

## **Pengaruh penambahan hidroksiapatit dari cangkang telur ayam terhadap kekerasan permukaan GIC**

**Putri Ajri Mawadara\*, Martha Mozartha\*, Trisnawaty K\***

\*Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

### **Abstrak**

**Latar belakang:** Hidroksiapatit (HA) merupakan biokeramik yang sangat biokompatibel, serta memiliki komposisi dan struktur kristal mirip dengan apatit di struktur gigi dan tulang manusia. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan bubuk HA untuk memperbaiki sifat mekanis dari bahan restoratif gigi. Pada penelitian ini, HA disintesis dari cangkang telur ayam sebagai sumber kalsium untuk digunakan sebagai prekursor dalam sintesis HA dengan teknik presipitasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan HA dari cangkang telur ayam terhadap kekerasan permukaan GIC (Fuji IX GP®). **Metode:** Sampel dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok GIC tanpa penambahan HA sebagai kelompok kontrol (n=16) dan kelompok GIC dengan penambahan 5% HA sebagai kelompok uji (n=16). Jumlah keseluruhan spesimen sebanyak 32 silinder berdiameter 5mm dan tinggi 2mm. Kekerasan permukaan GIC diukur dengan *vickers microhardness tester*. Data dianalisis menggunakan uji T tidak berpasangan. **Hasil:** Rata-rata kekerasan permukaan GIC kelompok kontrol adalah  $51,37 \pm 1,63$  VHN dan kelompok uji adalah  $56,60 \pm 1,22$  HVN. Hasil uji T pada data tersebut menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok ( $p < 0,05$ ). **Kesimpulan:** Penambahan HA dari cangkang telur ayam pada bubuk GIC dapat meningkatkan kekerasan permukaan GIC.

**Kata kunci:** Hidroksiapatit, GIC, kekerasan permukaan

### **Korespondensi:**

**Putri Ajri Mawadara**

Program Studi Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Universitas  
Sriwijaya

### **Abstract**

Hydroxyapatite (HA) is a bioceramic with excellent biocompatible properties, and composition and crystal structure similar to apatite in the human dental structure and skeletal system. A number of researchers have attempted to evaluate the effect of the addition of HA powders to increase mechanical properties of restorative dental materials. In this study, HA was synthesized using chicken eggshell as calcium source for synthesizing HA by using precipitation technique. The aim of this study was to determine the effect of incorporation of eggshell-derived HA on the surface hardness GIC (Fuji IX GP®). Specimens were divided into two groups: group GIC without incorporation of HA as control group (n = 16) and group GIC with incorporation of 5% HA as experimental group (n = 16). Total of specimens were 32 cylinders 5mm diameter and 2mm height. Surface hardness GIC was measured with vickers microhardness tester. Data was analyzed by unpaired T-test. The mean of surface hardness for GIC control group was  $51.37 \pm 1,63\text{VHN}$  and the experimental group was  $56.60 \pm 1,22\text{VHN}$ . The results T-test showed a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ). It can be concluded that incorporation of eggshell-derived HA could increase surface hardness of GIC.

**Keywords:** Hydroxyapatite, GIC, surface hardness

### **Pendahuluan**

Perkembangan teknologi modern telah memperkenalkan material keramik dengan sifat kimia, fisik, dan mekanik yang sangat baik untuk digunakan dalam berbagai aplikasi biomedis.<sup>1</sup> Hidroksiapatit (HA) merupakan biokeramik yang sangat biokompatibel, serta memiliki komposisi dan struktur kristal mirip apatit di struktur gigi dan tulang manusia.<sup>2</sup> Hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) dapat disintesis dari bahan sintesis yaitu dengan menggunakan larutan kimia atau bahan alami seperti sisik ikan, tulang ikan, tulang sapi, cangkang telur, dan lain-lain.<sup>3,4</sup> Cangkang telur ayam dapat dimanfaatkan sebagai sumber kalsium untuk digunakan sebagai prekursor dalam sintesis HA karena mengandung 94%  $\text{CaCO}_3$  (kalsium karbonat).<sup>1</sup> Menurut data dari Badan Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian tahun 2015, produksi telur ayam pada tahun

2014 sebesar 1.246.000 ton per tahun dan 11% dari berat telur tersebut merupakan cangkang telur. Dengan demikian, sebanyak 137.060 ton limbah cangkang telur dihasilkan di seluruh Indonesia dalam setahun.<sup>5</sup>

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mensintesis HA dari bahan alami di antaranya metode presipitasi, sol-gel, hidrotermal, dan lain-lain. Metode presipitasi merupakan metode yang paling sering digunakan, karena sederhana, ekonomis, dan mudah.<sup>6,7</sup> Menurut penelitian Saeed *et al.*, bubuk HA murni dapat dihasilkan dari sintesis cangkang telur ayam melalui metode presipitasi.<sup>8</sup> Dalam bidang kedokteran gigi bubuk HA dari cangkang telur dapat digunakan untuk memperbaiki sifat mekanis dari bahan restorasi gigi, salah satunya adalah *glass ionomer cement* (GIC).<sup>9,10</sup>

*Glass ionomer cement* (GIC) merupakan material restoratif *self-adhesive*.

GIC adalah semen berbasis air yang terbentuk melalui reaksi asam basa antara bubuk fluoroaluminosilikat kaca dan larutan kopolimer asam karboksilat.<sup>11</sup> GIC memiliki koefisien termal mirip gigi, berikatan secara kimia pada email dan dentin, serta biokompatibel. Namun, GIC bersifat rapuh (*brittle*) dan daya tahan terhadap keausan rendah, sehingga penggunaan GIC sebagai material restorasi terbatas pada kavitas yang tidak menerima tekanan besar.<sup>11,12</sup>

Penelitian mengenai penambahan HA pada bubuk GIC untuk memperbaiki sifat mekanis GIC telah dilakukan, seperti penelitian Moshaverinia *et al.*, yang membuktikan bahwa penambahan 5% HA pada bubuk GIC dapat meningkatkan kekuatan tekan, kekuatan tarik, dan kekuatan fleksural GIC.<sup>13</sup> Rahman dkk. membandingkan penambahan HA-silika berukuran nano dengan berbagai konsentrasi yang dibuat dengan teknik sol-gel pada bubuk GIC. Hasil penelitian tersebut menunjukkan nilai kekerasan yang paling tinggi pada penambahan 5% HA-silika. Sementara penambahan HA-silika dengan persentase yang lebih tinggi menunjukkan nilai kekerasan yang lebih rendah, namun masih lebih tinggi dari nilai kekerasan GIC tanpa penambahan HA-silika.<sup>14</sup>

Sifat kekerasan permukaan sangat penting untuk bahan restorasi gigi, termasuk juga GIC, karena berpengaruh pada kemudahan penyelesaian akhir serta pemrosesan bahan serta ketahanan bahan terhadap goresan. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka dilakukan penelitian ini, yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan 5% HA dari limbah cangkang telur ayam yang disintesis melalui metode presipitasi terhadap kekerasan permukaan GIC.

## Metode penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium, dengan sampel penelitian yaitu GIC Tipe II (Fuji IX GP®) yang dibuat menjadi spesimen berbentuk silinder dengan ukuran diameter 5 mm dan tinggi 2 mm.<sup>14</sup> Total keseluruhan sampel sebanyak 32

sampel yang dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok A (n=16) yang dibuat dari GIC tanpa penambahan hidroksiapatit (kelompok kontrol) dan kelompok B (n=16) yang dibuat dari GIC dengan penambahan 5% hidroksiapatit yang berasal dari cangkang telur ayam (kelompok uji).

Cangkang telur ayam yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari telur ayam ras dari peternakan Putra Perkasa Farm. Cangkang telur ayam sebanyak 200 g dicuci dan dibersihkan dengan aquabides untuk membersihkan cangkang telur dari selaput lendir dan kotoran, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 110°C selama 2 jam.<sup>15</sup> Selanjutnya, cangkang telur dihaluskan dengan *ball milling*, kemudian diayak menggunakan pengayak ukuran 200 mesh.<sup>16</sup> Bubuk cangkang telur tersebut dibakar menggunakan *furnace* pada suhu 1000°C selama 5 jam, yang bertujuan untuk mengeliminasi komponen organik dan logam lain selain kalsium (Ca) serta mengubah kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) yang terkandung dalam cangkang telur ayam menjadi kalsium oksida (CaO) yang digunakan sebagai bahan pembuatan prekursor Ca.

Tahapan selanjutnya adalah pembuatan larutan kalsium nitrat (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 10 M sebanyak 100 mL sebagai prekursor Ca. Bubuk CaO dari hasil pembakaran cangkang telur ayam ditimbang dengan timbangan digital sebanyak 56 g sesuai dengan perhitungan stoikiometri, kemudian dilarutkan dengan larutan asam nitrat (HNO<sub>3</sub>) 68% sebanyak 81 mL. Aquabides ditambahkan sebanyak 19 mL hingga volume total menjadi 100 mL, dan diaduk dengan pengaduk magnetik agar suspensi homogen. Selanjutnya dibuat larutan asam fosfat (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 6 M sebanyak 100 mL yang merupakan prekursor fosfat. Larutan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> konsentrasi 85% diukur sebanyak 28,5 mL dimasukkan ke dalam gelas ukur sesuai dengan perhitungan stoikiometri kemudian dilarutkan dengan aquabides sebanyak 71,5 mL hingga volume total menjadi 100 mL dan diaduk hingga larutan homogen.

Sintesis HA dengan metode presipitasi dilakukan dengan meneteskan larutan

**Putri Ajri Mawadara:** Pengaruh penambahan hidroksiapatit dari cangkang telur ayam .

H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 100 ml dengan menggunakan buret kedalam tabung erlemeyer yang berisi larutan Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 100 ml<sup>7</sup> lalu dipanaskan. Pemanasan diatur pada suhu 40°C (dijaga konstan) dengan kecepatan pengadukan 300 rpm dan pengadukan tetap dilanjutkan tanpa pemanasan selama 30 menit setelah larutan fosfat habis direaksikan<sup>17</sup>. pH larutan dijaga tetappada pH 10 dengan menambahkan ammonium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH)<sup>17</sup>. Kemudian dilakukan *aging* selama 24 dengan dimasukkan kedalam inkubator. Presipitat yang terbentuk kemudian disaring menggunakan kertas saring *whatman* 42, lalu dicuci dengan aquabides untuk menghilangkan produk samping yaitu amonium nitrat (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>).<sup>17</sup> Presipitat yang telah disaring kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 110°C selama 5 jam.<sup>15</sup> Kemudian dilakukan *sintering* pada presipitat kering dengan cara dimasukkan ke dalam *furnace* pada temperatur 900°C selama 5 jam untuk meningkatkan derajat kristalinitasnya.<sup>2</sup> Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Karakteristik produk partikel hidroksiapatit yang dihasilkan dilakukan dengan menggunakan alat uji XRD (*X-Ray Diffraction*) untuk mengetahui komposisi senyawa yang terbentuk. Puncak-puncak difraksi yang didapat kemudian dicocokkan dengan standar difraksi sinar-X dalam *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS). Berdasarkan JCPDS 9-432, tiga puncak tertinggi hidroksiapatit memiliki nilai hkl: 211, 112, dan 300.

Berikutnya dilakukan pembuatan spesimen GIC. Untuk spesimen pada kelompok A, GIC dimanipulasi sesuai dengan petunjuk pabrik dengan rasio 3,6g bubuk dan 1g *liquid* GIC. Massa homogen dimasukkan ke dalam cetakan berbentuk silinder (diameter 5 mm, tinggi 2 mm). Permukaan adonan ditutup dengan *celuloid strip* dan diberikan beban 0,5 kg. Setelah massa mengeras, *celluloid strip* dilepas dan spesimen dikeluarkan dari

cetakan. Spesimen pada kelompok B dibuat dengan cara yang sama, namun bubuk GIC yang dipakai adalah sebanyak 3,4 g dengan penambahan 0,2 g hidroksiapatit. Bubuk GIC dan hidroksiapatit dicampur di dalam tabung *erlenmeyer* menggunakan *shaker* selama 15 detik. Setelah itu bubuk GIC dengan penambahan HA dimanipulasi dengan likuid sesuai petunjuk pabrik seperti di atas.

Pengukuran kekerasan permukaan spesimen GIC dilakukan dengan menggunakan *vickers microhardness tester* di Laboratorium Polstri Palembang. Setiap spesimen diuji kekerasan pada 3 titik indentasi di tempat yang berbeda dan panjang diagonal (Da, Db, Dc) dari 3 titik indentasi diambil rata-ratanya kemudian dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut:

$$\text{VHN} = 1854.4 \text{ P/d}^2$$

Keterangan:

VHN = Angka kekerasan *vickers*

P = Beban (kg)

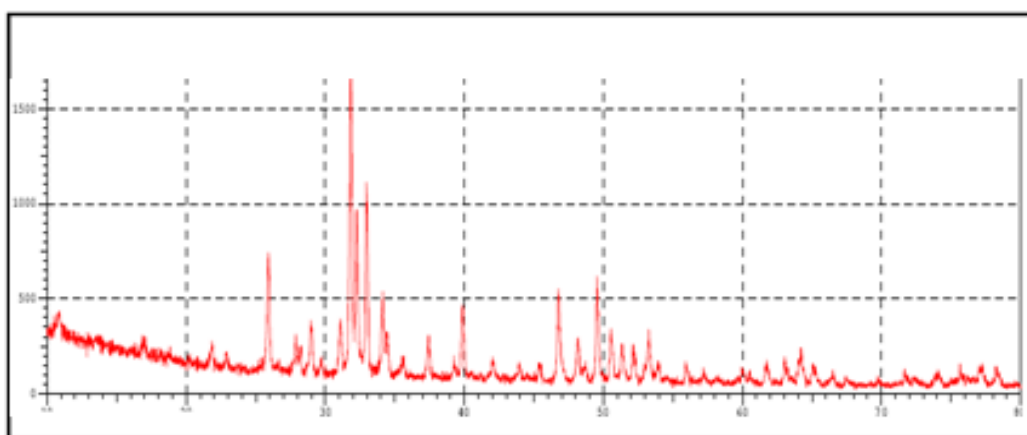
d = Rata-rata diagonal indentasi (mm)

Data yang didapat diolah dan dianalisa secara statistik menggunakan uji T tidak berpasangan.

## Hasil penelitian

Penelitian ini didahului dengan pembuatan bubuk HA dari cangkang telur ayam dengan metode presipitasi yang dilakukan di Laboratorium Rekayasa Bioproses Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Sriwijaya Palembang. Bubuk HA selanjutnya dikarakterisasi menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD) di Laboratorium Terpadu Fisika UIN Syarif Hidayatullah Jakarta untuk mengetahui komposisi senyawa bubuk yang terbentuk dari metode presipitasi.

Hasil XRD menunjukkan puncak-puncak tertinggi pada difraktogram dengan sudut (2θ) 31.809, 32.228, dan 32.949 memiliki nilai hkl 211, 112, dan 300 (Gambar 1). Data tersebut cocok dengan data standar *The Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) (9-432) sehingga dapat dipastikan bahwa bubuk yang diperoleh dari metode presipitasi yang telah dilakukan adalah HA.



Keterangan: sumbu x : 2-theta (sudut penembakan sinar-x terhadap sampel), sumbu y : counts (intensitas cahaya yang diserap oleh sampel)

**Gambar 1. Difraktogram Hasil Analisa XRD**

**Tabel 1. Perbedaan nilai rata-rata kekerasan permukaan GIC antara kelompok kontrol dan kelompok uji**

Kelompok	N	Mean±SD	Mean Difference	p.value
Kelompok Kontrol	16	51,37±1,63	-5,225	0,000*
Kelompok Uji	16	56,60±1,22	-5,225	0,000*

**Keterangan :**

**\*: menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada uji T tidak berpasangan ( $p < 0.05$ )**

Hasil uji kekerasan permukaan dengan menggunakan *Vickers Microhardness Tester* ditunjukkan pada Tabel 1. Nilai rata-rata kekerasan permukaan GIC pada kelompok uji (GIC dengan penambahan 5% HA) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Pada Tabel 1 juga dapat dilihat hasil uji T tidak berpasangan yang menunjukkan bahwa perbedaan kekerasan permukaan GIC tersebut signifikan ( $p < 0,05$ ).

## Pembahasan

*Glass ionomer cement* (GIC) merupakan material restoratif *self-adhesive* dengan sifat mekanik yang rendah sehingga penggunaannya terbatas pada kavitas yang tidak menerima tekanan besar.<sup>11</sup> Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan sifat mekanik GIC, salah satunya dengan cara penambahan hidroksiapatit pada bubuk GIC.<sup>2,13,14</sup> Hidroksiapatit (HA) merupakan biokeramik

golongan kalsium fosfat, yang merupakan komponen utama dari enamel gigi.<sup>13</sup> Hidroksiapatit dapat disintesis dari bahan alami dengan berbagai metode, salah satunya dengan metode presipitasi.<sup>7</sup> Pada penelitian ini, sintesis HA dilakukan dengan metode presipitasi dengan menggunakan prekursor kalsium dari cangkang telur ayam dan prekursor fosfat dari  $H_3PO_4$ .<sup>10</sup> Bubuk HA yang dihasilkan dianalisa dengan uji XRD untuk mengetahui komposisi senyawa yang terkandung pada bubuk tersebut. Hasil uji XRD cocok dengan data standar JCPDS (9-432) sehingga dapat dipastikan bahwa bubuk tersebut adalah HA.

Selain senyawa HA, terbentuk juga senyawa trikalsium fosfat (TCP) dengan nilai hkl 214, 0210, dan 220 pada sudut ( $2\theta$ ) 27.859, 31.059, dan 34.420. TCP dapat terbentuk akibat adanya pemanasan bubuk HA pada suhu di atas 600°C.<sup>18</sup> Pada penelitian ini dilakukan *sintering* bubuk HA pada suhu 900°C sehingga mengakibatkan

terbentuknya TCP yang terlihat dalam analisis XRD. Menurut penelitian Wardani dkk., HA terdekomposisi menjadi fasa TCP pada suhu 700°C dan terkristalisasi sempurna di atas suhu 900°C.<sup>19</sup> Trikalsium fosfat adalah biomaterial yang berpotensi tinggi untuk aplikasi biologis karena merupakan salah satu mineral kalsium fosfat yang terdapat di dalam enamel gigi dan tulang. Penelitian terdahulu telah melakukan penambahan partikel TCP pada GIC, yang memperlihatkan bahwapenambahan 15% nanopartikel  $\beta$ -TCP pada GIC dapat meningkatkan sifat mekanik GIC.<sup>20</sup> Penambahan TCP juga meningkatkan remineralisasi enamel secara signifikan tanpa mempengaruhi sifat mekanik *fissure sealant*.<sup>21</sup>

Hasil penelitian ini (Tabel 1) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara nilai rata-rata kekerasan permukaan kelompok GIC konvensional dan kelompok GIC dengan penambahan 5 % HA. Hasil tersebut serupa dengan hasil penelitian Rahmanet, al.,<sup>14</sup> yang menunjukkan penambahan 5% HA dari bahan kimia meningkatkan nilai kekerasan permukaan GIC. Pada saat bubuk GIC yang mengandung HA bercampur dengan likuid GIC, ion kalsium dalam HA akan ikut terlibat dalam reaksi asam basa dengan likuid sehingga setelah fase pembentukan gel terbentuk lebih banyak jembatan garam dan membentuk struktur *cross-linking*.<sup>22</sup>

Shiekh dkk melakukan penambahan partikel HA-silika berukuran nano dari bahan kimia yang disintesis dengan metode sol-gel ke dalam bubuk GIC. Karakterisasi partikel HA menggunakan TEM dan SEM mengungkapkan bahwa morfologi HA-silika yang dihasilkan merupakan campuran dari partikel silika berbentuk bulat dan partikel HA yang berbentuk seperti batang. Dari pemeriksaan tersebut juga dipastikan bahwa bubuk nanokomposit HA-silika tertanam dalam sempurna dalam matriks GIC, dan mengisi ruang-ruang kosong antara partikel GIC sehingga dapat meningkatkan sifat mekanis GIC.<sup>23</sup> Selain bentuk partikel, ukuran dan area permukaan partikel HA juga menjadi faktor penting yang mempengaruhi

sifat mekanis GIC.<sup>2</sup> Pada penelitian ini tidak dilakukan karakterisasi ukuran, bentuk, dan area permukaan partikel HA yang dihasilkan, sehingga perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme penguatan partikel HA dari cangkang telur ayam terhadap GIC.

## Daftar Pustaka

1. Rivera, EM. Hydroxyapatite-based materials: synthesis and characterization. In: Reza FR, editor. Biomedical Engineering-frontiers and challenges. Croatia: Intech; 2011. p. 75-88.
2. Arita K, Yamamoto A, Shinonaga Y, Harada K, Abe Y, Nakagawa K, et al. Hydroxyapatite particle characteristics influence the enhancement of the mechanical and chemical properties of conventional restorative glass ionomer cement. Dental Material Journal. 2011; 30(5): 672-683.
3. Sudip M, Biswanath M, Dey A, Mukhopadhyay SS. Studies on processing and characterization of hydroxyapatite biomaterials from different bio wastes. Journal of Minerals and Material Characterization and Engineering. 2012; 11(1): 55-67.
4. Bin MI, Dara A, Sontang M, Zuha R, Marlini AN. Fish bone waste utilization program for hydroxyapatite product : a case study of knowledge transfer from a university to coastal communities. Journal of Environmental Research and Development. 2013; 7(3): 1274-1281.
5. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Statistik konsumsi pangan tahun 2015. Jakarta. 2015; 83.
6. Nayak Ak. Hydroxyapatite synthesis methodologies: An overview. ChemTech Res. 2010; 2(2): 903-907.
7. Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. Acta biomaterialia. 2013; 9(8): 7591-621.
8. Saeed AM, Hassan RA, Tahjeel KM. Synthesis of calcium hydroxyapatite



- powder from hen's eggshell. *Iraqi Journal of Physics*. 2011; 9(16): 24-8.
9. Al-Maamori MH, Awad SH, Hussein AK. Mechanical properties and liner shrinkage of resin reinforced with micro hydrokxyapatite for dental restoration. *International Journal of Current Engineering and Technology*. 2014; 4(3): 2151-2154.
  10. Mozartha M, Praziandithe M, Sulistiawati. Pengaruh penambahan hidroksiapatit dari cangkang telur terhadap kekuatan tekan *glass ionomer cement*. FKG. Univ. Baiturrahman: Jurnal B-dent. 2015; 2(1): 75-81.
  11. Sakaguchi RL, Powers JM. *Craigs restorative dental material* thirteenth edition. Elsevier: Mosby; 2012. 152-182.
  12. McCabe JF, Walls AW. *Applied dental materials* ninth edition. UK: Blackwell Munksgaard; 2008. 245-258.
  13. Moshaverinia A, Ansari S, Moshaverinia M, Roohpour N, Darr JA, Rehman I. Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cement (GIC). *Acta biomaterialia*. 2008; 4(2): 432-40.
  14. Rahman IA, Masudi SM, Luddin N, Shiekh RA. One-pot synthesis of hydroxyapatite-silica nanopowder composite for hardness enhancement of glass ionomer cement (GIC). *Indian Academy of Sciences*. 2014; 37(2): 213-219.
  15. Andika R, Fadli A, Irdoni HS. Pengaruh waktu *ageing* dan kecepatan pengadukan pada sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur dengan metode presipitasi. *Riau: JOM FTEKNIK*. 2015; 2(1): 1-8.
  16. Mahreni, Sulistyowati E, Sampe S, Chandra W. Pembuatan hidroksiapatit dari kulit telur. *Yogyakarta*. 2012; 1-5.
  17. Wardani NS, Fadli A, Irdoni. Sintesis Hidroksiapatit dari cangkang telur dengan metode presipitasi. *Riau: JOM FTEKNIK*. 2015; 2(1): 1-6.
  18. Mahreni, Sulistyowati E, Sampe S, Chandra W. Pembuatan hidroksiapatit dari kulit telur. *Yogyakarta*. 2012; 1-5.
  19. Wardani NS, Fadli A, Irdoni. Sintesis Hidroksiapatit dari cangkang telur dengan metode presipitasi. *Riau: JOM FTEKNIK*. 2015; 2(1): 1-6.
  20. Hong YW, Kim JH, Lee BH, Lee YK, Choi BJ, Lee JH, et al. The Effect of nano-sized  $\beta$ -tricalcium phosphate on remineralization in glass ionomer dental luting cement. *Key Eng Mater: Korea*. 2008; 861-864.
  21. Tavassoli HS, Atai M, Haghgoo R, Rahimian IS, Kameli S, Ahmaian BF, et al. Comparison of various concentrations of tricalcium phosphate nanoparticles on mechanical properties and remineralization of fissure sealants. *Original article: Iran*. 2014; 11(4): 379-388.
  22. Yap AUJ, Pek YS, Kumar RA, Cheang P, Khor KA. Experimental studies on a new bioactive material: HA Ionomer cements. *Biomaterials: Singapore*. 2002; 955-962.
  23. Shiekh RA, Rahman IA, Masudi SM, Luddin N. Modification of glass ionomer cement by incorporating hydroxyapatite-silica nano-powder composite: Sol-gel synthesis and characterization. *Ceramics international: Malaysia*. 2014; 3165-3170.