Uji Toksisitas Membran Komposit *Nano Hydroxyapatite/Magnesium Oxide* (Nha/Mgo) dengan *Hydroxyapatite/Magnesium Oxide* (Ha/Mgo) pada *Human Gingival Fibroblast* (HGF) melalui Metode *Microculture Tetrazolium Test Assay* (MTT *Assay*)

Seffrina Putri Aryanti*, Nur Permatasari**, M. Chair Effendi***, Ariyati Retno Pratiwi**

* Mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
** Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Departemen Biologi Oral
*** Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak
Email: seffrinaputri23@gmail.com

repotorium.ub.ac.id

ABSTRAK

Hydroxyapatite (HA) memiliki sifat biokompatibilitas yang baik dan kemampuan untuk berikatan secara kimia dengan jaringan tulang, osteokonduksi. Nano*hydroxyapatite* (nHA) memiliki karakteristik yang menyerupai sifat fisik, kimia, mekanik dan sifat biologis dari tulang manusia, kontak yang terjadi dengan jaringan sekitarnya lebih rapat, dan ukuran partikel yang lebih kecil dan luas permukaan yang besar, sehingga dapat mempengaruhi adhesi dan proliferasi. *Magnesium Oxide* (MgO) merupakan salah satu komponen yang terdapat di dalam tulang sekitar 1% dan bersifat biokompatibilitas, mampu meningkatkan perlekatan, serta proliferasi fibroblas. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan toksisitas membran komposit nHA/MgO dan HA/MgO terhadap kultur sel *Human Gingival Fibroblast*. Konsentrasi pada membran yang digunakan yaitu 0.5%, 2%, 4% sebagai perlakuan, *complete medium* + sel HGF sebagai kontrol positif, dan media DMEM F12 sebagai kontrol negatif. Hasil analisis data menggunakan *Independent T-Test* dengan signifikansi 0.896 (membran nHA/MgO dan HA/MgO 0.5%), 0.070 (membran nHA/MgO dan HA/MgO 2%), 0.080 (membran nHA/MgO dan HA/MgO 4%) menunjukkan tidak terdapat perbedan signifikan. Uji Korelasi *Pearson* penambahan MgO pada membran HA menunjukkan nilai koefisien korelasi sebesar -0.473 yang berarti cukup kuat, sedangkan penambahan MgO pada membran nHA menunjukkan menunjukkan nilai koefisien korelasi sebesar -0.648 yang berarti kuat.

Kata kunci: *Hydroxyapatite*, Nano*Hydroxyapatite*, *Magnesium Oxide*, Kultur Sel HGF

ABSTRACT

Hydroxyapatite (HA) has good biocompatibility properties and the ability to bond chemically with bone tissue, osteoconduction. Nano *hydroxyapatite* (nHA) has characteristics that resemble the physical, chemical, mechanical and biological properties of human bones, contact that occurs with the surrounding tissue is denser, and smaller particle size and large surface area, so that it can affect adhesion and proliferation. *Magnesium Oxide* (MgO) is one component that is found in the bones of about 1% and is biocompatible, capable of increasing attachment, and proliferation of fibroblasts. The purpose of this study was to determine the toxicity of nHA / MgO and HA / MgO composite membranes against *Human Gingival Fibroblast* cell cultures. The concentration on the membrane used is 0.5%, 2%, 4% as a treatment, *complete medium* + HGF cells as a positive control, and DMEM F12 as a negative control. The results of data analysis using *Independent T-Test t* with a significance of 0.896 (nHA / MgO membrane and HA / MgO 0.5%), 0.070 (nHA / MgO and HA / MgO 2% membrane), 0.080 (nHA / MgO membrane and HA / MgO 4%) showed no significant difference. The *Pearson* Correlation Test for the addition of MgO to the HA membrane showed a coefficient correlation -0.473, which means strong enough, while the addition of MgO to the nHA membrane showed a coefficient correlation -0.648, which means strong.

Keywords: *Hydroxyapatite*, Nano *Hydroxyapatite*, *Magnesium Oxide*, HGF Cell Culture

PENDAHULUAN

Prevalensi penduduk Indonesia yang menerima perawatan atau pengobatan dari tenaga kesehatan di bidang kedokteran gigi hanya sebesar 29,6%. Jenis perawatan yang paling banyak diterima penduduk Indonesia yaitu penambalan atau pencabutan atau bedah gigi sebesar 38,5% [1]. Dalam kasus pencabutan gigi, terdapat komplikasi yang dapat terjadi pasca tindakan pencabutan gigi yaitu resorbsi tulang yang menyebabkan ketinggian penurunan ketinggian dan ketebalan tulang alveolar [2]. Untuk itu perlu diupayakan adanya bahan yang dapat memperbaiki atau mempercepat proses perbaikan tulang yang rusak seperti biomaterial pengganti tulang salah satunya yaitu *Hydroxyapatite* (HA) agar prognosis dari perawatan dan kondisi gigi selanjutnya lebih baik [3].

Hydroxyapatite (HA) merupakan bahan yang sering digunakan untuk menggantikan mineral jaringan tulang karena memiliki komposisi dan kristalin yang serupa dengan jaringan tulang manusia yaitu terdiri dari mineral kalsium (Ca) dan fosfat (P) [4]. *Hydroxyapatite* (HA) memiliki sifat biokompatibilitas yang baik dan kemampuan untuk berikatan secara kimia dengan jaringan tulang [5]. *Hydroxyapatite* (HA) memiliki sifat osteokonduksi yang berfungsi menjadi tempat untuk pertumbuhan sel tulang baru dan bersifat osteoinduksi yang akan menstimulasi proses osteogenesis [6].

Seiring berkembangnya teknologi, beberapa penelitian telah mengembangkan berbagai bentuk dari *hydroxyapatite*, salah satunya dalam bentuk nano. Nano*hydroxyapatite* (nHA) memiliki karakteristik yang menyerupai sifat fisik, kimia, mekanik dan sifat biologis dari tulang manusia. Kelebihan nano*hydroxyapatite* adalah kontak yang terjadi dengan jaringan sekitarnya lebih rapat[5]. Nano*Hydroxyapatite* (nHA) memiliki mikrostruktur tiga dimensi untuk mempercepat pertumbuhan jaringan tulang, kolonisasi fibrovaskular, dan saraf[7]. HA mengandung ion kalsium dan fosfat yang tidak memiliki efek toksisitas lokal maupun sistemik[8]. Bahan HA yang berstruktur nano memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dan luas permukaan yang besar, sehingga dapat mempengaruhi adhesi dan proliferasi. Namun nano*Hydroxyapatite* dapat bersifat toksik bila dibandingkan dengan *hydroxyapatite* konvensional pada ukuran nanopartikel yang lebih kecil seperti ukuran kurang dari 50 nm dan pemberian dosis tertentu [9].

Disamping dibutuhkan bahan material pengganti tulang dalam proses regenerasi tulang khususnya setelah pencabutan gigi, dibutuhkan juga bahan yang memiliki efek antimikrobial untuk mencegah daerah bekas pencabutan gigi tidak terkena infeksi yang lebih parah dan mampu meningkatkan proses osteogenesis untuk proses regenerasi tulang. *Magnesium Oxide* (MgO) merupakan bahan material yang memiliki aktivitas antimikrobial terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif[10]. MgO merupakan salah satu komponen yang terdapat di dalam tulang sekitar 1% dan bahan material MgO bersifat biokompatibilitas, mampu meningkatkan perlekatan, dan proliferasi fibroblas[11].

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode penelitian *true-experimental laboratory design* (penelitian eksperimental murni) dengan pendekatan *post test with control group*. Pada penelitian ini dilakukan uji laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan toksisitas membran komposit HA/MgO dan membran komposit nHA/MgO.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah membran komposit nHA/MgO dan membran komposit HA/MgO dengan menggunakan teknik *freeze-drying*[12].

Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah membran komposit nHA/MgO dan membran komposit HA/MgO. Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel fibroblas dari membran komposit nHA/MgO dan membran komposit HA/MgO.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Membran HA/MgO

Pembuatan membran HA/MgO (0.5%, 2%, dan 4%) menggunakan alat *magnetic stirrer*, yaitu dengan cara yang pertama melarutkan PVA 0.75gr dalam 25ml aquadest pada suhu 75^{0}C dan menutupi beaker glass menggunakan alumunium foil. Setelah PVA larut, menunggu larutan hingga sesuai suhu ruang dan *magnetic stirrer* tetap menyala. Menambahkan serbuk HA (Fluidinova

SA) 0.75gr ke larutan PVA hingga homogen. Lalu menambahkan serbuk MgO ke dalam larutan PVA+HA, untuk pembuatan konsentrasi 0.5% membutuhkan 0.125 gr, konsentrasi 2% membutuhkan 0.5gr, dan konsentrasi 4% membutuhkan 1gr. Mengaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam 25 menit pada suhu 40^{0}C. Setelah itu, menunggu larutan hingga sesuai suhu ruang dan *magnetic stirrer* tetap menyala. Menuangkan larutan pada cetakan petridisk setinggi 0.1cm dan memasukkan ke dalam freezer -40^{0}C. Memasukkan cetakan petridisk ke dalam alat *freeze drying* selama 24 jam. Kemudian membran di potong dengan ukuran 5mm x 5mm.

Pembuatan Membran nHA/MgO

Pembuatan membran nHA/MgO (0.5%, 2%, dan 4%) menggunakan alat *magnetic stirrer*, yaitu dengan cara yang pertama melarutkan PVA 0.75gr dalam 25ml aquadest pada suhu 75^{0}C dan menutupi beaker glass menggunakan alumunium foil. Setelah PVA larut, menunggu larutan hingga sesuai suhu ruang dan *magnetic stirrer* tetap menyala. Menambahkan serbuk nHA (terbuat dari serbuk HA (Fluidinova SA) dengan cara modifikasi metode elektrokimia) [13] sebanyak 0.75gr ke larutan PVA hingga homogen. Lalu menambahkan serbuk MgO ke dalam larutan PVA+nHA, untuk pembuatan konsentrasi 0.5% membutuhkan 0.125 gr, konsentrasi 2% membutuhkan 0.5gr, dan konsentrasi 4% membutuhkan 1gr. Mengaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam 25 menit pada suhu 40^{0}C. Setelah itu, menunggu larutan hingga sesuai suhu ruang dan *magnetic stirrer* tetap menyala. Menuangkan larutan pada cetakan petridisk setinggi 0.1cm dan memasukkan ke dalam freezer -40^{0}C. Memasukkan cetakan petridisk ke dalam alat *freeze drying* selama 24 jam. Kemudian membran di potong dengan ukuran 5mm x 5mm.

Kultur Sel *Human Gingival fibroblast* (HGF)

Mencuci jaringan gingiva pasien pasca odontektomi dengan menggunakan transfer medium (terdiri dari HBSS, antibiotic 1.25%, dan DI water). Meletakkan gingiva pada cawan petri yang berisi *complete medium* dan dicincang mekanis menggunakan gunting dan pisau bedah. Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 800 rpm selama 8 menit. Membuang supernatan, meresuspensi kembali dan pellet ditempatkan pada *flask* berisi *complete medium* yang terdiri dari DMEM-F12, *fetal bovine serum* (FBS) 10%, dan antibiotik 1,25% (penisilin 100 IU / ml, streptomisin 100 µg / ml, dan amphotericin B 100 µg / ml), kemudian memasukkan ke dalam inkubator bersuhu 37^{0}C dan kadar CO_2 5%. Mengganti medium kultur 2 hari sekali hingga sel attached dan konfluen.

Uji Toksisitas dengan MTT *Assay*

Memasukkan membran nHA/MgO dan HA/MgO dalam well-96. Memasukkan 100 µL DMEM-F12 (K-), 100 µL sel HGF untuk K+ dan perlakuan. Memasukkan ke dalam inkubator bersuhu 37^{0}C dan kadar CO_2 5% selama 24 jam. Jika sel telah 80% konfluen, membuang *complete medium* dengan syringe, dan mencuci dengan SFM (*Serum Free Medium*) sebanyak dua kali. Menambahkan reagen MTT yang telah diencerkan dengan SFM ke setiap sumuran. Menutupi well-96 dengan alumunium foil dan memasukkan dalam inkubator 37^{0}C CO_2 5% selama 4 jam. Melakukan pengamatan untuk melihat kristal formazan. Menambahkan DMSO 100 µL. Memasukkan dalam inkubator 37^{0}C CO_2 5% selama 30 menit. Memindahkan semua sumuran ke well-96 yang baru dan melakukan pembacaan menggunakan alat *ELISA reader* pada panjang gelombang 570 nm.

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh kemudian dianalisis dengan bantuan program SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* Analisis data selanjutnya menggunakan uji Independent T-test dan Pearson.

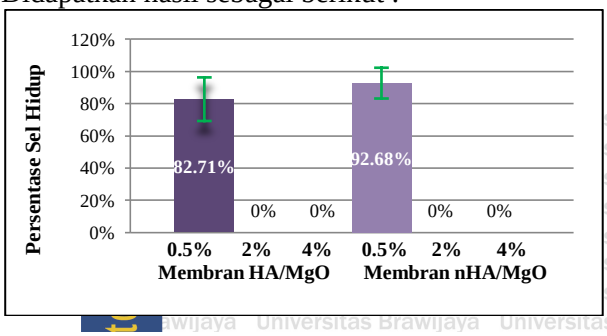
HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Toksisitas

Hasil uji toksisitas dengan MTT Assay berupa *optical density* yang menunjukan tingkat absorbansi melalui perubahan warna yang dihasilkan oleh aktivitas mitokondria sel hidup dan akan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Perubahan warna yang semakin pekat akan menunjukkan nilai absorbansi tinggi dan menggambarkan jumlah sel HGF yang hidup semakin tinggi. Perhitungan jumlah sel HGF yang hidup dapat menggunakan rumus presentase sel hidup yaitu :

$$\text{Viabilitas sel hidup} = \frac{\text{OD perlakuan} - \text{OD k(-)}}{\text{OD K(+)} - \text{OD K(-)}} \times 100\%$$

Didapatkan hasil sebagai berikut :

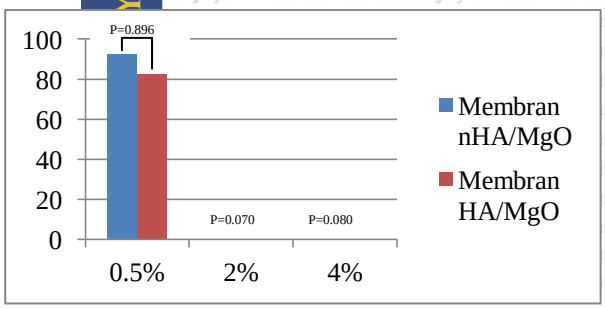


Gambar 1. Viabilitas Sel Hidup Membran Komposit HA/MgO dan nHA/MgO

Persentase viabilitas sel hidup HGF setelah diberikan perlakuan membran HA/MgO diperoleh hasil pada kelompok HA/MgO 0.5% sebesar 82.71%, kelompok HA/MgO 2% sebesar 0%, dan kelompok HA/MgO 4% sebesar 0%. Sedangkan untuk perlakuan membran nHA/MgO diperoleh hasil pada kelompok nHA/MgO 0.5% sebesar 92.68%, kelompok nHA/MgO 2% sebesar 0%, dan kelompok nHA/MgO 4% sebesar 0%. Kelompok dengan persentase viabilitas tertinggi didapatkan pada kelompok nHA/MgO 0.5% dan dilanjutkan kelompok membran HA/MgO 0.5%. Sedangkan kelompok dengan persentase viabilitas terendah didapatkan pada kelompok HA/MgO 2%, kelompok HA/MgO 4%, kelompok nHA/MgO 2%, dan kelompok nHA/MgO 4%.

Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* menunjukkan data yang normal. Uji homogenitas menunjukkan data tidak homogen. Lalu dilanjutkan untuk uji *Independent T-test* dan korelasi *Pearson*.

Hasil yang diperoleh dari uji beda *Independent T-test* dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, dimana kelompok membran HA/MgO dan nHA/MgO 0.5% nilai signifikansi sebesar 0.896, membran HA/MgO dan nHA/MgO 2% nilai signifikansi sebesar 0.070, HA/MgO dan nHA/MgO 4% nilai signifikansi sebesar 0.080.



Gambar 2. Perbandingan viabilitas Membran Komposit HA/MgO dan nHA/MgO

Berdasarkan hasil uji korelasi *Pearson* dapat diketahui bahwa penambahan konsentrasi MgO terhadap membran HA menunjukkan nilai koefisien korelasi sebesar -0.473 yang berarti cukup kuat. Sedangkan hasil uji korelasi *Pearson* antara penambahan konsentrasi MgO terhadap membran nHA menunjukkan nilai koefisien korelasi sebesar -0.648 yang berarti kuat. Dari kedua uji korelasi *Pearson* menunjukkan sifat korelasi negatif yang berarti semakin tinggi penambahan konsentrasi maka viabilitas sel akan menurun,

PEMBAHASAN

Perbedaan viabilitas sel hidup pada membran nHA/MgO dibandingkan dengan membran HA/MgO berdasarkan uji *Independent T-Test* didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua membran. Hasil ini dapat disebabkan oleh dosis dan ukuran partikel nano*hydroxyapatite* yang digunakan, dimana dalam penelitian ini menggunakan nano*hydroxyapatite* dengan ukuran 270 nm. Nano*hydroxyapatite* dapat memiliki efek toksik pada sel fibroblas gingiva manusia dalam beberapa konsentrasi yaitu 2 dan 5 mg/ml[9]. Ukuran partikel nano*hydroxyapatite* memiliki luas permukaan yang lebih tinggi dan lebih kecil, sehingga memudahkan masuk ke dalam sel dan dapat meningkatkan proliferasi sel[14]. Pada periode waktu 2 minggu ditemukan partikel nHA dan disekelilingnya ditemukan beberapa sel seperti osteoklas pada defek[15]. Oleh karena itu, partikel nano dapat meningkatkan viabilitas sel hidup lebih baik dibandingkan dengan *hydroxyapatite* konvensional, karena nano*hydroxyapatite* dapat meningkatkan proliferasi sel.

Namun ukuran partikel nano yang kecil dapat memiliki efek toksisitas sehingga mempengaruhi laju pelepasan ion ke dalam sel, dimana semakin kecil ukuran partikel nano maka semakin cepat laju pelepasan ion dan meningkatkan interaksi dengan permukaan membran sel, sehingga efek toksisitas akan meningkat[9]. Ukuran nano partikel kurang dari 1 mm (1000 nm) dapat memasuki sel dan berinteaksi dengan sel, tetapi efek toksisitasnya belum diketahui. Ukuran nano partikel kurang dari 50 nm akan lebih cepat masuk ke dalam sel dan memberikan efek toksik yang lebih kuat dibandingkan dengan ukuran nano partikel 100-200 nm. Jika ukuran nano partikel dikurangi,

maka permukaan kontak dengan sel akan meningkat, tingkat oksidasi, dan kerusakan DNA juga akan meningkat [16]. Pengaruh ukuran nano partikel terhadap efek toksisitas tidak hanya berlaku pada nano*hydroxyapatite,* namun nanologam seperti Fe_3O_4, Al, MnO_2, MoO_3 dan W, SNPs (silver nanoparticles) yang memiliki ukuran nanopartikel sebesar 15 nm dan 100 nm dapat memberikan efek toksik yang lebih signifikan terhadap sel hati tikus BRL 3A[17].

Berdasarkan hasil uji korelasi *Pearson* pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara penambahan konsentrasi MgO dan viabilitas sel hidup (toksisitas membran) pada membran nHA/MgO, dimana semakin tinggi konsentrasi MgO maka toksisitas membran akan meningkat atau viabilitas sel hidup menurun. Penambahan MgO dalam konsentrasi tinggi akan memengaruhi kepadatan sel fibroblas, karena akan menimbulkan kenaikan pH yang signifikan dan akan melepaskan ion hidroksida pada lingkungan cair, sehingga kepadatan sel fibroblas akan menurun. Namun, setelah hari ketiga dan kelima kepadatan sel fibroblas akan kembali normal setelah terjadi penurunan pada saat awal pemberian MgO yang berkonsentrasi tinggi[18]. Jumlah MgO yang dapat ditambahkan yaitu sebesar 0.5% sampai 1.5%, karena pada konsentrasi ini telah menunjukkan biokompatibilitas yang baik dan dapat berperan dalam metabolisme tulang selama tahap penyembuhan tulang tanpa menimbulkan efek toksisitas[19] [20].

KESIMPULAN

Membran nHA/MgO 0.5% memiliki viabilitas sel hidup paling tinggi sebesar 92.68% dan dilanjutkan membran HA/MgO 0.5% sebesar 82.71%. Penambahan konsentrasi MgO yang semakin tinggi, maka akan menyebabkan viabilitas sel hidup HGF akan menurun.

DAFTAR PUSTAKA

1. Riset Kesehatan Dasar. 2008. (https://www.k4health.org/sites/default/files/laporanNasional%20Riskesdas%202007.pdf) Diakses April 2018
2. Maryani, Intan., Yayun Siti R., Anang Dwi P. 2018. Analisa Gel Kombinasi *Platelet Rich Plasma* dan *Chitosan* Terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblas Sebagai *Bone Regeneration* Pada Luka Pasca Ekstraksi Gigi Tikus Wistar. ODONTO Dental Journal. 8 (2): 89-96.
3. Selvia, N., K. Dahlan., S.U. Dewi. 2012. Sintesis dan Karakterisasi β-Tricalsium Phosphate Berbasis Cangkang Kerang Ranga pada Variasi Suhu Sintering. *Jurnal Biofisika*, 8 (1): 42-53
4. Erizal, Abbas B., Warastuti Y., dan Darmawan. 2013. Sintesis dan Karakterisasi Membran Komposit Kitosan-Hidroksi Apatit Berikatan Silang Sebagai Guided Tissue Regeneration (GTR). *Majalah Metalurgi*: 55-64.
5. Pascawinata, A., Prihartiningsih., Bambang Dwirahardjo. 2013. Perbandingan Proses Penyembuhan Tulang pada Implantasi *Hydroxyapatite* Nanokristalin dengan *Hydroxyapatite* Mikrokristalin (Kajian pada Tulang Tibia Kelinci). *Bagian Ilmu Bedah Mulut, FKG UGM*, 4(4): 237
6. Suryadi. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Biomaterial Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah. *Tesis.* Program Studi Teknik Metalurgi dan Material Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok.
7. Pepla E, Besharat LK, Palaia G, Tenore G, Migliau G. 2014. Nano-hydroxyapatite and its application in preventive and regenerative dentistry. *Journal of Medicine National Institutes of Health* 20;5(3):108-14.
8. Kattimani, Vivekanand Sabanna., Sudheer Kondaka., Krishna Prasad L. 2016. Hydroxyapatite – Past, present, and Future in Bone Regeneration. *Libertas Academica*. 7:9-19.
9. Ajdary, Marziyeh., Mohammad A.M., Marveh R., dkk. 2018. Health concerns of various nanoparticles: A review of their in vitro and in vivo toxicity. *Nanomaterials*, 1-28.
10. Sharma G., Soni R., dan Jasuja ND. 2017. Phytoassisted Synthesis of Magnesium Oxide Nanoparticles with Swertia chirayaita. *Journal of Taibah University for Science* 11: 471-477.
11. Hickey, Daniel J., Ercan B, Sun L, Webster. 2014. *Adding MgO nanoparticles to hydroxyapatite-PLLA nanocomposites for improved bone tissue engineering application.* Amerika: Elsevier.
12. Warastuti, Yessy., Emil Budianto., Darmawan. 2015. Sintesis dan Karakterisasi Membran Komposit Hidroksiapatit Tulang Sapi-Khitosan-Poli (Vinil Alkohol) Untuk Aplikasi Biomaterial. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. Vol. 16. No.2. Halaman 83-90.
13. Nur, Adrian., Arief Jumari., Heru Setyawan. 2012. Sintesis dan Karakterisasi *Monetite* Ukuran Nano Secara Elektrokimia. *Prosiding SNAST Periode III*, Hal. 226-232.
14. Na, Li., Gang WU., Hua YAO., Ruikang TANG., Xinhua GU., Chengwei TU. 2019. Size effect of Nano Hydroxyapatite on

proliferation of odontoblast like MDPC-23 cells. *Dental Materials Journal*, pp: 1-6.

15. Martins, O., Figueiredo, M. H., Viegas, C., Dias, I., Azevedo, J., Vieira, T., Baptista, I. P.. Guerra, F. 2011. Qualitative Evaluation of The Histological Bone Response to an Optimize Hydroxyapatite, *Journal De Parodontologie & d' implantologie Orale*, 30(2) :1-10.
16. Chithrani, B.D., Chan,W.C. Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes. Nano Lett. 2007, 7, 1542 − 1550.
17. Liu, Wei., Yuan Wu., Chang Wang., dkk. 2010. Impact of silver nanoparticles on human cells: Effect of particle size. *Nanotoxicology*. 4(3):319-330.
18. Hickey, Daniel J., Thomas J. Webster. 2015. *MgO Nanomaterials Improve Fibroblast Adhesion and Proliferation*. Materials Research Society.
19. Bernard, Sheldon Ainsworth. 2005. Influence of Silicon Dioxide, Magnesium Oxide and Zinc Oxide on Resorbable Tricalcium Phosphate Based Bioceramics. *Thesis*. Washington State University. Washington.
20. Swain, Subhasmita., Tapash Ranjan R., Ramaswamy N. 2016. Sr, Mg, and Co Substituted Hydroxyapatite Coating on TiO_2 Nanotubes Formed by Electrochemical Methods. *American Scientific Publisher*, 22 (2): 482-487(6)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA