



Optimasi Granul *Hydroxyapatite* Terdoping SrCO_3 Sebagai Anti-Bakteri Pada Aplikasi *Bone Filler* Dengan Menggunakan Metode Basah (*Wet Method*)

Rizky Fathur Rahman⁽¹⁾, Okky Fajar Tri Maryana⁽¹⁾, Dachyar Effendi⁽²⁾

⁽¹⁾ Program Studi Fisika, Jurusan Sains, Institut Teknologi Sumatera
Jln Terusan Ryacudu, Way Hui, Lampung Selatan 35365

⁽²⁾ Pusat Teknologi Material, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi
Kawasan PUSPITEK, Serpong, Tangerang 15314

ABSTRACT

Hydroxyapatite (HA) granules has been completed using the wet method as a bone filler application. The initial preparation of HA granules is done by making HA powder first. The main ingredients for making are DAP and Ca.Nit which are then made 3 variations, namely HA without doping, HA doping 2% mole SrCO_3 , and HA doping 4% mole SrCO_3 using precipitation and sintering techniques at a temperature of 650°C which is then sieved to 36 microns. Furthermore, the HA granule was made from 3 variations of HA powder using alginate which was then carried out by dropping and calcination techniques at a temperature of 1000°C . Determining the size and morphology of HA granules was carried out by SEM analysis and the results were 3 variations of HA granules that have spherical shapes and uneven morphology. EDS was used to determine the Sr element which was substituted into the HA of the doped granule. The peak phase of hydroxyapatite crystals in Ca-OH was obtained at the Miller index [1,1,2] for all HA granule samples. XRD and FTIR also analyzed the presence of a carbonated apatite compound so that it affected the Ca / P value. The Ca / P obtained was 1.626; 1.66; 1,657. The results of the E-coli bacteria test on NA media for the three variations of the sample that had resistance to bacteria were those that were doped with 2% mol of SrCO_3 as evidenced by the formation of a clear zone around the sample after incubation for 48 hours. So that the optimal sample used as bone filler granule HA is the one with 2 mol SrCO_3 doped.

Keywords : *Hydroxyapatite, bone filler, Miller Index, Clear Zone, DAP, Ca.Nit, Wet Method, Spherical, Carbonated Apatite.*

Introduction/ Pendahuluan

Keluarga apatit mengandung senyawa kristal anorganik dan ditunjukkan dengan rumus umum $\text{X}_{10}\text{Y}_6\text{Z}_2$ sedangkan biasanya kation bivalen seperti Ca^{2+} , Sr^{2+} , Pb^{2+} . Kation monovalen dan trivalen juga dapat menggantikan X, PO_4^{3-} dan CO_3^{2-} dimungkinkan substitusi untuk Y. anion monovalen seperti OH^- , F^- dapat terjadi Z. Karena bioaktivitas yang sangat baik, biokompatibilitas, insolubilitas dan kesamaan dengan tulang alami, hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ digunakan dalam aplikasi biomedis sebagai

pelapis untuk fiksasi, bahan pengisi untuk defek tulang [1–8].

Sr merupakan salah satu kation bivalen yang terkenal, dapat digunakan untuk substitusi dengan kalsium dalam HA, karena manfaat biologisnya. Ini digunakan dalam pengobatan osteoporosis selama bertahun-tahun, dan struktur mineral tulang memiliki strontium, terutama pada bagian dari peningkatan metabolisme [9-12].

Unsur Strontium (Sr) dapat ditemukan di batuan berkapur, air laut dan bahan alam [13]. Sebagian besar kandungan Sr dalam tubuh total terletak di jaringan tulang, dan itu adalah elemen bone-seeking alami

karena kemiripan struktur fisik dan kimianya dengan kalsium [14]. Selain itu, para peneliti telah menunjukkan dua khasiat ion strontium untuk meningkatkan pembentukan tulang dan menurunkan resorpsi tulang. Stronsium dapat diganti dengan kalsium di seluruh komposisi dalam struktur HA [15-20]. Sampai saat ini, substitusi dalam HA telah dilakukan untuk mengasimilasi struktur dengan komposisi kimiawi tulang alami, meningkatkan sifat biologis, mekanis dan antibakteri atau menurunkan kelarutan [11, 20-27].

Penambahan Sr dalam kristal tulang menyebabkan jarak Sr-OH lebih besar dari Ca-OH karena ioniknya lebih besar diameter Sr dalam mineral tulang. Oleh karena itu, pengurangan energi kisi dan kristalinitas mungkin terjadi. Penambahan Sr dalam mineral tulang dapat menyebabkan perubahan struktur apatit seperti perubahan kristalinitas dan parameter kisi. Parameter kisi dari Sr tersubstitusi HA (Sr-HA) meningkat dengan meningkatkan jumlah Sr [18]. Sr-HA digunakan sebagai bahan baku bubuk untuk pembuatan granul *hydroxyapatite* dan hasil menunjukkan bahwa hal itu menyebabkan peningkatan sifat biologis in vitro dan operasi in vivo [19-21].

Prosedur suhu tinggi seperti penyemprotan termal, kalsinasi dan sintering sangat penting untuk memproduksi apatit untuk aplikasi biomedis [22]. Namun, stoikiometri HA memiliki struktur yang stabil hingga 1200 C [23, 24].

Dalam studi ini, HA awalnya diproduksi dengan metode pengendapan kimia basah menggunakan teknik presipitasi tanpa doping, terdoping 2% mol SrCO_3 dan 4 % mol SrCO_3 kemudian dikeringkan dengan suhu 650°C dan di ayak dengan ukuran partikel 36 mikron. Kemudian, HA hasil ayakan dibuat menjadi granul HA dengan menggunakan teknik penetasan yang ditambahkan larutan alginate dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Granul HA dikalsinasi pada

1000°C. Granul HA murni dan Sr-doped di analisis untuk diketahui morfologi, spherisitas, fasa, gugus fungsi, serta sifat anti bakteri.

Method/ Metode

Hydroxyapatite (HA) tanpa doping dan HA yang ditambahkan SrCO_3 diproduksi dengan presipitasi kimia dengan menggunakan *kalsium nitrat tetra hidrat* ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, MERCK), *stronsium karbonat* (SrCO_3 , MERCK) dan *diammonium hidrogen fosfat* ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, MERCK). Semua reaktan dilarutkan dalam air deionisasi secara individual. Larutan strontium ditambahkan ke dalam larutan kalsium pada langkah pertama, kemudian larutan fosfat ditambahkan ke dalam larutan kalsium dan stronsium. Nilai pH diatur sesuai yang dianjurkan menjadi 10 pada HA dengan larutan amonia (NH_4OH , MERCK). Rasio molar Sr / (Ca+Sr) dipilih sebagai 2, 4 mol%, dan juga rasio molar (Ca+Sr) / P ditetapkan menjadi 1.67. Larutan HA dicampur dengan kecepatan stirrer 6 rad/s dan diendapkan selama 24 jam pada suhu kamar. Endapan HA secara langsung dipisahkan dengan penyaringan vakum menggunakan aquadest dan etanol 96%. Bubur HA yang telah difiltrasi diekspos dengan pengeringan furnace selama 3 jam pada suhu 650°C.

HA serbuk tanpa doping, doping 2% mol SrCO_3 , dan doping 4% mol SrCO_3 dilakukan pembentukan granul HA dengan menggunakan teknik penetasan dimana HA serbuk dilakukan pencampuran dengan larutan alginate dan pada saat proses penetesannya digunakan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M. Setelah granul HA terbentuk selanjutnya dilakukan pencucian granul HA dengan menggunakan aquadest dan etanol 96% yang kemudian dilakukan kalsinasi pada suhu 1000°C selama 3 jam dengan menggunakan furnace.

Hasil produk granul HA pada furnace kemudian dilakukan proses pengujian dan analisis pada mikroskop OM untuk mengetahui morfologi awal, sferisitas, dan ukuran granul HA yang dihasilkan dengan mengambil tiga sampel acak dari sampel granul HA tanpa doping, doping 2%mol SrCO₃, dan doping 4% mol SrCO₃ dibawah mikroskop OM dengan menggunakan perbesaran 220 kali (merah), 550 kali (kuning), 1100 kali (hijau) dan kemudian dilakukan pengolahan data pada aplikasi *Infinity Analyze*.

Untuk mengetahui gambaran dan morfologi permukaan granul *hydroxyapatite* (HA) yang dihasilkan lebih detail maka dilakukan pengujian dan analisis menggunakan alat SEM (*Scanning Electron Microscopy*) yang dianalisa pada perbesaran 500 kali, 1000 kali, 5000 kali, dan 10000 kali menggunakan analisis bse dan mix. Sementara itu, untuk menentukan unsur yang terkandung pada granul HA, maka dilakukan pengujian dan analisis EDS (*Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*) yang dalam hal ini diharapkan munculnya unsur Sr setelah dibuat granul HA yang bias bersifat sebagai anti bakteri.

Material granul HA dikarakterisasi menggunakan alat *X-ray Diffractometer* dengan pengukuran standar *2-Theta of 3-90° with standard scanning speed (10 deg/min) and standard step-width (0.02 deg)* yang berada di PT. GLABS Indonesia, Citarum-Bandung. Alat ini beroperasi pada tegangan generator 30 kV dengan arus tabung sebesar 30 mA. Sumber radiasi sinar-X yang digunakan adalah copper, memiliki panjang gelombang sebesar 0,54106 Å. Sampel hasil sintesis ditempatkan pada suatu spesimen holder kemudian diletakkan pada difraktometer. Data dikumpulkan pada kisaran 2θ dari 5° sampai 70° dengan *scan step* 0.05° dan *time per step* 1 detik. Dari analisa XRD diperoleh data puncak - puncak difraksi dan

sudut 2θ yang digunakan untuk mengetahui parameter kisi, fasa yang terbentuk serta ukuran kristal (*crystal size*). Untuk mencocokkan puncak-puncak difraksi digunakan program *HighScore Plus* yang telah dilengkapi dengan ICOD (*International Crystallography Open Data*) dan ICDD (*International Center of Diffraction Data*). Database berguna sebagai pembandingan dari data XRD hasil pengujian. Identifikasi fasa dicapai dengan membandingkan pola difraksi sampel dengan ICDD-PDF2 (*International Center for Diffraction Data-Powder Diffraction File 2*).

Untuk menentukan parameter kisi kristal dapat dicari menggunakan persamaan (1). Hubungan antara jarak antar kisi (d) dengan parameter kisi (a,c) struktur heksagonal :

$$\frac{1}{d^3} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + l^2}{a^2} \right) + \frac{1}{c^2} \dots\dots(1)$$

Karakterisasi ini dilakukan terhadap sampel-sampel granul HA yang telah dilakukan kalsinasi pada suhu 1000°C. Dimana terdiri atas tiga sampel granul HA terdoping SrCO₃ 2% mol, 4%mol dan tanpa doping.

Untuk menentukan gugus fungsi dari sampel granul HA tanpa doping, doping SrCO₃ 2% mol dan SrCO₃ 4% mol dilakukan pengujian dan analisis sampel dengan menggunakan alat FTIR (*Fourier Transformed Infrared*) BRUKER model TENSOR 37 yang berada di PTM-BPPT PUSPITEK-Serpong. Dengan hasil keluaran yang diharapkan terdapat gugus fungsi dari Ca(OH), PO₄, dan Sr (OH).

Untuk mengetahui sifat granul HA bersifat sebagai anti bakteri. Maka dilakukan pengujian anti bakteri untuk ketiga sampel granul HA yakni tanpa doping, doping SrCO₃ 2% mol dan SrCO₃ 4%mol. Metode pengujian yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode *sumur difusi* dimana

dibuatkan terlebih dahulu media agar sebagai media pertumbuhan bakteri dengan *Nutrient Agar* (NA). Setelah media jadi, kemudian selanjutnya dilakukan swab bakteri *e-coli*.

Granul HA dimasukkan kedalam *sumur difusi* yang dilarutkan terlebih dahulu dengan aquadest steril dengan perbandingan 1:1. Kemudian didiamkan dalam inkubator pertumbuhan bakteri selama 24 – 48 jam. Amati perumbuhan bakteri dengan melihat luasan zona bening yang timbul disekitar area yang terdapat sample granul HA.

Result and Discussion

3.1.Hasil Analisis Pengujian Mikroskop OM

Telah dilakukan pembuatan granul *hydroxyapatite* (HA) dengan tiga variabel bebas yakni granul HA tanpa doping, doping SrCO_3 2% mol, doping SrCO_3 4% mol. Untuk mengetahui gambaran permukaan granul HA, telah dilakukan pengujian dan analisis menggunakan mikroskop OM dengan menggunakan perbesaran lensa objektif 220 kali (merah), 550 kali (kuning), 1100 kali (hijau). Serta untuk mengetahui ukuran diameter telah dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan aplikasi *Infinity Analyze*. Dengan hasil citra gambar dan diameter tertampil dalam bentuk gambar dan analisis dibawah ini:

3.1.1 Citra Permukaan Granul *Hydroxyapatite* (HA)

3.1.1.1 Granul HA Tanpa Doping

1. Lensa Objektif Merah Perbesaran 220 Kali



Gambar 3.1.1.1.1 Citra Permukaan Granul HA Tanpa Doping Perbesaran 220 kali

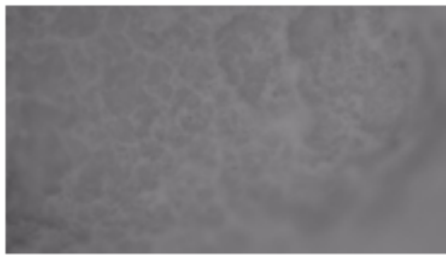
Berdasarkan data hasil pengujian mikroskop OM granul HA tanpa doping dengan perbesaran lensa objektif 220 kali dapat dianalisis bahwa granul jika dilihat dari berbagai sisi atas, bawah, kanan, dan tengah, sampel acak yang di uji ini memiliki sferisitas yang baik karena hampir mendekati bulat. Hal ini dipengaruhi oleh komposisi $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang baik mengingat menggunakan konsentrasi 0,1 M yang dimana dari konsentrasi tersebut dapat mempengaruhi viskositas dari larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ itu sendiri.

Ca.Alginat yang diteteskan kedalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ memiliki viskositas yang lebih tinggi. Sehingga ketika alginat mengikat kalsium dan kemudian dijatuhkan dari jarak tertentu dan tekanan tertentu yang tepat, maka Ca.Alginat akan membentuk bagian paling sederhana yaitu membentuk lingkaran yang dipengaruhi juga oleh gravitasi. Larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ membantu Ca.Alginat menjadi bentuk solid. Bentuk bulatnya tidak akan terlalu terpengaruh apabila komposisi konsentrasi yang mempengaruhi kekentalan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tidak terlalu tinggi. Sehingga dinding Ca.Alginat tidak terlalu mendapat pengaruh besar akibat gesekan *viskositas*.

Jika yang kita lihat hasil permukaan yang tidak halus pada skala mikroskopik diperbesaran 220 kali. Hal ini disebabkan karena Ca.Alginat terkomposisi dalam

bentuk gumpalan antar senyawanya karena alginate yang berfungsi melekatkan Ca. Selain itu juga ada faktor pemanasan dan kalsinasi dimana unsur air yang sebelumnya bergabung bersama Ca. Alginat teroksidasi sehingga hanya menyisakan gumpalan-gumpalan kalsium dan senyawa lainnya. Dan hal ini mengakibatkan permukaannya tidak halus jika dilihat menggunakan skala mikroskopik.

2. Lensa Objektif Kuning Perbesaran 550 Kali



Keseluruhan bagian

Gambar 3.1.1.1.2 Citra Permukaan Granul HA Tanpa Doping Perbesaran 550 kali

Pada lensa objektif kuning menggunakan perbesaran 550 kali dan dihasilkan citra permukaan seperti pada gambar 3.2. Pada perbesaran ini didapatkan gambar tampak secara keseluruhan dan tidak perbagian dari granul HA karena sampel di zoom atau diperbesar lebih dekat.

Permukaan yang dihasilkan sama seperti pada perbesaran sebelumnya yakni perbesaran 220 kali. Akan tetapi pada perbesaran 550 kali citra permukaan terlihat lebih dekat bagian-bagian permukaan yang tidak rata. Nampak terlihat bagian seperti gundukan dan lembah. Akan tetapi pada perbesaran ini, meskipun tampak gundukan dan lembah pada sampel terlihat lebih besar namun kemampuan fokus maksimal yang ditampilkan oleh citra gambar lebih baik yang ditampilkan pada perbesaran 220 kali. Karena pada perbesaran 550 kali ini area fokus lebih sempit dan tampak sedikit blur.

3. Lensa Objektif Hijau Perbesaran 1100 Kali



Keseluruhan bagian

Gambar 3.1.1.1.3 Citra Permukaan Granul HA Tanpa Doping Perbesaran 1100 kali

Pada lensa objektif hijau dengan perbesaran 1100 kali dihasilkan tampak citra permukaan granul HA tanpa doping. Penampakan yang dihasilkan dari perbesaran ini terlihat gundukan dan lembah lebih besar. Bentuk gundukan terlihat dengan warna lebih gelap dan bentuk lembah terlihat dengan warna lebih terang.

Meskipun citra permukaan yang dihasilkan lebih besar bentuk gundukan dan lembahnya. Akan tetapi fokus maksimal yang dihasilkan jauh menyempit dan lebih blur dari perbesaran sebelumnya di 550 kali dan 220 kali.

Dari perbesaran 220 kali, 550 kali dan 1100 kali kita dapat mengetahui bahwa bentuk permukaan granul HA ini berbentuk spherical dan bulat. Sementara itu untuk tampak permukaan dari perbesaran 220 kali, 550 kali dan 1100 kali mempertegas bahwa permukaan tidaklah rata melainkan terdapat gundukan dan lembah jika dilihat secara mikroskopik. Untuk citra maksimal dijelaskan pada hasil dan analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

3.1.1.2 Granul HA doping 2% mol SrCO_3

1. Lensa Objektif Merah Perbesaran 220 Kali



Gambar 3.1.1.2.1 Citra Permukaan Granul HA Doping 2% mol SrCO_3 Perbesaran 220 kali

Telah dihasilkan ke lima bagian citra penampakan permukaan HA granul. Dimana kelima bagian tersebut antara lain bagian atas, bagian bawah, bagian kanan, bagian kiri, dan bagian tengah dari granul HA. Kelima bagian ini diamati dengan menggunakan mikroskop OM dengan perbesaran lensa objektif 220 kali untuk granul HA dengan doping 2% mol SrCO_3 .

Analisis dari kelima bagian permukaan granul HA dengan doping 2% mol SrCO_3 pada perbesaran ini menunjukkan bahwa granul HA berbentuk *spherical* hampir mendekati bulat. Dapat berbentuk bulat karena setiap benda akan membentuk menjadi bentuk yang paling sederhana yaitu bulat ketika dilakukan penetesan. Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi adalah jarak penetesan yang pas antara larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan Ca .Alginat yang ditetaskan. Karena jika jaraknya tidak pas atau terlalu jauh maka akan mempengaruhi bentuk granul HA. Hal tersebut dikarenakan Ca .Alginat yang ditetaskan terlalu banyak kontak dengan udara sekitar dan tarikan gravitasi menjadi lebih besar, sehingga memungkinkan untuk berbentuk selain bulat atau bahkan memanjang. Konsentrasi $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ juga mempengaruhi terhadap *viskositas* atau kekentalannya. Sehingga ketika kekentalannya pas, maka $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hanya akan menjadi pengikat antara Ca dan

Alginat dan viskositas tidak terlalu berpengaruh terhadap bentuk granul HA yang di hasilkan. Sehingga ketika diamati menggunakan mikroskop akan berbentuk *spherical* dan mendekati bulat.

Gambaran permukaan granul HA yang dihasilkan dari perbesaran ini juga permukaannya tidak halus dan terdapat gundukan yang berwarna lebih gelap dan juga terdapat lembah yang berwarna lebih terang. Analisisnya disebabkan karena granul HA ini terbuat dari HA serbuk sebesar 36 mikron dan alginatpun berbentuk serbuk sebelum dilarutkan. Ketika HA dilarutkan dengan alginate, maka alginat akan mengikat Ca dalam HA. Sehingga ketika ditetaskan kedalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M alginate yang mengikat HA akan berbentuk sebagai gumpalan yang dibantu oleh $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebagai pengikat Ca .Alginat juga.

Selain itu faktor gesekan dengan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan kalsinasi suhu 1000°C juga mempengaruhi terhadap pembentukan gumpalan yang berwarna lebih gelap dengan lembah yang berwarna lebih terang. Hal ini dikarenakan kalsinasi dapat mengoksidasi senyawa air yang terkandung dan juga alginate. Yang menyebabkan juga penyusutan ukuran dari granul HA ketika sebelum di kalsinasi dan setelah dikalsinasi. Termasuk bentuk granul HA yang tidak halus atau tidak rata ini.

2. Lensa Objektif Kuning Perbesaran 550 Kali



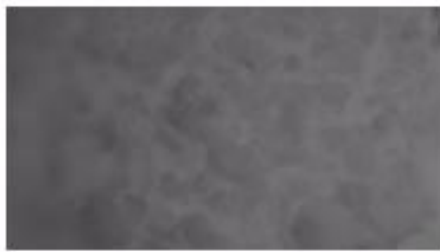
Keseluruhan Bagian

Gambar 3.1.1.2.1 Citra Permukaan Granul HA Doping 2% mol SrCO_3 Perbesaran 550 kali

Granul HA yang terdoping 2% mol SrCO_3 setelah dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop OM pada perbesaran 550 kali dapat terlihat keseluruhan bagian dari permukaannya lebih dekat. Permukaan yang terlihat melalui citra nampak tidak rata dan tidak halus karena semakin terlihat gundukan yang berwarna lebih gelap dan lembah yang terlihat lebih cerah.

Meskipun terlihat makin dekat, akan tetapi fokus maksimal dari area yang terlihat jelas lebih sempit dibanding dengan area yang menggunakan perbesaran 220 kali. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan terbaik dari mikroskop OM dalam mengamati sampel granul HA dengan ukuran ini maksimal pada perbesaran 220 kali. Meskipun tetap terlihat di perbesaran 550 kali dan 1100 kali, akan tetapi citra gambar yang dihasilkan kurang fokus dan kurang jelas.

3. Lensa Objektif Hijau Perbesaran 1100 Kali



Keseluruhan Bagian

Gambar 3.1.1.2.2 Citra Permukaan Granul HA Doping 2% mol SrCO_3 Perbesaran 1100 kali

Granul HA yang didoping dengan 2% mol SrCO_3 dapat diketahui hasil gambaran citra permukaan yang diamati dengan mikroskop OM melalui perbesaran 1100 kali dapat dilihat pada gambar 3.6. Pada gambar hasil tersebut ditampilkan citra keseluruhan dari granul HA yang dapat dianalisis bahwa gambar tersebut menampilkan bentuk permukaan granul yang tidak halus serta permukaan tersebut terdapat gundukan yang berwarna lebih gelap serta lembah yang diwakili oleh warna yang lebih terang.

Pada perbesaran 1100 kali menggunakan mikroskop OM ini didapatkan gambaran gundukan dan lembah yang lebih dekat dan besar. Akan tetapi dari segi fokus dan kejelasan gambar pada perbesaran ini kurang baik karena lebih blur dibandingkan perbesaran 220 kali dan 550 kali.

3.1.1.3 Granul HA doping 4% mol SrCO_3

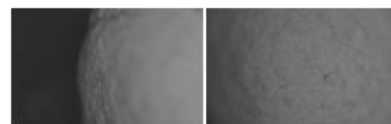
1. Lensa Objektif Merah Perbesaran 220 Kali



Bagian Atas

Bagian Bawah

Bagian Kanan



Bagian Kiri

Bagian Tengah

Gambar 3.1.1.3.1 Citra Permukaan Granul HA Doping 4% mol SrCO_3 Perbesaran 220 kali

Telah dilakukan pengamatan granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 menggunakan mikroskop OM dengan perbesaran 220 kali. Pada perbesaran ini didapatkan beberapa bagian citra permukaan dari granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 . Bagian tersebut antara lain bagian atas, bagian bawah, bagian kanan, bagian kiri, dan bagian tengah. Dari bagian-bagian citra permukaan granul HA tersebut dapat dianalisis bahwa granul HA yang dihasilkan berbentuk spherical bulat.

Pada sampel granul ini dihasilkan granul yang berbentuk *spherical* bulat dikarenakan beberapa faktor. Diantaranya adalah jarak penetasan yang baik dan pas. Dengan jarak penetasan yang pas dalam hal ini digunakan jarak penetasan sebesar 4cm dari ujung jarum sutik terhadap permukaan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ memungkinkan Ca .Alginat yang ditetaskan kedalam $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tidak

mendapat hambatan besar dari gravitasi dan gesekan dengan molekul udara. Karena jika jarak yang tidak pas dapat menyebabkan Ca.Alginat mendapat pengaruh gesekan lebih besar atau lebih kecil dengan molekul udara yang menyebabkan daya tarik gravitasi pun lebih kuat atau lebih lemah dan mempengaruhi bentuk granul HA yang dihasilkan berbentuk lebih lonjong ataupun gepeng.

Mengenai gambaran permukaan granul HA yang tidak rata dapat disebabkan oleh kalsium yang mengikat alginat yang terdiri atas gumpalan-gumpalan dan juga oleh faktor pengeringan dan kalsinasi yang dapat menyebabkan senyawa yang tadinya mengikat Ca seperti kalsium, hidroksida, dan air teroksidasi sehingga terjadi penyusutan ketika sebelum di kalsinasi dan setelah dikalsinasi dan menyebabkan permukaan granul HA yang diamati oleh mikroskop OM pada perbesaran 220 kali ini tidak rata.

2. Lensa Objektif Kuning Perbesaran 550 Kali



Keseluruhan Bagian

Gambar 3.1.1.3.2 Citra Permukaan Granul HA Doping 4% mol SrCO_3 Perbesaran 550 kali

Dari hasil pengamatan granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 dengan menggunakan mikroskop OM pada perbesaran 550 kali didapatkan hasil citra permukaan seperti yang tertera pada gambar 4.8. Hasil tersebut dapat dianalisis bahwa granul HA memiliki permukaan yang tidak rata serta terdapat gundukan yang berwarna lebih gelap dan

lembah yang berwarna lebih putih pada gambar.

Gundukan dan lembah tersebut menunjukkan ketidakrataan pada perbesaran ini. Gambar yang dihasilkan terlihat lebih besar disbanding perbesaran sebelumnyaakan tetapi intuk fokus gambar yang dihasilkan tidak mencakup keseluruhan *frame* gambar karena hanya fokus di satu titik saja sehingga perlu diamati lebih lanjut pada perbesaran berikutnya juga dengan alat SEM.

3. Lensa Objektif Hijau Perbesaran 1100 kali



Keseluruhan Bagian

Gambar 3.1.1.3.3 Citra Permukaan Granul HA Doping 4% mol SrCO_3 Perbesaran 1100 kali

Pada perbesaran 1100 kali lensa objektif telah dilakukan pengamatan di bawah mikroskop OM berupa granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 . Dapat dilihat untuk hasil permukaan granul ini pada gambar 4.9 yang tampak tidak rata seperti pada perbesaran dan sampel sebelumnya dari granul HA.

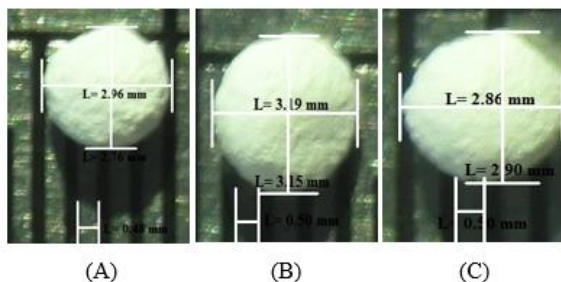
Pada perbesaran 1100 kali ini juga terlihat permukaan yang tidak rata serta terdapat gundukan yang terlihat lebih gelap dan lembah yang terlihat lebih terang. Akan tetapi pada perbesaran ini terlihat lebih besar untuk gundukan dan lembah meskipun fokus memang masih menjadi masalah untuk pengamatan menggunakan mikroskop OM ini pada perbesaran 550 kali dan 1100 kali untuk sampel granul HA. Sehingga permukaan perlu diamati

menggunakan alat *Scanning Electron Microscopy* (SEM) agar terlihat lebih jelas.

Sehingga dapat di ambil hipotesa untuk keseluruhan sampel granul HA yang diamati melalui mikroskop OM dalam berbagai perbesaran memiliki bentuk yang *spherical* bulat serta permukaan dari granul HA yang tidak rata.

3.1.2 Diameter Granul *Hydroxyapatite* (HA)

3.1.2.1 Granul HA Tanpa Doping



Gambar 3.1.2.1 Diameter Granul HA Tanpa Doping

Telah dilakukan pengamatan untuk menentukan ukuran diameter dari granul HA tanpa doping. Pengamatan pengukuran diameter dilakukan menggunakan aplikasi *Infinity Analyze* dan dilakukan 3 kali percobaan pada 3 sampel granul HA yang berbeda. Berdasarkan hasil pengamatan dapat dianalisis bahwa dari ketiga sampel HA memiliki ukuran yang berbeda baik diameter secara vertikal maupun diameter secara horizontal hal ini dapat terlihat seperti pada gambar 4.10. Ukuran dari diameter granul HA yang tertampil adalah sebagai berikut:

Sampel (A) : (L = 2,76 mm ; L = 2,96 mm)
Sampel (B) : (L = 3,15 mm ; L = 3,19 mm)
Sampel (C) : (L = 2,90 mm ; L = 2,86 mm)

Dari ketiga sampel granul HA murni yang dilakukan pengamatan bentuk granul HA dan diameter dapat diketahui bahwa bentuk granul HA murni ini secara keseluruhan yang diberi perlakuan sama memiliki bentuk *spherical* bulat. Akan tetapi dari

ukuran diameter memiliki sedikit selisih besaran antara sampel A, B, dan C.

Meskipun diberi perlakuan sama dalam pembuatan granul HA. Konsentrasi doping tidak mempengaruhi dari *spherisitas* dari granul HA yang dihasilkan. Berdasarkan *Boon-Beng Lee* dalam jurnal *Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Extrusion Dripping* yang mempengaruhi sifat fisik dari granul HA yang dihasilkan adalah densitas, tekanan permukaan, viskositas, diameter penetes dan kecepatan penetes.

Dalam pembuatan granul HA ini teknik penetes yang digunakan adalah penetes yang dilakukan secara manual menggunakan jarum suntik berukuran

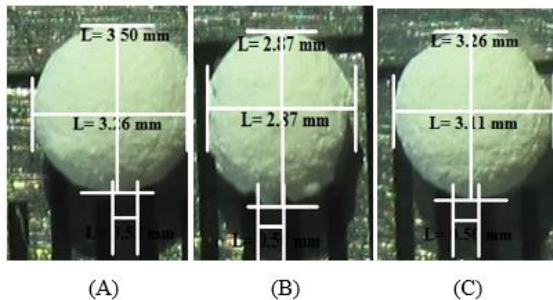
$18G \times 1\frac{1}{2}$ (1,20 × 38 mm). Ketika dilakukan teknik penetes secara manual yang paling berperan adalah tekanan yang diberikan oleh tangan kita terhadap jarum suntik. Ketika tekanan yang diberikan oleh tangan kita besar, maka Ca.Alginat yang keluar dari permukaan jarum suntik juga semakin cepat dan mempengaruhi droplet Ca.Alginat yang mengenai permukaan larutan $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ yang besar tekannya sehingga membuat gesekan dengan larutan $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ semakin besar dan mempengaruhi bentuk dari granul HA yang dihasilkan bias sedikit lonjong, gepeng, ataupun ukurannya lebih kecil. Karena ketika penetes yang dilakukan cepat akibat tekanan yang diberikan juga mempengaruhi jarak antara droplet Ca.Alginat berdekatan yang membuat pergerakan granul menjadi lebih sempit sehingga berpengaruh terhadap bentuk dan ukuran granul HA yang dihasilkan. [23, 24]

Normalnya berdasarkan literatur, droplet Ca.Alginat yang keluar dari ujung jarum suntik adalah 2 tetesan untuk setiap detik yang bertujuan untuk memberikan ruang atau jeda dari droplet menjadi granul ketika masuk kedalam larutan $CaCl_2 \cdot 2H_2O$

sehingga bentuk dan ukuran granul yang dihasilkan dapat seragam.

Dari ketiga sampel yang dilakukan pengamatan, sampel A dan sampel C yang memiliki ukuran hampir seragam dari granul HA murni yang dihasilkan.

3.1.2.2 Granul HA Doping 2% mol SrCO_3



Gambar 3.1.2.2.1 Diameter Granul HA Doping 2% mol SrCO_3

Pengamatan ukuran diameter granul HA doping 2% mol SrCO_3 dilakukan dengan menggunakan aplikasi *infinity analyze* yang dilakukan pengamatan kemada 3 sampel uji dengan hasil pengamatan sebagai berikut :

Sampel (A) : (L = 3,50 mm ; L = 3,26 mm)
Sampel (B) : (L = 2,87 mm ; L = 2,87 mm)
Sampel (C) : (L = 3,26 mm ; L = 3,11 mm)

Dari ketiga sampel granul HA murni yang dilakukan pengamatan bentuk granul HA dan diameter dapat diketahui bahwa bentuk granul HA murni ini secara keseluruhan yang diberi perlakuan sama memiliki bentuk *spherical* bulat. Akan tetapi dari ukuran diameter memiliki sedikit selisih besaran antara sampel A, B, dan C.

Meskipun diberi perlakuan sama dalam pembuatan granul HA. Konsentrasi doping tidak mempengaruhi dari *spherisitas* dari granul HA yang duhasilkan. Berdasarkan Boon-Beng Lee dalam jurnal *Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Estrusion Dripping* yang mempengaruhi sifat fisik dari granul HA yang dihasilkan adalah densitas, tekanan permukaan,

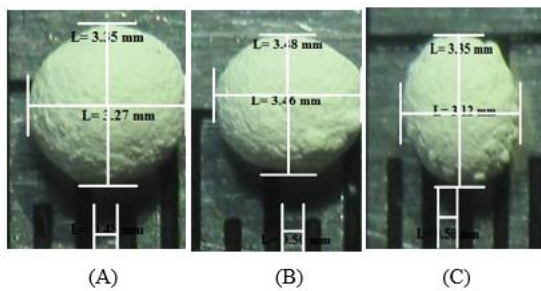
viskositas, diameter penetes dan kecepatan penetes.

Dalam pembuatan granul HA ini teknik penetes yang digunakan adalah penetes yang dilakukan secara manual menggunakan jarum suntik berukuran $18\text{G} \times 1\frac{1}{2}$ ($1,20 \times 38$ mm). Ketika dilakukan teknik penetes secara manual yang paling berperan adalah tekanan yang diberikan oleh tangan kita terhadap jarum suntik. Ketika tekanan yang diberikan oleh tangan kita besar, maka Ca.Alginat yang keluar dari permukaan jarum suntik juga semakin cepat dan mempengaruhi droplet Ca.Alginat yang mengenai permukaan larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ yang besar tekannya sehingga membuat gesekan dengan larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ semakin besar dan mempengaruhi bentuk dari granul HA yang dihasilkan bias sedikit lonjong, gepeng, ataupun ukurannya lebih kecil. Karena ketika penetes yang dilakukan cepat akibat tekanan yang diberikan juga mempengaruhi jarak antara droplet Ca.Alginat berdekatan yang membuat pergerakan granul menjadi lebih sempit sehingga berpengaruh terhadap bentuk dan ukuran granul HA yang dihasilkan. [23, 24]

Normalnya berdasarkan literatur, droplet Ca.Alginat yang keluar dari ujung jarum suntik adalah 2 tetesan untuk setiap detik yang bertujuan untuk memberikan ruang atau jeda dari droplet menjadi granul ketika masuk kedalam larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ sehingga bentuk dan ukuran granul yang dihasilkan dapat seragam.

Dari ketiga sampel yang dilakukan pengamatan, sampel B dan sampel C yang memiliki ukuran hampir seragam dari granul HA murni yang dihasilkan.

3.1.2.3 Granul HA Doping 4% mol SrCO_3



Gambar 3.1.2.3.1 Diameter Granul HA Doping 4% mol SrCO_3

Pengamatan ukuran diameter granul HA doping 2% mol SrCO_3 dilakukan dengan menggunakan aplikasi *infinity analyze* yang dilakukan pengamatan kemada 3 sampel uji dengan hasil pengamatan sebagai berikut :

Sampel (A) : (L = 3,35 mm ; L = 3,27 mm)

Sampel (B) : (L = 3,48 mm ; L = 3,46 mm)

Sampel (C) : (L = 3,35 mm ; L = 3,12 mm)

Dari ketiga sampel granul HA murni yang dilakukan pengamatan bentuk granul HA dan diameter dapat diketahui bahwa bentuk granul HA murni ini secara keseluruhan yang diberi perlakuan sama memiliki bentuk *spherical* bulat. Akan tetapi dari ukuran diameter memiliki sedikit selisih besaran antara sampel A, B, dan C.

Meskipun diberi perlakuan sama dalam pembuatan granul HA. Konsentrasi doping tidak mempengaruhi dari *spherisitas* dari granul HA yang duhasilkan. Bedasarkan *Boon-Beng Lee* dalam jurnal *Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Estrusion Dripping* yang mempengaruhi sifat fisik dari granul HA yang dihasilkan adalah densitas, tekanan permukaan, viskositas, diameter penetes dan kecepatan penetes.

Dalam pembuatan granul HA ini teknik penetes yang digunakan adalah penetes yang dilakukan secara manual menggunakan jarum suntik berukuran $18G \times 1\frac{1}{2}$ (1,20 × 38 mm). Ketika dilakukan teknik penetes secara manual yang paling berperan adalah tekanan yang diberikan

oleh tangan kita terhadap jarum suntik. Ketika tekanan yang diberikan oleh tangan kita besar, maka Ca.Alginat yang keluar dari permukaan jarum suntik juga semakin cepat dan mempengaruhi droplet Ca.Alginat yang mengenai permukaan larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ yang besar tekannya sehingga membuat gesekan dengan larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ semakin besar dan mempengaruhi bentuk dari granul HA yang dihasilkan bias sedikit lonjong, gepeng, ataupun ukurannya lebih kecil. Karena ketika penetes yang dilakukan cepat akibat tekanan yang diberikan juga mempengaruhi jarak antara droplet Ca.Alginat berdekatan yang membuat pergerakan granul menjadi lebih sempit sehingga berpengaruh terhadap bentuk dan ukuran granul HA yang dihasilkan. [23, 24]

Normalnya berdasarkan literatur, droplet Ca.Alginat yang keluar dari ujung jarum suntik adalah 2 tetesan untuk setiap detiknya yang bertujuan untuk memberikan ruang atau jeda dari droplet menjadi granul ketika masuk kedalam larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ sehingga bentuk dan ukuran granul yang dihasilkan dapat seragam.

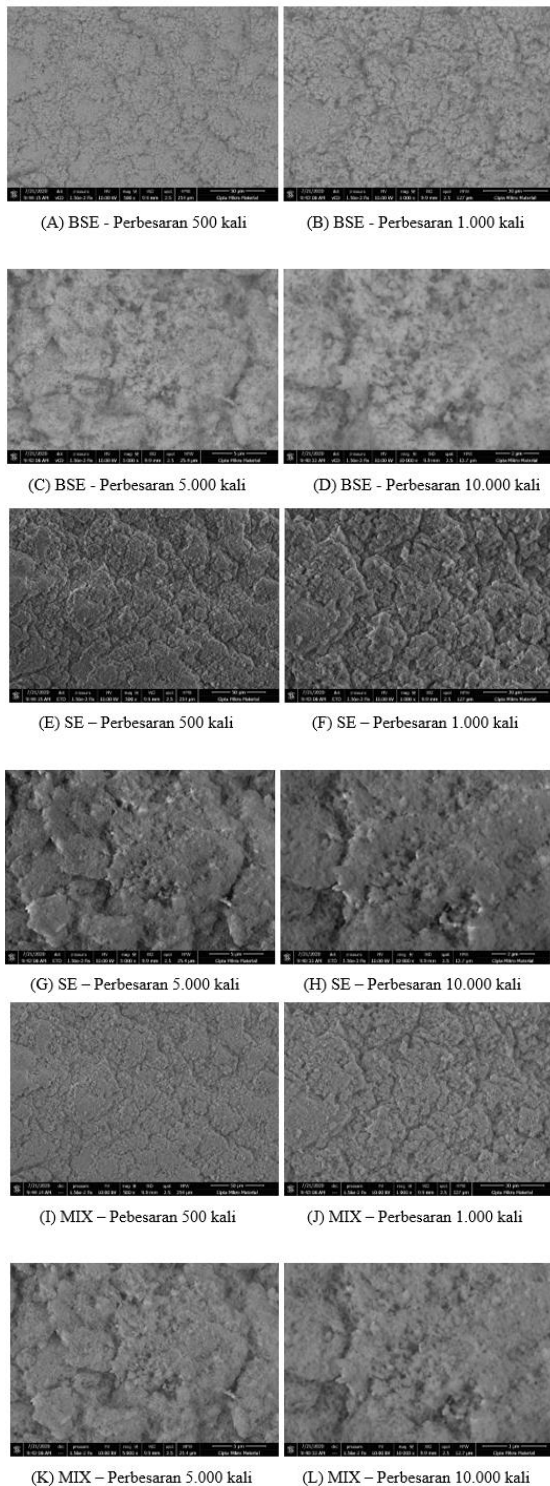
Dari ketiga sampel yang dilakukan pengamatan, sampel A dan sampel B yang memiliki ukuran hampir seragam dari granul HA murni yang dihasilkan.

3.2 Hasil Analisis Karakterisasi SEM – EDS

Untuk megetahui morfologi dan kandungan unsur sampel granul *hydroxyapatite* (HA) dilakukan analisis SEM-EDS. Sampel granul HA yang dilakukan analisis SEM-EDS adalah granul HA tanpa doping, granul HA doping 2% mol SrCO_3 dan granul HA doping 4% mol SrCO_3 . Perbesaran yang digunakan dalam menganalisis sampel granul HA ini adalah menggunakan perbesaran 500 kali, 1.000 kali, 5.000 kali, dan 10.000 kali dengan pengaturan pengambilan citra gambar SEM

bse, se, dan mix. Sehingga dapat dihasilkan analisis granul HA adalah sebagai berikut :

3.2.1 Hasil Analisis Karakterisasi SEM-EDS Granul HA Tanpa Doping



Gambar 3.2.1.1 Hasil Pengamatan SEM Granul HA Tanpa Doping

Pada Gambar 3.13 telah dilakukan pengamatan SEM untuk menganalisis dan lebih memastikan morfologi dari granul HA tanpa doping yang dihasilkan. Dimana sebelumnya telah dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop OM yang dirasa citra gambar tersebut kurang maksimal sehingga perlu dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan SEM.

Pengamatan SEM dilakukan melalui perbesaran 500 kali, 1.000 kali, 5.000 kali, dan 10.000 kali dengan citra pengamatan gambar BSE, SE, dan MIX. BSE merupakan hasil *image* dari detektor *backscattered electron* dimana detektor ini sensitif dengan unsur. Jadi ketika terdapat perbedaan terang dan gelap pada hasil pengamatan, hal tersebut menandakan perbedaan kandungan unsur. Apabila terlihat terang hal tersebut menandakan mengandung unsur yang lebih berat. Sementara itu jika terlihat gelap menandakan kandungan unsur yang lebih ringan. [65,66]

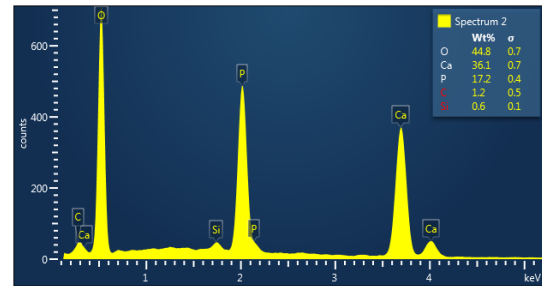
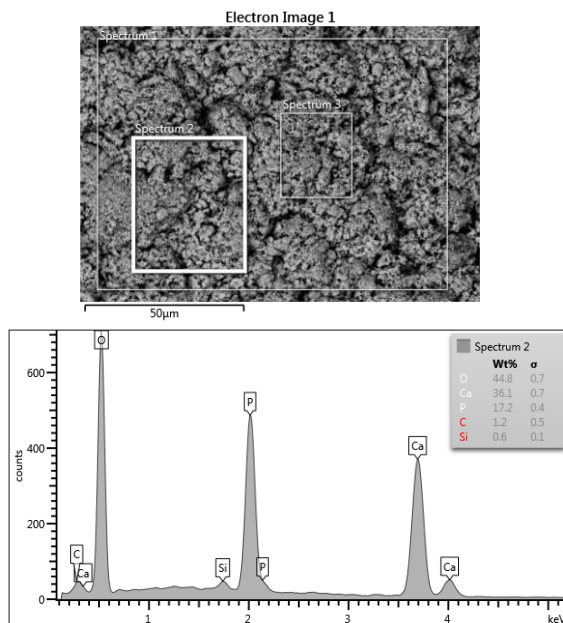
Citra pengamatan gambar SE merupakan hasil dari detektor *secondary electron*. SE ini memiliki tingkat sensitivitas yang lebih sensitif terhadap topografi dan bagian terang gelapnya menunjukkan morfologi sampel. Pada umumnya bagian pinggir atau bagian yang lebih tinggi terlihat lebih terang. Sementara itu untuk citra pengamatan gambar MIX merupakan gabungan antara BSE dan SE. [65,66]

Pada pengamatan sebelumnya menggunakan mikroskop OM setelah diamati terdapat bagian gundukan dan lembah. Setelah dilakukan pengamatan SEM SE dapat diketahui secara valid bahwa bagian gundukan dan lembah tersebut merupakan bagian topografi. Dimana bagian yang lebih tinggi diwakili oleh citra gambar berupa gundukan yang terlihat lebih terang. Kemudian bagian yang lebih rendah diwakili oleh citra gambar berupa lembah yang terlihat lebih gelap.

Adanya tampak gundukan dan lembah tersebut menandakan adanya gumpalan antar partikel yang terdiri atas unsur dan senyawa yang saling mengikat. Selain itu timbulnya gundukan dan lembah akan menjadi faktor daya alir dan faktor pengunci ketika HA di filler kedalam tulang. [65]

Hasil citra pengamatan secara BSE, SE, maupun MIX didapatkan hasil berupa citra yang terang dari sampel yang diamati dan hanya sedikit bagian gelapnya. Warna yang lebih terang terlihat pada gundukannya yang menandakan unsur dan senyawa berat yang dimana terdiri dari Ca, PO₄, TCP, dan CO. Sementara itu warna yang lebih gelap terlihat pada lembah dari sampel yang diamati yang terdiri atas OH dan H₂O. [53]

Untuk mengetahui kandungan unsur dari granul HA tanpa doping, telah dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS) dengan hasil pengamatan dan analisis tertampil pada gambar 4.14 dibawah ini :



Gambar 3.2.1.2 Hasil Pengamatan EDS Granul HA Tanpa Doping

Telah dilakukan pengamatan dan analisis EDS pada granul HA tanpa doping untuk mengetahui unsur yang terkandung dalam granul HA tanpa doping seperti yang tertera pada gambar 3.14. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari pengamatan tersebut didapatkan beberapa unsur yang terkandung diantaranya adalah unsur Ca, P, O, C, dan Si yang dilakukan penembakan pada spektrum 2 dari alat ke sampel dengan ukuran partikel 50 µm.

Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa unsur O memiliki persentase massa atom relatif terbesar yakni 44,8 gram/mol, kemudian unsur Ca memiliki persentase massa atom relatif 36,1 gram/mol dan P memiliki massa atom relatif 17,2 gram/mol. Sementara itu massa atom relatif unsur C = 1,2 gram/mol dan unsur Si = 0,6 gram/mol diabaikan karena berada dalam jumlah yang cukup kecil sehingga dianggap sebagai pengotor. Unsur O bisa lebih tinggi karena sesuai dengan rumus kimia dari *hydroxyapatite* (HA) sendiri yakni Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ dimana terdiri atas unsur O yang cukup banyak kemudian ketika proses pembuatan granul larutan alginat yang mengandung unsur O mengikat HA sehingga membuat kandungan unsur O lebih besar meskipun seharusnya alginat hilang ketika dilakukan kalsinasi. [49,50]

Untuk mengetahui kemurnian dari granul HA yang dihasilkan, dilakukan perhitungan Ca/P dengan perhitungan sebagai berikut :

$$O = \frac{wt\%}{ArO} = \frac{44,8}{16} = 2,8 \text{ gram/mol}$$

$$Ca = \frac{wt\%}{ArCa} = \frac{36,1}{40} = 0,9025 \text{ gram/mol}$$

$$P = \frac{wt\%}{ArP} = \frac{17,2}{31} = 0,5548 \text{ gram/mol}$$

$$C = \frac{wt\%}{ArC} = \frac{1,2}{12} = 0,1 \text{ gram/mol}$$

$$Si = \frac{wt\%}{ArSi} = \frac{0,6}{28} = 0,0214 \text{ gram/mol}$$

Jika sudah dilakukan perhitungan pada masing-masing unsur, maka selanjutnya adalah membandingkan antara Ca/P maka didapatkan nilai Ca/p nya :

$$\frac{Ca}{P} = \frac{0,9025}{0,5548} = 1,626 \text{ gram/mol}$$

Pada literatur, HA murni memiliki kandungan Ca/P = 1,67 [12,13]. Akan tetapi pada hasil eksperimen pembuatan granul HA tanpa doping ini didapat hasil HA sebesar 1,626 gram/mol yang berarti $1,67 - 1,626 = 0,44$ gram/mol Ca/P hilang atau tergantikan. Hal ini bias terlihat dari munculnya unsur Si pada hasil EDS yang merupakan sebagai pengotor. Kehadiran unsur Si tersebut menggantikan sebagian kecil unsur Ca pada $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ sehingga menyebabkan rasio Ca/P kurang dari 1,67 gram/mol. Faktor lainnya yang mempengaruhi rasio Ca/P adalah nilai pH pada pembuatan granul HA ini didapatkan sebesar 8.

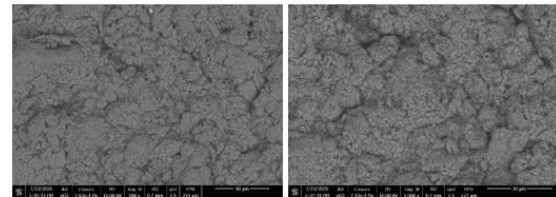
Meskipun kurang dari 1,67 gram/mol tetap tergolong kedalam golongan *hydroxyapatite* (HA) akan tetapi kemurniannya sedikit berkurang akibat dari berkurangnya nilai Ca/P tersebut yang merujuk pada literatur :

MCPM > MCPA > TTCP > α -TCP > DCPD > DCPA > β -TCP > ACP > HA pada 25°C air pada pH 7.4 [14, 15]. Dimana :

MCPM: monocalcium phosphate monohydrate (Ca/P: 0.50), MCPA: monocalcium phosphate anhydrous (Ca/P: 0.50), TTCP: tetracalcium phosphate (Ca/P: 2.00), TCP: tricalcium phosphate

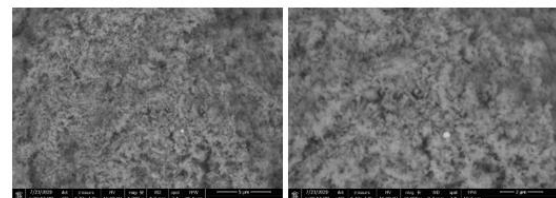
(Ca/P: 1.50), DCPD: dicalcium phosphate dihydrate (Ca/P: 1.00), DCPA: dicalcium phosphate anhydrous (Ca/P: 1.00), ACP: amorphous calcium phosphate (Ca/P: 1.50), and HA: hydroxyapatite (Ca/P: 1.67). [14,15]

3.2.2 Hasil Analisis Karakterisasi SEM-EDS Granul HA Doping 2% mol $SrCO_3$



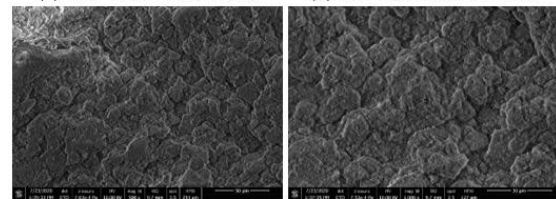
(A) BSE - Perbesaran 500 kali

(B) BSE - Perbesaran 1.000 kali



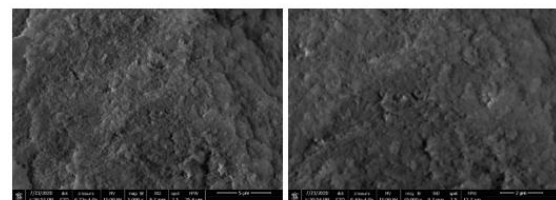
(C) BSE - Perbesaran 5.000 kali

(D) BSE - Perbesaran 10.000 kali



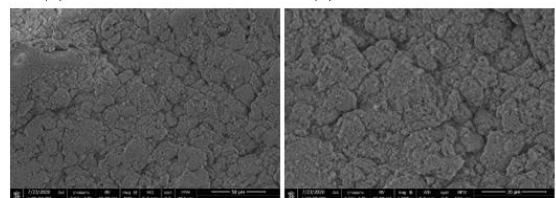
(E) SE - Perbesaran 500 kali

(F) SE - Perbesaran 1.000 kali



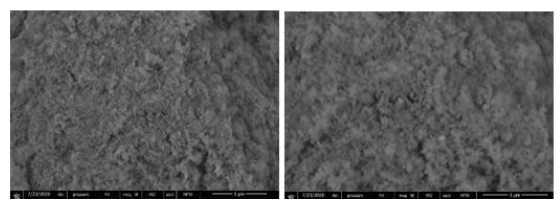
(G) SE - Perbesaran 5.000 kali

(H) SE - Perbesaran 10.000 kali



(I) MIX - Perbesaran 500 kali

(J) MIX - Perbesaran 1.000 kali



(K) MIX - Perbesaran 5.000 kali

(L) MIX - Perbesaran 10.000 kali

**Gambar 3.2.2.1 Hasil Pengamatan SEM
Granul HA Doping 2% mol SrCO₃**

Pada Gambar 4.15 telah dilakukan pengamatan SEM untuk menganalisis dan lebih memastikan morfologi dari granul HA terdoping 2%mol SrCO₃ yang dihasilkan. Dimana sebelumnya telah dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop OM yang dirasa citra gambar tersebut kurang maksimal sehingga perlu dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan SEM.

Pengamatan SEM dilakukan melalui perbesaran 500 kali, 1.000 kali, 5.000 kali, dan 10.000 kali dengan citra pengamatan gambar BSE, SE, dan MIX. BSE merupakan hasil *image* dari detektor *backscattered electron* dimana detektor ini sensitif dengan unsur. Jadi ketika terdapat perbedaan terang dan gelap pada hasil pengamatan, hal tersebut menandakan perbedaan kandungan unsur. Apabila terlihat terang hal tersebut menandakan mengandung unsur yang lebih berat. Sementara itu jika terlihat gelap menandakan kandungan unsur yang lebih ringan. [65,66]

Citra pengamatan gambar SE merupakan hasil dari detektor *secondary electron*. SE ini memiliki tingkat sensitivitas yang lebih sensitif terhadap topografi dan bagian terang gelapnya menunjukkan morfologi sampel. Pada umumnya bagian pinggir atau bagian yang lebih tinggi terlihat lebih terang. Sementara itu untuk citra pengamatan gambar MIX merupakan gabungan antara BSE dan SE. [65,66]

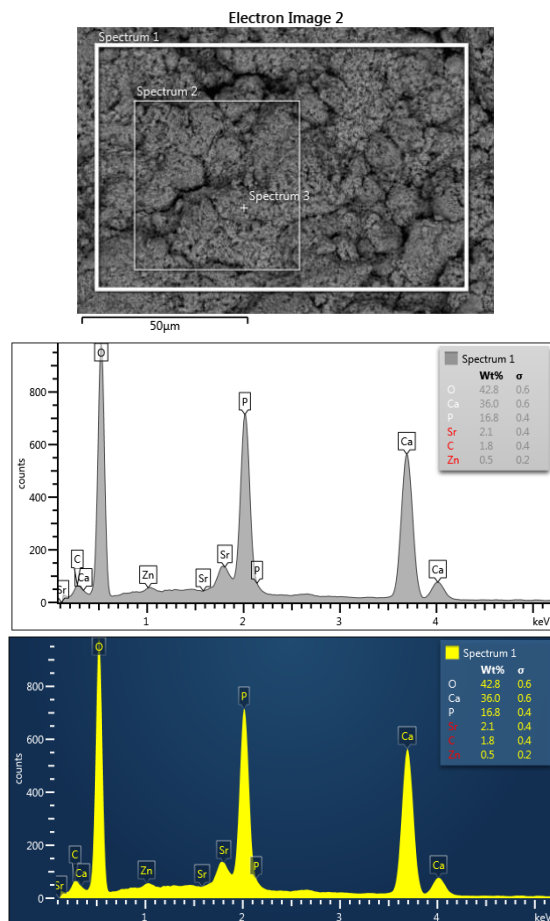
Pada pengamatan sebelumnya menggunakan mikroskop OM setelah diamati terdapat bagian gundukan dan lembah. Setelah dilakukan pengamatan SEM SE dapat diketahui secara valid bahwa bagian gundukan dan lembah tersebut merupakan bagian topografi. Dimana bagian yang lebih tinggi diwakili oleh citra gambar berupa gundukan yang

terlihat lebih terang. Kemudian bagian yang lebih rendah diwakili oleh citra gambar berupa lembah yang terlihat lebih gelap. Adanya tampak gundukan dan lembah tersebut menandakan adanya gumpalan antar partikel yang terdiri atas unsur dan senyawa yang saling mengikat. Selain itu timbulnya gundukan dan lembah akan menjadi faktor daya alir dan faktor pengunci ketika HA di filler kedalam tulang. [65]

Analisis granul HA menggunakan skala 4 skala pengamatan yakni 50 μ m, 30 μ m, 5 μ m, dan 2 μ m. Besar nilai skala tersebut akan menurun seiring kenaikan perbesaran yang digunakan pada alat SEM. Skala 50 μ m untuk perbesaran 500 kali, skala 30 μ m untuk perbesaran 1.000 kali, skala 5 μ m untuk perbesaran 5.000 kali, dan skala 2 μ m untuk perbesaran 10.000 kali.

Hasil citra pengamatan secara BSE, SE, maupun MIX didapatkan hasil berupa citra yang terang dari sampel yang diamati dan hanya sedikit bagian gelapnya. Warna yang lebih terang terlihat pada gundukannya yang menandakan unsur dan senyawa berat yang dimana terdiri dari Ca, PO₄, TCP, Sr, dan CO. Sementara itu warna yang lebih gelap terlihat pada lembah dari sampel yang diamati yang terdiri atas OH dan H₂O [53].

Untuk mengetahui kandungan unsur dari granul HA terdoping 2% mol SrCO₃, telah dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS) dengan hasil pengamatan dan analisis tertampil pada gambar 4.15 dibawah ini :



Gambar 3.2.2.2 Hasil Pengamatan EDS Granul HA Terdoping 2% mol SrCO_3

Telah dilakukan pengamatan dan analisis EDS pada granul HA terdoping 2% mol SrCO_3 untuk mengetahui unsur yang terkandung dalam granul HA tanpa doping seperti yang tertera pada gambar 3.16. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari pengamatan tersebut didapatkan beberapa unsur yang terkandung diantaranya adalah unsur Ca, P, O, C, Sr dan Zn yang dilakukan penembakan pada spektrum 2 dari alat ke sampel dengan ukuran partikel $50 \mu\text{m}$.

Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa unsur O memiliki persentase massa atom relatif terbesar yakni 42,8 gram/mol, kemudian unsur Ca memiliki massa persentase atom relatif 36 gram/mol, unsur P memiliki persentase massa atom relatif 16,8 gram/mol, dan unsur Sr memiliki persentase massa atom relatif 2,1 gram/mol. Sementara itu massa atom relatif unsur C = 1,8 gram/mol dan unsur Zn = 0,5

gram/mol diabaikan karena berada dalam jumlah yang cukup kecil sehingga dianggap sebagai pengotor. Unsur O dapat lebih besar persentasenya karena sesuai dengan rumus kimia dari *hydroxyapatite* (HA) sendiri yakni $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dimana terdiri atas unsur O yang cukup banyak kemudian ketika proses pembuatan granul yang ditambahkan larutan alginat yang mengandung unsur O mengikat HA sehingga membuat kandungan unsur O lebih besar meskipun seharusnya alginat hilang ketika dilakukan kalsinasi. [49,50]

Jika terdapat unsur C hal tersebut dikarenakan penggunaan doping Sr ketika deposisi HA awal dalam bentuk serbuk yang digunakan dalam bentuk senyawa karbonat. Senyawa Sr karbonat tersebut adalah SrCO_3 dimana unsur C dan O dapat tersubstitusi kedalam senyawa (PO_4) ketika proses sintesis dan presipitasi berlangsung. [43]

Untuk mengetahui kemurnian dari granul HA yang dihasilkan, dilakukan perhitungan Ca/P sebagai berikut :

$$O = \frac{wt}{ArO} = \frac{42,8}{16} = 2,675 \text{ gram/mol}$$

$$Ca = \frac{wt\%}{ArCa} = \frac{36}{40} = 0,9 \text{ gram/mol}$$

$$P = \frac{wt\%}{ArP} = \frac{16,8}{31} = 0,54 \text{ gram/mol}$$

$$Sr = \frac{wt\%}{ArSr} = \frac{2,1}{87,62} = 0,023 \text{ gram/mol}$$

$$C = \frac{wt\%}{ArC} = \frac{1,8}{12} = 0,15 \text{ gram/mol}$$

$$Zn = \frac{wt\%}{ArZn} = \frac{0,5}{65,37} = 0,0076 \text{ gram/mol}$$

Jika sudah dilakukan perhitungan pada masing-masing unsur, maka selanjutnya adalah membandingkan antara Ca/P maka didapatkan nilai Ca/P nya :

$$\frac{Ca}{P} = \frac{0,9}{0,54} = 1,66 \text{ gram/mol}$$

Pada literatur, HA murni memiliki kandungan Ca/P = 1,67 [12,13]. Akan tetapi pada hasil eksperimen pembuatan granul HA dengan doping 2%mol SrCO₃ ini didapat hasil HA sebesar 1,66 gram/mol yang berarti 1,67 – 1,66 = 0,01 gram/mol Ca/P hilang atau tergantikan. Hal ini terlihat dari munculnya unsur Sr pada hasil EDS yang merupakan doping yang diberikan terhadap HA sebagai unsur anti bakteri. Sementara itu, munculnya unsur Zn pada hasil EDS merupakan indikator unsur pengotor dari granul HA yang telah dibuat. Kehadiran unsur Sr dan Zn tersebut menggantikan sebagian kecil unsur Ca pada Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ sehingga menyebabkan rasio Ca/P kurang dari 1,67 gram/mol. Faktor lainnya yang mempengaruhi rasio Ca/P adalah nilai pH pada pembuatan granul HA ini didapatkan sebesar 8.

Meskipun kurang dari 1,67 gram/mol tetap tergolong kedalam golongan *hydroxyapatite* (HA) akan tetapi kemurniannya sedikit berkurang akibat dari berkurangnya nilai Ca/P tersebut yang merujuk pada literatur :

MCPM > MCPA > TTCP > α-TCP > DCPD > DCPA > β-TCP > ACP > HA pada 25°C air pada pH 7.4 [14, 15]. Dimana :

MCPM: monocalcium phosphate monohydrate (Ca/P: 0.50), MCPA: monocalcium phosphate anhydrous (Ca/P: 0.50), TTCP: tetracalcium phosphate (Ca/P: 2.00), TCP: tricalcium phosphate (Ca/P: 1.50), DCPD: dicalcium phosphate dihydrate (Ca/P: 1.00), DCPA: dicalcium phosphate anhydrous (Ca/P: 1.00), ACP: amorphous calcium phosphate (Ca/P: 1.50), and HA: hydroxyapatite (Ca/P: 1.67). [14,15]

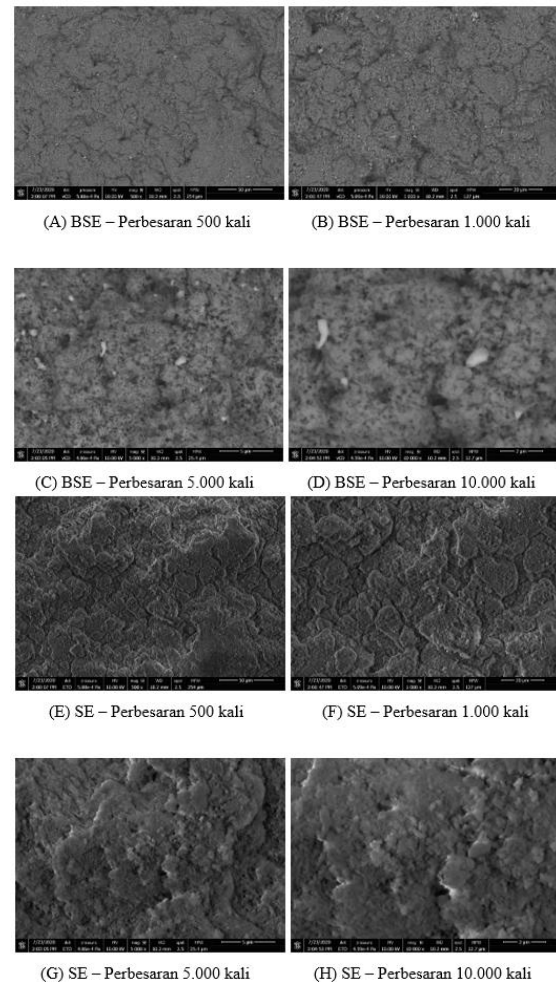
Untuk mengetahui persentase Sr yang masuk kedalam Ca dilakukan perhitungan persentase Sr sebagai berikut :

$$\% \text{ Sr yang masuk kedalam Ca} = \frac{\text{mol}(\text{Sr})}{\text{mol}(\text{Sr} + \text{Ca})}$$

$$\% \text{ Sr yang masuk kedalam Ca} = \frac{0,4}{0,4 + 0,02} = \frac{0,4}{0,42} = 0,95 = 95\%$$

Jadi, berdasarkan analisis EDS, dapat diketahui bahwa kandungan Sr yang tersubstitusi atau yang masuk kedalam Ca ada sebanyak 95% dari massa SrCO₃.

3.2.3 Hasil Analisis Karakterisasi SEM-EDS Granul HA Doping 2% mol SrCO₃



Gambar 3.2.3.1 Hasil Pengamatan SEM Granul HA Doping 4% mol SrCO₃

Pada **Gambar 3.2.3.1** telah dilakukan pengamatan SEM untuk menganalisis dan lebih memastikan morfologi dari granul HA terdoping 4%mol SrCO₃ yang dihasilkan. Dimana sebelumnya telah

dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop OM yang dirasa citra gambar tersebut kurang maksimal sehingga perlu dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan SEM.

Pengamatan SEM dilakukan melalui perbesaran 500 kali, 1.000 kali, 5.000 kali, dan 10.000 kali dengan citra pengamatan gambar BSE, SE, dan MIX. BSE merupakan hasil *image* dari detektor *backscattered electron* dimana detektor ini sensitif dengan unsur. Jadi ketika terdapat perbedaan terang dan gelap pada hasil pengamatan, hal tersebut menandakan perbedaan kandungan unsur. Apabila terlihat terang hal tersebut menandakan mengandung unsur yang lebih berat. Sementara itu jika terlihat gelap menandakan kandungan unsur yang lebih ringan. [65,66]

Citra pengamatan gambar SE merupakan hasil dari detektor *secondary electron*. SE ini memiliki tingkat sensitivitas yang lebih sensitif terhadap topografi dan bagian terang gelapnya menunjukkan morfologi sampel. Pada umumnya bagian pinggir atau bagian yang lebih tinggi terlihat lebih terang. Sementara itu untuk citra pengamatan gambar MIX merupakan gabungan antara BSE dan SE. [65,66]

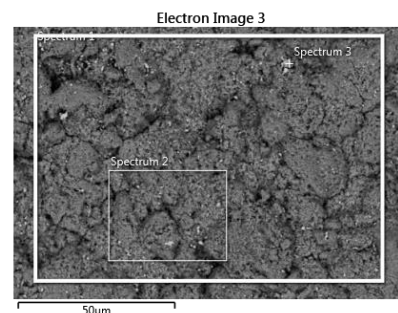
Pada pengamatan sebelumnya menggunakan mikroskop OM setelah diamati terdapat bagian gundukan dan lembah. Setelah dilakukan pengamatan SEM SE dapat diketahui secara valid bahwa bagian gundukan dan lembah tersebut merupakan bagian topografi. Dimana bagian yang lebih tinggi diwakili oleh citra gambar berupa gundukan yang terlihat lebih terang. Kemudian bagian yang lebih rendah diwakili oleh citra gambar berupa lembah yang terlihat lebih gelap. Adanya tampak gundukan dan lembah tersebut menandakan adanya gumpalan antar partikel yang terdiri atas unsur dan senyawa yang saling mengikat. Selain itu timbulnya gundukan dan lembah akan

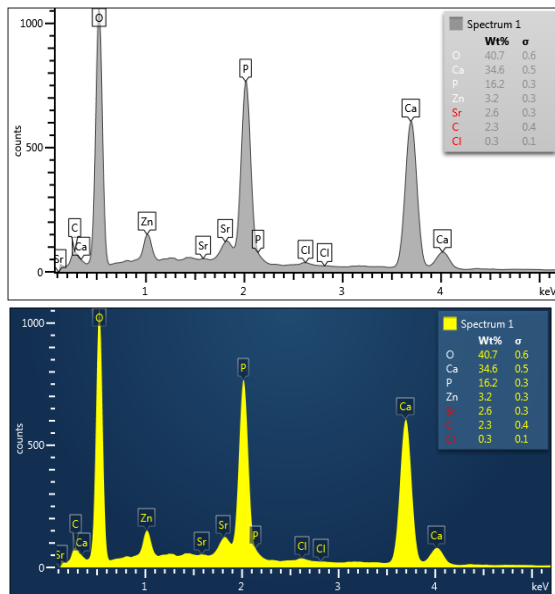
menjadi faktor daya alir dan faktor pengunci ketika HA di filler kedalam tulang. [65]

Analisis granul HA menggunakan skala 4 skala pengamatan yakni $50\mu\text{m}$, $30\mu\text{m}$, $5\mu\text{m}$, dan $2\mu\text{m}$. Besar nilai skala tersebut akan menurun seiring kenaikan perbesaran yang digunakan pada alat SEM. Skala $50\mu\text{m}$ untuk perbesaran 500 kali, skala $30\mu\text{m}$ untuk perbesaran 1.000 kali, skala $5\mu\text{m}$ untuk perbesaran 5.000 kali, dan skala $2\mu\text{m}$ untuk perbesaran 10.000 kali.

Hasil citra pengamatan secara BSE, SE, maupun MIX didapatkan hasil berupa citra yang terang dari sampel yang diamati dan hanya sedikit bagian gelapnya. Warna yang lebih terang terlihat pada gundukannya yang menandakan unsur dan senyawa berat yang dimana terdiri dari Ca, PO_4 , TCP, Sr, dan CO. Sementara itu warna yang lebih gelap terlihat pada lembah dari sampel yang diamati yang terdiri atas OH dan H_2O [53].

Untuk mengetahui kandungan unsur dari granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 , telah dilakukan pengamatan dan analisis menggunakan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS) dengan hasil pengamatan dan analisis tertampil pada gambar 4.18 di bawah ini :





Gambar 3.2.3.2 Hasil Pengamatan EDS Granul HA Terdoping 4% mol SrCO_3

Telah dilakukan pengamatan dan analisis EDS pada granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 untuk mengetahui unsur yang terkandung dalam granul HA tanpa doping seperti yang tertera pada gambar 4.18. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari pengamatan tersebut didapatkan beberapa unsur yang terkandung diantaranya adalah unsur Ca, P, O, C, Sr, Zn, dan Cl yang dilakukan penembakan pada spektrum 2 dari alat ke sampel dengan ukuran partikel $50 \mu\text{m}$.

Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa unsur O memiliki persentase massa atom relatif terbesar yakni 40,7 gram/mol, kemudian unsur Ca memiliki massa persentase atom relatif 34,6 gram/mol, unsur P memiliki persentase massa atom relatif 16,2 gram/mol, dan unsur Sr memiliki persentase massa atom relatif 2,6 gram/mol. Sementara itu massa atom relatif unsur C = 2,3 gram/mol, unsur Zn = 3,2 gram/mol dan Cl = 0,3 diabaikan karena berada dalam jumlah yang cukup kecil atau dianggap sebagai pengotor. Unsur O dapat lebih besar persentasenya karena sesuai dengan rumus kimia dari *hydroxyapatite* (HA) sendiri yakni $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dimana terdiri atas unsur O yang cukup banyak kemudian ketika proses pembuatan

granul yang ditambahkan larutan alginat yang mengandung unsur O mengikat HA sehingga membuat kandungan unsur O lebih besar meskipun seharusnya alginat hilang ketika dilakukan kalsinasi. [49,50]

Jika terdapat unsur C hal tersebut dikarenakan penggunaan doping Sr ketika deposisi HA awal dalam bentuk serbuk yang digunakan dalam bentuk senyawa karbonat. Senyawa Sr karbonat tersebut adalah SrCO_3 dimana unsur C dan O dapat tersubstitusi kedalam senyawa (PO_4) ketika proses sintesis dan presipitasi berlangsung. [43]

Unsur Zn teridentifikasi pada hasil EDS disebabkan karena adanya pengotor pada wadah sehingga Zn tersubstitusi bersama Sr menggantikan Ca. [94,95]. Sementara itu untuk unsur Cl dapat teridentifikasi karena proses pembuatan granul menggunakan larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$. Dan ketika proses presipitasi HA serbuk, pH yang dihasilkan adalah bernilai 10. Sehingga ketika dilakukan pembuatan granul yang melibatkan larutan $\text{CaCl}_2\text{H}_2\text{O}$ unsur Cl dapat masuk kedalam OH pada senyawa HA yang menyebabkan Cl terdeteksi pada hasil EDS.

Untuk mengetahui kemurnian dari granul HA yang dihasilkan, dilakukan perhitungan Ca/P sebagai berikut :

$$O = \frac{\text{wt}\%}{\text{ArO}} = \frac{40,7}{16} = 2,543 \text{ gram/mol}$$

$$Ca = \frac{\text{wt}\%}{\text{ArCa}} = \frac{34,6}{40} = 0,865 \text{ gram/mol}$$

$$P = \frac{\text{wt}\%}{\text{ArP}} = \frac{16,2}{31} = 0,522 \text{ gram/mol}$$

$$Zn = \frac{\text{wt}\%}{\text{ArZn}} = \frac{3,2}{65,37} = 0,048 \text{ gram/mol}$$

$$Sr = \frac{\text{wt}\%}{\text{ArSr}} = \frac{2,6}{87,62} = 0,029 \text{ gram/mol}$$

$$C = \frac{\text{wt}\%}{\text{ArC}} = \frac{2,3}{12} = 0,191 \text{ gram/mol}$$

$$Cl = \frac{wt\%}{ArCl} = \frac{0,3}{35,5} = 0,008 \text{ gram/mol}$$

Jika sudah dilakukan perhitungan pada masing-masing unsur, maka selanjutnya adalah membandingkan antara Ca/P maka didapatkan nilai Ca/P nya :

$$\frac{Ca}{P} = \frac{0,865}{0,522} = 1,657$$

Pada literatur, HA murni memiliki kandungan Ca/P = 1,67 [12,13]. Akan tetapi pada hasil eksperimen pembuatan granul HA dengan doping 4%mol SrCO₃ ini didapat hasil HA sebesar 1,657 gram/mol yang berarti 1,67 – 1,657 = 0,013 gram/mol Ca/P hilang atau tergantikan. Hal ini bisa terlihat dari munculnya unsur Sr pada hasil EDS yang merupakan doping yang diberikan terhadap HA sebagai unsur anti bakteri. Sementara itu, munculnya unsur Zn pada hasil EDS merupakan indikator unsur pengotor dari granul HA yang telah dibuat. Kehadiran unsur Sr dan Zn tersebut menggantikan sebagian kecil unsur Ca pada Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ sehingga menyebabkan rasio Ca/P kurang dari 1,67 gram/mol. Faktor lainnya yang mempengaruhi rasio Ca/P adalah nilai pH pada pembuatan granul HA ini didapatkan sebesar 10.

Meskipun kurang dari 1,67 gram/mol tetap tergolong kedalam golongan *hydroxyapatite* (HA) akan tetapi kemurniannya sedikit berkurang akibat dari berkurangnya nilai Ca/P tersebut yang merujuk pada literatur :

MCPM > MCPA > TTCP > α-TCP > DCPD > DCPA > β-TCP > ACP > HA pada 25°C air pada pH 7.4 [14, 15]. Dimana :

MCPM: monocalcium phosphate monohydrate (Ca/P: 0.50), MCPA: monocalcium phosphate anhydrous (Ca/P: 0.50), TTCP: tetracalcium phosphate (Ca/P: 2.00), TCP: tricalcium phosphate (Ca/P: 1.50), DCPD: dicalcium phosphate

dihydrate (Ca/P: 1.00), DCPA: dicalcium phosphate anhydrous (Ca/P: 1.00), ACP: amorphous calcium phosphate (Ca/P: 1.50), and HA: hydroxyapatite (Ca/P: 1.67). [14,15]

Untuk mengetahui persentase Sr yang masuk kedalam Ca dilakukan perhitungan persentase Sr sebagai berikut :

$$\% \text{ Sr yang masuk kedalam Ca} = \frac{\text{mol}(\text{Sr})}{\text{mol}(\text{Sr} + \text{Ca})}$$

$$\% \text{ Sr yang masuk kedalam Ca} = \frac{(0,3)}{(0,3 + 0,04)} = \frac{0,3}{0,34} = 0,88 = 88\%$$

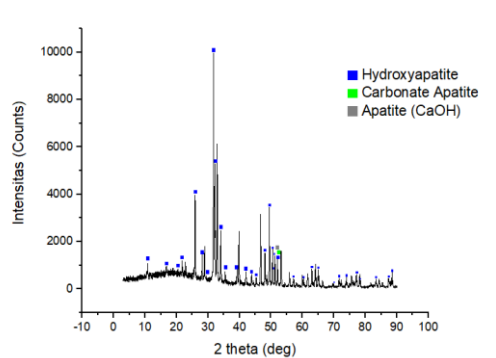
Jadi, berdasarkan analisis EDS, dapat diketahui bahwa kandungan Sr yang tersubstitusi atau yang masuk kedalam Ca ada sebanyak 88% dari massa SrCO₃.

3.3 Hasil Analisis Karakterisasi XRD

Telah dilakukan karakterisasi *X-Ray Diffraction* (XRD) dari tiga sample granul *hydrpxyapatite* (HA). Dimana ketiga granul HA tersebut adalah granul HA tanpa doping, granul HA dengan doping 2% mol SrCO₃, dan granul HA dengan doping 4% mol SrCO₃. Karakterisasi ini dilakukan dengan standar pengukuran standar pengukuran *2-Theta* dari 3-90° dengan standar kecepatan *scanning* (10 deg/menit) dan standar *step-width* (0.02 deg). Karakterisasi XRD dilakukan untuk mengetahui fasa yang terdapat dalam granul *hydroxyapatite* ketika diberi pengaruh doping SrCO₃, larutan alginate, dan larutan CaCl₂ sebagai variabel bebasnya. Analisis kualitatif data XRD granul HA dilakukan menggunakan *software HighScore Plus*. Sementara itu untuk pembuatan grafik dilakukan dengan menggunakan *software Origin 2019*.

Analisis granul HA tanpa doping maupun yang diberi pengaruh penambahan doping

SrCO_3 sebagai parameter peubah dan parameter bebas terhadap produk HA yang diperoleh dilakukan dengan merujuk kepada data-data yang diperoleh dari hasil pengujian XRD. Dari hasil pengujian XRD yang dilakukan diketahui bahwa terjadi perubahan intensitas dari puncak-puncak pada difraktogram. Adapun Grafik dan tabel hasil uji XRD untuk ketiga sampel granul HA adalah sebagai berikut:



Gambar 3.3.1 Difraktogram Granul HA Tanpa Doping

Berdasarkan hasil pengamatan XRD yang tertera pada gambar 4.19 untuk difraktogram granul HA tanpa doping diketahui bahwa *hydroxyapatite* (HA) terbentuk pada sudut 2θ (25,875); (31,776); (32,194); (32,911); (34,063) dan (49,488) dengan indeks Miller [0,0,2]; [1,2,1]; [1,1,2]; [0,3,0]; [2,0,2]; [1,2,3] pada kode ICSD (98-016-9499) yang merupakan *Calcium Phosphat Hydroxide Oxide*. Kemudian didapatkan sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (31,776) dan (31,8).

Senyawa apatite- CaOH terbentuk pada sudut 2θ (25,872); (53,195); (60,434) dan (72,209) dengan indeks Miller [0,0,2]; [0,0,4]; [2,4,0]; [4,3,1] pada kode ICSD 98-008-1442 apatite- CaOH . Kemudian didapatkan sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (25,872) dan (25,9).

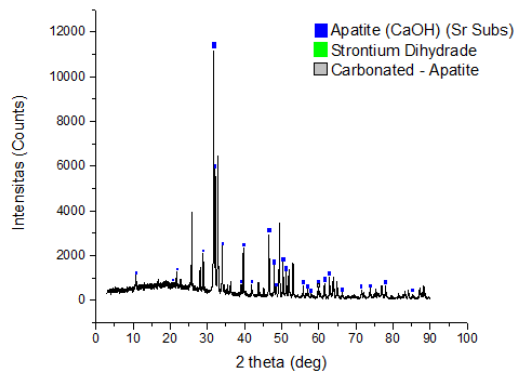
Senyawa *carbonate apatite* terbentuk pada sudut 2θ (54,384) dengan indeks Miller [1,0,4]; pada kode ICSD 98-015-0310 *carbonate apatite*. Kemudian didapatkan

sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (54,384) dan (53,2).

Hasil analisis dan pengamatan granul HA tanpa doping ini menunjukkan bahwa senyawa paling banyak adalah *calcium phosphat* yang kemudian disusul oleh *apatite- CaOH* yang dimana keduanya merupakan senyawa utama penyusun *hydroxyapatite* (HA) yang sesuai dengan teori dan eksperimen. [4]. Akan tetapi pada hasil analisis XRD juga terdapat kandungan senyawa lain yakni kandungan *carbonate-apatite* yang pada dasarnya senyawa ini tidak diinginkan dalam HA murni atau tanpa doping.

Senyawa *carbonate apatite* muncul pada sudut 2θ (54,384) disebabkan karena proses kalsinasi pada suhu tinggi dan sisa pembakaran alginate. [3]. Pada proses kalsinasi digunakan suhu 1000°C dimana pada suhu ini *hydroxyapatite* (HA) yang terbentuk fasanya berada diantara *amorf* dan *kristal* serta dapat *terdekomposisi* bersama jaringan tulang. [55]. Grafik hasil uji XRD pada sampel hasil kalsinasi menunjukkan puncak-puncak yang cenderung rapat dan menunjukkan bahwa sample granul HA tanpa doping ini berada diantara *amorf* dan *kristal* namun cenderung ke *kristal*. [55,56]. Untuk membentuk HA *amorf* diperlukan suhu pengeringan sebesar $< 800^\circ\text{C}$, sementara itu untuk membentuk senyawa *kristal* diperlukan suhu 1200°C . [4].

Berbeda dengan material *amorf*, material *kristalin* menghasilkan difraksi sinar-X yang lebih bersih dari *impurities*, hal ini karena susunan atomnya yang teratur. Susunan atom material *amorf* masih tidak teratur sehingga sinar-X dihamburkan bukan didifraksikan (meskipun ada sedikit yang didifraksikan), hamburan sinar-X inilah yang menyebabkan *impurities* pada hasil uji XRD setelah dilakukan analisis mengandung senyawa karbon. Karena hasil pembakaran berupa karbon ini dianggap sebagai *impurities*. [58]



Gambar 3.3.2 Difraktogram Granul HA Doping 2% mol SrCO_3

Berdasarkan hasil pengamatan XRD yang tertera pada gambar 4.20 untuk difraktogram granul HA terdoping 2% mol SrCO_3 diketahui bahwa *Apatite (CaOH) Sr Subs* terbentuk pada sudut 2θ (28,887); (31,71); (32,008); (33,957); (39,742) dan (46,587) dengan *indeks Miller* [1,2,0]; [1,2,1]; [1,1,2]; [0,2,2]; [3,1,0]; [2,2,2] pada kode ICSD (98-008-6855) yang merupakan *Apatite* tersubstitusi Sr. Kemudian didapatkan sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (31,71) dan (31,7).

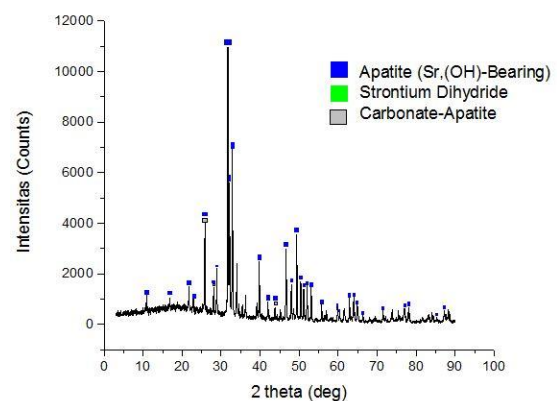
Senyawa *carbonate apatite* terbentuk pada sudut 2θ (59,3) dengan *indeks Miller* [4,2,2]; pada kode ICSD 98-015-0309 *carbonate apatite*. Kemudian didapatkan sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (59,3) dan (59,9). Sementara itu untuk senyawa *strontium dihydrate* tidak terbentuk karena strontium sudah tersubstitusi kedalam *Apatite-CaOH*.

Senyawa *carbonate apatite* muncul pada sudut 2θ (59,3) disebabkan karena proses kalsinasi pada suhu tinggi dan sisa pembakaran alginate. [3]. Pada proses kalsinasi digunakan suhu 1000°C dimana pada suhu ini *hydroxyapatite* (HA) yang terbentuk fasanya berada diantara *amorf* dan *kristal* serta dapat *terdekomposisi* bersama jaringan tulang. [55]. Grafik hasil uji XRD pada sampel hasil kalsinasi menunjukkan puncak-puncak yang cenderung rapat dan menunjukkan bahwa sample granul HA tanpa doping ini berada

diantara amorf dan kristal namun cenderung ke kristal. [55,56]. Untuk membentuk HA amorf diperlukan suhu pengeringan sebesar $< 800^\circ\text{C}$, sementara itu untuk membentuk senyawa kristal diperlukan suhu 1200°C . [4].

Senyawa SrCO_3 sebanyak 2% mol tersubstitusi bersama dengan apatit-CaOH untuk unsur Sr sehingga mempengaruhi fasa untuk sudut 2θ yang dihasilkan karena Ca tersubstitusi oleh Sr. Sementara unsur karbonat terbentuk menjadi *impurities* (carbonate apatite) yang dipengaruhi juga oleh senyawa alginate dan proses pengeringan dalam kalsinasi. [39]

Berbeda dengan material amorf, material kristalin menghasilkan difraksi sinar-X yang lebih bersih dari *impurities*, hal ini karena susunan atomnya yang teratur. Susunan atom material amorf masih tidak teratur sehingga sinar-X dihamburkan bukan didifraksikan (meskipun ada sedikit yang didifraksikan), hamburan sinar-X inilah yang menyebabkan *impurities* pada hasil uji XRD setelah dilakukan analisis mengandung senyawa karbon. Karena hasil pembakaran berupa karbon ini dianggap sebagai *impurities*. [58]



Gambar 3.3.3 Difraktogram Granul HA Doping 4% mol SrCO_3

Berdasarkan hasil pengamatan XRD yang tertera pada gambar 4.21 untuk difraktogram granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 diketahui bahwa *Apatite (SrOH) - Bearing* terbentuk pada sudut 2θ

(25,845); (31,726); (32,151); (32,857); (39,742); (46,632); dan (49,419) dengan indeks Miller [0,0,2]; [1,2,1]; [1,1,2]; [0,3,0]; [3,1,0]; [2,2,2]; [1,2,3] pada kode ICSD (98-016-3012) yang merupakan *Apatite* tersubstitusi Sr sebagai *bearing*. Kemudian didapatkan sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (31,726) dan (31,7).

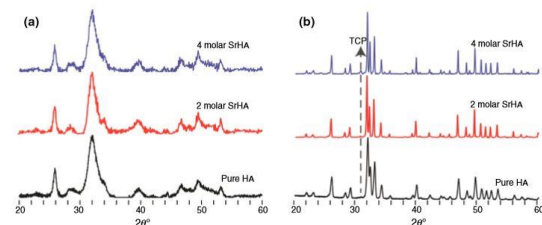
Senyawa *carbonate apatite* terbentuk pada sudut 2 θ (25,872); (28,09); (46,704); (59,804) dengan indeks Miller [0,0,2]; [0,1,2]; [0,4,0]; [3,3,1] pada kode ICSD 98-015-0309 *carbonate apatite*. Kemudian didapatkan sudut tertinggi dan puncak tertinggi pada (25,872) dan (25,8). Sementara itu untuk senyawa *strontium dihydrate* tidak terbentuk karena strontium sudah tersubstitusi kedalam *Apatite-CaOH*.

Senyawa *carbonate apatite* muncul pada sudut θ (59,3) disebabkan karena proses kalsinasi pada suhu tinggi dan sisa pembakaran alginate. [3]. Pada proses kalsinasi digunakan suhu 1000 °C dimana pada suhu ini *hydroxyapatite* (HA) yang terbentuk fasanya berada diantara *amorf* dan *kristal* serta dapat *terdekomposisi* bersama jaringan tulang. [55]. Grafik hasil uji XRD pada sampel hasil kalsinasi menunjukkan puncak-puncak yang cenderung rapat dan menunjukkan bahwa sample granul HA tanpa doping ini berada diantara *amorf* dan *kristal* namun cenderung ke *kristal*. [55,56]. Untuk membentuk HA *amorf* diperlukan suhu pengeringan sebesar < 800 °C, sementara itu untuk membentuk senyawa *kristal* diperlukan suhu 1200 °C. [4].

Senyawa SrCO_3 sebanyak 4% mol tersubstitusi bersama dengan *apatite-CaOH* untuk unsur Sr sehingga mempengaruhi fasa untuk sudut 2 θ yang dihasilkan karena Ca tersubstitusi oleh Sr sebagai *bearing*. Sementara unsur karbonat terbentuk menjadi *impurities* (*carbonate apatite*) yang dipengaruhi juga oleh senyawa alginate dan proses pengeringan dalam kalsinasi. [39]

Berbeda dengan material *amorf*, material *kristalin* menghasilkan difraksi sinar-X yang lebih bersih dari *impurities*, hal ini karena susunan atomnya yang teratur. Susunan atom material *amorf* masih tidak teratur sehingga sinar-X dihamburkan bukan didifraksikan (meskipun ada sedikit yang didifraksikan), hamburan sinar-X inilah yang menyebabkan *impurities* pada hasil uji XRD setelah dilakukan analisis mengandung senyawa karbon. Karena hasil pembakaran berupa karbon ini dianggap sebagai *impurities*. [58]

Sebagai pembandingan dilampirkan data XRD hasil penelitian yang dilakukan oleh Yarah Ozbek, *et al* sebagai berikut :



Gambar 3.3.4 Data Pembandingan XRD (Yarah Ozbek, *et al*)

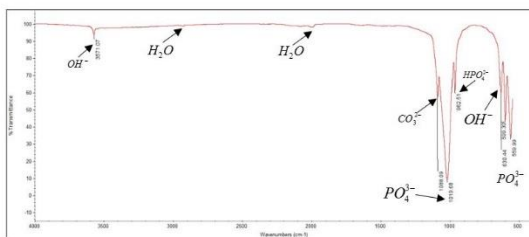
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa munculnya *Tri Calcium Phosphate*. Jika pada awal komposisi pembuatan HA ditambahkan dengan TCP, maka TCP akan menjadi indikator masuknya Sr dalam HA. Ketika TCP tinggi, maka Sr yang masuk menggantikan kalsium juga tinggi. [39,40]

3.4 Hasil Analisis Karakterisasi FTIR

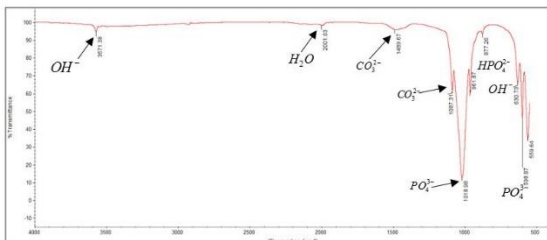
Karakterisasi FTIR dilakukan kepada sampel granul HA tanpa doping, doping 2% mol SrCO_3 , dan doping 4% mol SrCO_3 . Melalui pencocokan dengan referensi pada database *highscoreplus*. Dari peak yang intensitasnya tinggi maka diketahui bahwa senyawa yang dominan dari sampel granul HA adalah HA. Akan tetapi, HA yang diperoleh juga mengandung karbonat CO_3^{2-} yang ditandai dengan adanya hkl seperti yang diperlihatkan pada Gambar

4.19, 4.20 dan 4.21. berbeda pada puncak paling tinggi dari tiga puncak khas milik HA yakni (121), seharusnya hkl untuk puncak paling tinggi pada senyawa HA adalah (211). [39]

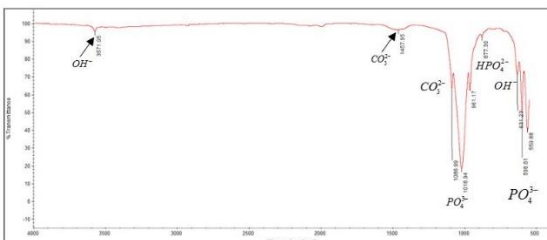
Hasil analisis FTIR memperkuat dugaan bahwa HA yang telah disintesis tidaklah murni. Hal tersebut diperkuat dengan tingginya intensitas spektrum untuk gugus karbonat CO_3^{2-} yang terdeteksi. Adanya gugus karbonat CO_3^{2-} yang masuk ke dalam kisi kristal dari HA dimungkinkan karena proses sintesis HA yang dilakukan pada kondisi atmosfer tidak inert dan juga proses kalsinasi. Data hasil pengujian FTIR dilampirkan di bawah ini :



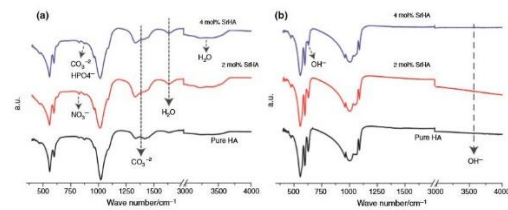
Gambar 3.4.1 Hasil Karakterisasi FTIR Tanpa Doping



Gambar 3.4.2 Hasil Karakterisasi FTIR Doping 2% mol SrCO_3



Gambar 3.4.3 Hasil Karakterisasi FTIR Doping 4% mol SrCO_3



Gambar 3.4.4 Pemanding data karakterisasi FTIR (Yarah Ozbek, *et al*).

Dari ketiga sampel granul HA yang dilakukan pengujian FTIR mengandung senyawa karbonat. Karbonat yang masuk ke dalam kisi kristal akan mempengaruhi nilai rasio Ca/P dari HA dan juga bidang kristalnya. Ion karbonat yang masuk ke dalam kisi kristal HA akan menggantikan ion hidroksil OH^- atau fosfat PO_4^{3-} dan menghasilkan *carbonated-HA* (CHA) seperti yang dipaparkan oleh Afshar *et al.* [62]. Meskipun faktor utama dari masuknya ion karbonat ke dalam kisi kristal disebabkan karena reaksi pencampuran prekursor dilakukan di udara terbuka, kemungkinan ada faktor lain yang juga ikut andil dalam memberikan kesempatan bagi ion karbonat untuk masuk ke dalam kisi kristal HA. Laju penambahan asam yang lambat (0,75 mL/menit) menyebabkan bergabungnya karbonat dengan struktur apatit [55]. Narasaraju *et al.* [11] dalam review-nya memaparkan mekanisme bergabungnya karbonat ke dalam kisi kristal HA. Ion karbonat masuk dan menempati dua lokasi berbeda di dalam kisi kristal HA, diberi nama A dan B. Untuk karbonat yang menempati lokasi A ditandai dengan munculnya pita pada FTIR di nilai 884, 1465, dan 1534 cm^{-1} , sedangkan untuk lokasi B ditandai pada pita di nilai 864, 1430, dan 1534 cm^{-1} . Karbonat CO_3^{2-} pada lokasi B diperkirakan menggantikan gugus fosfat PO_4^{3-} dan menyebabkan kontraksi pada parameter kisi a dengan laju sebesar 0,0006 nm per persen berat (%wt) karbonat CO_3^{2-} . Sedangkan karbonat CO_3^{2-} pada lokasi A menggantikan gugus hidroksil OH^- dan menyebabkan kontraksi pada parameter kisi a dengan

laju sebesar 0,026 nm per persen berat (%wt) karbonat CO_3^{2-} .

Sampel HA yang diuji FTIR memperlihatkan pita-pita yang mirip dengan karbonat tipe A dan B yang sebelumnya dijelaskan. Hal ini menjadi indikasi bahwa HA yang disintesis mengandung karbonat dalam jumlah yang relatif banyak. Kuantitas karbonat di dalam struktur apatit dapat diperkirakan dari intensitas pita-pita. Intensitas pita karbonat yang tinggi menandakan terdapat sejumlah besar karbonat di dalam struktur apatit [61]. Selain untuk CO_3^{2-} karbonat, pita di nilai 875 cm^{-1} juga menandakan adanya HPO_4^{2-} di dalam sampel HA yang disintesis. Keberadaan karbonat dalam struktur HA dinilai tidak baik karena dapat mengurangi kestabilan termalnya, oleh karenanya keberadaan karbonat perlu dihilangkan dengan cara meng-inert-kan kondisi pada saat reaksi pencampuran prekursor [3]. Bahwa HA yang diperoleh merupakan carbonated-HA akan lebih diperkuat lagi dengan analisis dari uji XRD yang dilakukan.

Jika analisis dari hasil pengujian FTIR dikaitkan dengan analisis dari hasil pengujian XRD maka didapatkan sebuah kecocokan dimana kedua pengujian tersebut berhasil mengindikasikan adanya substitusi ion karbonat CO_3^{2-} ke dalam kisi kristal HA. Seperti yang sebelumnya dijelaskan pada bagian analisis hasil pengujian FTIR bahwa CO_3^{2-} dapat menggantikan PO_4^{3-} atau OH^- dan menyebabkan kontraksi pada parameter kisi a dari struktur kristal HA. Jika dilihat dari grafik FTIR yang memperlihatkan bahwa intensitas untuk spektrum CO_3^{2-} cukup tinggi menandakan kuantitas dari karbonat yang cukup besar sehingga bidang kristalnya lebih dominan daripada bidang kristal milik HA.

3.5 Hasil Analisis Uji Bakteri

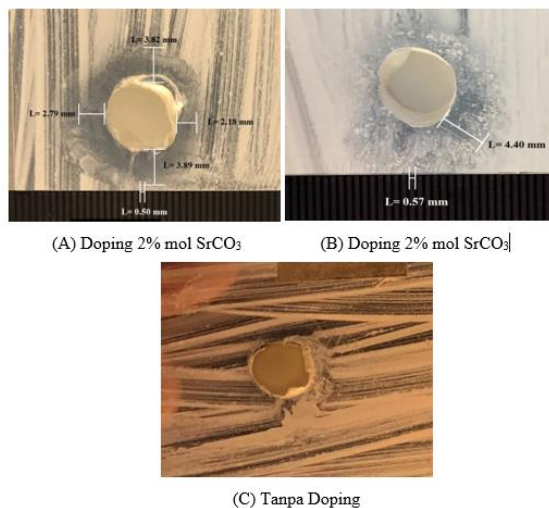
Telah dilakukan pengujian ketahanan sampel granul *hydroxyapatite* (HA) terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E-Coli*). Sampel granul HA yang diujikan meliputi granul HA tanpa doping, granul HA doping 2% mol SrCO_3 , dan granul HA dengan doping 4% mol SrCO_3 . Pengujian anti bakteri dilakukan dengan menggunakan *sumur sampel* dan *zona bening*. Sumur sampel merupakan sumur atau tempat dari sampel diletakkan dalam zona pertumbuhan bakteri. Sementara itu *zona bening* merupakan zona atau daerah “bening” yang berupa luasan yang tidak ditumbuhi oleh bakteri akibat adanya sampel sebagai anti bakteri atau anti-biotik.

Escherichia coli merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling sedikit banyak di bawah keadaan anaerob. [109]. Pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37 °C pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen. *Escherichia coli* memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. *Escherichia coli* berbentuk sirkular, konveks dan koloni tidak berpigmen pada nutrient dan media darah. *Escherichia coli* dapat bertahan hingga suhu 600°C selama 15 menit atau pada suhu 550°C selama 60 menit. *Escherichia coli* tumbuh baik pada temperatur antara 8°- 46°C dan temperatur optimum 37°C. Bakteri yang dipelihara di bawah temperatur minimum atau sedikit di atas temperatur maksimum, tidak akan segera mati melainkan berada di dalam keadaan tidur atau dormansi. [109]

Pengujian bakteri di preparasi dengan menghaluskan dan menlarutkan granul HA dengan aquadest steril dengan perbandingan 1:1. Dimana granul HA 0,5 gram dan aquadest 0,5 ml. Selanjutnya adalah mempersiapkan media pertumbuhan

bakteri yang terdiri atas *Nutrient Agar* (NA) yang dimasukkan kedalam cawan steril dengan ketebalan 0,5 cm. Kemudian melakukan *swab* bakteri kedalam media pertumbuhan bakteri (NA) lalu dibuatlah sumur untuk menginjeksikan sample granul HA yang akan dilakukan uji bakteri. Setelah dibuat “sumur sampel”, selanjutnya adalah menginjeksikan bakteri kedalam “sumur sampel”. Setelah itu dilakukan penumbuhan bakteri dalam incubator selama 24 jam dan 48 jam.

Sehingga hasil pengujian bakteri selama 24 jam dan 48 jam didapatkan hasil analisis sebagai berikut :



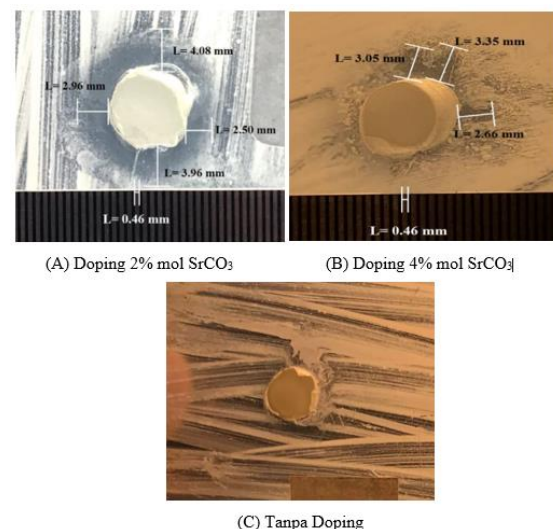
Gambar 3.5.1 Hasil Analisis Uji Bakteri 24 Jam (Zona Bening)

Telah dilakukan pengujian mengenai ketahanan granul *hydroxyapatite* (HA) tanpa doping, doping 2% mol SrCO_3 dan doping 4% mol SrCO_3 terhadap bakteri *E-coli* selama 24 jam pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan hasil uji zona bening seperti terlihat pada gambar 4.27 yang menyatakan bahwa granul HA tanpa doping tidak memiliki *zona bening*. Hal tersebut sesuai dengan teori maupun eksperimen, menimbang pada HA yang tidak di doping secara alamiah HA murni tidak memiliki sifat anti bakteri. Hal tersebut didukung dengan hasil EDS yang tidak menyatakan adanya kandungan unsur Sr. Begitu pula pada hasil XRD untuk

granul HA murni tidak didapatkan adanya kandungan lain sebagai anti bakteri.

Pada granul HA yang terdoping 2 % dan 4 % mol SrCO_3 memiliki luasan area *zona bening*. Zona bening yang terlihat pada sampel yang terdoping 2% mol SrCO_3 pada 24 pertama adalah memiliki ukuran ($L_1=3,82\text{mm}$); ($L_2=2,18\text{mm}$); ($L_3=3,89\text{mm}$); ($L_4=2,79$). Sementara itu *zona bening* yang terlihat pada granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 memiliki luasan yang masih samar. Pada 24 jam pertama ini terlihat luasannya hanya pada satu sisi yakni ($L=4,40\text{mm}$).

Hasil pengukuran pada setiap sisi zona bening ke sampel terlihat tidak seragam dikarenakan granul HA yang terikat dengan Sr memiliki intensitas masing-masing disetiap bagiannya. Selain itu juga karena faktor pengkalibrasian alat pengukur yang bernama *Infinity Analyze* yang tentu dapat mempengaruhi hasil pengukuran.



Gambar 3.5.2 Hasil Analisis Uji Bakteri 48 Jam (Zona Bening)

Perlakuan 48 jam diberikan untuk memastikan bahwa dalam granul tersebut terbukti terdapat Sr sebagai anti bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E-coli*. Setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam perkembangan zrea zona bening nampak terlihat seperti pada gambar 4.28.

Pada gambar tersebut didapatkan hasil ukuran zona bening selama 48 jam dimana pada sampel 2% mol SrCO_3 didapatkan ($L_1=4,08\text{mm}$); ($L_2=2,50\text{mm}$); ($L_3=3,96\text{mm}$); ($L_4=2,96\text{mm}$) dimana menunjukkan luasan zona bening yang ada semakin bertambah dari inkubasi sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa Sr tersubstitusi dengan baik pada Ca *hydroxyapatite* (HA) seperti yang tertera pada hasil EDS dan XRD.

Sementara itu, untuk sampel granul HA terdoping 4% mol SrCO_3 jika dilihat berdasarkan zona beningnya yang diukur dengan Aplikasi *Infinity Analyze* dari berbagai sisi sesuai dengan yang terlihat pada gambar 4.28 dapat terlihat bahwa ukuran luasannya adalah ($L=3,35\text{mm}$).

Dari hasil tersebut menunjukkan penyusutan zona bening yang ada ketika ditambah waktu inkubasinya menjadi 48 jam untuk granul HA 4% mol SrCO_3 . Penyusutan area zona bening dapat terjadi dikarenakan sifat anti bakteri Sr dari sampel tersebut seperti pada hasil EDS tersubstitusi secara *bearing*. Selain itu jika Sr lebih dari 2% mol maka Sr yang tersubstitusi kedalam Ca akan meningkatkan kadar TCP.

Dari hasil pengamatan uji sampel granul HA terhadap ketahanan bakteri *E-coli* untuk aplikasi *bone filler* berdasarkan metode dan variabel yang digunakan dalam penelitian ini, granul HA dengan doping 2% mol SrCO_3 memiliki ketahanan terhadap bakteri *E-coli* yang baik. Hal ini dapat dibuktikan dengan hasil pengamatan lain pada EDS dan XRD yang menunjukkan bahwa Sr tersubstitusi dengan baik pada Ca *hydroxyapatite* (HA).

Conclusion/ Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil studi penelitian ini menunjukkan bahwa granul *hydroxyapatite* (HA) yang terdoping 2% mol SrCO_3 memiliki sifat anti bakteri yang baik.

Karena jika lebih dari konsentrasi tersebut dikhawatirkan akan bersifat sebagai *Tri Calcium Phosphat* (TCP). Bentuk granul HA yang dihasilkan untuk granul HA tanpa doping, doping 2% mol SrCO_3 , dan doping 4% mol SrCO_3 secara keseluruhan berbentuk *spherical* bulat. Sementara itu untuk bentuk permukaan dan morfologi memiliki morfologi yang tidak halus dan cenderung mirip seperti bukit dan lembah sebagai faktor daya alir dan faktor pengunci. Keseluruhan sample granul HA memiliki fasa terbesar HA murni kristalin [1,2,1]. Akan tetapi juga terdapat fasa karbonat yang diprediksi berasal dari pengaruh *alginate*, doping SrCO_3 , *kalsinasi*, dan kondisi sintesis yang tidak *inert*. Sehingga mempengaruhi juga untuk rasio Ca/P yang kurnag dari 1.67 untuk HA murni. Fasa TCP tidak terbentuk. Jika memperbesar konsentrasi doping Sr secara teori dapat memunculkan TCP tapi Sr tidak lagi sebagai anti bakteri jika jumlah berlebih.

Acknowledgement

Referensi

- [1] Martz, E.O., V.K. Goel, M.H. Pope, and J.B. Park. 1997. "Materials and Design of Spinal Implants." *Journal of Biomedical Materials Research* 38, no. 3, pp. 267–88. doi: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)10974636\(199723\)38:3<267::aid-jbm12>3.0.co;2-8](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)10974636(199723)38:3<267::aid-jbm12>3.0.co;2-8).
- [2] Tamai, M., T. Isshiki, K. Nishio, M. Nakamura, A. Nakahira, and H. Endoh. 2003. "A Metastable Phase in Thermal Decomposition of Ca-Deficient Hydroxyapatite." *Journal of Materials Science Materials in Medicine* 14, no. 7, pp. 617–22. doi: 10.1023/A:1024075008165.
- [3] Eahn, E.S., N.J. Gleason, A. Nakahira, and J.Y. Ying. 2001. "Nanostructure

Processing of Hydroxyapatite-Based Bioceramics.” *Nano Letters* 1, no. 3, pp. 149–53. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/nl0055299>.

[4] Nakahira, A., K. Nakata, C. Numako, H. Murata, and K. Matsunaga. 2011. “Synthesis and Evaluation of Calcium-Deficient Hydroxyapatite with SiO₂.” *Materials Sciences and Applications* 2, no. 9, pp. 1194–8. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/msa.2011.29161>.

[5] Aoki, S., S. Yamaguchi, A. Nakahira, and K. Suganuma. 2003. “A New Approach to an Artificial Joint Based on BioCartilage/Porous α -Tricalcium Phosphate System.” *Journal of European Ceramic Society* 23, no. 15, pp. 2939–46. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/s0955-2219\(03\)00305-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0955-2219(03)00305-4).

[6] Nakahira, A., C. Karatani, and S. Nishida. 2004. “Evaluation of Cadmium Removal in Solution Using Various Hydroxyapatite and Cattle Bone.” *Phosphorus Research Bulletin* 17, pp. 148–52. doi: http://dx.doi.org/prb1992.17.0_148.

[7] Nakahira, A., S. Nakamura, and M. Horimoto. 2007. “Synthesis of Modified Hydroxyapatite (HAp) Substituted with Fe Ion for DDS Application.” *IEEE Transactions on Magnetics* 43, no. 6, pp. 2465–7. doi: <http://dx.doi.org/10.1109/tmag.2007.894358>.

[8] Gibson, I.R., S.M. Best, and W. Bonfield. 1999. “Chemical Characterization of Silicon-Substituted Hydroxyapatite.” *Journal of Biomedical Materials Research* 44, no. 4, pp. 422–8. doi: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)10974636\(19990315\)44:4<422::aid-jbm8>3.0.co;2-#](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)10974636(19990315)44:4<422::aid-jbm8>3.0.co;2-#)

[9] Nakahira, A., K. Sakamoto, S. Yamaguchi, M. Kaneno, S. Takeda, and M. Okazaki. 1999. “Novel Synthesis Method

of Hydroxyapatite Whiskers by Hydrolysis of Alpha-Tricalcium Phosphate in Mixtures of H₂O and Organic Solvent.” *Journal of the American Ceramic Society* 82, no. 8, pp. 2029–32. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1151-2916.1999.tb02035.x>.

[10] Daculsi, G., J.-M. Bouler, and R.Z. LeGeros. 1997. “Adaptive Crystal Formation in Normal and Pathological classifications in Synthetic Calcium Phosphates and Related Biomaterials.” *International Review of Cytology* 172, pp. 129–91. doi: [10.1016/S0074-7696\(08\)62360-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62360-8).

[11] Porter, A.E., N. Patel, I.N. Skepper, S.M. Best, and W. Bonfield. 2004. “Effects of Sintered Silicate Substituted Hydroxyapatite on Remodeling Processes at the Bone-Implant Interface.” *Biomaterials* 25, no. 16, pp. 3303–14. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.006>.

[12] Cazalbou, S., D. Eichert, X. Ranz, C. Drouet, C. Combes, M.F. Harmand, and C. Rey. 2005. “Ion Exchanges in Apatites for Biomedical Application.” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 16, no. 5, pp. 405–9. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-005-6979-2>.

[13] Redey, S.A., M. Nardin, D. Bernache-Assollant, C. Rey, P. Delannoy, L. Sedel, and P.J. Marie. 2000. “Behavior of Human Osteoblastic Cells on Stoichiometric Hydroxyapatite and Type a Carbonate Apatite: Role of Surface Energy.” *Journal of Biomedical Materials Research* 50, no. 3, pp. 353–64. doi: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(20000605\)50:3<353::aid-jbm9>3.0.co;2-c](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(20000605)50:3<353::aid-jbm9>3.0.co;2-c).

[14] Redey, S.A., S. Razzouk, C. Rey, D. Bernache-Assollant, G. Leroy, M. Nardin, and G. Cournot. 1999. “Osteoclast Adhesion and Activity on Synthetic

Hydroxyapatite, Carbonated Hydroxyapatite, and Natural Calcium Carbonate: Relationship to Surface Energies.” *Journal of Biomedical Materials Research* 45, no. 2, pp. 140–7. doi: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)10974636\(199905\)45:2<140::aid-jbm9>3.0.co;2-i](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)10974636(199905)45:2<140::aid-jbm9>3.0.co;2-i).

[15] Rey, C., A. Hina, A. Tofighu, and M.J. Glimcher. 1995. “Maturation of Poorly Crystalline Apatites; Chemical and Structural Aspects in Vivo and in Vitro.” *Cell Mater* 5, no. 4, pp. 345–56.

[16] Beshah, K., C. Rey, M.J. Glimcher, M. Schimizu, and R.G. Griffin. 1990. “Solid State Carbon-13 and Proton NMR Studies of Carbonate-Containing Calcium Phosphates and Enamel.” *Journal of Solid State Chemistry* 84, no. 1, pp. 71–81. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-4596\(90\)90185-z](http://dx.doi.org/10.1016/0022-4596(90)90185-z).

[17] Boanini, E., M. Gazzano, and A. Bigi. 2010. “Ionic Substitutions in Calcium Phosphates Synthesized at Low Temperature.” *Acta Biomaterialia* 6, no. 6, pp. 1882–94. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2009.12.041>.

[18] Gustavsson, J., M.P. Ginebra, E. Engel, J. Planell. 2011. “Ion Reactivity of Calcium-Deficient Hydroxyapatite in Standard Cell Culture Media.” *Acta Biomaterialia* 7, no. 12, pp. 4242–52. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2011.07.016>.

[19] Kannan, S., S.I. Vieira, S.M. Olhero, P.M.C. Torres, S. Pina, O.A.B. Da Cruze Silva, and J.M.F. Ferreira. 2011. “Synthesis, Mechanical and Biological Characterization of Ionic Doped Carbonated Hydroxyapatite/ β -Tricalcium Phosphate Mixtures.” *Acta Biomaterialia* 7, no. 4, pp. 1835–43. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2010.12.009>.

[20] Kannan, S., F. Goetz-Neunhoeffler, J. Neubauer, and J.M.F. Ferreira. 2008. “Ionic Substitutions in Biphasic Hydroxyapatite and β -Tricalcium Phosphate Mixtures: Structural Analysis by Rietveld Refinement.” *Journal of the American Ceramic Society* 91, no. 1, pp. 1–12. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1551-2916.2007.02117.x>.

[21] Liu, X., Y. Mou, S. Shuilin Wu, and H.C. Man, 2013. “Synthesis of Silver-Incorporated Hydroxyapatite Nanocomposites for Antimicrobial Implant Coatings.” *Applied Surface Science* 273, pp. 748–57. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.02.130>.

[22] Stanić, V., D. Janačković, S. Dimitrijević, S.B. Tanasković, M. Mitrić, M.S. Pavlović, A. Krstić, D. Jovanović, and S. Raičević. 2011. “Synthesis of Antimicrobial Monophase Silver-Doped Hydroxyapatite Nanopowders for Bone Tissue Engineering.” *Applied Surface Science* 257, no. 9, pp. 4510–18. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2010.12.113>.