

PENGUJIAN SEM DAN BIODEGRADASI MATERIAL *DICALCIUM PHOSPHATE DIHYDRATE* (DCPD) BERBAHAN CANGKANG RAJUNGAN

*Abid Muflih Ernandara, Athanasius Priharyoto Bayuseno, Rifky Ismail

Departemen Teknik Mesin, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Sudharto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. +62247460059

*E-mail: abidmuflih00@gmail.com

Abstrak

Dicalcium Phosphate Dihydrate (DCPD) termasuk dalam salah satu jenis kalsium fosfat yang dapat dibuat dengan bahan baku alami seperti cangkang rajungan (*Portunus Pelagicus*). Bahan baku dari cangkang rajungan memiliki potensi dalam sintesis *dicalcium phosphate dihydrate* untuk aplikasi di dunia medis yaitu sebagai bahan *calcium phosphate cement* (CPC) yang digunakan untuk perawatan tumor tulang jinak. Menggunakan bahan baku cangkang rajungan dapat menguntungkan, karena murah, ketersediaannya terbilang besar dan mudah didapat. Cangkang rajungan memiliki kandungan kalsium karbonat sebesar 70%. Penelitian ini bertujuan untuk sintesis DCPD menggunakan metode *aqueous* berbahan cangkang rajungan dengan tiga variasi waktu pengadukan yang berbeda dan karakterisasi menggunakan XRD, SEM, dan pengujian biodegradasi untuk mengetahui struktur kristal, morfologi, dan tingkat *biodegradable* biokeramik DCPD. Metodologi penelitian dilakukan secara kuantitatif dengan metode eksperimen dan analisis data bersifat kuantitatif/statistik, dengan tujuan untuk menguji dan membuktikan landasan teori yang telah ditetapkan. Proses sintesis DCPD dilakukan dengan mencampur cangkang rajungan yang terkalsinasi ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), asam fosfat (H_3PO_4), dan *aquades* dengan variasi waktu pengadukan 8, 16, dan 24 jam pada suhu 35 °C pada kecepatan *magnetic stirrer* sebesar 400 rpm. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini menunjukkan bahwa sintesis DCPD pada waktu reaksi 16 jam sebagai DCPD terbaik karena struktur kristal berupa monoklinik, morfologi yang berbentuk jajar genjang, dan tingkat *biodegradable* diatas 15 %.

Kata kunci: *aqueous*; cangkang rajungan; *dicalcium phosphate dihydrate*

Abstract

Dicalcium Phosphate Dihydrate (DCPD) belongs to one type of calcium phosphate that can be made with natural raw materials such as crab shells (*Portunus Pelagicus*). Raw materials from crab shells have the potential to synthesize *dicalcium phosphate dihydrate* for applications in the medical world, namely as *calcium phosphate cement* (CPC) material used for the treatment of benign bone tumors. Using crab shell raw materials can be profitable, because it is cheap, the availability is fairly large and easy to get. Crab shells have a calcium carbonate content of 70%. This study aims to synthesize DCPD using an *aqueous* method made from crab shells with three different variations in stirring time and characterization using XRD, SEM, and biodegradation testing to determine the crystal structure, morphology, and *biodegradable* level of DCPD bioceramics. The research methodology is carried out quantitatively with experimental methods and data analysis is quantitative / statistical, with the aim of testing and proving the theoretical foundations that have been set. The DCPD synthesis process is carried out by mixing a calcined crab shell ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), phosphoric acid (H_3PO_4), and *aquades* with a variation in stirring time of 8, 16, and 24 hours at a temperature of 35 °C at a magnetic stirrer speed of 400 rpm. The results obtained from this study show that the synthesis of DCPD at a reaction time of 16 hours as the best DCPD is due to monoclinic crystal structure, morphology in the form of parallelograms, and a *biodegradable* level above 15%.

Keywords: *aqueous*; crab shells; *dicalcium phosphate dihydrate*

1. Pendahuluan

Tulang merupakan salah satu bahan alami yang terbuat dari komponen organik maupun anorganik. Meskipun tulang memiliki kemampuan untuk memperbaiki dirinya sendiri setelah kerusakan, dalam kasus patah tulang kompleks yang gagal sembuh dengan baik, karena menimbulkan risiko kesehatan yang signifikan bagi pasien, diperlukan pencangkokan tulang. Cangkok tulang dapat berupa autograft, allograft atau sintetis dengan sifat mekanik yang mirip

dengan tulang. Sebagian besar cangkang tulang diperkirakan akan diserap kembali dan diganti saat tulang alami sembuh selama beberapa bulan. Pengganti tulang yang ideal harus memiliki sifat osteokonduktif dan osteoinduktif [1].

Tumor tulang jinak terutama terjadi pada anak-anak dan remaja, dan hampir 42% dari semua lesi tulang, termasuk jinak dan etiologi ganas, terjadi dalam dua dekade pertama kehidupan. Namun, angka ini mungkin diremehkan, sebagai mayoritas tumor jinak tidak terdaftar dalam database klinis, karena fitur klinis tumor jinak yang hadir dengan tanpa gejala. Perawatan bedah diperlukan ketika pasien menunjukkan fraktur patologis atau agresif secara lokal tumor jinak, termasuk tumor sel raksasa dan kondroblastoma. Selain itu, pasien bergejala mengeluh nyeri berulang atau menunjukkan rentang gerak terbatas di sendi yang terkena dipertimbangkan untuk perawatan bedah. Tumor tulang anak tetap menjadi bidang yang menantang bagi ahli bedah tumor ortopedi. Karena sifat aktif dari tumor meta-epifisis dan kerusakan iatrogenik pada pertumbuhan piring, operasi yang dilakukan pada jenis tumor ini mungkin sering menyebabkan untuk kelainan bentuk anggota tubuh progresif. Pertimbangan khusus harus diberikan kepada pasien tumor anak, tidak hanya untuk pasien tumor anak, tidak hanya untuk kontrol tumor lokal, tetapi juga untuk fungsional jangka panjang dan hasil perkembangan anggota tubuh [2].

Ada berbagai strategi perawatan bedah untuk tumor tulang jinak, terdiri dari kuretase, kuretase dengan okulasi tulang *autologous/allogeneic*, dan kuretase dengan buatan pencangkokan tulang. *Calcium phosphate cement* (CPC) adalah sebuah suntik pengganti tulang biokompatibel yang telah digunakan untuk berbagai aplikasi dalam bedah ortopedi, karena mudah penanganan, kekuatan mekanik yang tinggi dan osteokonduktif yang baik sifat biologis. Sebuah studi sebelumnya melaporkan bahwa CPC menawarkan pengganti tulang yang berguna untuk perawatan tulang dan tumor jaringan lunak, namun waktu tindak lanjutnya singkat (18,5 bulan). Kasus-kasus dari 33 pasien dengan tumor tulang jinak yang diobati dengan kuretase dan implantasi CPC selanjutnya ditinjau secara retrospektif. Pasien terdiri dari 13 pria dan 20 wanita, dengan usia rata-rata 13 tahun dan waktu tindak lanjut rata-rata 79 bulan. Semua pasien masih hidup pada saat peninjauan. Tidak ada toksisitas terdeteksi dalam tes darah rutin. Radiografi telah digunakan untuk mengkonfirmasi bahwa CPC telah beradaptasi dengan baik dengan sekitarnya tulang inang, meskipun resorbabilitas CPC tidak diperoleh untuk semua pasien pada tindak lanjut akhir. Dari studi ini merekomendasikan bahwa sifat-sifat CPC harus dipertimbangkan dan diterapkan pada rekonstruksi cacat tulang setelah kuretase tumor tulang [2].

Biomaterial merupakan bidang dengan berbagai disiplin ilmu yang membutuhkan pengetahuan dan pemahaman dasar dari sifat-sifat material secara umum dan interaksi material dengan lingkungan biologis. Biomaterial digunakan sebagai material dasar yang diaplikasikan untuk kepentingan medis. Jenis-jenis biomaterial antara lain biokeramik, biopolimer, biokomposit, dan biologam [3].

Pengembangan sintesis biomaterial sudah banyak dilakukan, namun pada saat ini biomaterial yang telah dihasilkan menimbulkan permasalahan terjadinya infeksi dalam proses pembedahan tulang. Biomaterial untuk implan berbahan keramik atau *bioceramics* menjadi perhatian untuk dikembangkan dengan sifatnya yang biokompatibel, tidak beracun, non inflamasi dan bioaktif dapat mencegah adanya infeksi yang sering terjadi pada proses pembedahan dan sebagai material yang menjanjikan untuk menyembuhkan kerusakan pada tulang dan gigi [4].

Salah satu biokeramik yang dapat dijadikan bahan pembuatan CPC adalah *dicalcium phosphate dihydrate* (DCPD) atau disebut *brushite*. *Brushite* digunakan dipersiapkan mineral *tetracalcium phosphate*, yang merupakan komponen bubuk untuk *calcium phosphate cement* (CPC). CPC kemudian disusun dari TTCP dan larutan pengerasan berbasis fosfat. Evaluasi *in vitro* dari CPC yang dihasilkan menggunakan *Hanks Balanced Salt Solution* menghasilkan pertumbuhan kristal nanofibrous dari *Calcium-deficient Hydroxyapatite* (CDHA) yang kekurangan kalsium pada permukaan CPC. CPC yang dikultur menunjukkan jaringan ikat baru dan di seluruh matriks CaP [5].

Brushite (*dicalcium phosphate dihydrate*, DCPD) dianggap sebagai salah satu kemungkinan prekursor fase apatit yang merupakan komponen mineral tulang, dan sering digunakan dalam persiapan biomaterial untuk perbaikan jaringan keras. DCPD tidak hanya dapat disimpan sebagai pelapis untuk implan ortopedi, tetapi juga dikenal sebagai awal bahan dalam pembuatan biokeramik kalsium fosfat lainnya. Sejauh ini, DCPD telah diterapkan sebagai banyak bahan fungsional, seperti konstituen abrasif pasta gigi, aditif pakan, dan senyawa pengolahan air [6].

Bahan dasar yang digunakan untuk sintesis *dicalcium phosphate dihydrate* adalah limbah cangkang rajungan. Pada tahun 2019 produksi rajungan di Jawa Tengah mencapai 161 ton untuk memenuhi kebutuhan domestik dan ekspor (Merdeka.com, 2020). Jumlah cangkang yang dihasilkan dari total produksi rajungan yang dihasilkan di Jawa Tengah sebesar 50% [7]. Artinya pada tahun 2019, provinsi Jawa Tengah menghasilkan limbah cangkang rajungan sebesar 80,5 ton. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan bahwa limbah rajungan sangat melimpah dan mudah ditemukan di provinsi Jawa Tengah. Pembuangan limbah padat berupa cangkang rajungan yang tidak tepat dapat menyebabkan pencemaran lingkungan yang dapat menurunkan kualitas hidup masyarakat.

Berbagai limbah cangkang seperti limbah cangkang rajungan memiliki kandungan kalsium yang sangat tinggi, dimana kandungan kalsium yang tinggi ini dapat dimanfaatkan menjadi produk yang lebih bermanfaat. Pemanfaatan kalsium yang dapat dilakukan ialah dengan merubah kalsium menjadi PCC (*Precipitated Calcium Carbonat*) dengan metode yang digunakan yaitu metode karbonasi. Selain itu, proses kalsinasi cangkang rajungan dapat dimulai dari reduksi ukuran cangkang rajungan yang sudah dibersihkan dan dikeringkan menggunakan alat *blender*. Setelah itu cangkang rajungan dihancurkan dan disaring menggunakan *mesh* 100. Kemudian, serbuk tersebut dikalsinasi menggunakan *Furnace Chamber Thermolyne F6010* pada suhu 900°C selama 5 jam untuk menghilangkan senyawa organik yang terkandung pada cangkang rajungan [8].

Proses pembuatan DCPD dilakukan dengan bahan baku H_3PO_4 dan $Ca(OH)_2$ dilakukan pada kondisi operasi $35^\circ C$. H_3PO_4 yang digunakan dengan kemurnian 85% dan $Ca(OH)_2$ memiliki kemurnian sebesar 96%. Konsentrasi larutan H_3PO_4 dan $Ca(OH)_2$ yang digunakan adalah 2 M. Proses pembuatan DCPD dilakukan dengan cara mereaksikan larutan H_3PO_4 dan larutan $Ca(OH)_2$ untuk membentuk endapan DCPD ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$). Setelah terbentuk endapan, maka endapan dipisahkan dari larutan induknya. Karena ukuran partikel belum sesuai dengan ukuran standar untuk *feed additive* pada pakan ternak maka dilakukan proses *kristalizer*. Setelah itu, padatan dipisahkan dari larutan induknya kemudian dikeringkan [9].

Dengan memperhatikan bahan baku alami yaitu cangkang rajungan yang dapat menjadi bahan sintesis DCPD karena ketersediaan bahan yang berlimpah dan murah. Dengan belum digunakannya cangkang rajungan sebagai bahan baku sintesis DCPD, penelitian ini menggunakan proses ekstraksi kalsium dari cangkang rajungan untuk mendapatkan senyawa $CaCO_3$, yang dimana akan disintesis menjadi dikalsium fosfat dihidrat dengan 3 variasi waktu pengadukan, yaitu 8 jam, 16 jam, dan 24 jam untuk mendapatkan bahan biokeramik yang bersifat *biodegradable*. Oleh karena itu, diharapkan selain menghasilkan DCPD yang *biodegradable* juga dapat dijadikan sebagai salah satu material untuk solusi perawatan tumor tulang jinak. Penelitian material jenis ini sudah pernah dilakukan sebelumnya [10,11,12].

2. Bahan dan Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah melakukan percobaan sebanyak empat proses. Proses pertama melakukan reduksi ukuran limbah cangkang rajungan. Proses kedua melakukan kalsinasi terhadap cangkang rajungan yang sudah menjadi bubuk. Proses ketiga melakukan sintesis *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) dari bahan cangkang rajungan yang sudah terkalsinasi, dimana penelitian ini berfokus pada 3 parameter waktu pengadukan. Hasil produk yang berupa serbuk cangkang rajungan, serbuk cangkang rajungan yang terkalsinasi, dan serbuk DCPD yang kemudian dikarakterisasi dengan metode *X-Ray Diffraction* (XRD), *Scanning Electron Microscopy* (SEM), dan pengujian biodegradasi.

2.1 Proses Kalsinasi Cangkang Rajungan

Tahap pertama melakukan reduksi ukuran cangkang rajungan dengan cara dibersihkan atau dicuci terlebih dahulu lalu dikeringkan dan dihaluskan dengan alat *ball milling* kemudian serbuk yang didapatkan akan disaring menggunakan *mesh* 100. Lalu 200 gram serbuk cangkang rajungan dikalsinasi dengan menggunakan *furnace chamber thermolyne* F6010 pada suhu $900^\circ C$ selama 5 jam untuk menghilangkan zat pengotor yang terkandung dalam serbuk cangkang rajungan, sehingga didapatkan serbuk cangkang rajungan yang terkalsinasi.

2.2 Proses Sintesis *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) dengan Metode *Aqueous*

Tahapan sintesis *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) dilakukan dengan mencampurkan 7,4 gram serbuk cangkang raungan terkalsinasi ($Ca(OH)_2$) dan 50 ml *aquades*, pada proses tersebut ditambahkan 50 ml asam fosfat ke dalam suspensi secara perlahan dengan menggunakan buret dengan kecepatan 2 ml/menit. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker* kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan variasi waktu reaksi 8 jam, 16 jam, dan 24 jam pada suhu konstan $35^\circ C$ serta kecepatan pengadukan sebesar 400 rpm dengan rasio molar Ca/P 1. Hasil endapan sintesis tersebut disaring menggunakan *vacuum filtration* dengan kertas saring *whatman* No.42 dan dikeringkan pada suhu $110^\circ C$ di dalam oven selama 2 jam lalu ditumbuk dengan mortar.

2.3 Karakterisasi *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD)

Serbuk DCPD kemudian dikarakterisasi menggunakan metode XRD, SEM, dan pengujian biodegradasi. Pengujian XRD yang dipakai menggunakan difraktometer *PANalytical Empyrean* dengan jenis *software PANalytical X'Pert High ScorePlus Version 3.0e*. dengan radiasi $Cu K\alpha$, 1.54 \AA ; 40 kV dan 40 mA. Jumlah sampel yang diuji pada karakterisasi XRD sebanyak 1 gram, kemudian dimasukkan kedalam *holder* yang berukuran $(2 \times 2) \text{ cm}^2$ pada difraktometer. Sudut awal diambil pada $10,01^\circ$ dan sudut akhir pada $79,99^\circ$ dengan kecepatan baca 2° per menit. Pengujian SEM menggunakan JEOL JSM – 6510LA dengan jangkauan energi 0 – 5 kV. Pengujian biodegradasi dilakukan dengan merendam biokeramik DCPA didalam larutan NaCl 3.5%. Dimana larutan NaCl 3.5% terdiri dari campuran 250 ml *aquades* dengan 8.75 gram NaCl. Pengujian biodegradasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan waktu perendaman 2 hari, 4 hari, dan 6 hari. Pengujian XRD, FTIR, dan SEM dilakukan di Laboratorium UPT Terpadu Universitas Diponegoro sedangkan pengujian biodegradasi dilakukan di Laboratorium Metalurgi Fisik Teknik Mesin Universitas Diponegoro.

3. Hasil dan Pembahasan

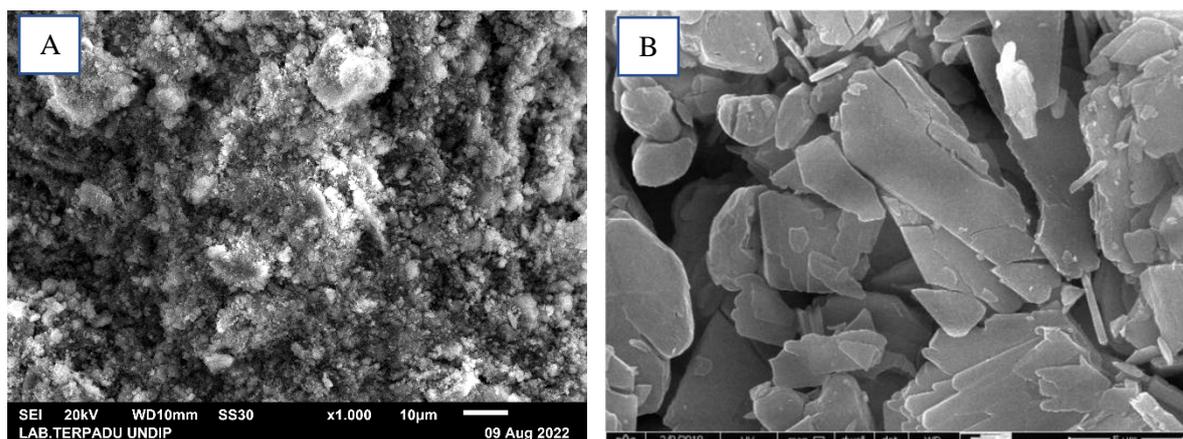
Hasil pengujian XRD *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) berbahan dasar cangkang rajungan menunjukkan hasil parameter *lattice* dari sintesis DCPD 3 variasi waktu pengadukan menunjukkan struktur monoklinik [13]. Parameter *lattice* dari sintesis DCPD 3 variasi waktu pengadukan sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya [1][13]. Sehingga berikut dibawah ini merupakan hasil parameter *lattice* struktur kristal dari *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) cangkang rajungan yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter *lattice* struktur kristal dari *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) cangkang rajungan yang dihasilkan melalui analisis *rietveld*

Jenis Sampel	a (Å)	b (Å)	c (Å)	α°	β°	γ°
DCPD [10]	5.81	15.18	6.24	90	116.43	90
DCPD [1]	5.81	15.18	6.24	90	116.43	90
DCPD 8 Jam	6.58	14.44	6.09	90	119.34	90
DCPD 16 Jam	6.36	15.18	5.81	90	118.52	90
DCPD 24 Jam	6.49	15.37	5.86	90	119.96	90

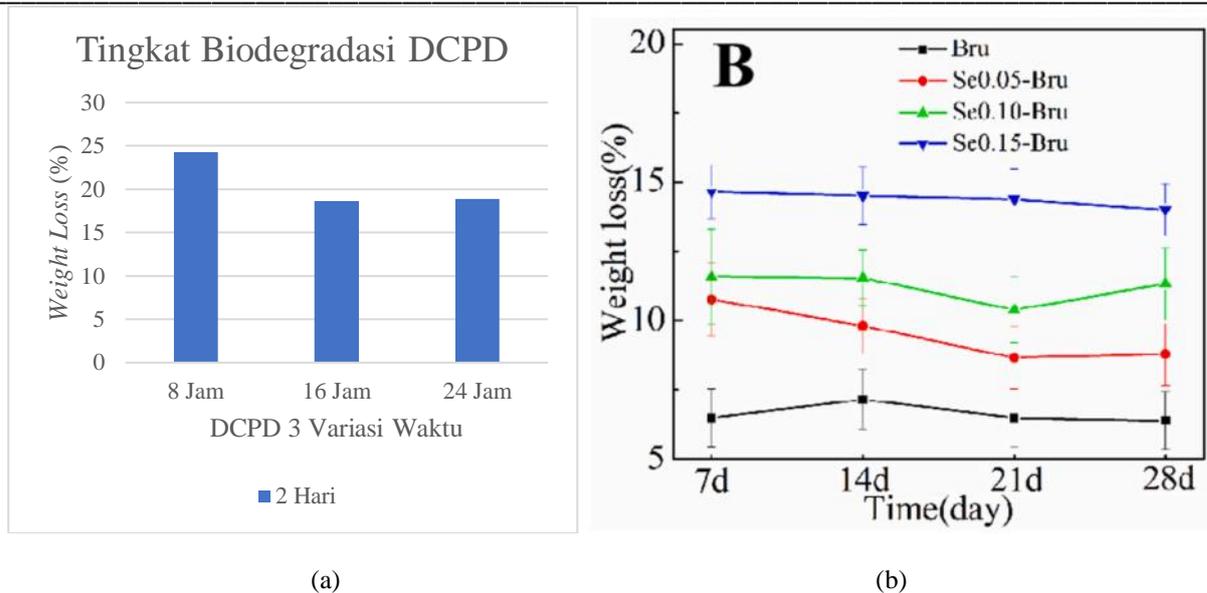
Pada DCPD 8 jam memiliki parameter dari $a = 6.58 \text{ \AA}$, $b = 14.44 \text{ \AA}$, $c = 6.09 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 119.34^\circ$, dan $\gamma = 90^\circ$. Sedangkan pada DCPD 16 jam memiliki parameter dari $a = 6.36 \text{ \AA}$, $b = 15.18 \text{ \AA}$, $c = 5.81 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 118.52^\circ$, dan $\gamma = 90^\circ$. Lalu pada DCPD 24 jam memiliki parameter dari $a = 6.49 \text{ \AA}$, $b = 15.37 \text{ \AA}$, $c = 5.86 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 119.96^\circ$, dan $\gamma = 90^\circ$. Apabila dilihat dari karakteristik serbuk DCPD 8 jam, nilai bilangan *axial relationships* tidak memiliki nilai yang sama ($a \neq b \neq c$) dan pada nilai bilangan *interangular angles* memiliki nilai yang sama antara α dan γ ($\alpha = \gamma = 90^\circ$). Lalu pada serbuk DCPD 16 jam, nilai bilangan *axial relationships* tidak memiliki nilai yang sama ($a \neq b \neq c$) dan pada nilai bilangan *interangular angles* memiliki nilai yang sama antara α dan γ ($\alpha = \gamma = 90^\circ$). Lalu pada serbuk DCPD 24 jam, nilai bilangan *axial relationships* tidak memiliki nilai yang sama ($a \neq b \neq c$) dan pada nilai bilangan *interangular angles* memiliki nilai yang sama antara α dan γ ($\alpha = \gamma = 90^\circ$). Oleh karena itu, serbuk DCPD 8 jam, serbuk DCPD 16 jam, dan serbuk DCPD 24 jam merupakan material yang memiliki struktur monoklinik, karena struktur monoklinik memiliki karakteristik pada *axial relationship* dengan nilai yang tidak sama ($a \neq b \neq c$) dan pada *interangular angles* dengan nilai yang sama antara α dan γ ($\alpha = \gamma = 90^\circ$) [14].

Selanjutnya adalah hasil pengujian SEM dari sintesis *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) berbahan dasar cangkang kerang hijau dengan 3 variasi waktu. Gambar 1 dibawah ini merupakan hasil morfologi dari *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) hasil sintesis menggunakan metode *aqueous* dengan menggunakan media *aquades* pada waktu sintesis 24 jam beserta hasil SEM jurnal acuan. Pada Gambar 1. (a) dapat dilihat bahwa secara keseluruhan morfologi DCPD hasil sintesis memiliki bentuk yang tidak beraturan. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya, memperlihatkan hasil morfologi *scanning electron microscope* (SEM) yang belum sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan pada tugas akhir ini [5].



Gambar 1. Morfologi hasil uji SEM *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) sintesis: (a) 24 jam dan (b) hasil DCPD jurnal acuan [5]

Selanjutnya adalah hasil pengujian biodegradasi terhadap 3 variasi waktu pengujian DCPD. Pada hasil pengujian biodegradasi apabila dibandingkan dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya [15], maka DCPD dengan 3 variasi waktu sintesis menunjukkan nilai *weigh loss* yang diatas 15%. Hal ini mengindikasikan bahwa material *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) berbahan dasar cangkang rajungan mempunyai tingkat biodegradasi yang sesuai pada penelitan yang pernah dilakukan sebelumnya [15], meskipun pengujian biodegradasi dilakukan dalam waktu perendaman yang lebih singkat. Sehingga grafik hasil pengujian *biodegradable* biokeramik DCPD cangkang rajungan ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik hasil pengujian biodegradasi (a) DCPD cangkang rajungan 3 variasi waktu reaksi dan (b) DCPD jurnal acuan [15]

4. Kesimpulan

Berdasarkan pada penelitian “Pengaruh Waktu Pengadukan Metode *Aqueous* Terhadap Sintesis dan Karakterisasi Biokeramik *Dicalcium Phosphate Dihydrate* (DCPD) Berbahan Cangkang Rajungan Sebagai Material Untuk Perawatan Tumor Tulang Jinak *Biodegradable*”, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut.

1. Sintesis *dicalcium phosphate dihydrate* berbahan cangkang rajungan menggunakan metode *aqueous* dengan media *aquades* secara keseluruhan berhasil dilakukan dan menghasilkan *dicalcium phosphate dihydrate* dengan kemurnian yang tinggi.
2. Penelitian ini membuktikan bahwa 3 variasi waktu pengadukan pada sintesis *dicalcium phosphate dihydrate* berbahan dasar cangkang rajungan metode *aqueous* dengan media *aquades* menghasilkan struktur kristal berupa monoklinik dan tingkat *biodegradable* yang tinggi, meskipun morfologi belum sesuai dengan hasil penelitian dari jurnal acuan.

5. Daftar Pustaka

- [1] Binitha, M. P., & Pradyumnan, P. P. 2013. “*Dielectric Property Studies of Biologically Compatible Brushite Single Crystals Used as Bone Graft Substitute*”. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 4, 119-122.
- [2] Nakamura, T., dkk. 2016. “*Treatment of Bone Defect With Calcium Phosphate Cement Subsequent to Tumor Curettage in Pediatric Patients*”. *Oncology Letters* 11, 247-252.
- [3] Anjasari, dkk. 2016. “*Sintesis Dan Karakterisasi Biokomposit BCP/Kolagen Sebagai Material Perancah Tulang*”. *JPHPI*, Volume 19 Nomor 3.
- [4] Prasetya, A. I. 2021. “*Pengaruh Waktu Penahanan Sintesis Hidrotermal Terhadap Karakteristik Hidroksiapatit Berbahan Cangkang Rajungan*”. Skripsi. Teknik Mesin, Universitas Diponegoro Semarang.
- [5] Issa, K., dkk. 2022. “*Brushite: Synthesis, Properties, and Biomedical Applications*”. *Intech Open*.
- [6] Toshima, T., Hamai, R., Tafu, M., Takemura, Y., Fujita, S., Chohji, T., dan Qin, G. W. 2014. “*Morphology Control of Brushite Prepared By Aqueous Solution Synthesis*”. *Journal of Asian Ceramic Societies*, 2(1), 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2014.01.004>.
- [7] Raya I., Mayasari E., Yahya A., Syahrul M., dan Latunra A. I. 2015. “*Synthesis and Characterization of Calcium Hydroxyapatite Derived from Crabs Shells (Portunus Pelagicus) and Its Potency in Safeguard against tu Dental Demineralizations*”. *International Journal of Biomaterials*, pp. 1-8.
- [8] Widiyanto, M. A. 2021. “*Pengaruh Waktu Pengadukan Terhadap Karakterisasi Sintesis Monocalcium Phosphate Monohydrate (MCPM) Berbahan Cangkang Rajungan*”. Skripsi. Teknik Mesin Universitas Diponegoro.
- [9] Choirunnisa, T., & Aryono, A.T. 2021. “*Pra Rancangan Pabrik Dikalsium Fosfat Dihidrat Dari Asam Fosfat dan Kalsium Hidroksida Dengan Kapasitas 30.000 Ton/Tahun*”. Skripsi. Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
- [10] Rahman A, Nurhidayat S, Bayuseno AP, Ismail R, Taqriban RB. Review of the temperature and holding time effects on hydroxyapatite fabrication from the natural sources. *Journal of Biomedical Science and Bioengineering* [Internet]. 2021 Apr 17 [cited 2023 Jan 23];1(1):27–31. Available from: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jbiomes/article/view/10669>

- [11] Prasetya AY, Darmanto D, Dzulfikar M. The Effect of Plasma Nitridation on Surface Hardness of Titanium Alloy (Ti-6Al-4V) for Artificial Knee Joint Applications. *Journal of Biomedical Science and Bioengineering* [Internet]. 2022 Jan 3 [cited 2023 Jan 23];1(2):49–53. Available from: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jbiomes/article/view/12666>
- [12] M. Ibadi, Y. Whulanza, and H. Purnomo, "Experimental and Numerical Evaluation of Mechanical Properties for Carbon Fiber Reinforced Epoxy LY5052 Composite for Prosthesis Structures," *Journal of Biomedical Science and Bioengineering*, vol. 2, no. 1, Nov. 2022. <https://doi.org/10.14710/jbiomes.2022.v2i1.%p>
- [13] Qiang Lu, B., dkk. 2020. "Introducing The Crystalline Phase of Dicalcium Phosphate Monohydrate". *Nature Communications*. (<https://doi.org/10.1038/s41467-020-15333-6>).
- [14] Callister, W.D., Rethwisch, D.G., 2009. "Materials Science And Engineering An Introduction,": 8th Edition, New Jersey : John Wiley & Sons, Inc, Hoboken.
- [15] Zhengjun, dkk. 2021. "Improvement of In Vitro Osteogenesis and Antimicrobial Activity of Injectable Brushite for Bone Repair By Incorporating With Se-loaded Calcium Phosphate". *Ceramic International* 47, 11144-11155.