

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF Ag-HYDROXYAPATITE COMPOSITE OF BONE-IN TUNA (*Thunnus albacores*) AGAINST *Streptococcus mutans*

Hendri Faisal*, Rida Evalina Tarigan dan Julkardo Lase

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia
Jl. Kapten Sumarsono No.107, Medan 21124, Indonesia.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 Jan 2022,

Revised 12 Apr 2022

Accepted 18 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ Tuna (*Thunnus albacores*)
- ✓ Hydroxyapatite
- ✓ Argentum
- ✓ Antibacterial
- ✓ *Streptococcus mutans*

*corresponding author:

hendrifaisal@helvetia.ac.id

Phone: +62;

[https://doi.org/10.31938/jsn.v](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.378)

[12i2.378](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.378)

ABSTRACT

Calcium from fish bones have not been widely used for human needs. Calcium in the medical field is used as a hydroxyapatite compound, such as in the manufacture of bones and dentures, as an additive in the manufacture of toothpaste, and usage in drug delivery. This study aims to determine whether the Ag-Hydroxyapatite composite has an inhibitory capability against *Streptococcus mutans* bacteria. This research is an experimental study through laboratory testing by synthesizing Ag-Hydroxyapatite from tuna fish bones (*Thunnus albacores*) and testing its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* bacteria. The results showed that the tuna fish bone samples formed hydroxyapatite compounds and the results of the Ag-Hydroxyapatite composite had antibacterial activity against *Streptococcus mutans* bacteria, the statistical test results showed a significant difference from the negative control group. Ag-hydroxyapatite composite has antibacterial activity against *Streptococcus mutans*

ABSTRAK

Uji Aktivitas Antibakteri Komposit Ag-Hidroksiapatit dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacores*) terhadap *Streptococcus mutans*

Kalsium dari tulang ikan, belum banyak dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia. Kalsium dalam dunia medis dimanfaatkan menjadi senyawa Hidroksiapatit. seperti pada pembuatan tulang dan gigi palsu, sebagai bahan tambahan dalam pembuatan pasta gigi dan juga digunakan sebagai penghantar obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah komposit Ag-Hidroksiapatit memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental melalui pengujian laboratorium dengan mensintesis Ag-Hidroksiapatit dari tulang ikan tuna (*Thunnus albacores*) dan menguji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari sampel tulang ikan tuna terbentuk senyawa Hidroksiapatit dan hasil komposit Ag-Hidroksiapatit memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Komposit Ag-hidroksiapatit memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Keywords: Tuna (*Thunnus albacores*), Hydroxyapatite, Argentum, Antibacterial, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Bentuk limbah dalam industri pengolahan ikan salah satunya adalah tulang ikan, yang memiliki kandungan kalsium tertinggi diantara bagian tubuh ikan lainnya. Unsur utama dari tulang ikan adalah kalsium, fosfor dan karbonat (Trilaksani *et al.*, 2006). Tulang ikan memiliki kandungan 60-70% mineral dengan didominasi senyawa kalsium dan fosfor sedikit kandungan

Mg, Fe, Zn, dan Cu, sedangkan 30% nya adalah protein kolagen. Pemanfaatan kalsium menjadi senyawa Hidroksiapatit, yang merupakan salah satu biomaterial, digunakan untuk pembuatan tulang dan gigi palsu, sebagai bahan tambahan dalam pembuatan pasta gigi, serta digunakan sebagai penghantar obat (Muliati, 2016), memperbaiki bagian tulang dan gigi yang sakit (Handayani *et al.*, 2017) Hidroksiapatit ini bersifat biokompatibel yaitu, memiliki



kemampuan yang dapat beradaptasi dengan jaringan tubuh manusia dan dapat ditanamkan (diimplan) tanpa membahayakan tubuh itu sendiri (Muliati, 2016), (Pandelaki & Aritonang, 2018).

Karies gigi merupakan salah satu penyakit gigi, yang biasanya disebabkan oleh adanya plak gigi. Plak gigi umumnya berupa lengketan yang berisi bakteri dan produk yang terbentuk pada permukaan gigi. Pembentukan plak gigi oleh bakteri yang memiliki kemampuan membentuk polisakarida ekstraseluler, Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan jenis Streptococcus yang ditemukan dalam jumlah besar pada plak penderita karies gigi, yang menempel pada permukaan gigi (Handayani *et al.*, 2017).

Pertumbuhan bakteri *S. mutans* dapat dihambat oleh Ag^+ (perak) merupakan unsur yang banyak digunakan pada perawatan luka, dan berbagai produk rumah tangga karena bersifat antibakteri. (Purnamasari, 2016). Kombinasi perak dengan mikroorganisme atau unsur lain yang memiliki efek terhadap pertumbuhan bakteri akan lebih mematenkan daripada penggunaan perak berbasis konvensional (Loher *et al.*, 2008).

Komposit Ag-ikan cod terbukti sebagai antibakteri dan meningkatkan penyembuhan pada tulang (Piccirillo *et al.*, 2015). Penggunaan komposit Ag- tulang ikan cakalang terbukti sebagai antibakteri (Pandelaki & Aritonang, 2018).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Tulang ikan tuna dengan bakteri uji *Streptococcus mutans*, tablet Ciprofloxacin 500 mg, Nutrient Agar (NA), NaCl 0,9%, $AgNO_3$, phosphate buffer saline (PBS), Aquadest dan larutan standar McFarland. Alat-alat yang digunakan, Spektrofotometer FTIR (Shimadzu), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Oven, Magnetik Stirer, Autoklaf.

Metode

Preparasi Sampel

Tulang ikan dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian tulang ikan direbus pada suhu $80^\circ C$ selama 30 menit. Tulang ikan dipotong kecil-kecil, dan dipresto selama 2 jam, kemudian tulang ikan direndam dalam 2000 ml NaOH 3 M selama 30 menit. Perendaman dilakukan pada temperatur $121^\circ C$. Sampel dinetralkan

menggunakan akuades hingga mencapai pH 7, selanjutnya tulang ikan dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam pada suhu $80^\circ C$. Tulang ikan yang telah kering ditumbuk kemudian diblender dan digerus hingga halus (Anisah *et al.*, 2018; Kusumaningrum *et al.*, 2016).

Sintesis Ag-Hidroksiapatit Dari Tulang Ikan Tuna

Tepung tulang ikan dalam larutan $AgNO_3$ dengan perbandingan molar Perak dan HAp yang digunakan adalah 5:1 ; 4:2 ; dan 3:3. Larutan dengan tulang ikan diaduk dengan magnetik stirer selama 1 jam dengan suhu $70^\circ C$. Selanjutnya campuran larutan tersebut dikalsinasi selama 2 jam dengan suhu $650^\circ C$ (Pandelaki & Aritonang, 2018)

Analisis Fourier Transform InfraRed (FTIR)

a. Pembuatan back ground

Kuvet sampel (lubang yang kecil) diisi dengan pellet KBr, diletakan pada tempat sampel alat FTIR sehingga kuvet dapat terkena sinar lampu IR, ditutup kembali. Kolom file name pada software diisi, lalu diklik icon BKG dan ditunggu hingga selesai.

b. Preparasi sampel

Dicampurkan hidroksiapatit yang akan diukur dengan serbuk KBr dengan perbandingan 1:50, dan digerus homogen. Setelah homogen, dimasukan sampel tersebut pada kuvet hingga penuh, dipadatkan dengan spatula. Dimasukan kuvet hidroksiapatit pada alat FTIR, dan ditutup kembali.

Sterilisasi

Sterilisasi alat dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Pandelaki & Aritonang, (2018)

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg (kontrol positif) digerus, Pembuatan stok awal Ciprofloxacin 1 mg/ml setara dengan konsentrasi $1000 \mu g/ml$ (Ekakristi *et al.*, 2020). Tablet Ciprofloxacin 500 mg dilarutkan dalam 100 ml aquades untuk memperoleh konsentrasi $5000 \mu g/ml$. Larutan Ciprofloxacin $5000 \mu g/ml$ dipipet 2 mL ditambahkan akuades sampai 100 ml untuk menjadi $100 \mu g/ml$.

Pembuatan Larutan Uji

Komposit HAp – Ag yang dilarutkan distirrer selama 1 jam dengan perbandingan 5:1 ; 4:2 ; dan 3:3 (A1, A2 dan A3), larutan uji HAp dibuat dengan melarutkan 1 g tepung tulang ikan tuna dengan 2 ml PBS (Pandelaki & Aritonang, 2018).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji yang telah diinokulasi, disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan McFarland yang diukur secara Spektrofotometri UV-Vis (Pandelaki & Aritonang, 2018).

Pembuatan Media Nutrient Agar dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Novita (2019).

Uji Zona Hambat

Uji daya hambat dengan metode difusi menggunakan kertas cakram, masing-masing 0,1 ml suspensi bakteri uji dimasukkan ke cawan petri steril, 30 ml media NA dihomogenkan dan didinginkan hingga mengeras. Tujuh buah kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji (A1, A2, dan A3), larutan uji Hidroksiapatit, larutan PBS (kontrol negatif), larutan Ciprofloxacin (kontrol positif), dan larutan AgNO₃. Setelah itu diletakkan di atas permukaan media agar secara hati-hati menggunakan pinset dan ditandai setiap letak konsentrasi. Inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. (Novita, 2019).

Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh diuji statistik dengan *Analysis of varian* (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Sampel

Sampel tulang ikan tuna (*Thunnus albacores*) diperoleh dari salah satu pabrik pengolahan ikan tuna yang terletak di Kawasan Industri Medan. Proses perebusan yang bertujuan mempermudah membersihkan tulang ikan dari sisa daging, darah dan lemak yang menempel pada tulang ikan (Kusumaningrum *et al.*, 2016). Perendaman di dalam larutan NaOH 3 M bertujuan untuk mendeproteinisasi atau menghilangkan protein

yang terdapat pada tulang ikan tuna. (Anisah *et al.*, 2018).

Selanjutnya pH dinetralkan menggunakan akuades sebanyak 11-13 kali penetralan hingga mencapai pH 7. Setelah dikeringkan di dalam oven pada temperatur 80°C selama 24 jam, sampel yang dihasilkan sebanyak 177 g dengan rendemen 8,85 %.

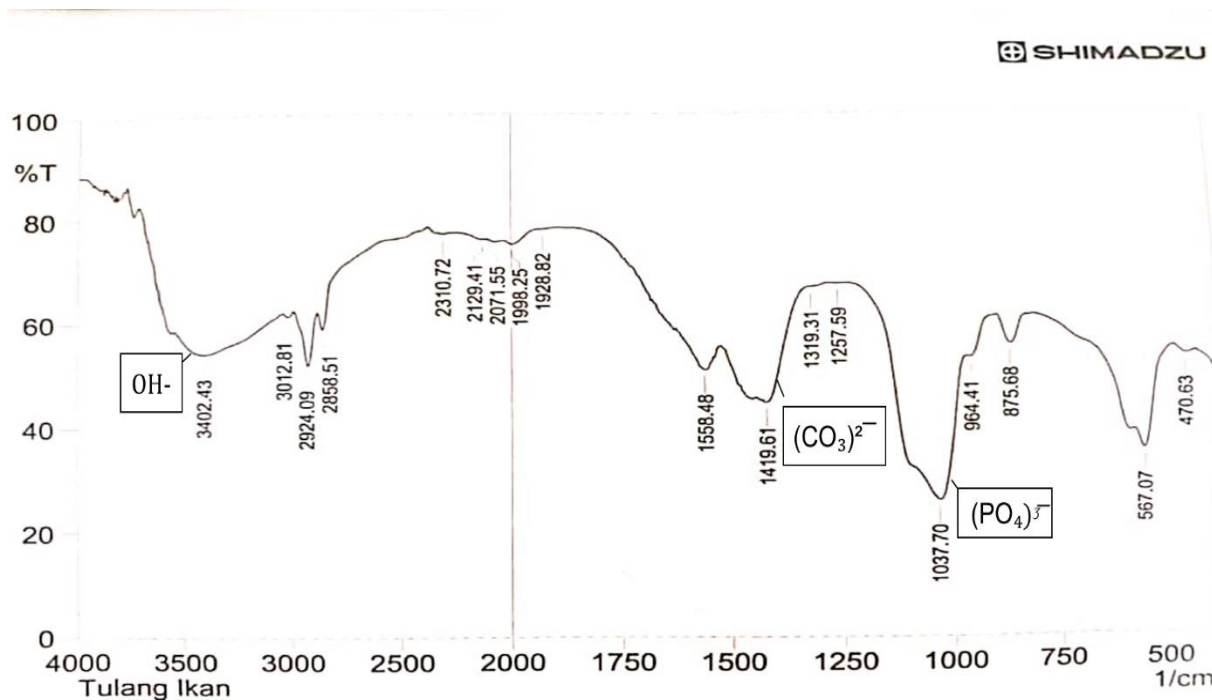
Sintesis Ag-Hidroksiapatit

Sintesis Ag-Hidroksiapatit dengan perbandingan jumlah perak nitrat dan serbuk Hidroksiapatit, dengan variasi komposisinya 5:1 ; 4:2 ; 3:3, dengan perbandingan jumlah 25 ml AgNO₃:5 g HAp ; 20 ml AgNO₃:10 g HAp ; 15 ml AgNO₃:15 g HAp. Sintesis dilakukan dengan cara menstirer masing-masing komposit Ag-Hidroksiapatit selama 1 jam pada temperatur 70°C dengan kecepatan 200 rpm dengan tujuan agar larutan AgNO₃ dan Hidroksiapatit dapat tercampur dengan baik sehingga mengoptimalkan efek antibakterinya (Pandelaki & Aritonang, 2018; Stanić *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian, (Khoirudin, 2015) dikalsinasi selama 2 jam pada temperatur 650°C, dengan tujuan mendekomposisi kalsium karbonat (CaCO₃) menjadi kalsium oksida (CaO) dan menghilangkan senyawa organik lainnya. Kalsinasi ini, akan mereduksi kalsium karbonat dan mengoptimalkan pembentukan kristal Hidroksiapatit yang disintesis oleh larutan AgNO₃, yang mana larutan AgNO₃ akan bertindak sebagai kisi atau dopan terhadap Hidroksiapatit.

Analisis Fourier Transform Infrared (FTIR)

Spektrum yang dihasilkan oleh FTIR berupa pita-pita serapan pada bilangan gelombang (cm⁻¹) tertentu, dari sampel komposit Ag-Hidroksiapatit dapat dilihat pada Gambar 1. Pada Gambar 1, bilangan gelombang 2310,72 ; 2129,41 ; 2071,55 ; 1998,25 ; 1928,82 ; 1558,48 ; 1419,61 ; 1319,31 terdapat gugus fungsi karbonat (CO₃)²⁻, ini menunjukkan bahwa pada sampel tulang ikan tuna terdapat gugus fungsi karbonat yang intensitas serapan spektrum tertinggi pada bilangan gelombang 1419.61. Pada bilangan gelombang 1037,7 ; 964,41 ; 875,68 ; 567,07 ; 470,63 terdapat gugus fungsi fosfat dimana intensitas serapan spektrum tertinggi pada bilangan gelombang 1037,7 dan pada bilangan gelombang 3402,43 ; 3012,81 terdapat gugus fungsi hidroksil (OH) dengan intensitas serapan spektrum tertinggi pada bilangan gelombang 3402,43.



Gambar 1. Hasil Spektrum FTIR Komposit Ag-Hidroksiapatit

Hasil analisis FTIR terlihat jelas bahwa terbentuknya gugus fungsi Hidroksiapatit dari tulang ikan tuna (*Thunnus albacores*).

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri komposit Ag-Hidroksiapatit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* menggunakan metode difusi cakram, dapat dilihat pada Tabel 1. PBS sebagai kontrol negatif, menunjukkan tidak adanya zona hambat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pandelaki & Aritonang, (2018), menandakan bahwa kontrol negatif (akuades) yang digunakan tidak mempengaruhi uji antibakteri

Kontrol positif atau pembanding yang digunakan adalah Ciprofloxacin. Ciprofloxacin merupakan suatu antibakteri sintetik golongan fluorkuinolon yang memiliki spektrum kerja lebih luas. Ciprofloxacin bekerja dengan menghambat dua enzim bakteri (*topo-isomerase*), yaitu DNA-gyrase dan *topo-isomerase IV* (Tjay & Raharja, 2015).

Menurut Davis & Stous (1971), kriteria kekuatan daya hambat bakteri dikategorikan sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5 – 10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10 – 20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Tabel 1. Hasil Uji Antibakteri Komposit Ag-Hidroksiapatit Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.

Kelompok	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	1	2	3	
Kontrol (-)	0	0	0	0
Kontrol (+)	19,5	19,5	26,4	21,8
AgNO ₃	18,7	13,4	12,2	14,77
HAp	12,9	11,0	8,9	10,93
A1	16,2	11,4	14,2	13,93
A2	17,1	14,3	18,1	16,5
A3	7,8	7,3	7,7	7,6

Keterangan : Kontrol (-) = Larutan PBS A1 = Perbandingan Ag-HAp 5 : 1
 Kontrol (+) = Ciprofloxacin A2 = Perbandingan Ag-HAp 4 : 2
 HAp = Hidroksiapatit A3 = Perbandingan Ag-HAp 3 : 3

Sampel komposit Ag-Hidroksiapatit dengan komposisi 5:1 ; 4:2 ; 3:3 memiliki zona hambat terhadap bakteri *S. mutans*. Diameter zona hambat semakin besar maka semakin kuat daya antibakteri dari sampel yang digunakan. Rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat komposit Ag-Hidroksiapatit terhadap bakteri *S. mutans* yaitu: 5:1 (13,93), 4:2 (16,5), dan 3:3 (7,6). Berdasarkan kriteria Davis & Stous (1971), maka pada komposit Ag-Hidroksiapatit perbandingan 4:2 yang paling efektif untuk menghambat bakteri *S. mutans*, komposit tersebut termasuk dalam daya antibakterinya kategori kuat. Pada hasil penelitian ini, dengan lama pencampuran 1 jam aktivitas antibakteri komposit Ag-Hidroksiapatit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sangat baik.

Hasil rata-rata pengukuran diameter zona hambat Larutan AgNO₃ terhadap *S. mutans*, sebesar 14,77 termasuk kategori kuat. Serbuk Hidroksiapatit yang terbentuk dari tulang ikan tuna yang dilarutkan dengan larutan PBS diperoleh hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatnya 10,93 dikategorikan kuat. Menurut kriteria David & Stout, (1971), hal ini menunjukkan bahwa larutan AgNO₃ dan serbuk Hidroksiapatit memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*. Argentum bertindak sebagai antibakteri dengan menjadi dopan Hidroksiapatit, dimana Ag akan hadir sebagai Ag₃PO₄ yang mana bakteri akan menyerap fosfat sebagai makanan dan kemudian akan hancur dan melepaskan ion Ag yang menghentikan pengikatan DNA dan menghambat replikasi. Sedangkan Hidroksiapatit bertindak sebagai antibakteri, yang mana gugus fungsi Hidroksiapatit kalsium oksida (CaO) yang telah terdekomposisi dari kalsium karbonat (CaCO₃) terbukti sebagai antibakteri sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2019) mengemukakan bahwa CaO memiliki aktivitas antibakteri.

Pengaruh Komposit Ag-Hidroksiapatit Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *Streptococcus mutans*

Berdasarkan data yang diperoleh dan diolah secara statistika dengan metode *One Way ANOVA* rata-rata zona hambat kelompok uji terdapat perbedaan diameter zona hambat seperti terlihat dalam Tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Perbedaan Rata-rata Zona Hambat Secara Statistika

Kelompok Uji	Rata-rata(mm)
Kontrol negatif	0,000
Kontrol positif	21,800±3,98
HAp (Hidroksiapatit)	10,933±2,00
AgNO ₃	14,767±3,46
A1	13,933±2,41
A2	16,500±1,97
A3	7,600±0,26

Berdasarkan hasil uji ANOVA yang dapat dilihat pada Tabel 3 diketahui nilai $F_{hitung} = 24,55 > \text{Nilai } F_{tabel} = 2,85$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap konsentrasi uji.

Berdasarkan hasil uji lanjut *post hoc* secara Turkey HSD yang dapat dilihat pada Tabel 4, dapat disimpulkan, bahwa dengan jumlah perbandingan komposit yang berbeda terdapat perbedaan pengaruh komposit Ag-Hidroksiapatit terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dimana diameter zona hambat tertinggi adalah kontrol positif dengan diameter zona hambat sebesar 21,80 mm dan campuran Ag-Hidroksiapatit dengan perbandingan 4:2 (komposit A2) dengan diameter zona hambat sebesar 16,50 mm.

Tabel 3. Hasil Uji Anova Rata-rata Zona Hambat Komposit Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Between Groups	875,532	6	145,922	24,554	.000
Within Groups	83,200	14	5,943		
Total	958,732	20			

Tabel 4. Hasil Uji Turkey HSD Pengaruh Komposit Ag-Hidroksiapatit Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	3	0,000			
A3	3		7,600		
Hap	3		10,933	10,933	
A1	3		13,933	13,933	
AgNO ₃	3			14,767	
A2	3			16,500	16,500
Kontrol Positif	3				21,800
Sig.		1,000	0,075	0,145	,179

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa komposit Ag-Hidroksiapatit memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anisah, A., Delina, M., Aisah, N., & Gustiono, D. (2018). Pembuatan Graft Tulang Dengan Proses Ekstraksi Senyawa Hidroksiapatit dari Tulang Korteks Sapi. *Spektra: Jurnal Fisika Dan Aplikasinya*, 3(1), 31–36. JOUR.
- Astuti, D. S. (2019). Pembuatan Nanosuspensi Kalsium Oksida (CaO) Dari Cangkang Telur Ayam (*Gallus gallus domesticus*) Sebagai Antibakteri Menggunakan Penstabil Crboxyl Methyl Cellulose (CMC) Dengan Metode Sonikasi. *Repository.bku.ac.id*. JOUR.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. JOUR.
- Ekakristi, M. N., Erwiyani, A. R., & Furdianti, N. H. (2020). Perbandingan Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Daging Buah Labu Kuning (*Cucurbita maxima* D.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *repository2.unw.ac.id*.
- Handayani, F., Sundu, R., & Sari, R. M. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan Unmul*, 1(8), 422–433.
- Hardiyanti, H. (2016). Sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit dari limbah tulang ikan Tuna (*thunnus albacores*) dengan metode Hidrotermal. DISS, UIN Alauddin Makassar.
- Khoirudin, M. (2015). Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit (HAp) dari Kulit Kerang Darah (Anadara Granosa) dengan Proses Hidrotermal. DISS, Riau University.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., ... Hwang, C. Y. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3(1), 95. JOUR.
- Kusumaningrum, I., Sutono, D., & Pamungkas, B. F. (2016). Pemanfaatan tulang ikan belida sebagai tepung sumber kalsium dengan metode alkali. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(2), 148–155. JOUR.
- Loher, S., Schneider, O. D., Maienfisch, T., Bokorny, S., & Stark, W. J. (2008). Micro-organism-triggered release of silver nanoparticles from biodegradable oxide carriers allows preparation of self-sterilizing polymer surfaces. *Nano Micro Small Wiley Online Library*, 4(6), 824–832. JOUR.

- Muliati, M. (2016). Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus sp*) dengan Metode Sol-Gel. DISS, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Novita, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* Dan *Staphylococcus epidermidis*. DISS, INSTITUT KESEHATAN HELVETIA.
- Pandelaki, E. C. J., & Aritonang, H. F. (2018). Aktivitas Antibakteri Komposit Ag-Tulang Ikan Cakalang pada *Staphylococcus aureus*. *Jurnal MIPA*, 7(2), 29–32. JOUR.
- Piccirillo, C., Pinto, R. A., Tobaldi, D. M., Pullar, R. C., Labrincha, J. A., Pintado, M. M. E., & Castro, P. M. L. (2015). Light induced antibacterial activity and photocatalytic properties of Ag₃PO₄ -based material of marine origin. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 296, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2014.09.012>
- Purnamasari, M. D. (2016). Sintesis Antibakteri Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih Dengan Irradiasi Microwave. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 5(2).
- Stanić, V., Janačković, D., Dimitrijević, S., Tanasković, S. B., Mitrić, M., Pavlović, M. S., ... Raičević, S. (2011). Synthesis of antimicrobial monophasic silver-doped hydroxyapatite nanopowders for bone tissue engineering. *Applied Surface Science*, 257(9), 4510–4518. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2010.12.113>
- Tjay, T. H., & Raharja, K. (2015). *Obat-Obat Penting, Edisi Ketujuh*. BOOK, Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Trilaksani, W., Salamah, E., & Nabil, M. (2006). Pemanfaatan Limbah Tulang Ikan Tuna (*Thunnus Sp.*) sebagai Sumber Kalsium dengan Metode Hidrolisis Protein. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 9(2), 34–45. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v9i2.983>