*, 2017; Nurlaela *et al*, 2014). Kerabang telur tersebut dapat diperoleh dari pasar atau peternakan (Wadu *et al*, 2017; Wadu *et al*, 2018; Gintu *et al*, 2017). Ketersediaan serta kandungan mineral dalam kerabang telur bebek sangat disarankan untuk sintesis HAp (Gintu *et al*, 2017; Nurlaela *et al*, 2014). Pada penelitian ini, HAp diperoleh dari penelitian sebelumnya yang mensintesis HAp dari kerabang telur bebek (*A. platyrhynchos javanica*) yang diperoleh dari Pasar Raya Kota Salatiga. Kualitas dan kuantitas HAp yang disintesis dari kerabang telur bebek membuka peluang untuk melanjutkan penelitian modifikasi HAp. HAp yang dihasilkan pada penelitian ini akan digunakan sebagai bahan aktif dalam formula pasta gigi. HAp diperkirakan dapat menghambat karies namun setelah dilanjutkan ke uji antibakteri diketahui bahwa HAp tidak selalu menghasilkan daya antibakteri pada kisaran kuat (Iconaru *et al*, 2013), sehingga butuh modifikasi dengan mendoping HAp menggunakan ion mineral (Kurinjinathan *et al*, 2020) dan mineral yang dipilih sebagai doping adalah Perak (Ag) (Veerla *et al*, 2019;

Predoi *et al*, 2016; Ciobanu *et al*, 2012), Titanium (Ti) (Nathanael *et al*, 2009), Seng (Zn) (Ramya *et al*, 2014; Charlena *et al*; 2019), dan Magnesium (Mg) (Laksono *et al*, 2019). Mineral-mineral tersebut dipilih karena sudah umum digunakan dalam kosmetik untuk perawatan gigi juga karena mineral-mineral tersebut sendiri telah memiliki daya antibakteri terhadap bakteri mulut termasuk karies penyebab karang gigi (Gintu *et al*, 2017).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium dasar dan laboratorium CARC, Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana, kota Salatiga Jawa Tengah selama April-Agustus 2019. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, NaCl, BaCl₂, H₂SO₄, Media NA, Media NB, MgCl₂, ZnCl₂, TiO dan AgCl. Peralatan yang digunakan berupa Spektrofotometer UV-Vis, sonicator, inkubator, autoclave, cawan petri, refractometer, neraca digital, dan rotare viscometer.

HAp pada penelitian ini diperoleh dari penelitian sebelumnya, disintesis dari limbah kerabang telur bebek. 100g HAp dilarutkan hingga 1L menggunakan aquades dengan sonikasi untuk melarutkan HAp secara sempurna (Gintu *et al*, 2020), larutan HAp dibagi kedalam 3 konsentrasi yaitu: 50, 100 dan 1000ppm (Wadu *et al*, 2017). Kemudian kami melakukan peremajaan bakteri dari stok induk) dalam medium NA dan diinkubasi dalam inkubator bersuhu 35^o-37^oC selama 24 jam lalu dipindahkan ke medium NB. Standarisasi bakteri menggunakan seri McFarland dari campuran BaCl₂ 1% (w/v) dan H₂SO₄ 1% (v/v) (Hardy Diagnostic, 2014). Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophyllus*, *Nocardia asteroides* and *Nocardia erythropolys*. Kemudian uji antibakteri dengan menyerap Larutan HAp dalam paperdisk kosong melalui penetesan dengan mikropipet, lalu paperdisk

diletakkan diatas medium NA yang telah dikontaminasi dengan bakteri karies (terstandar McFarland). Medium uji lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35^o-37^oC. Pengukuran daerah hambat dilakukan setelah inkubasi (Wadu *et al*, 2017).

Modifikasi HAp dilakukan dengan 2 tahap yakni pencampuran lalu didusul doping ion. Tahap pertama adalah pencampuran dengan bahan aktif lain, pada tahap ini Komponen campuran yang digunakan pada penelitian ini adalah Kitosan (Mututuvari *et al*, 2013; Wattanutchariya & Changkowchai, 2014; Wahl & Czernuszka, 2009) dan Karbon Nanotube (CNt) (Gintu & Puspita, 2020; Gintu *et al*, 2018; Venkatesan *et al*, 2014; Wang *et al*, 2009). Masing-masing komponen (utama dan pencampur) dibuat dalam 50mL dengan konsentrasi 50 ppm lalu dicampurkan dengan menggunakan sonikasi untuk menghomogenkan (Gintu & Puspita, 2020), campuran yang diperoleh adalah HAp-Kitosan, HAp-CNt, dan HAp-Kitosan-CNt. Setelah larutan homogen, diambil 10mL larutan lalu diencerkan hingga 100mL dengan aquades lalu diukur daya antibakterinya (Wadu *et al*, 2017) mengikuti poin 2.5.

Tahap selanjutnya dilakukan dengan mengambil 50mL dari masing-masing larutan campuran lalu di dopingkan sebanyak 50ml larutan ion yang masing-masing mengandung Ag (10ppm) (Veerla *et al*, 2019; Predoi *et al*, 2016; Ciobanu *et al*, 2012), Ti (10ppm) (Nathanael *et al*, 2009), Zn (10ppm) (Ramya *et al*, 2014; Charlena *et al*; 2019), dan Mg (10ppm) (Laksono *et al*, 2019). Doping ion dilakukan dengan meneteskan larutan campuran dengan kecepatan tetes 2 tetes per menit. Setelah didoping, larutan disonikasi dengan frekwensi rendah untuk menghomogenkan. Setelah homogen, diambil 10mL larutan lalu

diencerkan hingga 100mL dengan aquades lalu diukur daya antibakterinya (Wadu *et al*, 2017) mengikuti poin 2.5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karies utamanya disebabkan oleh keberadaan bakteri *Streptococcus mutans* (Gibraiel *et al*, 2014; Maldupa *et al*, 2012; Prasetya, 2008; Zaenab *et al*, 2004) dan *Lactobacillus acidophyllus* (Wadu *et al*, 2017). Kehadiran kedua bakteri tersebut menghasilkan karies gigi, bakteri-bakteri tersebut menguraikan substrat berupa sisa makanan dan gula diantara gigi lalu menghasilkan biomassa yang terdiri dari C, Na, P, dan K, biomassa ini disebut Karies (Gibraiel *et al*, 2014). Kemunculan karies ditandai dengan warna kuning kecokelatan pada enamel gigi karena ini karies disebut merusak ketampakan gigi. Karies menempel kuat pada enamel gigi dan ketika karies meluruh/tergerus akan diikuti oleh tergerusnya enamel yang dilekati karies (Gibraiel *et al*, 2014; Maldupa *et al*, 2012; Prasetya, 2008; Zaenab *et al*, 2004). Kehadiran *S. mutans* dan *L. acidophyllus* menyebabkan suasana asam (Wadu *et al*, 2017) lalu menggerus Ca dan P dari enamel, Ketika Ca dan P tergerus, posisinya akan disubstitusi oleh Na, K, P, dan C dari produk sampingan penguraian substrat oleh bakteri mulut, karena substitusi ini sehingga karies dapat melekat kuat pada enamel (Gibraiel *et al*, 2014; Maldupa *et al*, 2012; Prasetya, 2008; Zaenab *et al*, 2004). Seiring waktu biomassa karies terus meningkat dan menjadi sarang bagi bakteri mulut yang lain seperti *N. asteroides* dan *N. erythropolys* yang memperparah kondisi kerusakan gigi. Pada penelitian ini larutan HAp dibagi dalam 3 konsentrasi, 100, 500 dan 1000 ppm. Hasil pengukuran daya antibakteri ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Daya Antibakti Hap tanpa modifikasi

Material		Diameter Daerah Hambat (mm) Terhadap Bakteri:			
Bahan Aktif	Dosis (ppm)	<i>S. mutans</i>	<i>L. acidophyllus</i>	<i>N. asteroides</i>	<i>N. erythropolys</i>
HAp	100	-	-	-	-
	500	-	-	-	-
	1000	-	5,19 ± 0,0203	-	-

Daya antibakteri HAp tanpa modifikasi hanya muncul terhadap bakteri *L. acidophyllus* pada konsentrasi HAp 1000ppm. Diameter daerah hambat yang diperoleh sebesar $5,19 \pm 0,0203$ mm tergolong pada kisaran daya antibakteri sangat lemah. Artinya kemampuan interaksi kimiawi HAp belum cukup kuat untuk merusak lapisan membrane sel bakteri. Juga diperkirakan bahwa daya antibakteri muncul karena membran *L. acidophyllus* lebih tipis dari

bakteri uji yang lain (Wadu *et al*, 2017) tapi meskipun tipis, dibutuhkan 1000ppm HAp untuk menghambatnya. Untuk meningkatkan daya antibakteri HAp maka diperlukan modifikasi melalui pencampuran dan doping (Ciobanu *et al*, 2012; Nathanael *et al*, 2009), yang bertujuan meningkatkan kemampuan interaksi kimiawi HAp. Hasil pengukuran daya antibakteri HAp termodifikasi ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Daya Antibakteri Hap Termodifikasi

Bahan Aktif	Dosis (% v/v)	Diameter Daerah Hambat (mm) Terhadap Bakteri:				
		<i>S. mutans</i>	<i>L. acidophyllus</i>	<i>N. asteroides</i>	<i>N. erythropylus</i>	
HAp	10	-	-	-	-	
Dop	Ag	$17,91 \pm 0,1723$	$23,10 \pm 0,0361$	$19,06 \pm 0,0348$	$19,12 \pm 0,0493$	
	Ti	$18,06 \pm 0,0260$	$23,04 \pm 0,0186$	$18,16 \pm 0,0296$	$18,10 \pm 0,0410$	
	Zn	$15,06 \pm 0,0633$	$22,01 \pm 0,2937$	$17,06 \pm 0,0379$	$17,12 \pm 0,0176$	
	Mg	10	-	$8,88 \pm 0,1629$	-	
HAp : Kitosan	10	$20,51 \pm 0,5284$	$26,02 \pm 0,0233$	$24,03 \pm 0,0333$	$24,11 \pm 0,0586$	
Dop	Ag	$23,23 \pm 0,0273$	$26,07 \pm 0,0667$	$24,18 \pm 0,0176$	$24,14 \pm 0,0361$	
	Ti	$23,12 \pm 0,0617$	$26,03 \pm 0,0333$	$24,23 \pm 0,0348$	$24,14 \pm 0,0322$	
	Zn	$23,04 \pm 0,0120$	$24,64 \pm 0,3502$	$24,03 \pm 0,0267$	$24,02 \pm 0,0145$	
	Mg	10	$23,15 \pm 0,0649$	$23,72 \pm 0,1550$	$22,93 \pm 0,1192$	$22,45 \pm 0,0536$
HAp : CNT	10	-	$12,27 \pm 0,0289$	$4,15 \pm 0,0504$	-	
Dop	Ag	$8,70 \pm 0,1637$	$17,08 \pm 0,0233$	$12,11 \pm 0,0233$	$12,28 \pm 0,0203$	
	Ti	$5,08 \pm 0,0410$	$17,04 \pm 0,0433$	$12,01 \pm 0,0133$	$11,90 \pm 0,1844$	
	Zn	$3,06 \pm 0,0410$	$14,09 \pm 0,9551$	$4,25 \pm 0,0289$	$3,85 \pm 0,1041$	
	Mg	10	-	$8,90 \pm 0,2090$	-	
HAp : Kitosan : CNT	10	$18,06 \pm 0,0470$	$23,06 \pm 0,0533$	$22,05 \pm 0,0318$	$21,90 \pm 0,2336$	
Dop	Ag	$18,85 \pm 0,2312$	$24,13 \pm 0,0318$	$23,89 \pm 0,1563$	$23,47 \pm 0,0731$	
	Ti	$17,77 \pm 0,1623$	$23,87 \pm 0,1471$	$23,85 \pm 0,1550$	$23,89 \pm 0,1067$	
	Zn	$14,86 \pm 0,1433$	$23,09 \pm 0,0371$	$17,02 \pm 0,0145$	$15,09 \pm 0,0384$	
	Mg	10	$12,04 \pm 0,0233$	$22,69 \pm 0,1790$	$15,06 \pm 0,0328$	$14,86 \pm 0,1400$
Toothpaste HAp	10	$16,15 \pm 0,0649$	$22,83 \pm 0,1667$	$18,85 \pm 0,1467$	$18,88 \pm 0,1586$	
Control (+)	Tetracycline	10	$22,85 \pm 0,1500$	$24,56 \pm 0,0600$	$23,30 \pm 0,2082$	$23,02 \pm 0,0233$
	Sreptomycine	10	$24,27 \pm 0,1202$	$24,43 \pm 0,0322$	$22,00 \pm 0,00$	$22,00 \pm 0,00$
	Erithromycine	10	$24,10 \pm 0,0426$	$24,58 \pm 0,0536$	$24,02 \pm 0,0167$	$24,08 \pm 0,0437$
	Vit.C	10	$25,00 \pm 0,00$	$25,00 \pm 0,00$	$24,85 \pm 0,1517$	$25,06 \pm 0,0633$
	Menthol	10	$20,72 \pm 0,1468$	$24,00 \pm 0,00$	$22,00 \pm 0,00$	$22,06 \pm 0,0348$
Control (-)	CaCO ₃	10	-	-	-	-
	CaPO ₄	10	-	-	-	-

Daya antibakteri HAp termodifikasi dapat meningkat menjadi lebih kuat dibandingkan HAp murni, diperkirakan disebabkan oleh ion logam yang digunakan sebagai doping juga memiliki daya antibakteri kuat juga karena meningkatnya kemampuan interaksi kimiawi HAp (Ramya *et al*, 2014; Chi *et al*, 2019). Dalam proses pendopingan,

beberapa posisi Ca dalam HAp tersubstitusi oleh ion logam (Ramya *et al*, 2014; Chandra *et al*, 2012; Veerla *et al*, 2019; Kunthaivel *et al*, 2016; Doldberg *et al*, 2018), ketika didoping dengan Ag menghasilkan Ag-HAp, daya interaksi biokimia meningkat dan mengganggu pembentukan metaloprotein dalam sel bakteri karena itu produksi matriks

sel melambat sehingga menghambat perkembangan bakteri (Ciobanu *et al*, 2012). HAp yang di doping dengan Ti dan Zn dapat mengganggu kestabilan muatan ionic pada membran sel dan membunuh bakteri (Ramya *et al*, 2014; Nathanael *et al*, 2009; Charlena *et al*, 2019). HAp yang didoping dengan Mg menghasilkan daya antibakteri paling lemah hampir sama dengan HAp murni, antibakteri juga hanya dihasilkan oleh Mg-HAp terhadap *L. acidophyllus*, diperkirakan daya antibakteri ini muncul karena *L. acidophyllus* memiliki membrane sel yang tipis dan mudah dirusak, namun untuk bakteri lain campuran Mg-HAp tidak cukup kuat untuk melakukan penetrasi sel bakteri. Ketika diaplikasikan kedalam pasta gigi, diperkirakan daya antibakteri disebabkan oleh Menthol (Alpha Pinene) yang umumnya digunakan sebagai perasa dan antibakteri dalam pasta gigi. Bahan abrasive seperti CaCO_3 dan CaPO_4 dalam pasta gigi terbukti tidak menghasilkan daya antibakteri hal ini ditunjukkan dalam Tabel 2.

Perlakuan pencampuran HAp dengan Kitosan lalu dilanjutkan dengan doping menghasilkan daya antibakteri terkuat diantara semua perlakuan. Daya antibakteri yang tinggi dihasilkan karena adanya sisi aktif dari Kitosan yang terdiri dari gugus NH_3^+ yang dapat berinteraksi aktif terhadap membrane sel bakteri (Bangun *et al*, 2018; Komariah, 2015; Maharani *et al*, 2015), interaksi biokimia bereaksi dengan enzim *Lysozyme* pada sel bakteri sehingga memicu mekanisme apoptosis (kematian sel). Daya antibakteri HAp-Kitosan terus meningkat

oleh doping (Bangun *et al*, 2018; Komariah, 2015; Maharani *et al*, 2015).

Perlakuan pencampuran HAp dengan Karbon Nanotube (CNT) menghasilkan daya antibakteri paling lemah diantara semua perlakuan pencampuran. Daya antibakteri hanya muncul terhadap bakteri *L. acidophyllus*, diperkirakan karena Karbon nano yang digunakan belum mencapai Karbon Nanotube (CNT) namun Karbon Nanosheet (CNs) (Gintu & Puspita, 2020; Gintu *et al*, 2018). Selama proses sintesis, lembaran Nanoviber tidak menggulung sempurna tapi tetap berbentuk lembaran (Venkatesan *et al*, 2014; Wang *et al*, 2009). Karena Karbon nanofiber masih berbentuk lembaran maka ketika bereaksi dengan HAp, kedua komponen saling melemahkan bahkan menghilangkan daya antibakteri masing-masing menyebabkan lemahnya daya antibakteri jika tanpa dilanjutkan dengan doping (Gintu & Puspita, 2020; Gintu *et al*, 2018; Venkatesan *et al*, 2014; Wang *et al*, 2009). Daya antibakteri meningkat setelah HAp-CNT didoping dengan ion logam. Karena itu dibuat mekanisme pencampuran dengan mencampurkan CNT dengan Kitosan terlebih dahulu (Gintu *et al*, 2018) baru dilanjutkan dengan HAp (perlakuan 3), perlakuan ini dapat meningkatkan daya antibakteri ke level menengah, bahkan setelah didoping daya antibakteri meningkat lagi menjadi katagori kuat. Untuk memperkirakan sebab pemicu daya antibakteri maka dilakukan karakterisasi larutan HAp termodifikasi. Hasil karakterisasi ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakterisasi Larutan HAp Termodifikasi

Bahan Aktif	Densitas (g/mL)	Viscositas			MW (g/mol)	Homogenitas			Z-Potential			
		Absolut (P.a)	Kinetik (CTs)	Dynamis (CPs)		Brix (%)	Padatan (%)	Kelarutan (%)	V (mV)	I (mA)	R (O)	
HAp	0,9988 ± 0,0018	0,93 ± 0,0333	0,9346 ± 0,0351	10,7296 ± 0,3888	0,0673 ± 0,0001	0,20 ± 0,00	0,4026 ± 0,0000	99,5974 ± 0,0000	15 ± 0,00	45 ± 0,00	45 ± 0,00	
Dop	Ag	1,0014 ± 0,0001	1,23 ± 0,0333	1,2316 ± 0,0333	8,1310 ± 0,2136	0,0671 ± 0,0001	0,30 ± 0,00	0,5454 ± 0,0000	99,4546 ± 0,0000	25 ± 0,00	45 ± 0,00	55 ± 0,00
		Ti	1,0015 ± 0,0008	1,13 ± 0,0333	1,1316 ± 0,0333	8,8519 ± 0,2531	0,0671 ± 0,0005	0,30 ± 0,00	0,5454 ± 0,0000	99,4546 ± 0,0000	25 ± 0,00	55 ± 0,00

	Zn	1,0009 ± 0,0002	1,13 ± 0,0233	1,1324 ± 0,0333	8,8460 ± 0,2526	0,0671 ± 0,0001	0,20 ± 0,00	0,4026 ± 0,0000	99,5974 ± 0,0000	20 ± 0,00	50 ± 0,00	30 ± 0,00
	Mg	0,9995 ± 0,0017	1,10 ± 0,0000	1,1005 ± 0,0018	9,0867 ± 0,0152	0,0672 ± 0,0001	0,20 ± 0,00	0,4026 ± 0,0000	99,5974 ± 0,0000	10 ± 0,00	35 ± 0,00	50 ± 0,00
	HAp : Kitosan	1,0020 ± 0,0001	1,57 ± 0,0667	1,5635 ± 0,0664	6,4182 ± 0,2615	0,0671 ± 0,0008	0,20 ± 0,00	0,4026 ± 0,0000	99,5974 ± 0,0000	50 ± 0,00	55 ± 0,00	50 ± 0,00
Dop	Ag	1,0022 ± 0,0003	1,50 ± 0,0000	1,4968 ± 0,0004	6,6811 ± 0,0002	0,0671 ± 0,0002	0,30 ± 0,00	0,5454 ± 0,0000	99,4546 ± 0,0000	55 ± 0,00	60 ± 0,00	50 ± 0,00
	Ti	1,0022 ± 0,0003	1,57 ± 0,0667	1,5632 ± 0,0665	6,4195 ± 0,2621	0,0671 ± 0,0002	0,30 ± 0,00	0,5454 ± 0,0000	99,4546 ± 0,0000	55 ± 0,00	60 ± 0,00	50 ± 0,00
	Zn	1,0022 ± 0,0000	1,63 ± 0,0333	1,6297 ± 0,0333	6,1409 ± 0,1228	0,0671 ± 0,0000	0,30 ± 0,00	0,5454 ± 0,0000	99,4546 ± 0,0000	40 ± 0,00	45 ± 0,00	40 ± 0,00
	Mg	1,0023 ± 0,0006	1,63 ± 0,0667	1,6295 ± 0,0666	6,1581 ± 0,2623	0,0670 ± 0,0045	0,40 ± 0,00	0,6883 ± 0,0000	99,3117 ± 0,0000	30 ± 0,00	50 ± 0,00	40 ± 0,00
	HAp : CNt	1,0018 ± 0,0001	1,37 ± 0,0882	1,3642 ± 0,0882	7,3946 ± 0,4975	0,0671 ± 0,0008	0,50 ± 0,00	0,8311 ± 0,0000	99,1689 ± 0,0000	15 ± 0,00	25 ± 0,00	35 ± 0,00
Dop	Ag	1,0021 ± 0,0003	1,13 ± 0,0333	1,1309 ± 0,0332	8,8572 ± 0,2528	0,0671 ± 0,0002	0,60 ± 0,00	0,9740 ± 0,0000	99,0260 ± 0,0000	30 ± 0,00	35 ± 0,00	35 ± 0,00
	Ti	0,6685 ± 0,3332	1,20 ± 0,0577	1,1978 ± 0,0577	8,3879 ± 0,4056	0,0671 ± 0,0097	0,50 ± 0,00	0,8311 ± 0,0000	99,1689 ± 0,0000	30 ± 0,00	35 ± 0,00	35 ± 0,00
	Zn	1,0018 ± 0,0027	1,40 ± 0,0000	1,3975 ± 0,0038	7,1555 ± 0,0019	0,0671 ± 0,0002	0,40 ± 0,00	0,6883 ± 0,0000	99,3117 ± 0,0000	25 ± 0,00	30 ± 0,00	30 ± 0,00
	Mg	1,0018 ± 0,0088	1,30 ± 0,1000	1,2977 ± 0,0998	7,8060 ± 0,6506	0,0671 ± 0,0059	0,40 ± 0,00	0,6883 ± 0,0000	99,3117 ± 0,0000	20 ± 0,00	20 ± 0,00	35 ± 0,00
	HAp : Kitosan : CNt	1,0024 ± 0,0057	1,47 ± 0,0333	1,4632 ± 0,0333	6,8418 ± 0,1595	0,0670 ± 0,0039	0,60 ± 0,00	0,9740 ± 0,0000	99,0260 ± 0,0000	35 ± 0,00	40 ± 0,00	30 ± 0,00
Dop	Ag	1,0025 ± 0,0033	1,43 ± 0,0333	1,4298 ± 0,0333	7,0014 ± 0,1593	0,0670 ± 0,0022	0,60 ± 0,00	0,9740 ± 0,0000	99,0260 ± 0,0000	40 ± 0,00	40 ± 0,00	30 ± 0,00
	Ti	1,0025 ± 0,0000	1,43 ± 0,0333	1,4298 ± 0,0333	7,0016 ± 0,1591	0,0670 ± 0,0000	0,60 ± 0,00	0,9740 ± 0,0000	99,0260 ± 0,0000	45 ± 0,00	40 ± 0,00	30 ± 0,00
	Zn	1,0023 ± 0,0057	1,40 ± 0,0000	1,3968 ± 0,0081	7,1593 ± 0,0041	0,0670 ± 0,0039	0,50 ± 0,00	0,8311 ± 0,0000	99,1689 ± 0,0000	35 ± 0,00	40 ± 0,00	20 ± 0,00
	Mg	1,0023 ± 0,0013	1,40 ± 0,00	1,3967 ± 0,0019	7,1595 ± 0,0095	0,0670 ± 0,0089	0,50 ± 0,00	0,8311 ± 0,0000	99,1689 ± 0,0000	25 ± 0,00	35 ± 0,00	25 ± 0,00

Dalam hal daya antibakteri, untuk menghasilkan daya antibakteri yang kuat harus memiliki densitas dan viskositas rendah, dan berat molekul yang rendah (Gintu & Puspita, 2020; Wu *et al*, 2010), ukuran partikel yang kecil dan elektrisitas ionic (Z-Potential) yang tinggi (Gintu & Puspita, 2020; Wu *et al*, 2010), parameter-parameter tersebut dapat meningkatkan dan mengintenskan penetrasi terhadap sel (Wu *et al*, 2010; Liao *et al*, 2020; Li *et al*, 2008).

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa HAp dan hasil modifikasinya memiliki viskositas, densitas dan berat molekul tergolong rendah namun hampir setara (dari seluruh hasil perlakuan) sehingga sulit untuk memperkirakan pemicu daya antibakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya melaporkan bahwa komponen-komponen yang digunakan dalam penelitian seperti HAp memiliki ukuran partikel sekitar 50-255nm, Kitosan dan CNt 200-575nm, ukuran tersebut telah termasuk pada ukuran katagori nano

sehingga seharusnya menurut acuan, daya antibakteri semua perlakuan termasuk pada katagori kuat yang hampir setara (Liao *et al*, 2020; Li *et al*, 2008; Ragab *et al*, 2014; Sobierajska *et al*, 2018; Lamkhao *et al*, 2018; Kolmas *et al*, 2014; Tin-OO *et al*, 2007), tetapi hasil menunjukkan hal yang berbeda dengan prakira, hal ini disebabkan karena beda potensial (Gintu & Puspita, 2020; Wu *et al*, 2010). Secara kimiawi, partikel HAp dikenal sebagai struktur Ca yang terbalut oleh P/PO₄ karena itu interaksi kimiawinya lemah kearah luar kristal karena Ca dan P/PO₄ telah membentuk ikatan yang kuat dan beda potensialnya menjadi setara sehingga peluang interaksi kimiawi ke luar sangat kecil berimbas pada lemahnya daya antibakteri HAp murni (Doldberg *et al*, 2018), peluang terbentuknya interaksi kimiawi dapat digambarkan dengan mengukur beda potensial karena reaksi kimiawi termasuk reaksi biokimiawi dengan penetrasi (terhadap membrane sel) terjadi berdasarkan beda potensial atau beda muatan ionik (Ciobanu *et al*, 2012; Gintu & Puspita, 2020). Muatan ionic yang setara tidak akan menghasilkan interaksi dan penetrasi membrane terhadap bakteri, sehingga untuk meningkatkan daya interaksi HAp, Ca perlu disumstitusi oleh ion logam (Iconaru *et al*, 2013). Substitusi ion logam dalam HAp meningkatkan beda potensial pada HAp termodifikasi yang diikuti oleh peningkatan daya antibakteri (Iconaru *et al*, 2013; Gintu & Puspita, 2020). Dalam hal pencampuran menggunakan Kitosan, Kitosan telah memiliki beda potensial / muatan ionik yang tinggi bahkan tanpa doping karena kehadiran gugus Poly NH₃⁺ pada sisi aktifnya, setiap mol NH₃⁺ pada sisi aktif memiliki muatan ionic sebesar 1⁺ dan karena gugus NH lebih dari 1 maka muatan ioniknya seharusnya tinggi terbukti dari hasil pengukuran V (mV) dan I (mA) yang tinggi. Beda potensial yang tinggi menyebabkan peningkatan peluang untuk berinteraksi secara kimiawi dan penetrasi terhadap sel bakteri. Secara keseluruhan,

modifikasi HAp dapat meningkatkan daya antibakteri HAp dari katagori lemah menjadi kuat bahkan menyamai daya antibakteri produk antibiotic terstandar.

KESIMPULAN

HAp pada penelitian ini digagaskan untuk menjadi bahan abrasive, agen remineralisasi sekaligus antibakteri dalam pasta gigi, sehingga dicoba mengukur daya antibakteri HAp untuk membuktikan prakira. Daya antibakteri HAp terhadap *S. mutans*, *L. acidophyllus*, *N. asteroides*, dan *N. erythropolys* menunjukkan bahwa HAp murni hanya menghasilkan daya antibakteri terhadap *L. acidophyllus* yaitu $5,19 \pm 0,0203$ mm pada konsentrasi HAp 1000ppm. Daya antibakteri ini tergolong lemah.

Karena itu dibutuhkan modifikasi struktur untuk meningkatkan daya antibakteri HAp. Modifikasi dilakukan dalam 2 tahap, dengan pencampuran lalu dilanjutkan dengan doping. Pencampuran menggunakan bahan aktif lain seperti Kitosan dan Karbon Nanotube (CNT), lalu proses doping dilakukan menggunakan Perak (Ag), Titanium (Ti), Seng (Zn) dan Magnesium (Mg).

Modifikasi HAp melalui pencampuran yang dilanjutkan dengan doping dapat meningkatkan daya antibakteri HAp termodifikasi dari katagori lemah menjadi sangat kuat bahkan menyamai daya antibakteri produk antibiotic terstandar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal K., Sigh, G., Puri D., & Prakash S. (2011). Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method For Biomedical Application. *Journal Of Minerals & Materials Characterization & Engineering*. 10 (8): 727-734.
- Ahmad, I. (2017). Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) sebagai Bahan Abrasif dalam Pasta Gigi. *Jurnal Galung Tropika*. 6(1).

- Bangun, H., S, Tandiono., & A, Arianto. (2018). Preparation and Evaluation of Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles Suspension as an Antibacterial Agent. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8 (12):147-156.
- Chandra, V S., G, Baskar., R, V, Suganthi., K, Elayaraja., M, I, A, Joshy., W, S, Baeula., R, Mythili., G, Venkatraman., & S, N, Kalkura. (2012). Blood Compability of Iron-Doped Nanosize Hydroxyapatite and Its Drug Release. *Interfaces*. 4(3).
- Charlena., I, H Suparto., & E, Kurniawan. (2019). Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Zinc Oxide (HAp-ZnO) as Antibacterial Biomaterial. *IOP Conf Series: Materials Science and Engineering*. 599.
- Chi, W., J, Zou., F, Ai., Y, Lin., W, Li., C, Cao., K, Yang., & K, Zou. (2019). Research of Cu-Doped Hydroxyapatite Microbeads Fabricated by Pneumatic Exstusion Printing. *Materials Basel*. 12(11): 1769.
- Ciobanu, C S., Simona, L I., Philipe, L C., Liliana, V C., & Daniela, P. (2012). Antibacterial Activity of Silver Doped Hidroksiapatite Nanoparticles Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Nanoscale Researh Letters*.
- Dave, K., L, Panchal., & P, K Shelat. (2014). Development and Evaluation of Antibacterial Herbal Toothpaste containing *Eugenia caryophyllus*, *Acacia nilotica* and *Mimusops elegi*. *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. 2(3): 666-673.
- Doldberg, M., V, Smirnov., O, Antonova., A, Konovalov., A, Fomina., V, S Komlev., S, Barinov., A, Rodionov., M, Gavurov., & S, Orlinskii. (2018). Synthesis and Study of the Synthetic Hydroxyapatite Doped with Aluminium. *IOP.Conf.Series: Earth and Environmental Science*. 155.
- Dos Santos, C F., P, S Gomes., M, M Almeida., M, G Willinger., R, P Franke., M, H Fernandes., & M, E Costa. (2015). Gold-Dotted Hydroxyapatite Nanoparticles as Multifunctional Platforms for Medical Applications. *RSC adv*. (5).
- Elkayar A., Elshazly Y., & Assaad M. (2009). *Properties Of Hydroxyapatite from Bovine Teeth*. *Libertas Academica*.
- Ferraz, M P., Monteiro, F J., & Manuel, C M. (2004). Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics*. 2:74-80.
- Gibraiel, F., M, Rajput., M, S Rajput., M, Singh., N, Saxena., A, Vishal., & A, K Jha. (2014). *In Vitro Study to investigate the Antimicrobial Efficacy of Different Toothpastes and Mouth Rinses*.
- Gintu, A R., I, Wadu., M, W Salenus., & S, Hartini. (2017). Sintesa Biokeramik Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam Kampung, Ayam Broiler dan Bebek Menggunakan Metode Pengendapan Basa dan Hidrolisis *Brushit*. *Jurnal BIOMA UPGRIS*. 6 (2).
- Gintu, A R., I, Wadu., D, K A K Hastuti., C, A Riyanto., & Y, S Widodo. (2018). Sintesa Komposit Kitosan dan Kompleks Kitosan Karbon Nanotube (CHITO-CNT) serta Pemanfaatannya sebagai Agen Antibiotik. *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pendidikan Biologi*. 181 - 187.
- Gintu, A R; Elizabeth, B E Kristiani; & Yohanes, M. 2020. Hydroxyapatite (HAp) Bioceramics from The *Celeteiya presclupta* Snails Shells from Poso Lake. *JKPK*. 5(3): 254-263.
- Gintu, A R., E, B E Kristiani; & Y, Martono. (2020). Biokeramik Hidroksiapatit (HAp) Berbahan Dasar Cangkang Tiram *Anodonta nuttaliana* dari Danau Poso. *Eksergi*. 17 (2): 86-92.

- Gintu, A R., Elizabeth, B E Kristiani., & Y, Martono. (2020). Karakterisasi Pasta Gigi Berbahan Abrasif Hidroksiapatit (HAp). *Jurnal Kimia Riset*. 5 (2): 120-126.
- Gintu, A R., & D, Puspita. (2020). Sintesis dan Karakterisasi *Carbon Nanotube* (CNT) dari Arang Kayu Jati serta Pemanfaatannya Sebagai Bahan Aktif Antibakteri. *Jurnal Kimia Riset*. 5 (2): 127-133.
- Hardy Diagnostic. (2014). *McFarland Latex Standards*. UCSF DeRisi Lab.
- Iconaru, S L., M, M, Heino., & D, Predoi. (2013). Study on Europium-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles by Fourier Transform Infra Red Spectroscopy and Their Antimicrobial Properties. Hindawi Publishing Corporation. *Journal of Spectroscopy*.
- Juliasti, R., A, M Legowo., & Y, B Pramono. (2015). Pemanfaatan Limbah Tulang Kaki Kambing sebagai Sumber Gelatin dengan Perendaman Menggunakan asam Klorida. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 4(1).
- Kolmas, J., E, Groszyk & D, K Rozycka. (2014). Substitued Hydroxyapatite with Antibacterial Properties (Review). Hindawi Publishing Corporation, *BioMed Research International*. Vol.2014: 15.
- Komarlah, A. (2015). Efektivitas Antibakteri Nano Kitosan Terhadap Pertumbuhan *Stapylococcus aureus* (In Vitro). *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*. 371-377.
- Kulanthaivel, S., B, Roy., T, Agarwal., S, Giri., K, Pramanik., K, Pal., S, S Ray., T, K Maiti., & I Banerjee. (2016). Cobalt Doped Proangiogenic Hydroxyapatite for Bone Tissue Engineering Application. *Material Science and Engineering*. 58: 648-658.
- Kumar, V B., D, K Khajuria., D, Karasik., & A, Gadanken. (2019). Silver and Gold Doped Hydroxyapatite Nanocomposites for Enhanced Bone Regeneration. *Biomed Mater*. 14(5).
- Kurinjinathan, P., K, T Arul., J, R Ramya., E, Manikandan., H, H Hegazy., A, Umar., H, Algarni., & N, Ahmad. (2020). Effect of Nickel Doping on the Properties of Hydroxyapatite Nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol*. 20(4).
- Laksono, A D., T, A Amartosa Jr., H, P O Sitorus., W, P K Asih., & Sulistijono. (2019). Study on Antibacterial of Chitosan/Hydroxyapatite Doped Magnesium as a Material of Bone Graft Applications. Makara. *Jurnal Technol*. 23(3): 119-125.
- Lamkhao, S., M, Phaya., C, Jansakun., N, Chandet., K, Thongkorn., G, Rujijanagul., P, Bangrak., & C, Randorn. (2018). Synthesis of Hydroxyapatit with Antibacterial Properties Using a Microwave-Assisted Combustion Method. *Scinentific Reports*. 9.
- Liang, H., X, Xu., X, Feng., L, Ma., X, Deng., S, Wu., X, Liu. & C, Yang. (2019). Gold Nanoparticles- Loaded Hydroxyapatite Composites Guide Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells through Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *International Journal of Nanomedicine*. (14).
- Liao, Y., H, Li., R, Shu., H, Chen., L, Zhao., Z, Song., & W, Zhou. (2020). Mesoporous Hydroxyapatite /Chitosan Loaded with Recombinant-Human Amelogenin Could Enhance Antibacterial Effect and Promote Periodontal Regeneration. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 29 April 2020.
- Li,L., H, Pan., J, Tao., X, Xu., C, Mao., X, Gu., & R, Tang. (2008). Repair of Enamel by Using Hydroxyapatite Nanoparticles as the Building Blocks.

- Journal Material and Chemistry* (18): 4079-4084.
- Maharani, D K., S, E Cahyaningrum., Amaria., & Rusmini. (2015). Uji Aktivitas Komposit KITOSAN-Silika Titania Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. 167-171.
- Maldupa, I, A, Brinkmane., I, Rendeniece., & A, Mihailova. (2012). Evidence Based Toothpaste classification, According to certain Characteristic of their chemical composition. *Stomatologija. Baltic Dental and Maxillofacial Journal*. 14:12-22.
- Matulesy, D N., Y, Erwanto., Nurliani., & E, Suryanto. (2020). Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Kambing Kacang Menggunakan Neutrase. *Agrinimal*. 8 (1): 24-32.
- Mututuvvari, T M., A, L Harkins., & C, D Tran. (2013). Facile Synthesis and Antimicrobial Activity of Cellulose-Chitosan-Hydroxyapatite Composite Material, a Potential Material for Bone Tissue Engineering. *Journal Biomed Matter Res A*. 101(11).
- Nathanael, A J., D, Mangalaraj., & S, I Hong. (2009). Biocompatibility and Antimicrobial Activity of Hydroxyapatite/Titania Bio-Nanocomposite. *18th International Conference on Composite Material*.
- Nurlaela, A., S, U Dewi., K, Dahlan., & D, S Soejoko. (2014). Pemanfaatan Limbah Cangkang Telur Ayam dan Bebek sebagai Sumber Kalsium untuk Sintesis Mineral Tulang. *Jurnal Pendidikan Fisika Indonesia*. 10: 81-85.
- Prasetya, R C. (2008). Perbandingan Jumlah Koloni Bakteri Saliva pada Anak-Anak Karies dan Non Karies Setelah Mengonsumsi Minuman Berkarbonasi. *Indonesian Journal of Dentistry*. 15 (1): 65-70.
- Predoi, D., S, L Iconaru., S, C Ciobanu., S, A Predoi., N, Buton., C, Megier., & M, Beuran. (2021). *Development of Iron-Doped Hydroxyapatite Coatings*. 11, 186.
- Ragab, H S., F, A Ibrahim., F, Abdallah., A, A Al-Ghamdi., F, El-Tantawy., N, Radwan., & F, Yakuphanoglu. (2014). Synthesis and In Vitro Antibacterial Properties of Hydroxyapatite Nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Biological Science*. 9 (1): 77-85.
- Rahmawati, A., Noor, I I., Heru, S., & Samsudin, A. (2012). Sintesis Hydroxyapatite Berukuran Nano dengan Metode Elektrokimia Menggunakan Pulse Direct Current (PDC) sebagai Bioimplant Tulang dan Gigi. *Jurnal Teknik POMITS*. 1 (1): 1-4.
- Ramya, J R., K, T Arul., K, Elayaraja., & S, N Kalkura. (2014). Physicochemical and Biological Properties of Iron and Zinc Ions co-Doped Nanocrystalline Hydroxyapatite, Synthesized by Ultrasonications. *Ceramics International*. 40 (10).
- Tin-OO MM., Gopalakrishnan V., Samsuddin A R., Al-Salihi K A., & Shamsuria O. (2007). Antibacterial Activity of Local Produced Hydroxyapatite. *Original Article. Archives of Orofacial Sciences*. 2: 41-44.
- Saleha., Mutmainah, H., Nuur, A., Sudirman., & Subaer. (2015). Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Nanopartikel Kalsium Oksida (CaO) Cangkang Telur untuk Aplikasi Dental Implan. *Prosiding pertemuan Ilmiah XXIX HFI*.
- Sobierajska, P., A, D-Jach., K, S Zawisza., J, Okal., T, Olszak., Z, D-Kawa., & R, J Wiglusz. (2018). Preparation and Antimicrobial Activity of the Porous Hydroxyapatite Nanoceramics. *Journal of Alloys and Compounds*. 748.
- Susanto, E P N., Amiatun., & Dyah, H. (2014). Sintesis dan Karakterisasi Paduan Kobalt dengan Variasi Cr

- Melalui Metode Peleburan sebagai Material Implan. *Jurnal Fisika dan Terapannya*. 2 (2).
- Veerla, S C., D, R Kim., J, Kim., H, Sonh., & S, Y Yang. (2019). Controlled Nanoparticles Synthesis of Ag/Fe co-Doped Hydroxyapatite System for Cancer Cell Treatment. *Mater Sci Eng*.
- Venkatesan, J., R, Jayakumar., A, Mohandas., I, Bhatnagar., & S, K Kim. (2014). Antimicrobial Activity of Chitosan-Carbon Nanotube Hydrogels. *Materials*. 7.
- Victor, S P., M, G, Gayatri Devi., W, Paul., V, M, Vijayan., J, Muthu., & C, P, Sharma. (2017). Europium Doped Calcium Deficient Hydroxyapatite as Theranostic Nanoplatfoms: Effect of Structure and Aspect Ratio. *ACS.Biomater*. 3(12).
- Wadu, I., H, Soetjpto., & M, N Cahyanti. (2017). Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam Terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *JKPK UNS*. Vol 3 (2).
- Wadu, I., I, K Rohaini, A, R Gintu., & S, Hartini. (2018). Pasta Gigi Pencegah Gigi Berlubang Berbahan Aktif Mikro Hidroksiapatit (HAp) dari Limbah Kerabang Telur Pasar Raya Kota Salatiga. *Prosiding Seminar Nasional UNISRI*.
- Wahl, D A., & J, T Czernuszka. (2006). Collagen-Hydroxyapatite Composites For Hard Tissues Repair. *European Cels and Materials*. 11: 43-56.
- Wang, S., L, A L, Tang., Q, Bao., M, Lin., S, Deng., B, M Goh., & K, P Loh. (2009). Room-Temperature Synthesis of Soluble Carbon Nanotubes by the Sonication of Graphen Oxide Nanosheets. *Journal Am.Chem Soc*. 131 (46).
- Wattanutchariya, W., & W, Changkowchai. (2014). Characterization of Porous Scaffold from Chitosan-Gelatin/Hidroksiapatite for Bone Grafting. *IMECS*. Vol 2.
- Wu, W., J, Shen., P, Baberjee., & S, Zhou. (2010). Chitosan-Based Responsive Hybrid Nanogels for Integration of OpticalpH-Sensing Tumor Cell Imaging and Controlled Drug Delivery. *Biomaterials*. 31.
- Zaenab., Mardiasuti H W., V, P Anny; & B, Logawa. (2004). Uji Antibakteri Siwak (*Salvdora persica* Linn) terhadap *Streptococcus mutans* (ATC31987) dan *Bacteroides melaninogenicus*. *Makara Kesehatan*. 8 (2): 37-40.