

**VALORISASI CANGKANG KERANG KIJING (*Pilsbryconcha sp.*) MENJADI
HIDROKSIAPATIT SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
*Pseudomonas aeruginosa***

*Valorization of Freshwater Mussel Shell (*Pilsbryconcha sp.*) to Hydroxyapatite as an
Antibacterial Against *Pseudomonas aeruginosa**

Muhammad Irfan Rusadi Santhy Wisuda Sidauruk^{1*)}, N. Ira Sari¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, 28293, Indonesia

*korespondensi: santhy.sidauruk@lecturer.unri.ac.id

ABSTRACT

*The freshwater of mussel shell (*Pilsbryconcha sp.*) is composed of high calcium, the calcium content is 61.39%. Seeing the value of the calcium content of mussel shells, it can be used as a basic ingredient to reduce solid waste so that valorization is necessary. Valorization in this study was utilized as hydroxyapatite (HAp) bioceramics containing calcium oxide precursors which have antibacterial properties. Therefore it is necessary to have a breakthrough to determine the antibacterial ability of hydroxyapatite by carrying out antibacterial tests with varying concentrations of 50 µg/µL, 25 µg/µL and 12,5 µg/µL. This research aims to determine the antibacterial activity of the hydroxyapatite synthesis of the mussel shell *P.exilis*. The test parameters carried out were yield, MIC (Minimum Inhibitory Concentration), MBC (Minimum Bactericidal Concentration) and the inhibition zone of the bacteria. Hydroxyapatite synthesis had a yield of 37.65% and was unable to inhibit *P.aeruginosa* bacteria. The diameter of the inhibition zone of hydroxyapatite synthesis of mussel shells against *P.aeruginosa* bacteria was highest in the 50 µg/µL treatment of 5.04 mm which was classified as very weak.*

Keywords: Antibacterial, Hydroxyapatite, Inhibition zone, *P.aeruginosa*, Valorization

ABSTRAK

Cangkang kerang kijing (*Pilsbryconcha sp.*) ini tersusun atas kalsium yang tinggi, kandungan kalsium yang dimiliki sebesar 61,39%. Melihat nilai kandungan kalsium cangkang kerang kijing, dapat dijadikan sebagai bahan dasar guna mengurangi limbah padat sehingga perlu adanya valorisasi. Valorisasi pada penelitian ini dimanfaatkan sebagai biokeramik hidroksiapatit (HAp) yang mengandung precursor kalsium oksida yang mempunyai sifat antibakteri. Oleh karena itu, perlu adanya terobosan untuk mengetahui kemampuan antibakteri hidroksiapatit dengan dilakukan pengujian antibakteri dengan variasi konsentrasi 50 µg/µL, 25 µg/µL dan 12,5 µg/µL. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari sintesis hidroksiapatit cangkang kerang kijing *P.exilis*. Parameter uji yang dilakukan adalah rendemen, KHM (Konsentrasi Hambat Minimum), KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dan zona hambat dari bakteri tersebut. Sintesis hidroksiapatit mempunyai rendemen sebesar 37,65% dan tidak mampu menghambat bakteri *P.aeruginosa*. Diameter zona hambat sintesis hidroksiapatit cangkang kerang kijing terhadap bakteri *P.aeruginosa* tertinggi pada perlakuan 50 µg/µL sebesar 5,04 mm yang tergolong sangat lemah.

Kata kunci: Antibakteri; Hidroksiapatit; *P.aeruginosa*; Valorisasi; Zona hambat

PENDAHULUAN

Menurut data dan statistik KKP (2021) jumlah produksi kerang di Provinsi Riau pada tahun 2018 mengalami peningkatan pada tahun 2019 dari 8350 menjadi 9009 ton. Besarnya potensi dari kerang kijing tersebut harus dimanfaatkan secara optimal. Pemanfaatan kerang kijing (*P. exilis*) secara

umum diolah dengan cara pengukusan. Sementara itu, cangkang kerang kijing menjadi limbah yang belum termanfaatkan. Padahal, nilai efektifitas secara ekonomis cangkang kijing sangat besar. Diketahui bahwa cangkang kijing mempunyai nilai proporsi sebesar 51,39% (Sidauruk *et al.*, 2022). Cangkang kerang kijing ini terdiri dari tingginya kalsium sebesar 61,39% (Iriani *et al.*,

2020). Kalsium pada cangkang kerang kijing dapat dijadikan sumber kalsium oksida (CaO).

Melihat nilai efektifitas ekonomi dan kandungan kalsium cangkang kerang kijing, dapat dijadikan sebagai bahan dasar guna mengurangi limbah padat sehingga perlu adanya valorisasi. Valorisasi merupakan pemanfaatan suatu limbah yang dimanfaatkan sehingga memperoleh suatu produk yang mempunyai nilai tambah (Sidauruk et al., 2022). Valorisasi pada penelitian ini dimanfaatkan dibidang non pangan tepatnya dibidang kesehatan yaitu hidroksiapatit (HAp). Sejauh ini sudah dilakukan penelitian mengenai valorisasi cangkang kijing yaitu karakterisasi fisikokimia dari sintesis hidroksiapatit (Sidauruk et al., 2022).

Sintesis hidroksiapatit pada aplikasi industri umumnya menggunakan beberapa metode. Sintesis hidroksiapatit cangkang kerang kijing dapat dilakukan melalui metode kalsinasi yang bertujuan untuk menghilangkan air untuk meningkatkan nilai rendemennya (Afifah dan Cahyaningrum 2020).

Sintesis hidroksiapatit dilakukan dengan cara mereaksikan tepung kalsium oksida (CaO) dari cangkang kerang kijing dengan fosfor dari amonium hidrogen fosfat ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$). Tepung CaO sebagai prekursor hidroksiapatit memiliki kadar Ca 48,255%, P 1,474%, K 0,009% (Sidauruk et al., 2022). Perlu diketahui bahwa kalsium oksida (CaO) merupakan salah satu jenis logam oksida yang memiliki aktivitas antibakteri (Guerro et al., 2014).

Dengan demikian, kandungan kalsium oksida yang melekat di hidroksiapatit bisa dipastikan memiliki sifat antibakteri. Sebagai pencegah adanya bakteri dalam pengaplikasiannya hidroksiapatit bisa dibuktikan dengan penyakit seperti karies dan plak gigi. Karies dan plak gigi disebabkan oleh bakteri bakteri yang bersarang didalamnya (Kaligis, 2017). Karies dan plak gigi secara umum terdapat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai gram negatif.

Perlu adanya terobosan dengan mensintesis cangkang kerang kijing menjadi hidroksiapatit untuk mengetahui kemampuan antibakterinya. Antibakteri hidroksiapatit dibuktikan dengan melakukan pengujian. Pembuktian tersebut berdasarkan

kandungan kalsium hidroksiapatit yang bersifat antibakteri. Oleh karena itu perlu adanya pengujian, uji yang dilakukan yaitu KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) juga daya hambat dari bakteri tersebut. Variasi perlakuan dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 75 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ seiring dengan meningkatnya konsentrasi Hap yang digunakan semakin luas diameter daya hambat yang muncul (Wadu et al., 2017).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik melakukan penelitian mengenai "Valorisasi cangkang kijing (*Pilsbryochoncha* sp.) menjadi hidroksiapatit sebagai Antibakteri dan *Pseudomonas aeruginosa*." Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rendemen, KHM dan KBM serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri zona hambat dari sintesis hidroksiapatit cangkang kerang kijing *P. exilis*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juli 2023 di Laboratorium Riset Sains Material, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Perikanan Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau.

Bahan dan Alat

Bahan utama yang dipergunakan dalam penelitian ini antara lain cangkang kerang kijing (*Pilsbryochoncha* sp.) yang berasal dari Desa Sungai Paku, Kecamatan Kampar Kiri Kabupaten Kampar. Nutrient agar (NA) (Merk Himedia), ammonium dihydrogen phosphate ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) (Merk 99,9%) phosphate buffered saline (PBS), Ciprofloxacin.

Sedangkan, peralatan yang dibutuhkan gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), mikro pipet (Pyrex), timbangan analitik (Radwag polandia, AS 220.R2 Plus), saringan 80 mesh, stopwatch, autoclave model HVE-50 by Japan, sentrifuge (HIMAC 21G), Tanur (Vulcan™ 3-130, Jepang), alat penghancur kerang, magic stirrer, dan peralatan gelas lainnya.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen, yaitu dengan membuat tepung cangkang kerang kijing dan dikalsinasi dengan suhu 1000°C. Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non factorial dengan 3 taraf yaitu: perlakuan 50 mg/mL, 75 mg/mL dan 100 mg/mL dengan 3 kali pengulangan. Penelitian ini memiliki total unit percobaan sebanyak 9 unit dengan parameter uji zona hambat serta KHM dan KBM.

Prosedur Kerja

Sintesis Hidroksiapatit

Preparasi sampel cangkang kerang kijing dilakukan dengan memisahkan daging dan cangkangnya. Kemudian, cangkang dibersihkan dengan air dari kotorannya. Kemudian cangkang di jemur dengan sinar matahari pada suhu $\pm 29-32^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari. Selanjutnya, dihaluskan dengan alat penghancur kerang hingga menjadi tepung. Kemudian, tepung di ayak dengan ayakan 80 mesh. Tepung cangkang kijing tersebut dikalsinasi selama 6 jam pada suhu 1000°C untuk mendapatkan bubuk (CaO) terpilih. Penggunaan suhu 1000°C mempertegas adanya bubuk (CaO) terpilih karena warna yang dihasilkan. Jika warna yang dihasilkan tidak berwarna putih maka senyawa tersebut masih bersifat CaCO (Malau dan Adinugraha 2020).

Sintesis hidroksiapatit dilakukan dengan mereaksikan bubuk CaO 105 gram sebagai sumber kalsium dan ammonium dihydrogen phosphate $(\text{NH})\text{H}_2\text{PO}_4$ 156,71 gram sebagai sumber fosfat sesuai dengan metode Henggu (2019) yang dimodifikasi. Proses pereaksian tersebut dilakukan dalam erlenmeyer dan dipanaskan pada suhu 90°C menggunakan hot plate selama 1 jam sambil diaduk menggunakan magnetic stirrer. Selanjutnya dilakukan presipitasi/pengendapan selama 18 jam. Kemudian di sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm yang bertujuan untuk memisahkan supernatan dan presipitat. Endapan ditempatkan dalam wadah dan dikeringkan menggunakan oven listrik dengan suhu 65°C selama 72 jam. Setelah dikeringkan, dibubukkan menggunakan mortar dan ditimbang. Hasil sintesis tersebut dikalsinasi kembali sesuai dengan perlakuan.

Suspensi CaO dan $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ yang telah melalui proses pematangan, kemudian dikalsinasi menggunakan tanur dengan suhu 1000°C selama 2 jam waktu penahan dengan laju kenaikan suhu 20°C/menit. Hasil kalsinasi dari perlakuan dilakukan penurunan suhu dengan laju penurunan 10°C/menit hingga mencapai suhu ruang. Selanjutnya dikeluarkan dari tanur dan dinginkan selama 1 jam pada desikator (Fadilah et al., 2015).

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan melarutkan HAp dengan aquades dimana masing-masing konsentrasi dilarutkan dengan 2 mL akuades. Larutan kontrol negatif dibuat dengan cara melarutkan HAp menggunakan larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBs) dengan perbandingan 1:2 dimana 1 gram tepung cangkang kijing dengan 2 mL PBs. Kontrol positif dibuat dengan menggunakan sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg, dimana satu tablet Ciprofloxacin digerus, ditimbang dan disetarakan dengan 500 mg. Pembuatan konsentrasi larutan uji dilakukan dengan diambil sebanyak perlakuan yang digunakan dengan mikropipet.

Untuk memperoleh larutan Ciprofloxacin 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, sebanyak 50 mg serbuk Ciprofloxacin dilarutkan dalam 50 mL larutan PBS. Selanjutnya diencerkan dengan cara diambil 1 mL dari larutan Ciprofloxacin 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan digenapkan sampai 10 mL dengan larutan PBs sehingga didapat larutan kontrol positif dengan konsentrasi 5 $\mu\text{g}/50$ mL (Pandelaki dan Aritonang, 2018)

Pembuatan Media dan Sterilisasi Alat

Media dasar pertama dibuat dengan cara menimbang Nutrient Agar (NA) sebanyak 2,8 g, kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades (28 g/1000 mL) menggunakan erlenmeyer. Sedangkan untuk media pembedihan dibuat dengan cara menimbang 7 gram NA, lalu dilarutkan kedalam 250 mL akuades (28 g/1000 mL) menggunakan erlenmeyer. Selanjutnya, tiap-tiap media dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air hingga mendidih. Media - media yang telah homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, kemudian didinginkan hingga suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$.

Sterilisasi alat dilakukan untuk membunuh mikroba ataupun spora pada alat-alat yang akan disterilkan agar tidak terjadi kontaminasi pada saat penelitian. Sterilisasi alat-alat yang berbahan kaca seperti erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi dan media yang akan digunakan dengan suhu 121°C selama 15 menit menggunakan *autoclave*.

Peremajaan Biakan Bakteri

Proses peremajaan bakteri uji dilakukan dengan cara bakteri uji *P. aeruginosa* diinokulasikan ke media agar miring NA dengan mengambil sebanyak satu ose secara aseptis lalu diinokulasikan dengan menggores pada media agar miring kemudian diinkubasi menggunakan *autoclave* pada suhu 37°C selama 24 jam sampai terjadi pertanaman (Muharni et al., 2017).

Pembuatan Larutan Mc. Farland

Larutan Mc. Farland 0,5 dibuat dengan melarutkan 0,05 ml barium klorida (BaCl₂) 1% dalam 9,95 mL asam sulfat 1% (H₂SO₄). Setelah itu larutan disimpan agar tidak terkena sinar matahari. (Muharni et al., 2017).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan cara mengambil secara aseptik satu ose hasil peremajaan bakteri uji kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan larutan NaCl fisiologis. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan pada media serta kekeruhannya setara dengan larutan 0,5 Mc. Farland' (Mpila et al., 2012).

Rendemen

Rendemen menjadi salah satu faktor penting untuk menilai efektif atau tidaknya kandungan hidroksiapatit cangkang kerang kijing dari sintesis hidroksiapatit dari kalsium oksida dan amonium dihidrogen fosfat.

$$\text{Rendemen\%} = \frac{\text{Berat hidroksiapatit (gram)}}{\text{Berat tepung CaO (gram)}} \times 100\%$$

Daya Hambat Hidroksiapatit Cangkang Kijing (*Pilsbryochoncha sp*) Terhadap Bakteri dan *Pseudomonas aeruginosa*

Uji aktivitas antibakteri secara in-vitro menggunakan metode (Wilapangga dan Syahputra 2018), yang telah dimodifikasi. Larutan uji dengan perlakuan 25 mg/mL, 50 mg/mL dan 100 mg/mL, larutan PBs sebagai kontrol negatif; larutan Ciprofloxacin sebagai kontrol positif, masing-masing diisikan kertas cakram pada media yang sudah memadat, diteteskan konsentrasi sebanyak 20 µL. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte et al., 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 6 mm kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan (Wilapangga dan Syahputra, 2018).

Uji Aktivitas Antibakteri Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Hidroksiapatit Cangkang Kijing (*Pilsbryochoncha sp*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

KHM adalah konsentrasi minimum larutan hidroksiapatit (HAp) yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. KBM adalah konsentrasi minimum suatu larutan (HAp) yang diperlukan untuk membunuh bakteri. Uji KHM dan KBM ini menggunakan metode dilusi padat (*solid dilution test*) dilakukan dengan cara melakukan seri pengenceran agen antimikroba pada bakteri yang akan diuji.

Uji KHM diawali dengan melakukan serangkaian pengenceran terhadap bakteri yang akan diuji, dengan menyiapkan 9 tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril. Pengenceran 10⁻¹ dilakukan dengan menggunakan 1 mL suspensi bakteri aktif yang akan diuji dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril,

kemudian divorteks. Untuk pengenceran 10^{-2} , ambil 1 ml suspensi bakteri dalam tabung pengenceran 10^{-1} dan masukkan ke dalam tabung reaksi lain yang juga berisi 9 mL air steril sampai 10^{-8} . Kultur bakteri yang dapat digunakan adalah kultur bakteri dengan pengenceran berkisar antara 10^{-6} hingga 10^{-8} cfu/mL.

Metode *pour plate* digunakan untuk inokulasi bakteri. Penentuan nilai KHM ditentukan dengan memeriksa tingkat konsentrasi minimum larutan HAp yang mampu menghambat bakteri media agar padat. Hasil KHM diamati setelah 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C .

Dalam penelitian ini, metode dilusi padat digunakan. Konsentrasi hidroksiapatit cangkang kijing adalah 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,125 mg/mL, 1,562 mg/mL, 0,781 mg/mL ditambah K^+ dan K^- dilakukan dengan cara melarutkan hidroksiapatit dengan pelarut pBS dengan rasio 1:2, ditambah 1 kelompok kontrol positif (PBs), kontrol negative (*Ciprofloxacin*).

Konsentrasi minimum yang diperoleh dari uji aktivitas dijadikan acuan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan untuk menguji nilai KHM. Percobaan dilakukan dengan metode dilusi padat, dimana dilakukan secara serentak dalam jumlah banyak dan tidak memerlukan banyak energi, artinya perubahan konsentrasi yang berbeda dapat dicapai jika digunakan dalam pengujian jangka pendek. Proses ini dilakukan dengan menginokulasi bakteri pada cawan tuang. Proses penuangan dilakukan dengan mendinginkan media kultur dalam tabung reaksi pada suhu 45°C kemudian menuangkannya ke dalam cawan petri yang berisi bakteri uji dan sampel HAp.

Media kultur yang digunakan adalah 10 mL, sedangkan bakteri uji yang digunakan adalah bakteri uji pada konsentrasi 10^{-6} - 10^{-8} cfu/mL yang di vortex dahulu sebelum digunakan sebanyak 0,5 mL sampel HAp sebanyak 0,5 mL. Setelah *pourplate* dilakukan langkah selanjutnya adalah menginkubasinya selama 24 jam dalam suhu 37°C , penentuan nilai KHM dilihat dari konsentrasi terendah yang medianya tidak ditumbuhi bakteri.

Penentuan nilai KBM diawali dengan melihat media agar pada masing-masing

konsentrasi dan memilih dua yang tumbuh atau tidak ada pertumbuhan bakteri, kemudian dilakukan uji penegasan untuk menentukan KBM, melalui penegasan diperoleh KBM.

Metode streak dilakukan dengan *cottonbude* steril untuk memastikan nilai KBM yang diperoleh dari media yang digunakan dalam uji KHM. Metode streak plate dilakukan dengan cara menggores bakteri uji pada permukaan agar dengan menggunakan jarum yang terbagi menjadi 3 kuadran, kepadatan luka pada setiap kuadran berbeda, dengan kepadatan kuadran pertama hingga kuadran ketiga.

Setelah diperoleh nilai KHM, langkah selanjutnya adalah memilih dua nilai tertinggi pada uji KHM yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, dan diberi label dengan media non produktif. Dua media bening dibandingkan dengan cara menebarkan cottonbud steril pada kultur baru kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , kultur yang tidak ditumbuhi bakteri menjadi KBM (Pratiwi dan Sylvia, 2008).

Analisis data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk table dan grafik, dan dianalisis secara statistik dengan analisis varians (ANOVA). Berdasarkan analisis varians, jika F-Hitung < F-Tabel pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_1 diterima. Jika F-Hitung > F-Tabel pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak, selanjutnya dilakukan uji BNJ jika nilai varians <5% pada BNT diuji kembali jika selisihnya >5% berdasarkan hasil dari analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Hidroksiapatit Cangkang Kerang Kijing



Gambar 2. (A) Tepung CaO dan (B) Hidroksiapatit

Tepung CaO yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3. Bagian (A) (Adak dan

Purohit, 2011) menyatakan, senyawa CaCO_3 dikalsinasi dengan tujuan menghilangkan komponen organik dan membebaskan CO_2 dari CaCO_3 sehingga menjadi CaO , reaksi persamaan pelepasan CO_2 $\text{CaCO}_{3(s)} \rightarrow \text{CaO}_{(s)} + \text{CO}_{2(g)}$. Suhu kalsinasi yang digunakan adalah $1000\text{ }^\circ\text{C}$, suhu kalsinasi yang rendah dapat membuat bahan CaO kembali menjadi CaCO_3 dan penghancuran CO_2 yang dihasilkan akan kecil, sehingga kalsinasi dilakukan pada proses ini pada suhu $1000\text{ }^\circ\text{C}$ (Suci dan Ngapa, 2020).

Warna yang dihasilkan adalah coklat keabuan meskipun suhu $1000\text{ }^\circ\text{C}$ umumnya sudah cukup tinggi untuk menghasilkan kalsium oksida yang murni, reaksi kimia yang terjadi selama proses kalsinasi dapat membentuk senyawa lain yang memberikan warna. Ini dapat terjadi jika terjadi reaksi antara kalsium oksida dan zat lain dalam lingkungan atau bahan baku. Bahan baku yang digunakan adalah cangkang kerang dapat mengandung mineral-mineral lain selain kalsium karbonat, yang merupakan komponen utama cangkang mineral lain.

Mineral-mineral ini dapat memberikan warna asli pada cangkang dan jika tidak sepenuhnya terurai selama proses kalsinasi, warna tersebut mungkin masih tampak pada tepung cangkang kerang. Tepung cangkang kerang *P. margaritifera* terdiri dari mineral makro yaitu kalsium, magnesium, fosfor, natrium, dan mineral mikro yaitu mangan dan besi. (Kalesaran et.al 2018). Tepung CaO merupakan prekursor kalsium untuk tahap sintesis HAp.

Hidroksiapatit (HAp) diperoleh sebesar 38,54 gram dari hasil sintesis rata-rata 20,53 gram tepung CaO yang dikalsinasi dalam suhu $1000\text{ }^\circ\text{C}$ dapat dilihat pada Gambar 4. Dari hasil yang diperoleh HAp berwarna putih dan membentuk serbuk halus. Warna putih yang dihasilkan sejalan dengan penelitian (Amalia et al., 2017) mengatakan bahwa pada suhu $1000\text{ }^\circ\text{C}$ telah terjadi penguraian senyawa-senyawa organik secara sempurna, sehingga hanya mineral pada tulang saja yang tersisa, oleh karena itu kalsinasi tulang sapi dan kambing pada suhu $1000\text{ }^\circ\text{C}$ menghasilkan tulang berwarna putih.

Pratama (2023) dalam penelitiannya melaporkan bahwa serbuk hidroksiapatit setelah dikalsinasi terjadi perubahan warna menjadi putih dikarenakan dekomposisi setelah di sintesis. Juga pembentukan serbuk

halus juga dipengaruhi suhu sejalan dengan penelitian (Laia, 2017), semakin tinggi suhu kalsinasi maka kristalinitas akan naik akan tetapi pada suhu $1100\text{ }^\circ\text{C}$ terjadi penurunan kristalinitas.

Rendemen

Jenis Hidroksiapatit (HAp)	Rendemen
HAp cangkang kerang kijing	37,65%
HAp tulang ikan tenggiri*	73%
HAp cangkang kerang mutiara air tawar**	50,25%
HAp cangkang kerang darah***	35,05%

* : Anggresani et al., 2020

** : Gintu 2022

*** : Rahmawati et al., 2015

Hasil analisis rendemen HAp dari cangkang kerang kijing dapat disajikan pada Tabel 1. Hasil nilai efisiensi dari rendemen cangkang kerang kijing hidroksiapatit sebesar 36,70%. Penelitian (Anggresani et al., 2020) melaporkan bahwa Hasil dari perhitungan rendemen, yang menunjukkan angka kurang dari 73%, memberikan indikasi bahwa proses produksi hidroksiapatit telah menghasilkan produk dengan kemurnian besar. Hal ini menunjukkan bahwa banyak yang diperoleh dari proses tersebut adalah hidroksiapatit murni, dengan sejumlah minimal kontaminasi atau bahan lain yang terdeteksi dalam sampel. Kemurnian yang tinggi ini penting dalam memastikan bahwa produk akhir dapat berfungsi secara optimal sesuai dengan tujuan dan aplikasi yang diinginkan.

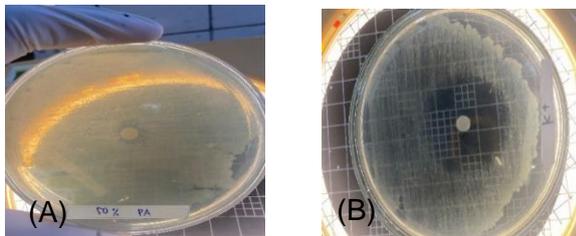
Rendemen HAp pada cangkang kerang mutiara air tawar pada penelitian (Gintu, 2022) sebesar 50,52% menurutnya kurangnya hasil ini diduga karena adanya efek berbahaya dari Karbon (C) dan Nitrogen (N) yang terlibat dalam pencernaan makanan cangkang, sehingga tidak seluruh kandungan Ca diubah menjadi CaO . HAp cangkang kerang darah memiliki rendemen 35,05% dalam penelitian (Rahmawati et al., 2015). Melaporkan bahwa waktu dan ukuran saringan dalam proses penepungan

berpengaruh dalam rendahnya rendemen, saringan yang digunakan dalam penelitiannya sebesar 60 mesh dan waktu kalsinasi hanya 1 jam karena ukuran partikel dan waktu kalsinasi mempengaruhi dalam presentase rendemen.

Dapat diketahui bahwasanya pengaruh kurangnya perolehan rendemen dalam penelitian ini dikarenakan terjadi kontaminasi organik juga waktu dan penggunaan saringan yang tidak signifikan.

Aktivitas Antibakteri Zona hambat hidroksiapatit kerang cangkang kijing (*Pilsbryochoncha* sp)

Hasil pengukuran zona hambat antibakteri *P. aeruginosa* dilihat dari zona bening yang terdapat disekitaran kertas cakram dapat terlihat pada Gambar 2.

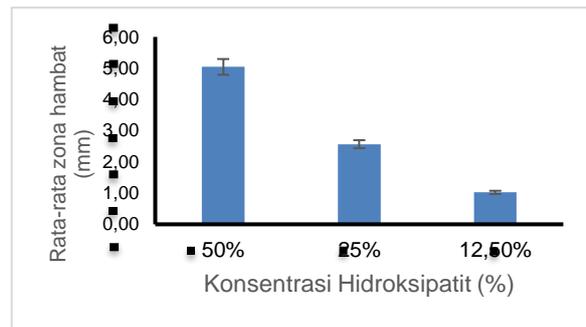


Gambar 2. Daerah zona bening hidroksiapatit konsentrasi 50% (A) zona bening kontrol+ terhadap bakteri *P. aeruginosa* (B)

Diameter rata rata zona hambat bakteri *P. aeruginosa* terhadap konsentrasi hidroksiapatit dapat dilihat dari Gambar 2. Diameter rata rata zona hambat bakteri *P. aeruginosa* terhadap konsentrasi hidroksiapatit dapat dilihat dari Gambar 3. Menunjukkan Hidroksiapatit cangkang Gambar 3. Grafik diameter rata rata zona hambat bakteri *P. aeruginosa*.

Kerang kijing mampu menghambat bakteri yang tumbuh. *P. aeruginosa* mempunyai diameter zona hambat pada konsentrasi 50 mg/mL, 25 mg/mL dan 12,5 mg/mL rata rata sebesar 5,04 mm, 2,57 mm, dan 1,02 mm.

Hasil analisis variansi, hidroksiapatit berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*, $F_{hitung} 7408,1 > F_{tabel} (3,48)$ dengan tingkat kepercayaan 95% maka H_0 ditolak, sehingga dilakukan uji lanjut. Hasil uji lanjut BNJ (Lampiran 4) dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), diperoleh hasil bahwa konsentrasi 50 mg/mL,



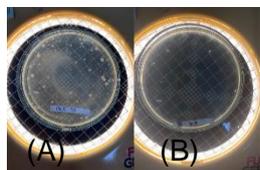
25 mg/mL dan 12,5 mg/mL terdapat perbedaan nyata.

Pengaruh dari penurunan secara drastis konsentrasi zona hambat dikarenakan senyawa peningkatan toksisitas terhadap bakteri. Namun, ada titik di mana toksisitas dapat mencapai tingkat yang membunuh bakteri dengan cepat, termasuk bakteri yang ada di sekitar zona hambat. Ini dapat menyebabkan kematian bakteri di luar zona hambat dan mengurangi ukuran zona hambat itu sendiri. Dalam penelitian (Triawan, 2017) mengatakan bahwa karena efek toksiaurasnya, disinfektan dapat membunuh bakteri (bakterisida) dan mencegah pertumbuhan bakteri (bakteriostatik).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia, terutama yang memiliki daya tahan tubuh lemah. Meskipun hidroksiapatit memiliki beberapa sifat antimikroba, ini tidak selalu cukup kuat untuk mengatasi infeksi bakteri yang serius. Menurut (Tilarso, 2021) menyatakan bahwa Susunan lapisan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari 3 lapisan yaitu lipoprotein pada lapisan luar, lipopolisakarida pada lapisan tengah yang berfungsi mencegah masuknya zat antibakteri dan peptidoglikan ditemukan di lapisan tengah, lapisan dalam mengandung 11 hingga 12% lipid.

Hidroksiapatit lemah akan antibakteri sejalan dengan yang dikatakan (Fawzy et al., 2013) memodifikasi permukaan dengan hidroksiapatit untuk meningkatkan sifat antibakterinya. Ini bisa melibatkan penggunaan lapisan tipis dengan senyawa antibakteri, seperti logam perak atau seng, yang dikenal memiliki sifat antimikroba yang lebih kuat. Modifikasi ini dapat meningkatkan interaksi hidroksiapatit dengan bakteri dan meningkatkan efektivitas antibakterinya.

Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Hidroksiapatit Cangkang Kijing (*Pilsbryochoncha sp*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 3. (A) Konsentrasi 100 mg/mL dan (B) K+ bakteri *P. aeruginosa*

KHM pada penelitian ini belum bisa didapatkan, semua media kultur dapat ditumbuhi bakteri. Terlihat pada Gambar 3. Media kultur k+ membuktikan bahwa bakteri tumbuh di dibandingkan dengan konsentrasi tertinggi yaitu 100 mg/mL hasil dari semua konsentrasi dua bakteri yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil pengamatan KHM terhadap bakteri *P. aeruginosa* disajikan pada Tabel 2.

Konsentrasi	<i>P. Aeruginosa</i>
100 mg/mL	+
50 mg/mL	+
25 mg/mL	+
12,50 mg/mL	+
6,25 mg/mL	+
3,13 mg/mL	+
1,56 mg/mL	+
0,78 mg/mL	+
Kontrol +	-
Kontrol -	+

Keterangan: - = tidak ditumbuhi bakteri
+= ditumbuhi bakteri

Berdasarkan hasil dari penyajian Tabel 2. Kekuatan interaksi kimia HAp tidak cukup kuat untuk menghancurkan lapisan sel bakteri *P. aeruginosa*. Kekuatan bakteri ini diperkirakan berasal dari fakta bahwa membran selnya lebih tipis dibandingkan bakteri lain yang diuji (Wadu, 2017).

Tidak ditemukannya bakteri pada konsentrasi tertinggi sejalan dengan penelitian (Indah, 2020) yang melaporkan Hap masih memiliki kekurangan pada daya antibakterinya sehingga perlu penambahan ion logam untuk meningkatkan daya

antibakteri pada struktur hidroksiapatit. HAp murni dalam strukturnya hanya dikuatkan dengan kalsium dan fosfat sebagai agent antibakteri perancah kalsium fosfat dengan sifat antibakteri pelepasan terkontrol adalah biomaterial yang menjanjikan untuk perbaikan rahang (Deng et al., 2020).

Karena nilai KHM yang tidak bisa ditemukan maka pengujian KBM tidak dapat dilanjutkan karena dasar dari uji KBM terdapat di KHM. Hal ini selaras yang dikemukakan oleh (Junairiah, 2015) pengujian nilai KHM dan KBM ekstrak *Dumortiera hirsuta* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Tidak ditemukan nilai MIC dan KBM pada ekstrak *Dumortiera hirsuta*, hal ini diyakini karena tidak terjadi penurunan nilai koloni pada ekstrak hingga mencapai 90%. KHM dapat ditentukan jika kurang dari 90% bakteri tumbuh. Aktivitas yang diberikan oleh konsentrasi hanya bersifat bakteristatik.

KESIMPULAN

Hasil rendemen dari bubuk hidroksiapatit memiliki nilai rendemen sebesar 37,65%. Nilai KHM dari bubuk hidroksiapatit terhadap bakteri *P. aeruginosa* tidak dapat ditemukan sehingga uji lanjut KBM tidak dapat dilakukan. Diameter zona hambat pada bakteri *P. aeruginosa* memiliki nilai rata-rata sebesar 5,04 mm, 2,57 mm, dan 1,02 mm. pada perlakuan konsentrasi berurut-urut yaitu 50%, 25%, dan 12,5%. Konsentrasi ekstrak 50% merupakan konsentrasi tertinggi untuk menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Riau (LPPM UNRI) yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah penelitian bidang ilmu a.n. Santhy Wisuda Sidauruk, S.Pi., M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington, Virginia, USA: Published by The Association of Analytical Chemist, Inc.

- [KKP] Kementerian Kelautan Perikanan. 2021. Statistik KKP: Produksi Perikanan. [tps://statistik.kkp.go.id/home.php?m=prod_ikan_prov&i=2#panelfooter](https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=prod_ikan_prov&i=2#panelfooter) [diakses tanggal 20 Februari 2023].
- Abdullah, A. 2010. Karakteristik Fisik dan Kimia Tepung Cangkang Kijing Lokal (*Pilsbryconcha exilis*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 13(1).
- Afifah, F. & Cahyaningrum, S.E. 2020. Sintesis Dan Karakterisasi Hidroksiapatit Dari Tulang Sapi (*Bos taurus*) Menggunakan Teknik Kalsinasi. *UNESA Journal of Chemistry*. 9(3): 189-196.
- Amalia, V., Hadisantoso, E. P., Hidayat, D., Diba, R. F., Dermawan, M. F., Tsaniyah, S. W. 2017. Isolasi dan karakterisasi hidroksiapatit dari limbah tulang hewan. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*. 5(4), 114-119.
- Anggraini. 2022. *Karakteristik Cangkang Kerang Kijing (Pilsbryconcha exilis) sebagai Sumber Hidroksiapatit dengan Suhu Kalsinasi Berbeda*. Pekanbaru. Universitas riau.
- Anggresani, L., Perawati, S., Rahayu, I.J. 2019. Limbah Tulang Ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) sebagai Sumber Kalsium pada Pembuatan Hidroksiapatit. *Jurnal Katalisator*. 4(2): 133-140.
- Cappuccino., James, G., Natalie, S. 2008. *Microbiology: A Laboratory Manual (Eight edition)*. Perason Benjamin Cummings pp. 585-588.
- Dahlan, K., Prasetyanti, F., Sari, Y.W. 2009. Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Telur Menggunakan Dry Metode. *J. Biofisika*. 5(2): 71-78.
- Dasgupta Adak, M., & Purohit, K. M. 2011. Synthesis of Nano-crystalline Hydroxyapatite from Dead Snail Shells for Biological Implantation. *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, 25(3).
- Davis, W.W., Stout, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 659 – 665.
- Deng, L., Li, Y., Zhang, A., Zhang, H. 2020. Characterization and Physical Properties of Electrospun Gelatin Nanofibrous Films by Incorporation of nano-hydroxyapatite. *Food Hydrocolloids*. 103, 105640.
- Fadhilah R, Kurniawan RA, Icha MM. 2015. Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Ale-Ale (*Meretrix spp*) Sebagai Material Graft Tulang. *Jurnal Buletin Al-Ribaath*. 12(1): 44-46.
- Fawzy, A. S., Nitisusanta, L. I., Iqbal, K., Daood, U., Beng, L. T., Neo, J. 2013. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 17: 278-289.
- Gintu, A. R., Kristiani, E. B. E., Martono, Y. 2023. Uji Antibakteri dan Modifikasi Hidroksiapatit dari Limbah Kerabang Telur Bebek (*A. platyrhynchos javanica*). In *Gunung Djati Conference Series*. 18: pp. 233-244.
- Guerrero F, Herencia C, Almaden Y, Martínez-Moreno JM., Montes de Oca A, Rodriguez-Ortiz ME, Muñoz-Castañeda JR. 2014. TGF- β Prevents Phosphate-Induced Osteogenesis Through Inhibition of *BMP* and *Wnt/ β -Catenin Pathways*. *Journal PloS one*. 9(2): 790-813.
- Guerrero, P., Kerry, J. P., de la Caba, K. (2014). FTIR Characterization of Protein–Polysaccharide Interactions in Extruded Blends. *Carbohydrate polymers*, 111, 598-605.
- Handayani, L., Zuhayani, R., Putri, N., & Nanda, R. (2020). Pengaruh Suhu Kalsinasi Terhadap Nilai Rendemen CaO Cangkang Tiram (*Crassostrea gigas*). *Jurnal Tilapia*. 1(1), 1-6.
- Hayati., Rezvan, P., Lee, K.J., Simpson, J.A. 2015. The Rise of Multiple Imputation: A Review of the Reporting and Implementation of the Method in Medical Research. *BMC medical research methodology*. 15(2): 1-14.
- Henggu KU, Ibrahim B, Suptijah P. 2019. Hidroksiapatit dari Cangkang Sotong

- sebagai Sediaan Biomaterial Perancah Tulang. *JPHPI*. 22(1): 1–13.
- Indah, N. W. Sintesis dan Pencirian Komposit Hidroksiapatit-ZnO-Kitosan Berporogen yang Berpotensi sebagai Implan Antibakteri.
- Iriani D, Hasan B, Sumarto. 2020. Physicochemical Characteristics of Freshwater Mussel (*Pilsbryconcha* sp.) Shell from Sungai Paku Village Riau Province Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 430: 1-5.
- Iriani D, Hasan B, Sumarto. 2020. Physicochemical Characteristics of Freshwater Mussel (*Pilsbryconcha* sp.) Shell from Sungai Paku Village Riau Province Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 430: 1-5.
- Junairiah, J., Sa'diyah, M., Salamun, S. 2015. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antimikrob Ekstrak Etil Asetat *Dumortiera hirsuta*. *Sains dan Matematika*, 3(2).
- Kalesaran, O. J., Lumenta, C., Rompas, R., Mamuaya, G. 2018. Komposisi Mineral Cangkang Kerang Mutiara *Pinctada margaritifera* di Sulawesi Utara. *E-Journal BUDIDAYA PERAIRAN*, 6(1).
- Kaligis FR. 2017. Identifikasi bakteri pada plak gigi pasien di Puskesmas Bahu dan uji resistensi terhadap antibiotik kloramfenikol dan linkosamida (klindamisin). *Pharmakon*. 6(3): 223-232.
- Khadafi MM, Nahzi MYI, Wibowo D. 2021. Pengaruh Aplikasi Bonding Antibakteri terhadap Jumlah Bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang Melekat pada Tumpatan Resin Komposit Bioaktif. *Journal Kedokteran Gigi*. 5(1): 12-15.
- Komarawidjaja, W. 2006. Kajian Adaptasi Kijing *Pilsbryconcha exilis* sebagai Langkah Awal Pemanfaatannya dalam Biofiltrasi Pencemar Organik di Perairan Waduk. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 7(2).
- Laia, D. P. O. Sintesis dan Pencirian Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Lokan (*Polymesoda placans*) dengan Metode Presipitasi Basah.
- Malau, N.D. & Adinugraha, F. 2020. Penentuan Suhu Kalsinasi Optimum CaO dari Cangkang Telur Bebek dan Cangkang Telur Burung Puyuh. *Jurnal EduMatSains*. 4(2): 193-202.
- Mittal, M., Prakash, S., Nath, K.S., Sapra, K.P. 2011. *Preparasion Methodology of Hydroxyapatite Powder*. Departement of Metallurgical and Materials. Indian: Indian Institute of Technology.
- Mpila, D., Fatimawali, F., Wiyono, W. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus [L] Benth*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in-vitro*. *Pharmakon*. 1(1): 13-21
- Muharni, M., Fitrya, F., Farida, S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 127-135.
- Murugan, R. & Ramakrishna, S. 2005. Development of Nanocomposites for Bone Grafting. *Composites Science and Technology*. 65: 15-16. 2385-2406.
- Nurjanah, Jacoeb AM, Hidayat T. 2020. Perubahan Komposisi Kimia Kijing Lokal (*Pilsbryconcha exilis*) Segar dan Kukus. *Marinade*. 3(2): 148-159
- Pandelaki, E.C., Aritonang, H.F. 2018. Aktivitas Antibakteri Komposit Ag-Tulang Ikan Cakalang pada *Staphylococcus aureus*. *Jurnal MIPA*. 7(2): 29-32.
- Pratama, Y. & Irfa'i, M. A. 2023. Pengaruh suhu dan Waktu Kalsinasi terhadap Kemurnian Hidroksiapatit Berbasis Tulang Sapi dengan Metode Presipitasi. *Jurnal Teknik Mesin*. 11(01), 7-12.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta. *Erlangga*, pp. 137-138.
- Ridho, R., Swandari, M.T.K., Issusilaningtyas, E. 2017. Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Kijing (*Pilsbryconcha exilis*) dalam

- Meningkatkan Perekonomian Warga Desa Bulupayung-Kesugihan, Cilacap, Jawa Tengah. *Jurnal Ilmiah Pengabdian kepada Masyarakat*. 3(1): 17-23.
- Rivas, C. R., Le, G. F., Revert, K., Rault, G., Virmaux, M., Gouriou, S., Boisramé, S. 2015. Pseudomonas Aeruginosa and Periodontal Pathogens in The Oral Cavity and Lungs of Cystic Fibrosis Patients: A Case-Control Study. *Journal of clinical microbiology*. 53(6): 1898-1907.
- Sidauruk, S.W., Iriani, D., Diharmi, A., Anggraini, A. 2022. Valorisasi Cangkang Kijing Air Tawar (*Pilsbryoconcha* sp.) sebagai Sumber Hidroksiapatit. *Journal Umrah Marinadae*. 5(2): 85-92.
- Suci, I. A. & Ngapa, Y. D. 2020. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit (HAp) dari Cangkang Kerang Ale-Ale Menggunakan Metode Presipitasi Double Stirring. *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 8(2), 73-81.
- Tilarso, D., Muadifah, A., Handaru, W., Pratiwi, P. I., Khusna, M. L. 2021. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Belimbing Wuluh dengan Metode Hidroekstraksi. *Chempublish Journal*. 6(2), 63-74.
- Triawan, R. (2017). *Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Toksisitas Akut Dermal Sediaan Sabun Cair Wajah Antijerawat Ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya L.)* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Purwokerto).
- Vandepitte, V.J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., Heuck., C.C. 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Venkatesan, J. & Kim, S. K. 2010. Effect of Temperature on Isolation and Characterization of Hydroxyapatite from Tuna (*Thunnus obesus*) Bone. *Materials*. 3(10), 4761-4772.
- Wadu, I., Hartati, S., Margareta, N.C. 2017. Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 2(3): 145-151.
- Wadu, I. 2017. *Sintesa dan Karakterisasi Biokeramik Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam sebagai Agen Antibakteri Karies Gigi (Lactobacillus acidophilus) = Synthesized and Characterization of Hydroxyapatite (HAp) Bioceramics from Eggshell as Antibacterial Agents Toothes Caries (Lactobacillus acidophilus)* (Doctoral dissertation, Program Studi Kimia FSM-UKSW).
- Wardhani, Y. K. 2009. *Karakteristik Fisik dan Kimia Tepung Cangkang Kijing Lokal (Pilsbryoconcha exilis)*. Bogor, Indonesia: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institute Pertanian Bogor.
- Yuniarifin, H., Bintoro, V. P., Suwarastuti, A. 2006. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Asam Fosfat pada Proses Perendaman Tulang Sapi terhadap Rendemen, Kadar Abu dan Viskositas Gelatin. *Journal Indon Trop Anim Agric*. 31(1), 55-61.