

PENGARUH BUBUK CANGKANG TELUR BEBEK TERHADAP PERTUMBUHAN OSTEOLAS FEMUR MENCIT OSTEOPOROSIS

EFFECT OF DUCK EGGSHELL ON FEMORAL-OSTEOBLAST CELL GROWTH OF OSTEOPOROSIS MICE

Risky Amalia¹, Dian Yuliartha Lestari², Mochamad Bahrudin³

¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang

³Departemen Neurologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang

Korespondensi: Dian Yuliartha Lestari. Alamat email: lestari@umm.ac.id

ABSTRAK

*Glucocorticoid induce-osteoporosis merupakan osteoporosis akibat terapi glukokortikoid jangka panjang. Osteoporosis terjadi akibat adanya hambatan pada faktor pertumbuhan tulang sehingga diferensiasi osteoblas menurun. Peningkatan kalsium ekstraseluler dengan cara suplementasi kalsium mampu mendorong proliferasi sel dan mineralisasi matriks sel mesenkimal, yang merupakan sel induk osteoblas. Kalsium terkandung tinggi dalam bubuk cangkang telur bebek. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bubuk cangkang telur bebek terhadap pertumbuhan osteoblas tulang femur mencit jantan (*Mus musculus*) model osteoporosis dengan induksi deksametason. Metode yang digunakan true experimental dengan posttest-only control group design, 24 ekor mencit jantan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol positif (K^+), kelompok perlakuan bubuk cangkang telur bebek dosis 1,04mg/hari (P1), 2,08mg/hari (P2), dan 3,12mg/hari (P3). Semua tikus diinduksi deksametason 0,0029mg/20gBB/hari selama 28 hari, kemudian kelompok perlakuan diberi bubuk cangkang telur bebek selama 14 hari. Analisis data menggunakan One-Way Anova, Post Hoc Bonferroni, dan regresi linier. Pada penelitian ini, jumlah osteoblas secara signifikan berbeda ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol positif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bubuk cangkang telur bebek meningkatkan pertumbuhan osteoblas tulang femur mencit jantan (*Mus musculus*) model osteoporosis.*

Kata Kunci: Bubuk Cangkang Telur Bebek, Osteoblas, Osteoporosis

ABSTRACT

*Glucocorticoid induce-osteoporosis is osteoporosis due to long-term glucocorticoid therapy. Osteoporosis occurs due to inhibition of bone growth factors so that osteoblast differentiation decreases. The increase of extracellular calcium with calcium supplementation is able to promote cell proliferation and mineralization of mesenchymal cell matrix, which is the stem cell of osteoblasts. Calcium is high in duck egg shell powder. This study aimed to determine the effect of duck egg shell powder supplementation on the growth of male mice (*Mus musculus*) femoral bone osteoblasts with dexamethasone-induced osteoporosis model. The method used was true experimental with posttest-only control group design, 24 male mice were divided into 4 groups, there were positive control (K^+), duck egg shell powder treatment group at a dose of 1.04 mg/day (P1), 2.08 mg/day (P2), and 3.12 mg/day (P3). All rats were induced with dexamethasone 0.0029mg/20gBW/day for 28 days, then the treatment group was given duck eggshell powder for 14 days. Data analysis used One-Way Anova, Post Hoc Bonferroni, and linear regression. In this study, the number of osteoblasts was significantly different ($p < 0.05$) between treatment groups compared to the positive control group. So it can be concluded that duck egg shell powder increased the growth of femoral bone osteoblasts of male mice (*Mus musculus*) osteoporosis model.*

Keywords: Duck Eggshell Powder, Osteoblast Cell, Osteoporosis

How To Cite: Amalia, R., Lestari, D., & Bahrudin, M. (2022). PENGARUH BUBUK CANGKANG TELUR BEBEK TERHADAP PERTUMBUHAN OSTEOLAS FEMUR MENCIT OSTEOPOROSIS. *Biomedika*, 14(1), 46-53. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v14i1.15322>

DOI: <https://doi.org/10.23917/biomedika.v14i1.15322>

PENDAHULUAN

Glucocorticoid Induce-osteoporosis (GIO) adalah jenis osteoporosis sekunder yang paling umum dan menyumbang sekitar 25% kasus. Glukokortikoid adalah obat yang efektif dalam pengobatan penyakit yang dimediasi oleh kekebalan namun administrasinya sering disertai dengan efek samping pada massa dan kekuatan tulang, sehingga meningkatkan kejadian fraktur tulang karena osteoporosis. Glukokortikoid meningkatkan resorpsi tulang selama fase awal (tahun pertama pengobatan) dengan meningkatkan diferensiasi dan pematangan osteoklas. Glukokortikoid juga menghambat osteoblastogenesis dan meningkatkan apoptosis osteoblas dan osteosit, yang mengakibatkan penurunan pembentukan tulang selama penggunaan jangka panjang (Chotiyarnwong and McCloskey, 2020). Penggunaan glukokortikoid sintesis seperti deksametason dapat menyebabkan osteoporosis dengan cedera lumbal yang lebih serius daripada metilprednisolon (Xiaobing, 2016; Wood *et al.*, 2018; Thiele *et al.*, 2019).

Menurut WHO terdapat sekitar 200 juta orang menderita osteoporosis di dunia, sedangkan risiko osteoporosis di Indonesia

mencapai 10,3%. Provinsi Jawa Barat memiliki prevalensi risiko osteoporosis lebih besar (22,2%) dibandingkan angka prevalensi nasional (10,3%) (Tandra, 2016). Data Sistem Informasi Rumah Sakit pada tahun 2010 menyatakan insiden fraktur tulang panggul akibat penyakit osteoporosis sekitar 200 dari 100.000 kasus pada penduduk usia 40 tahun (Kemenkes RI, 2015).

Terapi osteoporosis saat ini adalah dengan obat-obatan dan suntik hormon estrogen yang dapat menekan resorpsi tulang dan meningkatkan pembentukan tulang. Namun obat-obatan seperti golongan bifosfonat dapat menyebabkan osteonekrosis sedangkan suntik hormon estrogen diketahui dapat meningkatkan risiko kanker payudara (Herawati, 2013; Sherwood, 2014). Pilihan lain dalam mencapai tujuan terapi osteoporosis adalah penggunaan suplemen kalsium, namun penggunaan suplemen kalsium. Peningkatan kalsium ekstraseluler mendorong proliferasi dan mineralisasi matriks sel mesenkimal, yang merupakan sel induk osteoblast (Lee *et al.*, 2018). Namun suplementasi kalsium memiliki efek samping seperti osteoporosis/ fraktur yang berkaitan dengan osteoporosis, batu ginjal, penyakit gastrointestinal, *cardiovascular disease*, dan lainnya (Palacios *et al.*, 2020).

Salah satu bahan yang memiliki kandungan kalsium yang tinggi adalah cangkang telur unggas. Secara umum, cangkang telur mengandung 95% CaCO_3 , kandungan ini jauh lebih besar jika dibandingkan dengan jenis limbah lingkungan lain yang juga mengandung kalsium, yaitu tulang sapi sebesar 7,07% CaCO_3 (Yuliana dkk, 2020). Pada penelitian perbandingan kadar kalsium tepung cangkang telur unggas yang dilakukan oleh Yonata dkk. (2017) kadar kalsium tertinggi terdapat pada tepung cangkang telur bebek dengan kadar kalsium mencapai 10.11%, kemudian tepung cangkang telur puyuh 9.46%, ayam ras 6.41%, dan buras 5.22%. Cangkang telur bebek tidak hanya mengandung kalsium dalam bentuk kalsium karbonat sebagai penambah kalsium tubuh, namun juga mengandung berbagai mineral tulang lain yang juga ikut membantu dalam pembentukan tulang, seperti fosfor dan mineral mikro yang tidak terdapat pada suplemen kalsium. Oleh karena itu, penulis memutuskan untuk meneliti apakah terdapat pengaruh pemberian bubuk cangkang telur bebek terhadap pertumbuhan osteoblas tulang femur mencit (*Mus musculus*) model osteoporosis yang diinduksi deksametason

mengingat kandungan kalsium yang tinggi dalam cangkang telur bebek. Peneliti juga ingin mengetahui perbedaan rerata osteoblas antara mencit perlakuan dengan mencit control positif dan dosis efektif pemberian bubuk cangkang telur bebek apabila terdapat pengaruh peningkatan osteoblas.

METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *posttest control group design* dan dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang selama 49 hari. Mencit jantan diambil sebanyak 24 ekor menggunakan *simple random sampling* dan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol positif (K+), kelompok perlakuan bubuk cangkang telur bebek dosis 1,04mg/hari (P1), 2,08mg/hari (P2), dan 3,12mg/hari (P3). Semua mencit pada keempat kelompok penelitian tersebut diinduksi deksametason 0,0029mg/20gBB/hari selama 28 hari untuk membuat model osteoporosis. Setelah pembuatan model osteoporosis, kelompok perlakuan diberi bubuk cangkang telur bebek selama 14 hari, kemudian semua kelompok diterminasi. Setelah proses terminasi mencit dan

pembuatan preparat histopatologi, dilakukan pengamatan osteoblas tulang femur menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 X. Uji statistik yang digunakan adalah uji normalitas, uji homogenitas, *One-Way Anova*, *Post Hoc Bonferroni*, dan regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pembacaan preparat histopatologi osteoblas tulang femur mencit masing-masing kelompok perlakuan dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rerata Jumlah Osteoblas Tulang Femur Mencit pada 6 Lapang Pandang

Kel.	Jumlah Osteoblas						Rerat a
	1	2	3	4	5	6	
K+	9,8	10,4	10	8	8,8	9,8	9,47
P1	16,2	17,6	15	13,2	13,8	11,4	14,53
P2	20,4	16,8	26,6	21,2	23	24	22,00
P3	36,2	35,6	28,4	30,6	31	28,8	31,77

Hasil uji normalitas data rerata jumlah osteoblas tulang femur kelompok K+, P1, P2, dan P3 memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian berdistribusi dengan normal sehingga memenuhi syarat uji statistik parametrik.

Berdasarkan Tabel 1, kelompok kontrol positif yang diberi induksi deksametason tanpa diberi bubuk cangkang telur bebek menunjukkan jumlah osteoblas yang paling sedikit, dengan rerata sebesar 9,47 sel, bila dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Laswati dkk.

(2015) bahwa mencit yang diberi induksi deksametason dengan dosis 0,0029mg/20gmencit/hari selama 28 hari dapat menyebabkan osteoporosis, ditandai dengan terjadi pembungkukan pada punggung mencit dan penurunan jumlah osteoblas secara signifikan pada pengamatan mikroskopis.

Penggunaan glukokortikoid dalam jangka panjang dan konsentrasi tinggi berakibat pada pengurangan jumlah osteoblas dan penurunan laju pembentukan tulang akibat apoptosis osteoblas yang merupakan sel pembentuk tulang (Briot, 2018). Deksametason merupakan glukokortikoid sintesis yang paling poten. Konsumsi deksametason pada mencit dengan dosis 0,0029mg/20gmencit/hari selama empat minggu setara dengan konsumsi selama 3-4 tahun pada manusia (Agil dkk, 2018). Obat ini meningkatkan apoptosis osteoblas tulang dan menyebabkan kerusakan tulang melalui berbagai jalur, termasuk melalui penghambatan sinyal Wnt / β -catenin (Wood *et al.*, 2018).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah osteoblas mencit jantan (*Mus musculus*) yang diberi induksi deksametason serta bubuk cangkang telur bebek pada semua perlakuan secara bertingkat, yaitu bubuk cangkang telur

bebek dosis 1,04mg/hari, 2,08mg/hari dan dosis 3,14mg/hari lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi deksametason tanpa diberi bubuk cangkang telur bebek. Selain itu, hasil yang didapatkan dari uji *One Way Anova* menunjukkan nilai yang signifikan ($p= 0,000$), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah osteoblas antar kelompok perlakuan. Hal ini membuktikan bahwa pemberian bubuk cangkang telur bebek dapat meningkatkan pertumbuhan osteoblas dan peningkatan dosis bubuk cangkang telur bebek berbanding lurus dengan peningkatan osteoblas. Semakin tinggi dosis bubuk cangkang telur bebek, semakin banyak osteoblas yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian bubuk cangkang telur pada mencit yang mengalami osteoporosis meningkatkan osteoblas melalui peningkatan kadar kalsium darah yang merupakan salah faktor penting yang mengatur remodeling tulang (Marie, 2010; Safitri *et al.*, 2017). Bubuk cangkang telur bebek mengandung berbagai komponen penting yang dapat mendukung aktivitas pembentukan tulang, termasuk kalsium karbonat 95%, fosfor 3%, magnesium 3%, dan

senyawa organik lainnya. Komponen utama yaitu kalsium karbonat didapatkan melalui pengolahan serta perendaman menggunakan CH_3COOH agar menghasilkan kadar kalsium yang paling banyak (Yonata dkk, 2017).

Peneliti memanfaatkan bubuk cangkang telur bebek untuk memperbaiki histopatologi osteoblas tulang femur dengan cara meningkatkan faktor pertumbuhan yang berperan dalam diferensiasi osteoblas. Kalsium yang diserap sebagian besar akan disimpan dalam bentuk hidroksiapatit, sedangkan sisanya menjadi kalsium ekstraseluler yang memainkan peran penting dalam pengendalian remodeling tulang melalui aktivasi reseptor CaSR secara langsung (Marie, 2010; Morelli *et al.*, 2020). Kalsium ekstraseluler mengaktifkan reseptor CaSR ekstraseluler dalam sel epitel usus yang kemudian menyebabkan transkripsi dan translasi Wnt5a agar dapat menginduksi pembentukan β -catenin yang memiliki peran penting dalam produksi ekspresi faktor transkripsi osteoblas, yaitu Runx2 dan osterix yang berperan dalam peningkatan morbiditas dan diferensiasi osteoblas (De, 2011; Van Amerongen *et al.*, 2012; Saedi *et al.*, 2020). Reseptor CaSR yang diaktivasi oleh kalsium ekstraseluler juga dapat

meningkatkan IGF-I dan IGF-II yang meningkatkan pertumbuhan osteoblas dengan memicu proliferasi MSC menjadi osteoblas (Marie, 2010; Crane *et al.*, 2013).

Hasil analisis statistik dengan uji *One-Way* Anova didapatkan nilai signifikansi $p= 0,000$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah osteoblas antar kelompok perlakuan, untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*.

Hasil uji *Post Hoc Bonferroni* (Tabel 2) menunjukkan terdapat perbedaan bermakna jumlah osteoblas antara kelompok kontrol positif dengan semua kelompok perlakuan penelitian. Peningkatan jumlah osteoblas mulai berpengaruh pada mencit jantan kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi bubuk cangkang telur bebek sebesar 1,04 mg/hari. Pengaruh pemberian bubuk cangkang telur bebek terhadap jumlah osteoblas (variabel terikat) adalah 90,5%, diperoleh berdasarkan nilai koefisien determinasi (R square), sebesar 0,905 pada hasil uji regresi linier.

Tabel 2. Uji Post Hoc Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	CI 95%		P
	Minimum	Maksimum	
K+ VS P1	-9,5593	-0,5741	0,021*
K+ VS P2	-17,0259	-8,0407	0,000*
K+ VS P3	-26,7926	-17,8074	0,000*
P1 VS P2	-11,9593	-2,9741	0,001*

P1 VS P3	-21,7259	-12,7407	0,000*
P2 VS P3	-14,2593	-5,2741	0,000*

Keterangan: * = signifikan $< 0,05$

Tabel 2 menunjukkan hasil uji *Post Hoc Bonferroni* didapatkan nilai signifikansi $< 0,05$ ($p < 0,05$) pada semua kelompok perlakuan saat dibandingkan dengan kelompok kontrol positif menunjukkan terdapat perbedaan bermakna jumlah osteoblas antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan penelitian. Peningkatan jumlah osteoblas mulai berpengaruh pada mencit jantan kelompok P1 yang diberi bubuk cangkang telur bebek sebesar 1,04 mg/hari ($p= 0,021$). Namun nilai signifikansi ini masih rendah bila dibandingkan kelompok P2 dan P3 ($p= 0,000$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa setiap peningkatan dosis memberikan efek yang signifikan terhadap peningkatan pertumbuhan osteoblas, pada penelitian ini dosis bubuk cangkang telur bebek memberikan efek signifikan mulai dari dosis 1,04 mg/hari (P1).

Hasil uji regresi linier menunjukkan koefisien determinasi (R square), sebesar 0,905 yang memiliki makna bahwa pemberian bubuk cangkang telur bebek memiliki pengaruh pada peningkatan pertumbuhan osteoblas sebesar 90,5%. Sedangkan 9,5% sisanya merupakan pengaruh dari faktor lain yang tidak diteliti.

Berdasarkan persamaan regresi, tiap pemberian 1 mg bubuk cangkang telur bebek akan meningkatkan jumlah osteoblas tulang femur mencit sebesar 7,151 sel.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan data hasil penelitian dan hasil uji yang telah dilakukan, pemberian bubuk cangkang telur meningkatkan pertumbuhan osteoblas tulang femur mencit jantan (*Mus musculus*) model osteoporosis yang diinduksi deksametason secara signifikan.

Saran yang diberikan dari penelitian yang telah dilakukan adalah untuk menambahkan dosis bubuk cangkang telur bebek hingga mengetahui dosis optimal yang meningkatkan pertumbuhan osteoblas femur mencit model osteoporosis yang diinduksi deksametason dan dosis toksik akibat melebihi dosis terapi, serta penambahan kelompok kontrol negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Agil, M., Ma'arif, B., dan Aemi, N. Y. 2018. Aktivitas Antiosteoporosis Fraksi N-Heksana Daun *Marsilea Crenata* Presl. Dalam Meningkatkan Kepadatan Tulang Trabekular Vertebra Mencit Betina. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 11(2). Pp: 1–7. doi.org/10.22435/jtoi.v11i2.671
- Briot, K. 2018. Bone and glucocorticoids. *Annales d'Endocrinologie*. 79(3). Pp: 10–3. doi.org/10.1016/j.ando.2018.04.016
- Chotiyarnwong, P., and McCloskey, E. 2020. Pathogenesis of glucocorticoid-induced

osteoporosis and options for treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 16. Pp: 437–47. doi.org/10.1038/s41574-020-0341-0

- Crane, J. L., Zhao, L., Frye, J. S., Xian, L., Qiu, T., and Cao, X. 2013. IGF-1 Signaling is Essential for Differentiation of Mesenchymal Stem Cells for Peak Bone Mass. *Bone Research*. 1(2). Pp: 186–94. doi.org/10.4248/BR201302007
- De, A. 2011. Wnt / Ca 21 signaling pathway : a brief overview The Non-canonical Wnt Signaling Cascade. *Acta Biochimica et Biophysica Hungarica*, 43(10), 745–756. doi.org/10.1093/abbs/gmr079.Advance
- Herawati, F. 2013. Farmakoterapi Osteoporosis. *Buletin Rasional*, 10(4), 30–32.
- Kemenkes RI. 2015. Data & Kondisi Penyakit Osteoporosis di Indonesia. In *Infodatin*. doi.org/10.1200/JCO.2012.44.4489
- Laswati, H., Agil, M., dan Widyowati, R. (2017). Efek Pemberian *Spilanthes Acmella* Dan Latihan Fisik Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Femur Mencit Yang Diinduksi Deksametason. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 25(1), 5–12. doi.org/10.22435/mpk.v25i1.4095.43-50
- Lee, M.N., Hwang, HS., Oh, SH. et al. 2018. Elevated extracellular calcium ions promote proliferation and migration of mesenchymal stem cells via increasing osteopontin expression. *Exp Mol Med*. 50. Pp: 1–16. doi.org/10.1038/s12276-018-0170-6
- Marie, P. J. (2010). The calcium-sensing receptor in bone cells: A potential therapeutic target in osteoporosis. *Bone*, 46(3), 571–576. doi.org/10.1016/j.bone.2009.07.082
- Morelli, M. B., Santulli, G., and Gambardella, J. 2020. Calcium supplements: Good for the bone, bad for the heart? A systematic updated appraisal. *Atherosclerosis*, 296, 68–73. doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.01.008

- Palacios, S., Ramirez, M., and Lilue, M. 2020. Clinical study of the tolerability of calcium carbonate-casein microcapsules as a dietary supplement in a group of postmenopausal women. *Drugs in Context*, 9, 1–9. doi.org/10.7573/DIC.2020-1-4
- Saedi, A. Al, Stupka, N., and Duque, G. (2020). Pathogenesis of Osteoporosis. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 262, 353–367. doi.org/10.1007/164_2020_358.
- Safitri, I. R., Supriyana, S., and Bahiyatun, B. (2017). Effect of Eggshell Flour on Blood Calcium Levels in Pregnant Mice. *Belitung Nursing Journal*, 3(6), 791–795. doi.org/10.33546/bnj.299
- Sherwood, L. (2014). *Introduction to Human Physiology: From Cell to System* (8th Editio, Vol. 1; S. Alexander, ed.). doi.org/10.1517/13543784.7.5.803
- Tandra, H. (2016). *Segala sesuatu yang harus anda ketahui tentang osteoporosis: mengenal, mengatasi, dan mencegah tulang keropos*. Metanoia Publishing.
- Thiele, S., Hannemann, A., Winzer, M., Baschant, U., Weidner, H., Nauck, M., ... and Rauner, M. (2019). Regulation of sclerostin in glucocorticoid-induced osteoporosis (GIO) in mice and humans. *Endocrine Connections*, 8(7), 923–934. doi.org/10.1530/EC-19-0104
- Van Amerongen, R., Fuerer, C., Mizutani, M., and Nusse, R. (2012). Wnt5a can both activate and repress Wnt/B-catenin signaling during mouse embryonic development. *Developmental Biology*, 369(1), 101–114. doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.06.020
- Wood, C. L., Soucek, O., Wong, S. C., Zaman, F., Farquharson, C., Savendahl, L., and Ahmed, S. F. (2018). Animal models to explore the effects of glucocorticoids on skeletal growth and structure. *Journal of Endocrinology*, 236(1), R69–R91. doi.org/10.1530/JOE-17-0361
- Xiaobing, J. (2016). Variance of Spinal Osteoporosis Induced by Dexamethasone and Methylprednisolone and its Associated Mechanism. *The Spine Journal*, 16(10), S124. doi.org/10.1016/j.spinee.2016.07.019
- Yonata, D., Aminah, S., dan Hersoelityorini, W. (2017). Kadar Kalsium dan Karakteristik Fisik Tepung Cangkang Telur Unggas dengan Perendaman Berbagai Pelarut Calcium Levels and Physical Characteristics of Egg Poultry Shell with Soaking Various Solven t. *Jurnal Pangan Dan Gizi*, 7(November), 82–93.
- Yuliana, R., Rahim, E. A., dan Hardi, J. (2017). Sintesis Hidroksiapatit Dari Tulang Sapi Dengan Metode Basah Pada Berbagai Waktu Pengadukan Dan Suhu Sintering. *Kovalen*, 3(3), 201–210. doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i3.9329