

## **Hidroksiapatit (HAp) dari Cangkang Kerang Mutiara Air Tawar (Kijing) (*Anodonta woodiana*) Rawa Pening Kabupaten Semarang**

### ***Hydroxyapatite from Rawapening Freshwater Pearl Clams (Kijing) (*Anodonta woodiana*) Shells, Semarang Regency***

Agung Rimayanto Gintu<sup>(1,a)\*</sup>

<sup>(1)</sup> Program Studi Magister Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Jln Diponegoro No 52-60 Salatiga (50711), Jawa Tengah  
Email : <sup>(a\*)</sup>[agunggintu911@gmail.com](mailto:agunggintu911@gmail.com)

Diterima (16 November 2022), Direvisi (22 November 2022)

**Abstract.** Hydroxyapatite (HAp) was one of biomaterials for hard tissues reparation synthesized from Molluscan shells. In this study treated the synthesis of HAp from *Anodonta woodiana* clams shells obtained from Rawa Pening Lake, Semarang regency, Central of Java. Physicochemical characterizations against the shells showed Ash contains  $0,9985 \pm 0,0005\text{g/g}$ ; Calcium / CaO  $0,4460 \pm 0,0082\text{g/g}$ ; Calcium /  $\text{CaCO}_3$   $0,1845 \pm 0,0012\text{g/g}$ ; and Phosphate  $0,1893 \pm 0,0102\text{g/g}$ , suitable with the need in HAp synthesis. HAp in this study synthesized by Base Precipitation method and obtained rendement of synthesis  $50,25 \pm 0,0384\%$  and HAp with Ratio Ca/P 1,4611% based on Bray and 1,3847% by Olsen's methods; Porosity  $50,25 \pm 0,0384\%$ ; Biodegradability  $70,22 \pm 0,0203\%$ ; Swelling ability  $65,28 \pm 0,0291\%$ ; Density  $0,8898 \pm 0,0008\text{g/mL}$ ; Kinetic Viscosity  $1,1986 \pm 0,0982\text{CTs}$ ; and Molecular Weight  $0,0076 \pm 0,0007\text{g/mol}$ . Based on the results concluded that HAp success synthesized from *A. woodiana* clams shells by Base Precipitation methods.

**Keywords:** Biomaterials, Bone, Hydroxyapatite.

**Abstrak.** Hidroksiapatit adalah salah satu jenis biomaterial untuk perbaikan jaringan keras yang dapat disintesis dari bahan baku cangkang *Mollusca*. Pada penelitian ini dilakukan sintesis HAp dari cangkang kerang *Anodonta woodiana* yang diperoleh dari Danau Rawa Pening, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Karakterisasi Fisikokimia terhadap cangkang menunjukkan kadar abu  $0,9985 \pm 0,0005\text{g/g}$ ; Kalsium / CaO  $0,4460 \pm 0,0082\text{g/g}$ ; Kalsium /  $\text{CaCO}_3$   $0,1845 \pm 0,0012\text{g/g}$ ; dan Fosfat  $0,1893 \pm 0,0102\text{g/g}$ , sesuai dengan kebutuhan sintesis HAp. HAp pada penelitian ini disintesis dengan metode Pengendapan Basa dan diperoleh Rendemen sintesis  $50,25 \pm 0,0384\%$  dan HAp dengan Rasio Ca/P sebesar 1,4611% menurut perhitungan Bray dan 1,3847% menurut Olsen; Porositas  $50,25 \pm 0,0384\%$ ; Biodegradabilitas  $70,22 \pm 0,0203\%$ ; Daya Kembang  $65,28 \pm 0,0291\%$ ; Densitas  $0,8898 \pm 0,0008\text{g/mL}$ ; Viscositas Kinetik  $1,1986 \pm 0,0982\text{CTs}$ ; dan Berat Molekul (MW)  $0,0076 \pm 0,0007\text{g/mol}$ . Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa HAp berhasil disintesis dari cangkang kerang *A. woodiana* dengan metode Pengendapan Basa.

**Kata kunci:** Biomaterial, Hidroksiapatit, Tulang.

---

## PENDAHULUAN

Hidroksiapatit (*Hydroxyapatite* / HAp) merupakan salah satu jenis biomaterial yang umumnya disebut Biokeramik HAp [1,2]. Biomaterial ini banyak digunakan untuk menangani kerusakan pada jaringan keras (Tulang dan Gigi) pada manusia [3-5]. HAp diterapkan dalam menangani kerusakan tulang dan gigi karena memiliki kesamaan struktur secara kimiawi dengan struktur kompleks Kalsium (Ca) yang menyusun jaringan tulang dan gigi [1-5]. Secara kimiawi, HAp memiliki struktur dengan formasi  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  [1,2], karena mengandung Ca dan  $\text{P-PO}_4$  maka HAp dianggap sesuai untuk penanganan kerusakan tulang [1-5]. Biomaterial Apatit yang lain yang merupakan isomer dari HAp, dan dapat juga digunakan seperti HAp adalah Carbonat Apatit (CAp) dengan struktur kimia  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{CO}_3)(\text{OH})_2]$  yang juga dapat diperoleh bersamaan saat sintesis HAp [1-2]. Biokeramik HAp sendiri dapat disintesis dari bahan-bahan yang kaya akan kandungan Kalsium (Ca) dan Fosfor (P) seperti cangkang *Mollusca* [6-11], kerabang telur [5,12-14], dan tulang binatang [15-21]. Jika diperhatikan, bahan-bahan tersebut sangat banyak tersedia di Indonesia [5,6,18,21] namun kenyataannya untuk bahan-bahan Biomaterial, Indonesia masih mengimpor dari luar negeri untuk memenuhi kebutuhan Biomaterial di bidang medis [22-26] terutama untuk penanganan kerusakan tulang [27]. Di sisi lain, Biomaterial sangat dibutuhkan tetapi persediaan sedikit dan donor tulang sangat terbatas [27,28], sehingga sangat dibutuhkan system produksi local untuk menghasilkan Biomaterial tersebut untuk memenuhi kebutuhan di bidang medis [6,18]. Jika mempertimbangkan kekayaan alam Indonesia, banyak sekali bahan baku yang dapat dimanfaatkan untuk produksi Biomaterial HAp seperti limbah tulang binatang [29], limbah kerabang telur [30] dan batu kapur [1,4], namun semua bahan tersebut tidak dapat dimanfaatkan secara bebas karena umumnya dapat digunakan kembali atau memang memiliki fungsi utama yang lain, misalnya tulang sapi, kambing dan kerabang telur unggas, umumnya ketiga bahan ini digunakan kembali untuk menjadi pupuk atau pakan ternak [29,30], sementara batu kapur (baik yang dominan Ca atau dominan  $\text{P-PO}_4$ ) tidak dapat digunakan begitu saja karena memang fungsi utamanya diperuntukkan di industry material terutama bangunan sehingga tidak bebas digunakan [4]. Namun masih ada satu jenis bahan baku yang dapat dimanfaatkan secara bebas untuk sintesis HAp karena kandungan Ca dan P didalamnya setara bahkan mungkin lebih tinggi daripada bahan baku lainnya, yaitu cangkang *Mollusca* [6-11], terlepas dari apapun jenis *Mollusca*-nya, entah siput atau kerang cangkangnya sangat kaya akan kandungan Kalsium dan Fosfor yang merupakan mineral utama penyusun kristal HAp sehingga dibutuhkan untuk sintesis [10,11], terutama jika itu adalah *Mollusca* laut yang ketersediaanya sangat melimpah karena setelah dagingnya dimakan, cangkangnya tidak dimanfaatkan lagi [6-9]. Penggagasan cangkang kerang sebagai sumber HAp digagaskan karena kelimpahan di Indonesia sangat potensial yaitu sebesar 34.929 ton per tahun dari sector industry pangan dimana kerang darah merupakan komoditas utama dan itu yang tercatat sebagai limbah cangkang *Mollusca* (dari industry pangan) [6-9] belum mempertimbangkan kelimpahan cangkang *Mollusca* yang tersedia berserakan bebas di pantai-pantai. Jika semua potensi alam ini dimanfaatkan, kemungkinan Indonesia dapat memproduksi HAp secara local bahkan Nasional dan memenuhi kebutuhan Biomaterialnya di bidang medis.

Kelimpahan bahan baku di Indonesia tidak hanya datang dari *Mollusca* laut tapi juga dari *Mollusca* air tawar [10,11], seperti contohnya daerah Kabupaten Semarang dan Salatiga yang berada di Dataran tinggi dan perairannya adalah perairan air tawar bernama Rawa

Pening yang dihuni oleh salah satu jenis *Mollusca* yang bisa tumbuh hingga lebih dari 10mm [31] yaitu Kerang mutiara air tawar (*Anodonta woodiana*) [32,33] atau yang nama lokalnya disebut *Kijing* [34-39]. Banyaknya *inlet* sungai yang bermuara di Rawa Pening mengalirkan berbagai jenis substrat menjadikan rawa ini habitat yang ideal bagi *A. woodiana* [39] menyebabkan populasi Kerang ini terbilang cukup besar dan padat [31,35,39], dan karena populasinya besar serta ukurannya mendukung untuk dikonsumsi, Kerang ini dijadikan salah satu sumber protein atau lauk (dan olahan lain) [31] yang khas oleh masyarakat sekitar Rawa Pening, namun untuk kelangsungan hidupnya kerang *A. woodiana* di Rawa Pening sepertinya tidak dibudidayakan secara sistematis, hanya sebatas populasinya dijaga dan dilestarikan di dalam area Rawa Pening dan Sungai Tuntang [31,39]. Seperti kasus konsumsi *Mollusca* pada umumnya, cangkang *A. woodiana* tidak dimanfaatkan lagi setelah dagingnya dimakan (atau dijadikan pakan Itik) [37] sehingga banyak ditemukan tumpukan-tumpukan cangkang kosong disekitar warung-warung di area Rawa Pening terutama warung-warung disekitar rel kereta api Tuntang-Ambarawa. Karena ketersediaanya dari Rawa Pening dianggap mencukupi untuk disintesis menjadi HAp sehingga dalam penelitian ini dilakukan sintesis HAp dari (limbah) cangkang kerang *A. woodiana* yang dari Rawa Pening Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada September 2018 hingga September 2019 di Laboratorium CARC Magister Biologi UKSW (sekarang Laboratorium Pangan Fermentasi Fakultas Biologi UKSW). Sampel cangkang Kerang Mutiara (*Anodonta woodiana*) diperoleh dari warung-warung makan di sekitar rel kereta api (wisata) Tuntang-Ambarawa, juga dari sekitar muara Sungai Tuntang di Rawa Pening.

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Almari asam, *Magnetic stirrer*, Spectrofotometer UV-Vis, HACH Photometer, oven, incubator Tanur dan piranti kaca Volumetrik. Sedangkan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah Aquades, Aquabides, HCl, Amonia,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$ , Pereaksi Murexide, Asam sitrat, Asam Askorbat, Asam Borat, Amonium Molybdat, Amonium Vanadat, Buffer  $\text{PO}_4$  pH 4, 7, dan 10,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{KMnO}_4$ , EDTA, Indikator EBT Metanol dan Etanol. Semua bahan kimiawi yang digunakan terstandarisasi Pro Analisis (P.A).

### Karakterisasi Cangkang Kerang

#### Preparasi Sampel

Sampel cangkang kerang *A. woodiana* yang diperoleh dari Rawa Pening direbus dalam air mendidih  $100^\circ\text{C}$  hingga 1,5 Jam, lalu dilanjutkan dengan sterilisasi autoclave pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 35 menit, setelah steril cangkang dikeringkan menggunakan oven  $100^\circ\text{C}$ . Setelah cangkang benar benar kering, dilakukan pencucian cangkang menggunakan  $\text{H}_2\text{O}_2$  untuk mengelupas lapisan lamella berwarna hijau kehitaman pada bagian luar cangkang hingga diperoleh lapisan cangkang berwarna putih abu-abu, setelah itu cangkang dikeringkan dan ditepungkan<sup>[10,11]</sup>.

Untuk keperluan pengukuran kadar mineral dibuat larutan sampel yang terbuat dari 10,0055g serbuk cangkang yang dilarutkan dalam 100mL HCl pekat. Larutan ini disebut larutan induk [10,11].

#### **Kadar Air, Abu, Silikon dan Karbon**

Kadar air diukur dengan menimbang 1,005g lalu dianalisa kadar air secara automatic menggunakan *Moisure analyzer* [10,11]. Kadar abu diukur dengan menimbang 1,0055g serbuk cangkang dan dipijarkan dalam tanur pada suhu 600°C selama 5 jam hingga diperoleh massa abu berwarna putihn [10,11]. Kadar bahan Organik diperoleh dari selisih antara massa awal sampel dan massa abu, sedangkan kadar Karbon diperoleh dari kadar bahan organic dikalikan dengan 0,58<sup>[10,11]</sup>. Sementara kadar Silikon oksida diperoleh dengan mencuci massa abu putih dari cangkang menggunakan HCl 10% (v/v) hingga seluruh abu tenggelam lalu dibilas dengan aquades hingga netral lalu dikeringkan dalam oven 100°C, sisa massa padatan dicatat sebagai kadar SiO<sub>2</sub>, pencucian padatan SiO<sub>2</sub> dilanjutkan menggunakan aquades panas dan disusul HCl 1% lalu dibilas, massa yang diperoleh dicatat sebagai massa Silikon (Si) [10,11].

#### **Pengukuran Kadar N Total (Kieldjhal)**

Ditimbang 10,0011g serbuk cangkang, lalu ditambahkan 10g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 25mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dalam labu destruksi lalu dipanaskan hingga mencair. Cairan sisa destruksi diuapkan agar bereaksi dengan asam borat jenuh hingga berwarna hijau, lalu di titrasi dengan NaOH 0,8M.

#### **Pengukuran Kadar Karbon**

Diambil 10mL larutan induk, diencerkan hingga 100mL (10 kali) dengan aquades, larutan hasil pengenceran dibagi kedalam 3 wadah masing-masing 25 mL lalu dititrasi dengan FeSO<sub>4</sub> hingga terjadi perubahan warna bening menjadi kemerahan lalu dihitung kadar Karbon. Untuk konfirmasi, titrasi juga dilakukan menggunakan KMnO<sub>4</sub> hingga diperoleh kadar Karbon.

#### **Pengukuran Kadar Kalsium (Ca)**

Diambil 10mL larutan induk, diencerkan hingga 100mL (10 kali) dengan aquades, larutan hasil pengenceran dibagi kedalam 3 wadah masing-masing 25 mL lalu ditetesi 2 tetes indikator EBT kemudian dititrasi dengan EDTA 0,5M hingga terjadi perubahan warna menjadi ungu [10,11,30]. Untuk mengkonfirmasi hasil, dilakukan kembali pengukuran kadar Kalsium (1) secara spektrofotometrik dengan pereaksi Murexide pada  $\lambda$  515nm dan (2) menggunakan HACH photometer juga (3) Flame photometer dengan kisaran panjang gelombang yang sama [10-14].

#### **Pengukuran Kadar P-PO<sub>4</sub>**

Diambil 10mL larutan induk, diencerkan hingga 100mL (10 kali) dengan aquades, larutan hasil pengenceran dibagi kedalam 3 tabung masing-masing 10 mL, ditambahkan 5mL pereaksi Molybdat Vanadat dan 1ml Asam Askorbat 1% (w/v) lalu diukurserapannya pada  $\lambda$  860nm [10-14]. Untuk mengkonfirmasi hasil, dilakukan kembali pengukuran kadar PO<sub>4</sub> (1) menggunakan HACH Photometer dengan pereaksi Blue Molybdat pada  $\lambda$  880nm, (2) juga menggunakan Flame photometer pada kisaran  $\lambda$  800-890nm [10-14].

**Pengukuran Kadar SO<sub>4</sub>**

Diambil 10mL larutan induk, diencerkan hingga 100mL (10 kali) dengan aquades, larutan hasil pengenceran dibagi kedalam 3 tabung masing-masing 20 mL, ditambahkan 1 sachet pereaksi SO<sub>x</sub> dan diukur serapannya menggunakan HACH Photometer pada 620nm [10,11,14].

**Pengukuran Kadar N-NO<sub>2</sub> dan N-NO<sub>3</sub>**

Diambil 10mL larutan induk, diencerkan hingga 100mL (10 kali) dengan aquades, larutan hasil pengenceran dibagi kedalam 3 tabung masing-masing 20 mL, ditambahkan 1 sachet pereaksi NO<sub>3</sub> dan NO<sub>2</sub> Kemudian diukur serapannya menggunakan HACH Photometer pada 315 dan 215nm [10,11,14].

**Pengukuran Kadar K-K<sub>2</sub>O**

Diambil 10mL larutan induk, diencerkan hingga 100mL (10 kali) dengan aquades, larutan hasil pengenceran dibagi kedalam 3 tabung masing-masing 20 mL, ditambahkan 1 sachet pereaksi K<sub>2</sub>O dan diukur serapannya menggunakan HACH photometer [10,11,14].

**Sintesis HAp dengan Metode Pengendapan Basa**

Dilarutkan 10,0055g dalam 50mL HCl pekat hingga seluruh Karbonat (CO<sub>3</sub>) lepas. Setelah reaksi pelepasan karbonat berhenti, larutan disaring dan ditambahkan 25mL asam sitrat lalu digenapkan 100mL dengan aquades. Setelah genap 100mL, larutan ditambahkan ammonia hingga pH 9,5 lalu ditetesi dengan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 8M hingga terbentuk endapan putih, setelah endapan putih berhenti terbentuk, padatan dipisah dari larutannya. Padatannya kemudian dilarutkan dalam HCl pekat hingga pH 1 dan di *sintering* hingga terbentuk endapan *Brushite* berwarna abu-abu kekuningan [10-14,30].

Endapan *Brushite* yang diperoleh kemudian dipijarkan pada suhu 600°C selama 2 jam dan dilanjutkan pada suhu 980°C selama 5 jam hingga diperoleh massa HAp berwarna Putih bersih [10-14,30].

**Karakterisasi HAp**

Ditimbang 10,0055g HAp dan dilarutkan dalam 100mL aquades menggunakan sonikasi agar terlarut sempurna. Larutan HAp kemudian diukur Densitas, Viskositas, Indeks Bias Brix dan Z-Potensialnya. Setelah itu diambil 10mL larutan HAp dan diencerkan hingga 100mL dengan aquades, larutan ini disebut larutan HAp induk [10,11,14].

**Pengukuran Kadar Kalsium**

Diambil 10mL larutan induk, dibagi kedalam 3 tabung masing-masing 10 mL, ditambahkan 10mL pereaksi Murexide dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  515nm, lalu dikonfirmasi dengan pengukuran HACH dan Flame Photometer [10,11,14].

**Pengukurak Kadar P-PO<sub>4</sub>**

Diambil 10mL larutan induk, dibagi kedalam 3 tabung masing-masing 10 mL, ditambahkan 5mL pereaksi Molybdat Vanadat dan 1ml Asam Askorbat 1% (w/v) lalu diukur serapannya pada  $\lambda$  860nm. Untuk mengkonfirmasi hasil, dilakukan kembali pengukuran kadar PO<sub>4</sub> (1) menggunakan HACH Photometer dengan pereaksi Blue

Molybdat pada  $\lambda$  880nm, (2) juga menggunakan Flame photometer pada kisaran  $\lambda$  800-890nm [10,11,14].

### **Karakterisasi Biokimiawi**

#### **Porositas:**

Ditimbang 10,0055g HAp lalu dimaserasi dalam 50mL campuran buffer  $\text{PO}_4$  pH 10 dan etanol selama 24 jam lalu diukurselisih massa awal dan setelah maserasi [10,11,14].

#### **Biodegradabilitas:**

Ditimbang 10,0055g HAp lalu dimaserasi dalam 50mL campuran Aquades dan etanol selama 24 jam lalu diukurselisih massa awal dan setelah maserasi [10,11,14].

#### **Daya Kembang (Sweling):**

Ditimbang 10,0055g HAp lalu dimaserasi dalam 50mL campuran buffer  $\text{PO}_4$  pH 10 dan glukosa 1% selama 24 jam lalu diukurselisih massa awal dan setelah maserasi [10,11,14].

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kerang *Anodonta woodiana* dalam bahasa Indonesia disebut: (1) Kerang Mutiara Air Tawar [31] atau (2) *Kijing* Taiwan [34,36] dan nama lokalnya adalah *Kijing* [31,39], secara taksonomi termasuk family Unionidae [32,33,40]. Di wilayah Asia khususnya Indonesia kerang ini umum dikonsumsi sebagai lauk [31-33,36], sama halnya dengan di wilayah Kabupaten Semarang, Jawa Tengah, di wilayah-wilayah Desa atau Kecamatan yang berbatasan langsung dengan Rawa Pening, kerang *A. woodiana* juga dikonsumsi sebagai lauk atau sumber protein [31,34,35,39] juga sebagai pakan ternak. Kerang *A. woodiana* dijadikan konsumsi karena ketersediaannya di Rawa Pening memungkinkan untuk dikonsumsi karena selain ikan dan udang, salah satu komoditas konsumsi di sekitar Rawa Pening adalah kerang *Kijing* [31,39-41]. Karena merupakan komoditas yang erat kaitannya dengan masyarakat disekitar danau Rawa Pening sehingga keberlangsungan hidup kerang *A. woodiana* di kawasan Rawa Pening (meliputi *outlet*, *inlet* dan tanah gambutnya) di jaga oleh masyarakat, pemerintah, lembaga penelitian (terutama lembaga penelitian terkait lingkungan) dan komunitas peneliti [31,39-41]. Karena upaya pelestarian, juga karena banyaknya nutrisi yang dialirkan oleh aliran *inlet* Rawa Pening menjadikan danau ini sebuah habitat yang ideal dan menunjang kehidupan *A. woodiana* didalamnya, sehingga populasinya terhitung padat dan besar sehingga memungkinkan untuk dijadikan konsumsi maupun komoditas dagang [31,39-42]. Seperti kasus konsumsi hewan *Mollusca* lainnya, cangkang kerang *Kijing* hanya dibuang atau ditumpuk begitu saja setelah dagingnya dimakan [37], kelimpahan limbah cangkang ini dianggap mendukung untuk digagaskan sebagai bahan baku sintesis dan produksi biomaterial Hidroksiapatit (HAp).

Secara alami, cangkang *Mollusca* mengandung Kalsium (Ca) yaitu 35-98% dari massa keringnya dan Fosfor sebagai Fosfat ( $\text{PO}_4$ ) sekitar 20-60% dari massa keringnya tergantung dari species *Mollusca* tersebut [6-11]. Karena kelimpahan kandungan mineralnya ini sehingga cangkang *Mollusca* dianggap ideal sebagai sumber atau bahan baku sintesis HAp [6-11]. Berdasarkan laporan ini sehingga sebelum cangkang *A. woodiana* dari Rawa Pening perlu dikarakterisasi untuk melihat kandungan mineralnya. Hasil karakterisasi ditampilkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Karakterisasi Fisikokimia Cangkang Kerang *Anodonta woodiana*

| Parameter        |                                           | Hasil ( $\bar{X} \pm SE$ ) |                      |
|------------------|-------------------------------------------|----------------------------|----------------------|
| Grafimetrik      | Air (%)                                   | 0,16 $\pm$ 0,0067          |                      |
|                  | Abu (g/g)                                 | 0,9985 $\pm$ 0,0005        |                      |
|                  | SiO (g/g)                                 | 0,2512 $\pm$ 0,0006        |                      |
|                  | Si (g/g)                                  | 0,1574 $\pm$ 0,0019        |                      |
|                  | Organik (g/g)                             | 0,0107 $\pm$ 0,0003        |                      |
|                  | C (g/g)                                   | 0,0062 $\pm$ 0,0017        |                      |
| Titrimetrik      | C (FeSO <sub>4</sub> ) (g/g)              | 0,0045 $\pm$ 0,0001        |                      |
|                  | C (KMnO <sub>4</sub> ) (g/g)              | 0,0025 $\pm$ 0,0001        |                      |
|                  | N Kiedjhal (g/g)                          | 0,0122 $\pm$ 0,0056        |                      |
|                  | Ca (g/g)                                  | 0,2980 $\pm$ 0,0028        |                      |
| HACH             | Ca / CaO (g/g)                            | 0,4460 $\pm$ 0,0082        |                      |
| Photometer       | K / K <sub>2</sub> O (g/g)                | 0,0120 $\pm$ 0,0010        |                      |
|                  | PO <sub>4</sub> (g/g)                     | 0,1893 $\pm$ 0,0102        |                      |
|                  | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (g/g)       | 0,1420 $\pm$ 0,0077        |                      |
|                  | P 490 (g/g)                               | 0,0631 $\pm$ 0,0034        |                      |
|                  | P 496 (g/g)                               | 0,1367 $\pm$ 0,0088        |                      |
|                  | NO <sub>2</sub> (g/g)                     | 0,0097 $\pm$ 0,0045        |                      |
|                  | NO <sub>3</sub> (g/g)                     | 0,0097 $\pm$ 0,0044        |                      |
|                  | SO <sub>4</sub> (g/g)                     | 0,0043 $\pm$ 0,0017        |                      |
| Spektrofotometer | Ca / CaCO <sub>3</sub> (g/g)              | 0,1845 $\pm$ 0,0012        |                      |
| UV-Vis           | PO <sub>4</sub> (g/g)                     | 0,0588 $\pm$ 0,0043        |                      |
|                  | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (g/g)       | 0,0915 $\pm$ 0,0067        |                      |
|                  | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Larut (g/g) | 0,0439 $\pm$ 0,0032        |                      |
|                  | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total (g/g) | 0,1345 $\pm$ 0,0099        |                      |
|                  | P (g/g)                                   | 0,0195 $\pm$ 0,0014        |                      |
|                  | P Larut (g/g)                             | 0,0145 $\pm$ 0,0011        |                      |
|                  | P Total (g/g)                             | 0,0292 $\pm$ 0,0022        |                      |
|                  | Nox (g/g)                                 | 0,0032 $\pm$ 0,0003        |                      |
|                  | NO <sub>2</sub> (g/g)                     | 0,0223 $\pm$ 0,0007        |                      |
|                  | NO <sub>3</sub> (Sal) (g/g)               | 0,0165 $\pm$ 0,0023        |                      |
|                  | NO <sub>3</sub> (Gri) (g/g)               | 0,0372 $\pm$ 0,0051        |                      |
|                  | N Biuret (g/g)                            | 0,0064 $\pm$ 0,0022        |                      |
| Fisik            | Porositas (%)                             | 20,83 $\pm$ 0,3171         |                      |
|                  | Densitas (g/mL)                           | 1,0014 $\pm$ 0,0029        |                      |
|                  | Viscositas                                | Absolut (P.a)              | 0,9 $\pm$ 0,0000     |
|                  |                                           | Kinetik (CTs)              | 0,8987 $\pm$ 0,0026  |
|                  |                                           | Dinamis (CPs)              | 0,0899 $\pm$ 0,0026  |
|                  | MW (g/mol)                                |                            | 0,0067 $\pm$ 0,0019  |
|                  | Homogenitas                               | Brix (%)                   | 9,0 $\pm$ 0,00       |
|                  |                                           | Padatan Larut (%)          | 12,9740 $\pm$ 0,0000 |
|                  |                                           | Kelarutan (%)              | 87,0260 $\pm$ 0,0000 |

Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa kandungan Ca dan PO<sub>4</sub> pada cangkang kerang *A. woodiana* sangat potensial untuk dijadikan sebagai bahan baku sintesis HAp. Karena kedua mineral ini adalah mineral utama yang menyusun Kristal HAp [1,2] sehingga pengukurannya harus dilakukan dengan sangat teliti, sehingga pada penelitian ini kandungan Kalsium dan Fosfat diukur lebih dari sekali dan menggunakan beberapa Instrumen berbeda [10,11]. Pengukuran kadar Kalsium (Ca) dengan metode titrasi umumnya

menampilkan hasil dari campuran Ca-Mg sehingga ditandai sebagai angka kadar Sadah bukan  $\text{CaCO}_3$  atau  $\text{CaO}$  [30] sehingga perlu diukur lagi menggunakan metode spektrofotometrik dengan spesifikasi yang terfokus pada species senyawa Ca, misalnya  $\text{Ca}^{2+}$  (Flame),  $\text{CaO}$  (HACH) dan  $\text{CaCO}_3$  (Spektro UV-Vis) [10,11,30]. Kandungan Kalsium dan Fosfor akan berpengaruh bagi besarnya rendemen perolehan hasil sintesis [1,2,6], sintesis HAp pada penelitian ini menggunakan Metode *Pengendapan Basa*, HAp hasil sintesis ditunjukkan pada Tabel 2.

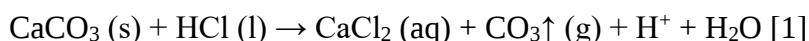
**Tabel 2.** Karakterisasi Fisikokimia HAp dari Cangkang Kerang *Anodonta woodiana*

| Parameter                  |                                    | Hasil ( $\bar{X} \pm \text{SE}$ ) |
|----------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Rendemen (%)               |                                    | 50,25 $\pm$ 0,0384                |
| Air (%)                    |                                    | 0,15 $\pm$ 0,000                  |
| Spektrofotometer<br>UV-Vis | Ca (g/g)                           | 0,1628 $\pm$ 0,0009               |
|                            | $\text{PO}_4$ (g/g)                | 0,0334 $\pm$ 0,0002               |
|                            | $\text{P}_2\text{O}_5$ (g/g)       | 0,0520 $\pm$ 0,0034               |
|                            | $\text{P}_2\text{O}_5$ Larut (g/g) | 0,0250 $\pm$ 0,0017               |
|                            | $\text{P}_2\text{O}_5$ Total (g/g) | 0,0765 $\pm$ 0,0005               |
|                            | P (g/g)                            | 0,0111 $\pm$ 0,0073               |
|                            | P Larut (g/g)                      | 0,0028 $\pm$ 0,0002               |
|                            | P Total (g/g)                      | 0,0166 $\pm$ 0,0011               |
|                            | Rasio Ca/P (%) (B)*                | 1,4611 $\pm$ 0,0103               |
|                            | HACH                               |                                   |
| Photometer                 | Ca (g/g)                           | 0,2343 $\pm$ 0,0022               |
|                            | $\text{PO}_4$ (g/g)                | 0,0508 $\pm$ 0,0001               |
|                            | $\text{P}_2\text{O}_5$ (g/g)       | 0,0381 $\pm$ 0,0011               |
|                            | P 490 (g/g)                        | 0,0169 $\pm$ 0,0048               |
|                            | P 496 (g/g)                        | 0,0128 $\pm$ 0,0007               |
|                            | Rasio Ca/P (%) (O)*                | 1,3847 $\pm$ 0,0108               |
| Fisik                      | Porositas (%)                      | 62,31 $\pm$ 0,0145                |
|                            | Biodegradabilitas (%)              | 70,22 $\pm$ 0,0203                |
|                            | Sweling (%)                        | 65,28 $\pm$ 0,0291                |
|                            | Densitas (g/mL)                    | 0,8898 $\pm$ 0,0008               |
|                            | Viscositas Absolut (P.a)           | 1,07 $\pm$ 0,0882                 |
|                            | Kinetik (CTs)                      | 1,1986 $\pm$ 0,0982               |
|                            | Dinamis (CPs)                      | 0,1199 $\pm$ 0,0098               |
| Homogenitas                | MW (g/mol)                         | 0,0076 $\pm$ 0,0007               |
|                            | Brix (%)                           | 1,00 $\pm$ 0,1528                 |
|                            | Padatan Larut (%)                  | 1,5454 $\pm$ 0,2182               |
|                            | Kelarutan (%)                      | 98,4546 $\pm$ 0,2182              |
| Z-Potensial                | V (mV)                             | 5 $\pm$ 0,00                      |
|                            | I (mA)                             | 15 $\pm$ 0,00                     |
|                            | R (O)                              | 25 $\pm$ 0,00                     |

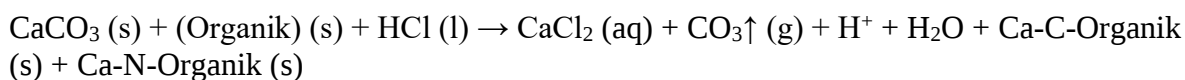
\*B = Bray, O=Olsen

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa rendement HAp yang diperoleh dari proses sintesis telah sesuai harapan namun angkanya menunjukkan tepat pada kisaran kondisi ideal [2], yaitu 50,25%. Jika mempertimbangkan hasil pengukuran kadar Kalsium dan Fosfor pada cangkang kerangnya (Tabel 1) seharusnya rendemennya akan lebih tinggi dari kisaran ideal [6-9]. Kurangnya perolehan rendemen ini diperkirakan karena adanya kontaminan organik

Karbon (C) dan Nitrogen (N) yang terlibat dalam reaksi pelarutan tepung cangkang *A. woodiana* sehingga tidak semua kandungan Ca berubah menjadi  $\text{CaCl}_2$  (aq). Cangkang kerang *A. woodiana* secara alami terbungkus oleh lamella / mantel pada bagian luarnya [10], terkadang dalam suasana lembab atau setengah kering, mantel ini menyebabkan bau amis, menandakan adanya kandungan senyawa N yang umumnya berbau khas amis. Pada kondisi cangkang kering sempurna atau jika dipanaskan, lapisan mantel ini dapat mengelupas dengan sendirinya kecuali pada bagian poros katup cangkang (*Umbo*, *Pedicle opening*, *delthyrium* dan *eltidial*). Ketika mantel terkelupas, warna cangkang yang asli akan muncul yaitu putih keabu-abuan, mantel ini merupakan komponen organik sehingga diperkirakan kontaminan C dan N pada reaksi sintesis berasal dari struktur mantel yang terurai. Untuk meminimalisir kontaminasi sebenarnya sudah dilakukan pencucian dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$  lalu disikat namun mantel tidak seluruhnya terkelupas terutama bagian poros katup cangkang yang bahkan tetap menempel kuat seperti kavitas. Jika perendaman dilakukan lebih lama menggunakan  $\text{H}_2\text{O}_2$  atau larutan kimia lain dikhawatirkan kandungan Kalsium juga akan meluruh mengikuti lepasnya lamella dari cangkang dan ini akan mengurangi kandungan Ca. Pada reaksi pelarutan tepung cangkang dalam HCl, jika dalam kondisi ideal tanpa memperhitungkan kontaminan dari lamella maka reaksi akan berlangsung mengikuti persamaan reaksi 1:



Namun jika memperhitungkan keberadaan lamella, reaksi akan berlangsung seperti persamaan 2:



C dan N-Organik umumnya akan terendapkan karena denaturasi asam [30] lalu sangat memungkinkan untuk mengikis Ion  $\text{Ca}^{++}$  yang sedang dalam proses untuk membentuk  $\text{CaCl}_2$  sehingga Ca yang membentuk  $\text{CaCl}_2$  sangat dibutuhkan untuk menjadi CaO pada tahapan reaksi berikutnya. Karena sebagian mol Ca telah terikat dengan C dan N-organik maka ketika penambahan ammonia dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , hanya Ca yang membentuk  $\text{CaCl}_2$  yang bereaksi menjadi CaO. Dan karena tidak semua Ca berhasil membentuk CaO maka memengaruhi perolehan rendemen hasil sintesis di akhir proses sintesis HAp.

Kontaminan bahan organik ini juga memengaruhi kadar Ca yang terkandung dalam HAp, karena banyak Ca yang berikatan dengan C-organik sehingga saat pemijaran pada suhu  $980^\circ\text{C}$ , senyawa / garam Ca-Organik ini terpijarkan dan tidak membentuk apatit karena tidak berikatan dengan  $\text{PO}_4$ , mengakibatkan kadar Ca pada HAp menurun hingga 20% dari kandungan cangkang. Berkurangnya kadar Ca pada HAp juga memengaruhi kondisi biokimiawi fisiknya, yaitu tingginya porositas, biodegradabilitas dan daya kembang akibat mengikat air (swelling) [10,11], sehingga kemungkinan struktur HAp ini akan sedikit rapuh jika di aplikasikan untuk penanganan kerusakan tulang dan gigi [13,43]. Selain biokimiawi HAp, parameter lain yang terpengaruh akibat kurangnya kadar Ca adalah Z-Potensial (elektrisitas) HAp, elektrisitas larutan HAp pada penelitian ini terukur berada pada kisaran rendah baik dari tegangan (mV), arus (mA) dan hambatannya. Rendahnya elektrisitas ini disebabkan kurangnya keberadaan Ca pada bagian luar kisi Kristal HAp juga menunjukkan bahwa HAp memiliki daya interaksi kimiawi yang rendah [44] sehingga jika diaplikasikan

untuk penanganan kerusakan tulang, Biomaterial HAp akan sulit menempel pada bagian tulang yang rusak [12,14] dan kemungkinan harus ada bahan substitusi lain lagi untuk merekatkannya [30] atau meningkatkan interaksi kimiawinya agar mampu merekat misalnya kolagen [45,46], karena reaksi kimiawi yang berupa penempelan atau substitusi komponen akan lebih mudah dilakukan jika 2 material yang akan disatukan memiliki beda potensial yang tinggi sehingga akan tarik menarik membentuk ikatan kimiawi yang kuat [14], sementara untuk HAp hasil sintesis pada penelitian ini kemampuan interaksinya masih harus ditingkatkan dengan substitusi bahan lain [45,46].

Karena masih memiliki banyak kelemahan sehingga HAp ini masih butuh dikaji dalam penelitian lanjutan untuk meminimalisir kelemahannya. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa untuk mengurangi resiko rapuhnya fisik HAp akibat besarnya porositas, biodegradabilitas dan daya kembang, HAp dapat dimodifikasi dengan mendopingnya menggunakan beberapa jenis ion seperti Perak (Ag) [47-49], Titanium (Ti) [50], Besi (Fe) [49,51,52] dan Seng / Zink (Zn) [53], sedangkan untuk meningkatkan daya interaksi kimiawinya dapat dilakukan dengan menggrafting HAp dengan komponen lain seperti Kolagen atau Kitosan / Nano Kitosan [45,46]. Meskipun memiliki kelemahan namun HAp pada penelitian ini memiliki keunggulan seperti dari rasio Ca/P yang menunjukkan bahwa rasio nya berada pada kisaran yang ideal [2]. Kisaran Rasio Ca/P yang ideal bagi HAp adalah 0,67-2,67% [2,6], dan yang paling optimum adalah 1,67% [2], semakin mendekati 1,67% berarti kisaran ukuran berada pada 250-50nm [6], sedangkan HAp pada penelitian ini menunjukkan Rasio Ca/P sebesar 1,4611% menurut perhitungan Bray dan 1,3847% menurut Olsen, kisaran yang dekat dengan 1,67% menunjukkan bahwa ukurannya telah mencapai kisaran nanopartikel dan akan sangat mudah diserap tubuh manusia. Hal ini diperkuat lagi dari hasil pengukuran Densitas, Viscositas dan berat molekul (MW) yang rendah serta kelarutan yang tinggi hingga menyentuh kisaran 98% akan mempercepat peluang keterserapannya jika diaplikasikan dalam tubuh manusia, sehingga untuk metode modifikasi yang nantinya akan diterapkan untuk meminimalisir kelemahan diharapkan tidak mengurangi capaian parameter-parameter yang menjadi keunggulan HAp pada penelitian ini.

Meskipun HAp yang diperoleh dari cangkang kerang *A. woodiana* masih memiliki kelemahan namun berdasarkan rendemen sintesis dan kandungan mineral dalam HApnya dapat dilihat bahwa proses sintesis berhasil mensintesis HAp dari cangkang kerang *A. woodiana* melalui metode *Pengendapan Basa*, sehingga cangkang kerang *A. woodiana* dari Rawa Pening sangat berpotensi untuk digagaskan sebagai salah satu bahan baku untuk sintesis HAp di Indonesia untuk tujuan memenuhi kebutuhan di dunia medis. Jika cangkang *Mollusca* terlepas dari apapun speciesnya, mengandung 35-90% Ca serta 20-60%  $PO_4$  dari keseluruhan massa kering cangkangnya, dengan rendemen sintesis selalu lebih dari 50%<sup>[6-11]</sup> dijadikan sebagai acuan peluang keberhasilan, maka kemungkinan besar dengan memanfaatkan potensi cangkang *Mollusca* termasuk *Anodonta woodiana* maka kemungkinan produksi HAp di Indonesia baik skala local dan nasional akan meningkat sehingga mencukupi kebutuhan HAp dan akan mengurangi keterbatasan persediaan atau pasokan material terutama biomaterial untuk perbaikan tulang dan gigi.

## KESIMPULAN

Pada Penelitian ini dilakukan sintesis Biomaterial Hidroksiapatit (HAp) dari kerang *Anodonta woodiana* atau Kerang Mutiara Air Tawar yang nama lokalnya disebut *Kijing*. Cangkang kerang diperoleh dari danau Rawa Pening Kabupaten Semarang Jawa Tengah, berdasarkan karakterisasi fisikokimia terhadap cangkang kerang *A. woodiana* terhitung kadar Kalsium dan Fosfor yang tinggi dan sesuai dengan kebutuhan sintesis HAp, lalu dilakukan sintesis HAp menggunakan metode *Pengendapan Basa*. Hasil sintesis menunjukkan rendemen yang ideal dan sesuai harapan yaitu 50,25%, Rasio Ca/P 1,35% (metode Bray) dan 1,46% (metode Olsen) membuktikan bahwa cangkang *A. woodiana* berpeluang untuk digagaskan sebagai salah satu bahan baku utama untuk sintesis dan produksi HAp. HAp yang diperoleh masih memiliki banyak kelemahan dari sisi fisikokimia seperti porositasnya sebesar 62,31% masih terlalu besar dan dikhawatirkan mudah rapuh sehingga masih butuh dikaji secara mendalam untuk menekan atau meminimalisir kelemahannya sebelum diaplikasikan dalam penanganan kerusakan jaringan tulang.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Fakultas Biologi (FB) dan Fakultas Sains dan Matematika (FSM) UKSW Salatiga untuk akses Laboratorium yang menunjang penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nayak, AK. 2010. Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview. International Journal of ChemTech Research Vol.2 No.2 (2010): 903-907. ISSN: 0974-4290.
- [2] Ferraz, MP., Monteiro, FJ., & Manuel, CM. 2004. Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics* 2004; 2:74-80. DOI: <https://doi.org/10.1177%2F228080000400200202>.
- [3] Nurmata, DA., Djoni, IR., & Jan, A. 2014. Optimasi Parameter Waktu Sintering pada Pembuatan Hidroksiapatit Berpori untuk Aplikasi *Bone Filler* pada Kasus Kanker Tulang. Jurnal Fisika dan Terapannya Vol.2 No.2, Agustus 2014.
- [4] Rahmawati, A., Noor, II., Heru, S., & Samsudin, A. 2012. Sintesis *Hydroxyapatite* Berukuran Nano dengan Metode Elektrokimia Menggunakan *Pulse Direct Current* (PDC) sebagai Bioimplan Tulang dan Gigi. Jurnal Teknik POMITS Vol.1 No.1 (2012): 1-4.
- [5] 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 Jateng & DIY, Yogyakarta 25 April 2015. ISSN: 0853-0823.
- [6] Affandi., Amri., & Zultiniar. 2015. Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan Proses Hidrotermal Variasi Rasio Mol Ca/P dan Suhu Sintesis. *Jom FTEKNIK* Vol. 2, No. 1, Februari 2015.

- [7] Ahmad, I. 2017. Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) sebagai Bahan Abrasif dalam Pasta Gigi. Jurnal Galung Tropika 6(1), April 2017: 49-59. ISSN (Online): 2407-6279; (Cetak): 2302-4178.
- [8] Khoirudin, M., Yelmida., & Zultinir. 2015. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit (HAp) dari Kulit Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan Proses Hidrotermal. JOM FTEKNIK Vol. 2 No.2, Oktober 2015.
- [9] Ningsih, RP., Nelly, W., & Lia, D. 2014. Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Darah (*Polymesoda erosa*) dengan Variasi Waktu Pengadukan. JKK 2014 Vol.3(1), pp: 22-26, ISSN: 2303-1077.
- [10] Gintu, AR., Elizabeth, BE Kristiani., & Y, Martono. 2020. Biokeramik Hidroksiapatit (HAp) Berbahan Dasar Cangkang Tiram *Anodonta nuttalliana* dari Danau Poso. Eksergi Vol.17, No.2, 2020. ISSN: 1410-394X. PP: 86-92. DOI: <https://doi.org/10.31315/e.v17i2.3758>.
- [11] Gintu, AR., Elizabeth, BE Kristiani., & Y, Martono. 2020. Hydroxyapatite (HAp) Bioceramics from The *Celeteiya presclupta* Snails Shells from Poso Lake. JKPK Vol.5, No.3, 2020. ISSN: 2503-4146 (print); 2503-4154 (Online). PP: 254-263. DOI: 10.20961/jkpk.v5i3.45983.
- [12] Wadu, I., H, Soetjipto., & M,N Cahyanti. 2018. Sintesa dan Penentuan Kadar Kalsium-Fosfat Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam. JKPK UNS Vol.3 No.1, Tahun 2018: 1-5. ISSN: 2503-4146. Online ISSN: 2503-4154. DOI: 10.20961/jkpk.v3i1.11860.
- [13] 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 2018.
- [14] Gintu, AR., Elizabeth, BE Kristiani., & Y, Martono. 2022. The Synthesis and Physicochemical Characterization of Hydroxyapatite (HAp) from Local Duck Egg Shells. Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia (JKPK) Vol.7 No.1 (2022). ISSN: 2503-4146 (Print); 2503-4154 (Online). DOI: <https://doi.org/10.20961/jkpk.v7i1.55429>.
- [15] Fadhilah, N., Irhamni., & Z, Jalil. 2016. Sintesis Hidroksiapatit yang Berasal dari Tulang Sapi Aceh. Journal of Aceh Physics Society (JAcPS) Vol.5 No.2 pp.19-21, 2016. e-ISSN: 2355-8229.
- [16] Prawira, SE., J, Triyono., & T, Triyono. 2019. Pengaruh Temperatur Kalsinasi terhadap Sifat Mekanik Material *Scaffold* Hidroksiapatit dari Tulang Sapi. Majalah Ilmiah Mekanika Vol.18 No.1 Maret 2019. DOI: <https://doi.org/10.20961/mechanika.v18i1.35042>.
- [17] Puspa, KA., & D, Asmi. 2014. Sintesis dan Karakterisasi Biokeramik Hidroksiapatit Bahan Tulang Sapi pada Suhu 800-1100°C. Jurnal Teori dan Aplikasi Fisika Vol.2 No.2 Juli 2014.
- [18] Wadhah, I., S, Wardhani., & Darjito. 2014. Sintesis Hidroksiapatit dari Tulang Sapi dengan Metode Basah Pengendapan. Kimia Student Journal Vol.1 No.1 March 2014: 92-97.
- [19] Warastuti, Y., E, Budianto., & Darmawan. 2015. Sintesis dan Karakterisasi Membran Komposit Hidroksiapatit Tulang Sapi-Khitosan-Poli(Vinil-Alkohol) untuk Aplikasi Biomaterial. Jurnal Sains Materi Indonesia Vol.16 No.2, Januari 2015: 83-90. ISSN: 1411-1098. DOI: <http://dx.doi.org/10.17146/jsmi.2015.16.2.4215>.

- [20] Wathi, AFD., S, Wardhani., & M, M Khunur. 2014. Pengaruh Perbandingan Massa Ca:P terhadap Sintesis Hidroksiapatit Tulang Sapi dengan Metode Kering. *Kimia Student Journal* Vol.1 No.2 (March 2014): 196-202.
- [21] Yuliana, R., E,A Rahim., & J, Hardi. 2017. Sintesis Hidroksiapatit dari Tulang Sapi dengan Metode Basah pada Berbagai Waktu Pengadukan dan Suhu Sintering. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia* 3(3):201-210, Desember 2017. e-ISSN: 2477-5398.
- [22] Hasma., E, Bustam., R, Malaka., M,I Said., & Rifqi. 2020. Pengaruh Umur Terhadap Kualitas Gelatin Tulang Kaki Kambing melalui *Pretreatment* Asam Asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). *JITP* Vol.8 No.2 Juli 2020.
- [23] Juliasti, R., A,M Legowo., & Y,B Pramono. 2014. Pengaruh Konsentrasi Perendaman Asam Klorida pada Limbah Tulang Kaki Kambing terhadap Kekuatan Gel, Viskositas, Warna dan Kejernihan, Kadar Abu dan Kadar Protein Gelatin. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* Vol.VII No.I, Februari 2014.
- [24] 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) 2015. [www.journal.ift.or.id](http://www.journal.ift.or.id) .
- [25] Matulessy, DN., Yuny, E., Nurliani., & Edy, S. 2020. Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Kambing Kacang Menggunakan Neutrase. *Agrinimal* Vol.8 No.1, April 2020, Hal: 24-32.
- [26] Perwitasari, DS. 2008. Hidrolisis Tulang Sapi menggunakan HCl untuk Pembuatan Gelatin. Makalah Seminar Nasional Soebarodjo Brotohadjono “Pengolahan Sumber Daya Alam dan Energi Terbarukan”. Surabaya 18 Juni 2008. ISSN: 1978-0427.
- [27] Susanto, EPN., Amiatun., & Dyah, H. 2014. Sintesis dan Karakterisasi Paduan Kobalt dengan Variasi Cr Melalui Metode Peleburan sebagai Material Implan. *Jurnal Fisika dan Terapannya* Vol.2 No.2, Agustus 2014.
- [28] Ramli, R,A., Rohana A., Mohamad A.B., & Sam'an M.M. 2011. Synthesis and Characterisation of Pure Nanoporous Hydroxyapatite. *Journal of Physical Science*, Vol. 22(1), hal. 25-37. Universiti Sains Malaysia.
- [29] Amalia, V., E,K Hadisantoso., D, Hidayat., R,F Diba., M,F Dermawan., & S,W Tsaniyah. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah Tulang Hewan. *Alchemy: Journal of Chemistry* 5:4 (2017): 114-119. EISSN: 2460-6871. DOI: <https://doi.org/10.18860/al.v5i4.4705> .
- [30] Gintu, AR., I, Wadu., M,W Salenussa., & 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* Vol.6 No.2, Oktober 2017.
- [31] Astari, FD., A, Solichin., & N, Widyorini. 2018. Analisis Kelimpahan, Pola Distribusi, dan Nisbah Kelamin Kerang Kijing (*Anodonta woodiana*) di Inlet dan Outlet Danau Rawapening Jawa Tengah. *Journal of MAQUARES* Vol.7 No.2 2018 (227-236). <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/maquares>.
- [32] Chong, JP., J,JB Box., J,K Howard., D, Wolf; T,L Myers., & K,E Mock. 2008. Three Deeply Devided Lineages of The Fresh Water Mussel Genus *Anodonta* in Western North America. *Conserv Genet* (2008) 9: 1303-1309. DOI: 10.1007/s10592-007-9485-x.
- [33] Hinzmann, M., M, Lopes-Lima., A, Teixeira., S, Varandas., R, Sousa., A, Lopes., E, Froufe., & J, Machado. 2013. Reproductive Cycle and Strategy of *Anodonta anatina*

- (L., 1758): Notes on Hermaphroditism. Journal of Experimental Zoology 9999A; 1-13, 2013. DOI 10.1002/jez.1801.
- [34] Padwa, M., O,J Kalesaran., & C, Lumenta. 2015. Pertumbuhan Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana*) dengan Perbedaan Substrat. Jurnal Budidaya Perairan Januari 2015, Vol.3 No.1 (119-123).
- [35] Parman, S., & S, Prasetyo. 2016. Pelet Ikan Berbahan Dasar Kerang Air Tawar (*Anodonta woodiana* Lea). Prosiding Seminar Nasional Sains dan Enterpreneurship III Tahun 2016 (560-567).Semarang, 20 Agustus 2016.
- [36] Rahayu, SYS., D,D Solihin., R, Affandi., & W, Manalu. 2009. Ekobiologi Kerang Mutiara Air Tawar (*Anodonta woodiana*. Lea). Scientific Repository IPB: <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/59014> .
- [37] Rahayu, SYS. 2015. Pemanfaatan Tepung Cangkang Kerang sebagai Bahan Fortifikan pada Keripik Jagung yang Dikonsumsi Anak dan Remaja. Fitofarmaka Vol.5 No.2 Desember 2015, ISSN: 2087-9164.
- [38] Ridho, R., M,TK Swandari., & E, Issusilaningtyas. 2016. Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Kijing (*Pilsbryconcha exilis*) dalam Meningkatkan Perekonomian Warga Desa Bulupayung - Kesugihan, Cilacap, Jawa Tengah. Agrokreatif Mei 2016, Vol.3(1): 17-23. ISSN: 2460-8572, EISSN: 2461-095X. DOI: <https://doi.org/10.29244/agrokreatif.3.1.17-23>.
- [39] Yanuardi, F., D, Suprpto., & Djuwito. 2015. Kepadatan dan Distribusi Spasial Kerang Kijing (*Anodonta woodiana*) di Sekitar Inlet dan Outlet Perairan Rawapening. Journal of MAQUARES Vol.4 No.2 2015 (38-47). <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/maquares>.
- [40] Heriyani, M., Subiyanto., & D, Suprpto. 2015. Jenis Tekstur Tanah dan Bahan Organic pada Habitat Kerang Air Tawar (Famili: *Unionidae*) di Rawa Pening. Diponegoro journal of Maquares Vol.4 No.1, 2015: 65-73.
- [41] Ruswahyuni., & W, Nata. 2010. Populasi Hewan Makrobenthos pada Tanah Gambut di Perairan Rawa Pening. Jurnal Saintek Perikanan Vol.5 No.2, 2010: 40-46.
- [42] Puspita, D., P, Nugroho., S, Palimbong., & R,P Wijaya. 2022. Identifikasi Cemaran Mikroplastik pada Sungai Inlet Rawa Pening dan Biotanya. Journal Science of Biodiversity Vol.1 No.1, April 2022. DOI: <https://doi.org/10.46201/jsb/vol1i1pp1-6>
- [43] Gintu, AR., Elizabeth, BE Kristiani., & Y, Martono. 2020. Karakterisasi Pasta Gigi Berbahan Abrasif Hidroksiapatit (HAp). Jurnal Kimia Riset Vol.5, No.2, Desember 2020. ISSN: 2528-0422 (Online). PP: 120-126. DOI: <http://dx.doi.org/10.20473/jkr.v5i2.22503>
- [44] Wadu, I; H, Soetjipto., & M,N Cahyanti. 2017. Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Hidroksiapatit (HAp) dari Kerabang Telur Ayam Terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. JKPK UNS Vol.2 No.3, Desember 2017: 145-151. ISSN: 2503-4146; ISSN: 2503-4154 (online). DOI: 10.20961/jkpk.v2i3.11862.
- [45] Laksono, AD., Teodoro, AA Jr., Hilda, POS., Wentika, PKA., & Sulistijono. 2019. Study on Antibacterial of Chitosan/Hydroxyapatite Doped Magnesium as a Material of Bone Graft Applications. Makara J.Technol 23/3 (2019): 119-125. DOI: 10.7454/mst.v23i3.3755.
- [46] Mututuvvari, TM., April, LH., & Chieu, DT. 2013. Facile Synthesis and Antimicrobial Activity of Cellulose-Chitosan-Hydroxyapatite Composite Material, a Potential Material for Bone Tissue Engineering. J. Biomed Matter Res A. 2013 November: 101(11):3266-3277. DOI: 10.1002/jbm.a.34636.

- [47] Ciobanu, CS., Simona, LI., Philipe, LC., Liliana, VC., & Daniela, P. 2012. Antibacterial Activity of Silver Doped Hidroxiapatite Nanoparticles Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Nanoscale Research Letters*.
- [48] Kumar, VB., D,K Khajuria., D, Karasik., & A, Gadanken. 2019. Silver and Gold Doped Hydroxyapatite Nanocomposites for Enhanced Bone Regeneration. *Biomed Mater.* 2019 Jul 8;14(5):055002. PMID: 31185462. DOI: <https://doi.org/10.1088/1748-605x/ab28e4> .
- [49] Veerla, SC., 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 C Mater Biol Appl.* May 2019: 311-323, PMID: 30813033, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.148> .
- [50] Nathanael, AJ., D, Mangalaraj., & S,I Hong. 2009. Biocompatibility and Antimicrobial Activity of Hydroxyapatite/Titania Bio-Nanocomposite. 18<sup>th</sup> International Conference on Composite Material.
- [51] Chandra, VS., 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. *ACS.Appl.Mater. Interfaces*, 4(3) February 8, (2012): 1200-1210. DOI: <https://doi.org/10.1021/am300140q> .
- [52] Predoi, D., S, L Iconaru., S,C Ciobanu., S,A Predoi., N, Buton., C, Megier., & M Beuran. 2021. Development of Iron-Doped Hydroxyapatite Coatings. *Coatings* 2021, 11, 186. DOI: <https://doi.org/10.3390/coatings.11020186> .
- [53] Charlena., Irma, HS., & Eldora, K. 2019. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Zinc Oxide (HAp-ZnO) as Antibacterial Biomaterial. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 599 (2019) 012011. DOI: 10.1088/1757899X/599/1/012011.