

## HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG SOTONG SEBAGAI SEDIAAN BIOMATERIAL PERANCAH TULANG

**Krisman Umbu Henggu\*, Bustami Ibrahim, Pipih Suptijah**

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor, Jawa Barat

\*Korespondensi: [krisman\\_umbu@apps.ipb.ac.id](mailto:krisman_umbu@apps.ipb.ac.id)

Diterima: 4 Januari 2019 /Disetujui: 19 Maret 2019

**Cara sitasi:** Henggu KU, Ibrahim B, Suptijah P. 2019. Hidroksiapatit dari cangkang sotong sebagai sediaan biomaterial perancah tulang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1): 1-13.

### Abstrak

Produksi perikanan tangkap sotong di Indonesia mengalami peningkatan yang berdampak terhadap jumlah limbah hasil samping, salah satunya cangkang sotong. Cangkang sotong mengandung unsur anorganik ( $\text{CaCO}_3$ ) yang berpotensi sebagai sumber kalsium oksida ( $\text{CaO}$ ) pada sintesis hidroksiapatit. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik fisikokimia cangkang sotong serta suhu optimum kalsinasi dalam ekstraksi  $\text{CaO}$  dan sintesis hidroksiapatit. Penelitian ini terbagi dalam tiga tahap yakni analisis fisikokimia cangkang sotong, ekstraksi dan karakterisasi  $\text{CaO}$  dengan perlakuan suhu kalsinasi  $500^\circ\text{C}$ ,  $600^\circ\text{C}$ ,  $700^\circ\text{C}$  6 jam dan sintesis hidroksiapatit menggunakan kombinasi metode hidrotermal pada suhu  $200^\circ\text{C}$  6 jam dan perlakuan suhu kalsinasi  $800^\circ\text{C}$ ,  $900^\circ\text{C}$ ,  $1.000^\circ\text{C}$  1 jam. Hasil penelitian menunjukkan cangkang sotong memiliki persentase kadar air  $3,54\pm 0,11$ , lemak  $0,32\pm 0,19$ , protein  $4,78\pm 0,23$ , karbohidrat  $5,29\pm 0,02$ , dan abu  $89,61\pm 0,26$  yang merupakan unsur kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) aragonit dicirikan dengan serapan gugus fungsi pada panjang gelombang 1.795; 1.507; 1.083; 871; 713 dan  $700\text{ cm}^{-1}$ . Kondisi optimum ekstraksi  $\text{CaO}$  yakni perlakuan kalsinasi  $700^\circ\text{C}$  6 jam yang ditandai dengan serapan gugus fungsi pada panjang gelombang 1.654; 1.468; 1.116 dan  $875\text{ cm}^{-1}$ . Karakteristik hidroksiapatit terpilih dengan kombinasi hidrotermal dan kalsinasi suhu optimum  $1.000^\circ\text{C}$  1 jam memiliki nisbah kalsium fosfat ( $\text{Ca/P}$ ) 1,66, tingkat kristalinitas 90,10%, amorf 9,90 dan morfologi partikel berbentuk batang.

Kata kunci: hidroksiapatit, kalsinasi, kalsium oksida, limbah sotong

### *Hydroxyapatite Production from Cuttlebone as Bone Scaffold Material Preparations*

#### Abstract

The increasing production of cuttlefish has been associated with the increasing of by-product waste particularly cuttlebone. Cuttlebone is known to contain an inorganic element in form of calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) which can be utilized as a source of calcium oxide ( $\text{CaO}$ ) for hydroxyapatite synthesis. This study was aimed to determine the physicochemical characteristics of the cuttlebone and the optimum calcination temperature for  $\text{CaO}$  extraction and hydroxyapatite synthesis. This study was divided into three steps. Firstly, analysis of the cuttlebone physicochemical properties; secondly, extraction and characterization of the  $\text{CaO}$  with different calcination temperature ( $500^\circ\text{C}$ ,  $600^\circ\text{C}$ ,  $700^\circ\text{C}$  for 6 hours); and thirdly, hydroxyapatite synthesis using a combination of hydrothermal method at  $200^\circ\text{C}$  6 hours and different calcination treatments ( $800^\circ\text{C}$ ,  $900^\circ\text{C}$ ,  $1,000^\circ\text{C}$  for 1 hour). The results showed that the cuttlebone contained moisture  $3.54\pm 0.11\%$ , lipid  $0.32\pm 0.19\%$ , protein  $4.78\pm 0.23\%$ , carbohydrate  $5.29\pm 0.02\%$ , and ash  $89.61\pm 0.26$ . The main element of the ash was  $\text{CaCO}_3$  aragonite characterized by the high absorption at wavelengths of 1,795; 1,507; 1,083; 871; 713 and  $700\text{ cm}^{-1}$ . The calcination treatment of  $700^\circ\text{C}$  produced the highest amount of  $\text{CaO}$ . The hydroxyapatite produced with a combination of hydrothermal and calcination temperature  $1,000^\circ\text{C}$  had calcium phosphate ratio ( $\text{Ca/P}$ ) 1.66, crystalline level 90.10%, amorphous level 9.90% and particles morphology of rod-shaped.

Keywords: hydroxyapatite, calcination, calcium oxide, cuttlefish waste

## PENDAHULUAN

Sotong (*cuttlefish*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang berperan sebagai sumber protein, karena mengandung sejumlah asam amino esensial lengkap dengan nilai cerna tinggi. Produksi perikanan tangkap *Cephalopods* di Indonesia meliputi cumi-cumi, gurita dan sotong pada tahun 2012-2017 mengalami pertumbuhan ekspor 21,41% per tahunnya, selain itu data volume ekspor sotong tahun 2016 mencapai 25,92 ton dan mengalami peningkatan menjadi 33,16 ton pada tahun 2017 (KKP 2018). Hal ini berdampak pada berkembangnya agroindustri pengolahan hasil perikanan yang menyediakan berbagai olahan produk sotong, baik dalam bentuk segar, beku maupun produk turunan lainnya, namun dalam proses pengolahannya sotong hanya dimanfaatkan bagian badan yang meliputi daging hingga kepala, sedangkan cangkang dan jeroan dianggap sebagai limbah samping hasil pengolahan (Nurimala *et al.* 2018). Limbah cangkang sotong diketahui memiliki unsur anorganik mencapai 75-90% yang sebagian besarnya merupakan kalsium karbonat (Cho *et al.* 2001).

Unsur kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) yang terkandung pada cangkang sotong dapat dikembangkan sebagai biomaterial unggulan untuk diaplikasikan pada bidang ortopedi, salah satunya adalah hidroksiapatit (Palaveniene *et al.* 2018). Hidroksiapatit merupakan salah satu material maju yang memiliki unsur kalsium dan fosfat dengan rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  yang telah ditemukan dan dikembangkan sejak tahun 1950 sebagai material perancah tulang, karena memiliki kesamaan struktur penyusun tulang serta memiliki sifat biokompatibilitas, bioaktivitas dan osteokonduktif yang baik (Kattimani *et al.* 2016).

Pabrikasi hidroksiapatit untuk keperluan industri umumnya melibatkan bahan-bahan kimia sintetik misalnya kalsium nitrat tetrahidrat ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ), kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dan kalsium asetat ( $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) sebagai sumber kalsium, sedangkan sumber fosfat menggunakan diamonium fosfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ), amonium fosfat monobasik

( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ), dipotasium fosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) dan asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) (Yoruc dan Aydınoglu 2017). Penggunaan bahan kimia sintetik dalam proses sintesis hidroksiapatit memberikan dampak terhadap harga hidroksiapatit, di Indonesia harga pasaran hidroksiapatit mencapai 1,5 juta per 5 miligram dan ketersediaannya masih bergantung pada produk impor (RISTEKDIKTI 2017; BPPT 2018). Pemanfaatan cangkang sotong sebagai sumber kalsium oksida ( $\text{CaO}$ ) dalam sintesis hidroksiapatit menjadi salah satu upaya valorisasi limbah hasil perikanan, yang diharapkan memberikan solusi alternatif terkait ketersediaan hidroksiapatit di Indonesia.

Produksi hidroksiapatit berbasis limbah cangkang sotong telah dilakukan beberapa penelitian di antaranya menggunakan metode kalsinasi dengan variasi suhu  $900^\circ\text{C}$ ,  $1.000^\circ\text{C}$ ,  $1.100^\circ\text{C}$  3 jam dan perlakuan waktu *Ball milling* berkisar 1-3 jam (Solechan dan Rubijanto 2015), presipitasi kimia menggunakan HCl selama 10-12 jam (Faksawat *et al.* 2015) dan hidrotermal pada suhu  $200^\circ\text{C}$  selama 24 jam (Tkalcec *et al.* 2014), namun beberapa metode tersebut memiliki beberapa kelemahan yakni membutuhkan waktu kalsinasi yang cukup lama, sulit mendapatkan stoikiometri hidroksiapatit yang diinginkan dan masih terdapat unsur pengotor berupa ion karbonat. Berdasarkan permasalahan tersebut maka perlu dilakukan suatu upaya terkait penggunaan metode ekstraksi hidroksiapatit yang dapat menyerderhanakan kompleksnya produksi hidroksiapatit, salah satunya menggunakan kombinasi metode hidrotermal dan kalsinasi. Penggunaan metode hidrotermal dalam proses sintesis hidroksiapatit memiliki keunggulan terkait kecepatan reaksi pembentukan apatit dan hanya membutuhkan air sebagai katalis, namun metode tersebut ini memiliki kelemahan yakni tidak dapat memutuskan ikatan karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) yang terdapat pada kisi apatit (Zhang *et al.* 2007). Proses penghilangan ion karbonat yang terikat pada kisi apatit dapat dilakukan dengan suhu kalsinasi, tekanan suhu kalsinasi dapat memutuskan ikatan karbon pada kisi divalen dan monovalen apatit sehingga membentuk struktur

apatit tanpa ion karbonat (Shavandi *et al.* 2015). Oleh karena itu kombinasi metode hidrotermal dan kalsinasi pada proses sintesis hidroksiapatit berbahan limbah cangkang sotong pada penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan hidroksiapatit tanpa unsur pengotor berupa ion karbonat serta dapat mengefektifkan waktu sintesis. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik fisikokimia cangkang sotong serta suhu optimum kalsinasi dalam ekstraksi CaO dan produksi hidroksiapatit yang dihasilkan dengan kombinasi metode hidrotermal dan perlakuan suhu kalsinasi.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cangkang sotong yang diperoleh dari tempat pelelangan ikan Muara Angke Jakarta, *ammonium dihydrogen phosphate* ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) (Merk 99,9%) dan *hydrochloric acid* (HCl) (Merk 99,9%). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung hidrotermal (PARR mini reactor 4560™, Jerman), Tanur (Vulcan™ 3-130, Jepang), *sentrifuge* (HIMAC 21G) *Fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR) (Bruker® Tensor™ 27, Jerman), mikroskop binokuler (Olympus® CX23™, Jepang) dilengkapi kamera (OptiLab® rEX™, Jerman), *X-Ray Diffraction* (XRD) (Emma-GBC®, Australia), *atomic absorption spectrophotometer* (AAS) (Shimadzu®, AA-7000™, Jepang).

### Metode Penelitian

Proses penelitian terbagi dalam tiga tahap yakni karakterisasi komposisi kimia cangkang sotong sebagai bahan baku prekursor kalsium, ekstraksi dan karakterisasi kalsium oksida (CaO), sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit.

Tahap pertama cangkang sotong dicuci menggunakan akuades untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Cangkang sotong yang telah dibersihkan dilakukan pengecilan ukuran menggunakan mortar dan dianalisis kadar air, abu, lemak, protein, karbohidrat dan gugus fungsi untuk menentukan karakteristik kimia bahan baku.

Tahap kedua dilakukan ekstraksi kalsium oksida berdasarkan metode yang dilakukan oleh Aminatun *et al.* (2013) yang dimodifikasi. Proses kalsinasi cangkang sotong dilakukan perlakuan suhu kalsinasi 500°C, 600°C dan 700°C 6 jam. Cangkang sotong yang telah dikalsinasi berdasarkan masing-masing perlakuan, dianalisis gugus fungsi. Hasil analisis gugus fungsi menentukan ekstrak kalsium oksida terpilih.

Tahap ketiga yakni sintesis hidroksiapatit berdasarkan metode yang dilakukan oleh Aksakal dan Demirel (2015) yang dimodifikasi. Sintesis hidroksiapatit diawali dengan mereaksikan larutan kalsium oksida (CaO) 1 M dengan larutan ammonium dehidrogen fosfat ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) 0,6 M, kondisi pH selama proses reaksi dijaga pada kisaran pH 9-12 dengan meneteskan HCl 0,1 M. Suspensi CaO dan  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  yang telah direaksikan kemudian dilakukan proses penuaan (*aging*) 2 jam, selanjutnya dipanaskan pada tabung hidrotermal berkapasitas 300 mL pada suhu 200°C bertekanan 32 psi ( $1\text{b/m}^2$ ) 6 jam. Suspensi hasil sintesis hidrotermal kemudian dilakukan pemisahan filtrat dan supernatan menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 15 menit. Filtrat apatit yang diperoleh dikalsinasi menggunakan tanur pada perlakuan suhu 800°C, 900°C dan 1.000°C 1 jam. Bubuk apatit hasil kalsinasi yang diperoleh dari masing-masing perlakuan kemudian dilakukan analisis difaktogram. Hasil difaktogram dijadikan dasar untuk menentukan mineral apatit terpilih yakni hidroksiapatit. Hidroksiapatit dianalisis nisbah mineral kalsium fosfor (Ca/P) dan morfologi partikel.

### Karakterisasi Fisikokimia

Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah proksimat yang meliputi kadar air, abu, lemak, kadar protein, karbohidrat, mineral kalsium dan fosfor (AOAC 2005). Analisis gugus fungsi menggunakan instrumen *Fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR) dengan detektor di daerah inframerah tengah ( $4.000-400\text{ cm}^{-1}$ ) pada resolusi  $4\text{ cm}^{-1}$  (Panda *et al.* 2003). Analisis morfologi dilakukan dengan instrumen mikroskop

binokuler pada perbesaran 60× dan 100× (Raith *et al.* 2013). Analisis difraktogram menggunakan instrumen *X-Ray Diffraction* (XRD) pada sudut difraksi  $2\theta$  dengan panjang gelombang 1.54060 Å, data hasil tembakan sinar *X-Ray* berbentuk difraktogram disesuaikan dengan *Database Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) untuk menentukan struktur mineral apatit, fasa kristalinitas dan amorf (Panda *et al.* 2013).

### Analisis Data

Data nominal dan ordinal yang diperoleh dari masing-masing variabel pengujian dianalisis berupa rata-rata nilai ( $\mu$ ), standar deviasi ( $\Delta x$ ) dan penyajian data dalam bentuk deskriptif (Steel dan Torrie 1995).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Komposisi Kimia Cangkang Sotong

Komposisi kimia merupakan konsituen penyusun cangkang sotong. Analisis komposisi kimia meliputi kandungan proksimat misalnya kadar air, abu, lemak, protein dan karbohidrat. Hasil analisis proksimat cangkang sotong basis kering dapat dilihat pada *Table 1*.

Berdasarkan hasil analisis komposisi proksimat cangkang sotong yang dibandingkan dengan beberapa penelitian dari bahan baku hasil perairan diantaranya tulang tilapia (*Oreochromis niloticus*) dan tulang ikan tuna (*Thunnus sp.*) menunjukkan persentase yang berbeda. Perbedaan komposisi proksimat pada organisme perairan umumnya dipengaruhi oleh perbedaan jenis, spesies, tingkat kematangan gonad dan habitat (Toppe *et al.* 2007). Kadar abu cangkang sotong berdasarkan basis kering memiliki persentase lebih tinggi, dibandingkan dengan kadar air,

lemak, protein dan karbohidrat. Komposisi kadar abu yang tinggi pada cangkang sotong, menunjukkan bahwa terdapatnya unsur anorganik. Menurut Suptijah *et al.* (2010) tingginya kadar abu pada cangkang organisme memiliki korelasi positif terhadap ketersediaan unsur mineral yakni kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ). Eliaz dan Metoko (2017) menyatakan bahwa unsur  $\text{CaCO}_3$  merupakan konstituen penting sebagai sumber kalsium oksida (CaO) dalam sintesis hidroksiapatit.

Unsur organik yang terdapat pada tulang dan cangkang organisme perairan (*Table 1*) memiliki komposisi yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan komposisi unsur anorganik. Hal ini disebabkan unsur organik hanya berperan sebagai matriks pembentuk tulang atau cangkang, sedangkan unsur anorganik berperan sebagai pengisi yang dapat membentuk sifat mekanis. Menurut Barnes *et al.* (1976) komposisi unsur organik pada cangkang organisme perairan umumnya berkisar 30-20% dan anorganik 70-80%, unsur organik berperan sebagai pengikat unsur anorganik sehingga memberikan struktur cangkang yang keras.

### Gugus Fungsi Cangkang Sotong dan Kalsium Oksida

#### Gugus fungsi cangkang sotong ( $\text{CaCO}_3$ )

Gugus fungsi merupakan analisis secara kualitatif untuk mengidentifikasi unsur-unsur penyusun cangkang sotong melalui serapan tranmisi yang dihasilkan oleh FTIR. Identifikasi FTIR didasarkan pada perubahan vibrasi molekul yang disebabkan oleh modifikasi valensi secara elektrostatis pada ikatan alkana, alkena, arena, amina, karboksil dan hidroksil (Berthomieu dan Hienerwadel

Table 1 Chemical composition of cuttlebone

Parameters (%)	Cuttlebone sampel	Fish bone of tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) <sup>1</sup>	Fish bone of tuna ( <i>Thunus sp.</i> ) <sup>2</sup>	Remark
Moisture	3.54±0.11	-	-	wet basis
Ash	89.61±0.26	77.74	67.39	dry basis
Lipid	0.32±0.19	5.97	0.54	dry basis
Protein	4.78±0.23	15.18	24.93	dry basis
Carbohydrate*	5.29±0.02	1.11	7.14	dry basis

\* = by difference, 1 = Hemung (2013); 2 = Hanura *et al.* (2018)

2009). Hasil analisis gugus fungsi cangkang sotong secara umum terdiri atas dua unsur penyusun yakni organik dan anorganik, dapat dilihat pada *Figure 1*.

Hasil analisis gugus fungsi menunjukkan struktur penyusun utama cangkang sotong yang merupakan unsur anorganik berupa kalsium karbonat aragonit yang dicirikan dengan empat jenis vibrasi, yakni *stretching symmetric* ( $v_1$ ) pada panjang gelombang 1.083  $\text{cm}^{-1}$ , vibrasi *bending out-of-plane* ( $v_2$ ) 871-700  $\text{cm}^{-1}$ , vibrasi *stretching asymmetric* ( $v_3$ ) 1.507  $\text{cm}^{-1}$  dan vibrasi *bending split in-plane* ( $v_4$ ) pada panjang gelombang transmisi 713  $\text{cm}^{-1}$ . Menurut Plav *et al.* (1999) unsur kalsium karbonat dapat diidentifikasi berdasarkan serapan transmisi p-nalar ion karbonat pada vibrasi molekul ikatan karboksil (O-C) pada panjang gelombang 1.600-600  $\text{cm}^{-1}$  yang dicirikan oleh empat jenis vibrasi utama yakni *stretching symmetric* ( $v_1$ ) pada kisaran panjang gelombang 1.090-1.070  $\text{cm}^{-1}$ , vibrasi *bending out-of-plane* ( $v_2$ ) pada panjang gelombang 850-800  $\text{cm}^{-1}$ , vibrasi *stretching asymmetric* ( $v_3$ ) pada panjang gelombang 1.535-1.387  $\text{cm}^{-1}$ , dan *bending split in-plane* ( $v_4$ ) pada

panjang kisaran gelombang transmisi 755-700  $\text{cm}^{-1}$ . Fasa aragonit cangkang sotong yang teridentifikasi pada kisaran panjang gelombang 713-700 (*Figure 1*) merupakan vibrasi yang dihasilkan dari atom karbon pada dua molekul hidrogen secara asimetris (C=O), sehingga terbentuk vibrasi secara tumpang tindih. Vagenas *et al.* (2003) menyatakan bahwa fasa aragonit umumnya teridentifikasi pada panjang gelombang 713  $\text{cm}^{-1}$  yang dicirikan dengan vibrasi secara tumpang tindih akibat ikatan ionik pada molekul hidrogen. Unsur organik cangkang sotong teridentifikasi pada panjang gelombang 3466  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan vibrasi *stretching symmetric* ikatan hidroksil (OH<sup>-</sup>) dan amida (NH<sub>2</sub>), selain itu vibrasi *stretching asymmetric* ikatan karbon CH, CH<sub>2</sub> dan CH<sub>3</sub> pada kitin teridentifikasi pada panjang gelombang 2985-2521  $\text{cm}^{-1}$  (Ghodsinia dan Akhlaghinia 2015).

#### Gugus fungsi kalsium oksida (CaO)

Analisis gugus fungsi cangkang sotong dilakukan pada suhu kalsinasi yang berbeda untuk mengetahui dekomposisi struktur kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) menjadi kalsium

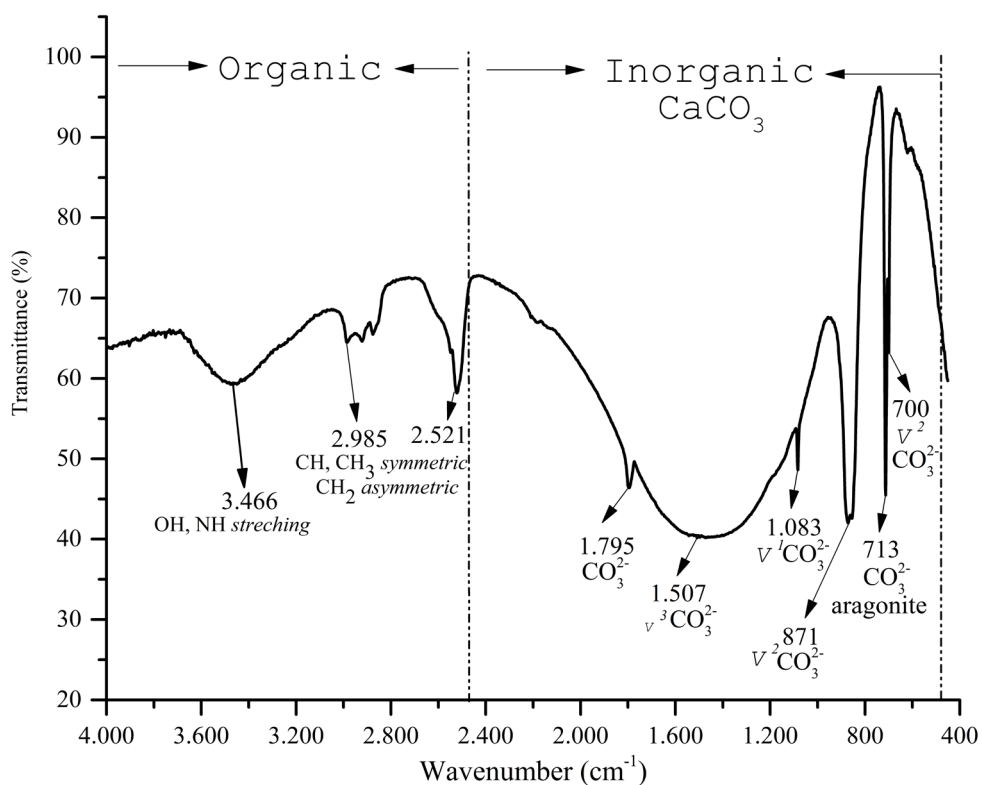


Figure 1 Spectrum of FTIR cuttlebone.

oksida (CaO). Proses dekomposisi struktur  $\text{CaCO}_3$  menjadi CaO didasarkan pada perubahan wilayah serapan maupun intensitas transmisi yang dihasilkan oleh vibrasi molekul akibat pemutusan atau deformasi ikatan. Hasil analisis serapan transmisi yang dihasilkan berdasarkan perlakuan kalsinasi dapat dilihat pada *Figure 2*.

Serapan transmisi pada perlakuan kalsinasi  $500^\circ\text{C}$  menunjukkan teridentifikasi vibrasi *stretching asymmetric* ion karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) pada panjang gelombang 2.875, 2.514 dan 1.798, sedangkan vibrasi *bending split in-plane* teridentifikasi pada panjang gelombang  $712\text{ cm}^{-1}$ . Vibrasi gugus fungsi yang dihasilkan pada perlakuan  $500^\circ\text{C}$  memiliki kemiripan dengan vibrasi gugus fungsi bahan baku (*Figure 1*). Hal ini menunjukkan perlakuan kalsinasi  $500^\circ\text{C}$  material yang dihasilkan

masih merupakan kalsium karbonat aragonit. Menurut Tkalcec *et al.* (2014) penciri utama  $\text{CaCO}_3$  cangkang sotong teridentifikasi pada kisaran panjang gelombang 2.876, 2.515, 1.800 dan  $712\text{ cm}^{-1}$ . Perlakuan kalsinasi  $600^\circ\text{C}$  vibrasi *stretching asymmetric* karbonat masih teridentifikasi pada panjang gelombang 1.795 dan  $2.565\text{ cm}^{-1}$ , kehadiran vibrasi karbonat pada kisaran panjang gelombang tersebut diduga merupakan vibrasi pnalr  $\text{CO}_3^{2-}$  tipe A. Berzina-Cimdina dan Borodajenko (2012) menyatakan bahwa vibrasi pnalr  $\text{CO}_3^{2-}$  tipe A umumnya berada pada kisaran  $1.650\text{--}2.330\text{ cm}^{-1}$ , akan tetapi pada perlakuan kalsinasi  $600^\circ\text{C}$  sebagian struktur  $\text{CaCO}_3$  telah terdekomposisi menjadi CaO. Hal tersebut terlihat dengan jumlah vibrasi *stretching symmetric* CaO yang teridentifikasi pada panjang gelombang 1.412, 1.112 dan  $875\text{ cm}^{-1}$ . Spektrum FTIR perlakuan

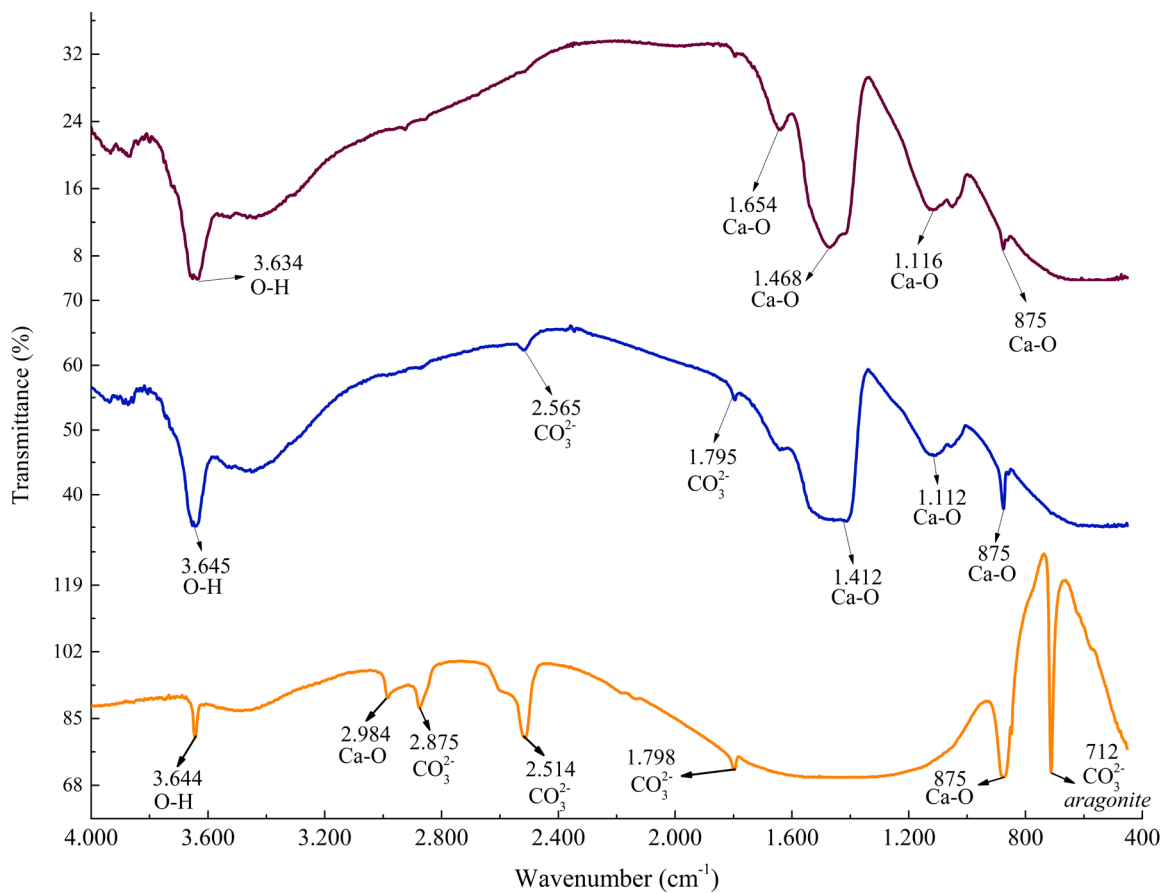


Figure 2 Spectrum of FTIR cuttlebone with different calcination temperature treatments (—  $500^\circ\text{C}$ ; —  $600^\circ\text{C}$ ; —  $700^\circ\text{C}$ ).

kalsinasi 700°C menunjukkan pnalr  $\text{CO}_3^{2-}$  tidak teridentifikasi pada perlakuan suhu kalsinasi tersebut, sebaliknya vibrasi *stretching symmetric* akibat ikatan hidroksil (O-H) pada struktur Ca-OH teridentifikasi pada panjang gelombang 1.654; 1.468; 1.116 dan 875  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini menunjukkan perlakuan kalsinasi 700°C telah menghasilkan CaO tanpa unsur pengotor (*impurity*) berupa  $\text{CO}_3^{2-}$ . Menurut Floreck *et al.* (2009) unsur CaO yang telah terdekomposisi dari struktur  $\text{CaCO}_3$  teridentifikasi pada kisaran panjang gelombang 1.714; 1.630; 1.472 dan 920  $\text{cm}^{-1}$ . Vibrasi *stretching symmetric* ikatan hidroksil (O-H) permukaan atau vibrasi ikatan air bebas ( $\text{H}_2\text{O}$ ) masing-masing perlakuan kalsinasi teridentifikasi pada kisaran panjang gelombang 3.644; 3.645 dan 3.634  $\text{cm}^{-1}$ . Hal tersebut disebabkan oleh sifat higroskopis material setelah dikalsinasi sehingga terjadi proses *chemosorption*.

Perubahan transmisi  $\text{CaCO}_3$  menjadi CaO (*Figure 2*) dipengaruhi oleh suhu kalsinasi yang menyebabkan pelepasan karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) dalam bentuk gas dan berakibat pada pemutusan ikatan Ca- $\text{CO}_2$  selama proses kalsinasi berlangsung. Proses pergeseran atau perubahan transmisi  $\text{CaCO}_3$  menjadi CaO yang ditandai dengan pelebaran gelombang serapan transmisi, menunjukkan bahwa unsur  $\text{CaCO}_3$  yang terkandung dalam cangkang sotong mengalami dekomposisi menjadi CaO. Menurut Periasamy dan Mohankumar (2016) dekomposisi struktur cangkang sotong dipengaruhi oleh tiga titik infleksi suhu yakni titik infleksi pertama pada suhu 30-75°C merupakan titik infleksi penghilangan kandungan air, titik infleksi kedua kisaran suhu 280-340°C adalah titik penghilangan komposisi organik dan titik infleksi ketiga pada kisaran suhu 640-780°C merupakan titik dekomposisi struktur  $\text{CaCO}_3$  menjadi CaO.

Berdasarkan hasil analisis pengaruh suhu kalsinasi yang berbeda terhadap proses dekomposisi struktur cangkang sotong, menunjukkan perlakuan kalsinasi 700°C 6 jam merupakan perlakuan terpilih untuk menghasilkan CaO sebagai prekursor kalsium dalam sintesis hidroksiapatit.

## Karakteristik Hidroksiapatit Difaktogram

Struktur apatit terdiri atas atom-atom penyusun yang terkonfigurasi dan membentuk fasa kristalin, amorf dan tipe struktur material. Struktur dan fasa apatit diidentifikasi berdasarkan puncak serapan difraksi. Hasil analisis difaktogram dapat dilihat pada *Figure 3*.

Hasil analisis difaktogram menunjukkan perlakuan kalsinasi setelah CaO dan  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  direaksikan pada tabung hidrotermal menghasilkan mineral apatit yang berbeda. Perlakuan suhu kalsinasi 800°C umumnya merupakan unsur clinohidroksiapatit ( $\text{Ca}_9\text{Na}_{0,2}(\text{PO}_4)_6\cdot\text{OH}_2$ ) yaitu 85,70% dengan struktur kimia berbentuk *monoclinic*, sedangkan 14,30% merupakan portlandit ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) berbentuk *hexagonal*. Unsur chlorapatit ( $\text{Ca}_9,7(\text{P}_6\text{O}_{23})\text{Cl}_2\cdot(\text{OH})_2$ ) 100% teridentifikasi pada perlakuan kalsinasi suhu 900°C dengan struktur berbentuk *hexagonal*, sedangkan perlakuan suhu kalsinasi 1.000°C menghasilkan hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{9,82}(\text{PO}_4)_6\cdot\text{OH}_2$ ) 99,72% dan kalsium oksida (CaO) 0,28%, kedua unsur tersebut memiliki bentuk struktur *hexagonal*. Identifikasi difaktogram unsur apatit pada *Figure 3* berdasarkan *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) No 01-070-3371 (clinohidroksiapatit), 00-004-0733 (portlandit), 01-070-0793 (chlorapatit), 01-076-0694 (hidroksiapatit) dan 00-043-1001 (kalsium oksida). Menurut Ptacek (2016) secara teoritis mineral apatit memiliki struktur kimia yakni  $\text{M}_{10}(\text{NO}_4)_6\cdot\text{X}$ , kisi M umumnya ditempati oleh kation divalen, misalnya  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  dan  $\text{Pb}^{2+}$ , sedangkan kisi  $\text{NO}_4$  ditempati oleh anion trivalen berupa  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{VO}_4^{3-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$  dan kisi X ditempati oleh anion monovalen, misalnya  $\text{OH}^-$ , F<sup>-</sup> dan Cl<sup>-</sup>.

Perbedaan struktur penyusun apatit berdasarkan hasil analisis XRD (*Figure 3*) menunjukkan bahwa perlakuan suhu kalsinasi diduga memberikan pengaruh terhadap pertukaran ion bermuatan kationik maupun anionik saat proses kalsinasi berlangsung sehingga merubah struktur kisi apatit. Menurut Combes *et al.* (2016) unsur

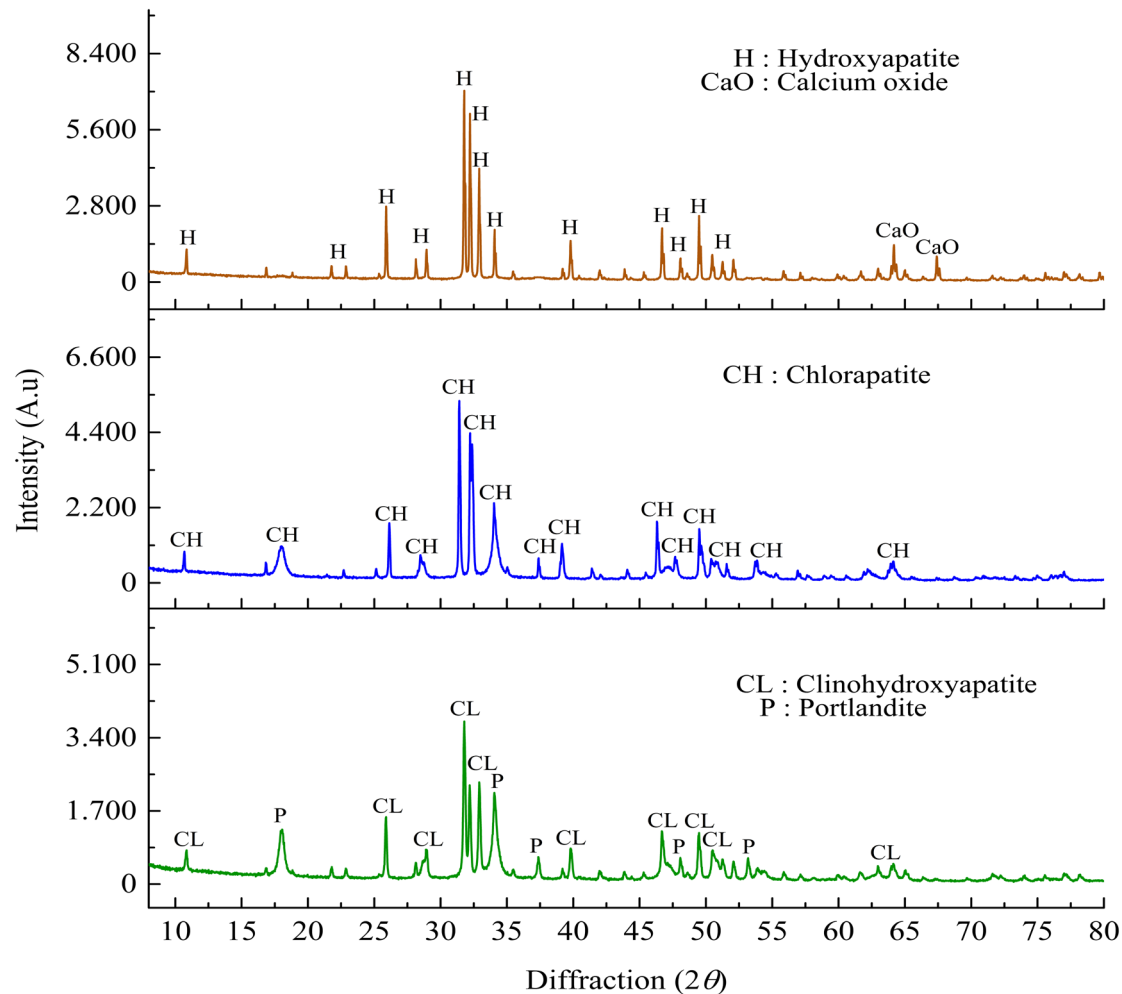


Figure 3 Diffractogram of apatite structure with different calcination temperature treatments (— 800°C; — 900°C; — 1.000°C).

apatit dapat mengalami perubahan kisi yang disebabkan oleh pertukaran kationik dan anionik, misalnya  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{OH}^-$  dan  $\text{F}^-$  selama proses sintesis berlangsung mengikuti hukum *Goldschmidt* yang menginterpretasikan bahwa proses penyisipan ion dari valensi yang berbeda akan selalu mencari kesetimbangan dalam pembentukan senyawa akhir. Peristiwa pertukaran, pelepasan ion dan penyisipan unsur selama sintesis berlangsung memengaruhi pembentukan fasa kristalinitas dan amorf apatit. Hasil analisis komposisi kristalinitas dan amorf dapat dilihat pada *Figure 4*.

Hasil analisis pada *Figure 4* menunjukkan seiring kenaikan suhu kalsinasi persentase fasa kristalinitas cenderung meningkat, sebaliknya fasa amorf cenderung menurun. Pembentukan fasa amorf disebabkan

keberadaan unsur pengotor (*impurity*) yang dapat merubah struktur kimia apatit, misalnya natrium ( $\text{Na}^+$ ) yang terjebak pada kisi divalen clinohidroksiapatit ( $\text{Ca}_9\text{Na}_{0.2}(\text{PO}_4)_6\cdot\text{OH}_2$ ) dan klorin ( $\text{Cl}_2$ ) pada kisi monovalen chlorapatit ( $\text{Ca}_{9.7}(\text{P}_6\text{O}_{23})\text{Cl}_2\cdot(\text{OH})_2$ ) (*Figure 3*), walaupun demikian seiring kenaikan suhu kalsinasi unsur  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}_2$  mengalami penguapan. Hal ini teridentifikasi pada perlakuan kalsinasi 1.000°C yang menghasilkan hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{9.82}(\text{PO}_4)_6\cdot\text{OH}_2$ ), tanpa sisipan unsur  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}_2$  yang ditandai dengan pembentukan fasa kristalinitas lebih tinggi dibandingkan perlakuan kalsinasi 800°C dan 900°C, namun persentase kristalinitas pada perlakuan kalsinasi tersebut ini belum memenuhi *International Organization for Standardization (ISO) 13175* tahun 2015 yang mensyaratkan kristalinitas hidroksiapatit sebesar 95%.



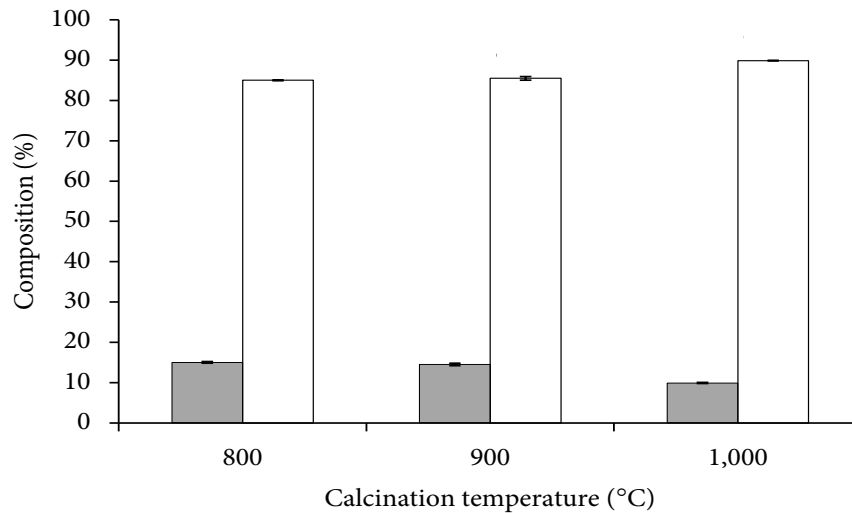


Figure 4 Percentage of apatite mineral phase, amorphous (■), crystalline (□).

Fasa kristalinitas apatit memiliki hubungan terhadap kekuatan mekanis material perancah tulang, semakin tinggi kristalinitas material memberikan kontribusi terhadap kekuatan mekanik yang semakin baik atau mendekati kekuatan mekanik tulang manusia (Wopenka dan Pateris 2005).

Berdasarkan hasil analisis pengaruh suhu kalsinasi yang berbeda mineral apatit, menunjukkan bahwa perlakuan kalsinasi 1.000°C 1 jam merupakan perlakuan terpilih untuk menghasilkan hidroksiapatit sebagai biomaterial perancah tulang.

#### Nisbah mineral kalsium fosfat (Ca/P)

Nisbah kalsium fosfat (Ca/P) merupakan parameter penting dalam menentukan sifat osteokonduktif hidroksiapatit (Szczes *et al.* 2017). Menurut *International Organization for Standardization* (ISO) 13175 tahun 2015 mensyaratkan nisbah Ca/P untuk material perancah tulang berbasis hidroksiapatit yakni

1,67. Hasil analisis nisbah Ca/P hidroksiapatit terpilih dapat dilihat pada *Table 2*.

Hasil analisis nisbah Ca/P hidroksiapatit terpilih memiliki nisbah sebesar 1,66. Hal tersebut memiliki kesamaan dengan nisbah Ca/P hidroksiapatit komersial (Habioce<sup>®</sup>), akan tetapi nisbah Ca/P hidroksiapatit terpilih belum memenuhi nisbah hidroksiapatit secara teoritis yakni 1,67. Perbedaan nisbah Ca/P hidroksiapatit terpilih disebabkan ketidakseimbangan muatan kation divalen pada unsur kalsium selama proses sintesis berlangsung. Hal tersebut teridentifikasi struktur hidroksiapatit terpilih memiliki struktur  $\text{Ca}_{9,82}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ , sedangkan hidroksiapatit teoritis memiliki struktur  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ , perbedaan muatan pada kisi divalen diduga memberikan dampak terhadap nisbah Ca/P. Menurut Joris dan Amberg (1971) perilaku nisbah Ca/P yang tidak stoikiometri dipengaruhi oleh kehilangan ion pada kisi divalen, trivalen maupun monovalen

Table 2 Ratio molarity Ca/P of hydroxyapatite

Mineral apatite	Composition of minerals (g/100 g) wet basis		Ratio Ca/P
	Calcium	Phosphate	
Hydroxyapatite <sup>1</sup>	61.68±0.05	28.67±0.03	1.66
Hydroxyapatite (Habioce <sup>®</sup> ) <sup>2</sup>	41.30	19.30	1.66
Theoretical of hydroxyapatite <sup>3</sup>	39.84	18.52	1.67

Note: 1 = hydroxyapatite of selected treatment, 2 = (Sobczak *et al.* (2012), 3 = (Rivera 2011)

hidroksiapatit sehingga menyebabkan ketidakseimbangan ion, perubahan nisbah hidroksiapatit dinotasikan dengan  $\text{Ca}_{10-Z}(\text{HPO}_4)_{6-Z}(\text{PO}_4)_{6-Z}(\text{OH})_{2-Z}$ , nilai Z memiliki kisaran 0-1. Liu *et al.* (2008) hidroksiapatit dengan nisbah Ca/P 1,5-1,6 memiliki sifat vabilitas yang baik terhadap peningkatan aktivitas alkalin fosfatase sel kultur osteoblas pada 72 jam pengujian, dalam hal yang sama juga dilaporkan oleh Wang (2004) hidroksiapatit dengan nisbah Ca/P 1,62-1,67 memiliki sifat osteokonduktif yang ditandai dengan pertumbuhan jaringan baru terhadap tulang tibia pada 15 hari pasca diimplan.

### Morfologi partikel

Morfologi partikel hidroksiapatit yang dihasilkan umumnya berbentuk batang menyerupai kapsul dengan ukuran yang tidak seragam dan cenderung aglomerasi. Hasil analisis morfologi partikel hidroksiapatit dapat dilihat pada *Figure 5*.

Partikel hidroksiapatit yang cenderung aglomerasi (*Figure 5a*) dipengaruhi oleh sifat higroskopis hidroksiapatit, sehingga menyebabkan proses *chemisorption* yang membentuk jembatan O-H pada gugus hidroksil apatit melalui ikatan Van Der Waals sehingga terbentuk ikatan secara fisik antar partikel, selain itu hidroksiapatit yang dihasilkan tidak memiliki *dispersing agent*

yang dapat membatasi proses *chemisorption*. Pembentukan partikel hidroksiapatit disebabkan dua faktor utama yakni tekanan suhu hidrotermal dan proses kalsinasi. Tekanan suhu hidrotermal menyebabkan kejenuhan suspensi sehingga terjadi pengendapan dan berdampak pada proses nukleasi partikel. Proses nukleasi tersebut berlanjut pada tahap densifikasi selama proses kalsinasi sehingga terjadi pembentukan partikel hidroksiapatit. Menurut Wang *et al.* (2010) proses nukleasi partikel diawali dengan pembentukan molekul padatan dari suspensi yang kemudian berkumpul dan membentuk ikatan yang kemudian mengalami pemadatan (*densification*). Pengaruh kalsinasi terhadap perilaku morfologi hidroksiapatit juga dilaporkan oleh Setiawan (2012), penggunaan suhu kalsinasi 800°C dan 1.000°C 5 jam memberikan dampak terhadap perubahan morfologi partikel hidroksiapatit yang memiliki ikatan antar granul partikel dan membentuk batang tidak beraturan. Morfologi partikel hidroksiapatit berbentuk batang (*long rods*) tidak memiliki dampak inflamasi terhadap kulit tikus yang diujikan secara *in vivo*, pengujian secara *in vitro* juga disebutkan bahwa hidroksiapatit berbentuk batang (*long rods*) yang diinduksikan pada sel dermal fibroblas memiliki tingkat viabilitas diatas 80% (Pujari-Palmer *et al.* 2016).

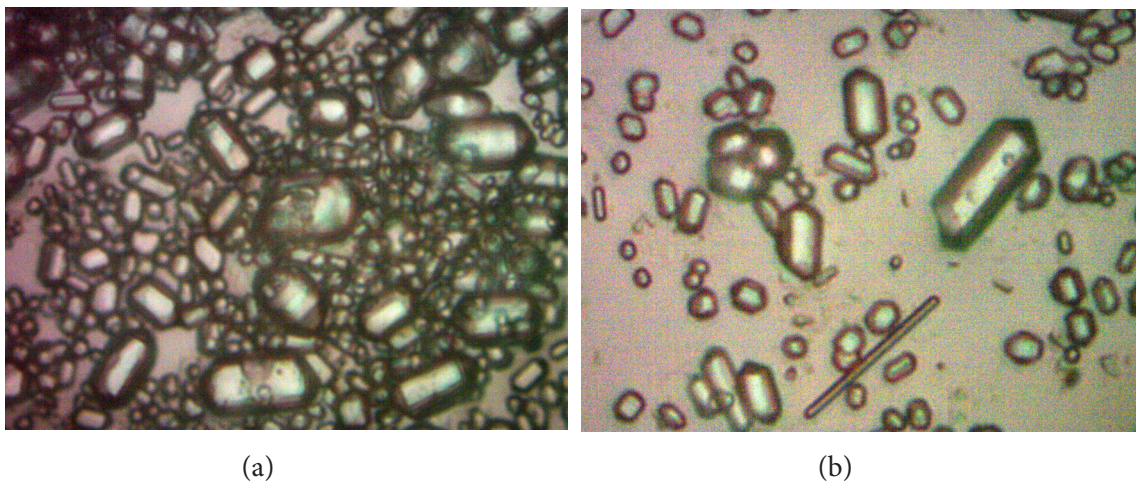


Figure 5 Morphology of selected hydroxyapatite particles, (a) magnifications of 60×; (b) magnifications of 100×.

## KESIMPULAN

Cangkang sotong memiliki kadar air 3,54%, lemak 0,32%, protein 4,78%, karbohidrat 5,29% dan abu mencapai 89,61%. Kadar abu cangkang sotong merupakan unsur anorganik berupa kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) aragonit yang ditunjukkan dengan nilai serapan gugus fungsi pada panjang gelombang 1.795; 1.507; 1.083; 871; 713 dan  $700\text{ cm}^{-1}$ . Unsur  $\text{CaCO}_3$  pada cangkang sotong layak untuk diekstraksi menjadi kalsium oksida ( $\text{CaO}$ ) sebagai prekursor kalsium dalam sintesis hidroksiapatit dengan perlakuan suhu kalsinasi. Suhu kalsinasi optimum untuk mengekstraksi kalsium oksida ( $\text{CaO}$ ) adalah  $700^\circ\text{C}$  6 jam yang ditandai dengan nilai serapan gugus fungsi pada panjang gelombang 1.654; 1.468; 1.116 dan  $875\text{ cm}^{-1}$ . Karakteristik hidroksiapatit terpilih dengan kombinasi hidrotermal dan kalsinasi suhu optimum  $1.000^\circ\text{C}$  1 jam memiliki nisbah kalsium fosfat ( $\text{Ca/P}$ ) 1,66, tingkat kristalinitas 90,10%, amorf 9,90 dan morfologi partikel berbentuk batang (*long rods*). Saran penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait peningkatan suhu kalsinasi untuk memperoleh tingkat kristalinitas hidroksiapatit sesuai ISO 13175 tahun 2015.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Universitas Kristen Wira Wacana (UNKRISWINA) Sumba melalui beasiswa penelitian tahun 2018.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington (US): The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Aksakal B, Demirel M. 2015. Synthesis and fabrication of novel cuttlefish (*Sepia officinalis*) backbone biografts for biomedical applications. *Ceramics International*. 41(3): 4531-4537.
- Aminatun, Siswanto, Yohana MP, Istifarah, Rentna A. 2013. The effect of sintering process on the characteristics of hydroxyapatite from cuttlefish bone (*Sepia sp.*). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 4(4): 1431-1442.
- Barnes H, Klepal W, Mitchell BD. 1976. The organic and inorganic composition of some cirripede shells. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 21(2): 119-127.
- Berthomieu C, Hienerwadel R. 2009. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis Research*. 101(2-3): 157-170.
- Berzina-Cimdina L, Borodajenko N. 2012. Research of calcium phosphates using Fourier transform infrared spectroscopy. *Infrared Spectroscopy-Materials Science, Engineering and Technology*. 12(7): 251-263.
- [BPPT] Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. 2018. Technology sector material- bioceramic hydroxyapatite [Internet]. Jakarta (ID): BPPT; [diunduh 2018 Nov 17]. Tersedia pada: <http://pusyantek.bppt.go.id/en/pages/technology-sector/material/bioceramichydroxyapatite>
- Cho ML, Heu MS, Kim JS. 2001. Food component characteristics of cuttle bone as a mineral source. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 34(5): 478-482.
- Combes C, Cazalbou S, Rey C. 2016. Apatite biominerals. *Minerals*. 6(2): 32-46.
- Eliaz N, Metoki N. 2017. Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications. *Materials*. 10(4): 334-344
- Faksawat K, Sujinnapram S, Limsuwan P, Hoonnivathana E, Naemchanthara K. 2015. Preparation and characterization of hydroxyapatite synthesis from cuttlefish bone by precipitation method. *Advanced Materials Research*. 11(5): 421-425.
- Floreck M, Fornal E, Gomez-Romero P, Zieba E, Paszkowicz W, Lekki J, Kuczumow A. 2009. Complementary microstructural and chemical analyses of *Sepia officinalis*

- endoskeleton. *Materials Science and Engineering: C*. 29(4): 1220-1226.
- Ghodsinia SS, Akhlaghinia B. 2015. A rapid metal free synthesis of 5-substituted-1 H-tetrazoles using cuttlebone as a natural high effective and low cost heterogeneous catalyst. *Royal Society of Chemistry Advances*. 5(62): 849-860.
- Hanura AB, Trilaksana W, Suptijah P. 2018. Characterization of nanohydroxyapatite from tuna's *Thunnus* sp. bone as biomaterials substance. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 9(2): 619-629.
- Hemung BO. 2013. Properties of tilapia bone powder and its calcium bioavailability based on transglutaminase assay. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 3(4): 306-310.
- [ISO] International Organization for Standardization. 2015. ISO 1375:2015 Implan for surgery, calcium phosphates. Part 3 bone substitutes based on hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate. National Standard of Russian Federation.
- Joris SJ, Amberg CH. 1971. Nature of deficiency in nonstoichiometric hydroxyapatites. I. Catalytic activity of calcium and strontium hydroxyapatites. *The Journal of Physical Chemistry*. 75(20): 3167-3171.
- Kattimani VS, Kondaka S, Lingamaneni KP. 2016. Hydroxyapatite past, present, and future in bone regeneration. *Bone and Tissue Regeneration Insights Journal*. 11(7): 612-179.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. *Produktivitas Perikanan Indonesia*. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Liu H, Yazici H, Ergun C, Webster TJ, Bermek H. 2008. An in vitro evaluation of the Ca/P ratio for the cytocompatibility of nano-to-micron particulate calcium phosphates for bone regeneration. *Acta Biomaterialia*. 4(5): 1472-1479.
- Nurimala M, Nurjanah, Hidayat T. 2018. *Penanganan Hasil Perairan*. Bogor (ID): IPB Press.
- Palaveniene A, Harkavenko V, Kharchenko V, Daugela P. 2018. Cuttlebone as a marine-derived material for preparing bone grafts. *Marine Biotechnology*. 20(3): 363-374.
- Panda RN, Hsieh MF, Chung RJ, Chin TS. 2003. FTIR, XRD, SEM and solid state NMR investigations of carbonate-containing hydroxyapatite nanoparticles synthesized by hydroxide-gel technique. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 64(12): 193-199.
- Periasamy K, Mohankumar GC. 2016. Sea coral-derived cuttlebone reinforced epoxy composites: characterization and tensile properties evaluation with mathematical models. *Journal of Composite Materials*. 50(6): 807-823.
- Plav BS, Kobe, Oriel B. 1999. Identification of crystallization forms of CaCO<sub>3</sub> with FTIR spectroscopy. *Kovine Zlitine Tehnologija*. 33(6): 517-522.
- Ptacek P. 2016. *Apatites and Synthetic Analogues-Synthesis, Structure, Properties and Applications*. London (UK): IntechOpen Ltd.
- Pujari-Palmer S, Chen S, Rubino S, Weng H, Xia W, Engqvist H, Ott MK. 2016. In vivo and in vitro evaluation of hydroxyapatite nanoparticle morphology on the acute inflammatory response. *Biomaterials*. 90(7): 11-18.
- Raith MM, Raase P, Reinhardt J. 2012. *Guide to Thin Section Microscopy*. Bonn (DE): Universitas of Bonn.
- [RISTEKDIKTI] Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi. 2017. *Rencana Induk Riset Nasional Tahun 2017-2045*. Jakarta (ID): Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi.
- Rivera ME. 2011. *Hydroxyapatite-based materials: synthesis and characterization*. Biomedical Engineering and Challenges. Fazel R (editor). Boca Raton (US): CRC Press.
- Setiawan D. 2012. Sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit untuk aplikasi sinovetomi radiasi. *Jurnal Forum Nuklir*. 6(2): 120-126.
- Shavandi A, Bekhit AE, Sun ZF, Ali A. 2015. A Review of synthesis methods, properties and use of hydroxyapatite as a

- substitute of bone. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering*. 25(5): 98–117.
- Sobczak KA, Malina D, Kijkowska R, Wzorek Z. 2012. Comparative study of hydroxyapatite prepared by the authors with selected commercially available ceramics. *Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 7(3): 38-45.
- Solechan, Rubijanto JP. 2015. Pembuatan material sintesis *nano hydroxyapatite* untuk aplikasi *scaffolds* tulang mandibula dari tulang cumi sotong menggunakan metode kalsinasi. *Intuisi Teknologi dan Seni*. 7(1): ISSN 1978-2497
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Principles and Procedures of Statistics Indeks*. Penerjemah: Sumantri B. Jakarta (ID): PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Suptijah P, Hardjito L, Haluan J, Suhartono MT. 2010. *Recovery* dan manfaat nano kalsium hewan perairan (dari cangkang udang). *Jurnal Logika*. 7(2): 061-064.
- Szczes A, Hołysz L, Chibowski E. 2017. Synthesis of Hydroxyapatite for Biomedical Applications. *Advances in Colloid and Interface Science*. 249(10): 321-330.
- Tkalcec E, Popovic J, Orlic S, Milardovic S, Ivankovic H. 2014. Hydrothermal synthesis and thermal evolution of carbonate-fluorhydroxyapatite scaffold from cuttlefish bones. *Materials Science and Engineering: C*. 42(5): 578-586.
- Toppe J, Albrektsen S, Hope B, Aksnes A. 2007. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 146(3): 395-401.
- Vagenas NV, Gatsouli A, Kontoyannis CG. 2003. Quantitative analysis of synthetic calcium carbonate polymorphs using FT-IR spectroscopy. *Talanta*. 59(4): 831-836.
- Wang H. 2004. Hydroxyapatite degradation and biocompatibility. [Disertasi]. Columbus (US): Ohio State University.
- Wopenka B, Pasteris JD. 2005. A mineralogical perspective on the apatite in bone. *Journal of Materials Science and Engineering*. 25(2): 131-143.
- Yoruc ABH, Aydınoglu A. 2017. The precursors effects on biomimetic hydroxyapatite ceramic powders. *Materials Science and Engineering*. 75(9): 934-946.
- Zhang, Xing, Kenneth S, Vecchio. 2007. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite rods. *Journal of Crystal Growth*. 308(1): 133-140.