

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian tugas akhir secara keseluruhan dimulai pada September 2019 sampai Agustus 2020. Proses eksperimen inti dimulai pada tanggal 20 Januari 2020 hingga 31 Juli 2020. Kegiatan Penelitian dilakukan di Laboratorium Preparasi Kimia dan Laboratorium Karakterisasi Pusat Teknologi Material (PTM) Badan Pusat Penelitian dan Penerapan Teknologi (BPPT) dan Laboratorium Fisika Material Institut Teknologi Sumatera (ITERA).

Proses karakterisasi material yang dilakukan adalah karakterisasi FTIR, XRD, SEM-EDS. Karakterisasi FTIR dilakukan di PTM-BPPT, karakterisasi XRD dilakukan di G-Labs Indonesia dan karakterisasi SEM-EDS dilakukan di PT. Cipta Mikro Material BPPT. Pengujian lainnya adalah pengujian anti-bakteri yang dilakukan di Laboratorium Biologi ITERA. Matriks pelaksanaan penelitian tugas akhir ini tertera pada **Gambar 3.1**.

No	Kegiatan	Waktu Penelitian (2019-2020)																																											
		November				Desember				Januari				Februari				Maret				April				Mei				Juni				Juli				Agustus				September			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
1	Penentuan tema penelitian	■	■																																										
2	Penentuan judul penelitian	■	■	■																																									
3	Perencanaan Penelitian	■	■	■																																									
4	Penyusunan Proposal	■	■	■	■	■	■	■	■																																				
5	Seminar Proposal									■																																			
6	Deposisi Awal									■	■	■	■	■	■	■	■																												
7	Karakterisasi FTIR awal													■	■																														
8	Pending Pandemi Covid-19																	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																
9	Deposisi Ulang																									■	■																		
10	Karakterisasi ulang FTIR																													■	■														
11	Uji Bakteri																																												
12	Analisis Awal																																												
13	Karakterisasi XRD, SEM-EDS																																												
14	Analisis Akhir dan Pra Sidang																																												
15	Seminar dan Sidang TA																																												

Gambar 3. 1 Matriks pelaksanaan penelitian

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian tugas akhir ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu perencanaan dan perancangan, pembuatan, pengujian, serta analisis data. Analisis data hasil pengujian dilakukan berdasarkan bidang kajian Fisika Material, Kimia dan Mikrobiologi.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Adapun alat- alat yang digunakan dalam penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut:

- | | |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Gelas Beaker | 10. Aluminium Foil |
| 2. Gelas ukur | 11. Piring, mangkok plastik, sendok. |
| 3. Pipet tetes | 12. Saringan |
| 4. Pipet volumetrik | 13. Hair dryer |
| 5. Tabung reaksi | 14. Oven |
| 6. Termometer analog dan digital | 15. <i>Furnace Sintering</i> |
| 7. <i>Hotplate</i> | 16. Mikroskop Optik (OM) |
| 8. <i>Magnetic Stirrer</i> | 17. Kalkulator |
| 9. Timbangan analitik digital | 18. Suntikan (1,20 × 38 mm). |
| 10. Alat vacum | 19. Alat Karakterisasi SEM-EDS |
| 11. Penggaris/Mistar | 20. Alat Karakterisasi FTIR |
| 12. Plastic Wrap | 21. Alat Karakterisasi XRD |
| 13. Cawan kaca dan porselen | 22. Alat Uji Bakteri |
| 14. Laptop | 23. Kertas label |

3.3.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut:

1. Di-Ammonium Hydrogen Phosphat (DAP) = $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$
2. Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca.Nit) = $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$

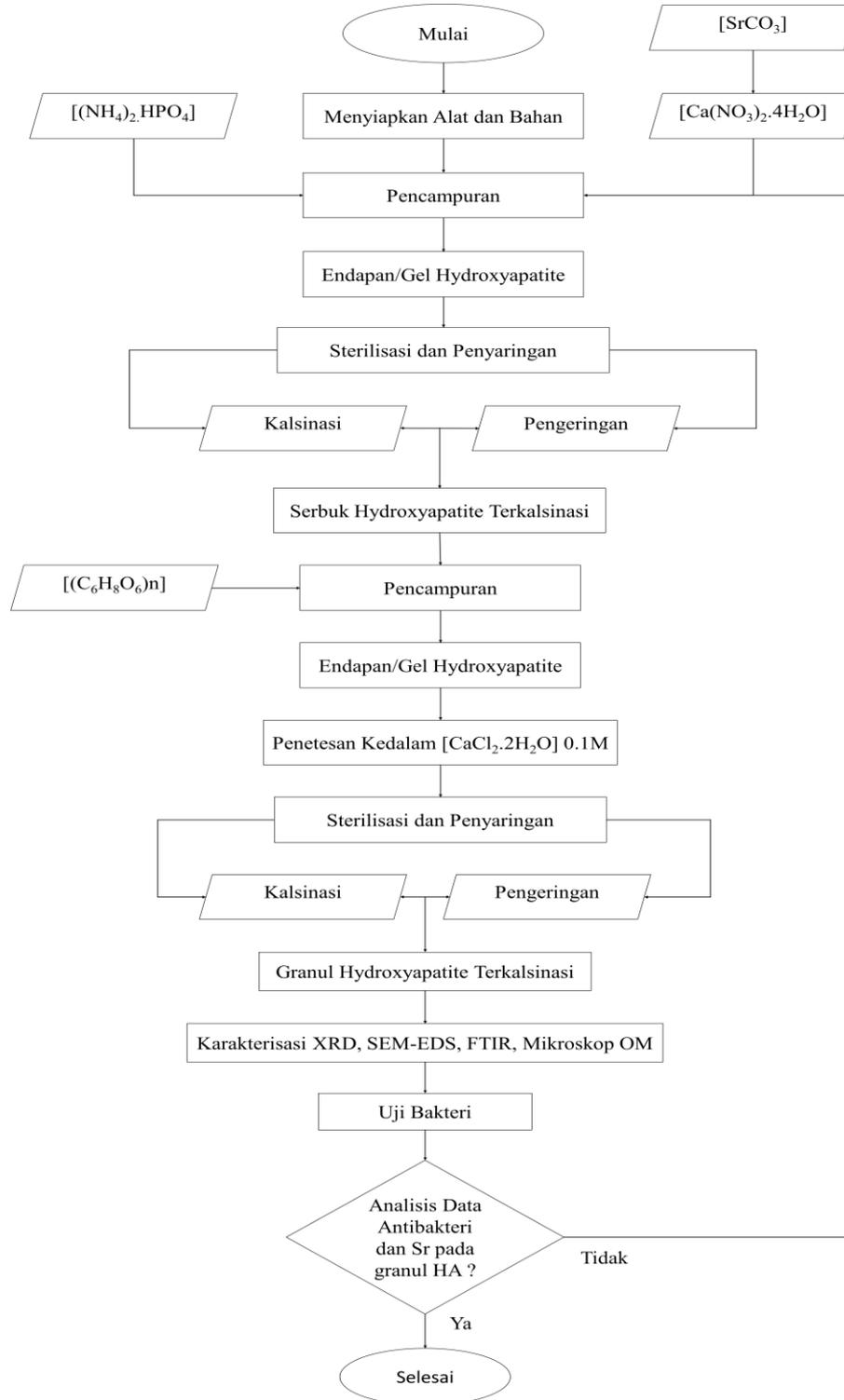
3. Strontium Carbonate [SrCO_3]
4. Akuades [H_2O]
5. Alkohol 96% [$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$]
6. Ammonia Solution 32% [NH_3]
7. Alginat [$(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$]
8. Calcium Chlorid Didydrat [$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] 0.1M

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Preparasi Kimia dan Karakterisasi Material Pusat Teknologi Material (PTM) BPPT, Laboratorium Fisika Material Institut Teknologi Sumatera (ITERA). Sementara itu, proses karakterisasi dan pengujian dilakukan di Laboratorium PTM BPPT, Laboratorium PT. Cipta Mikro Material BPPT, Laboratorium G-Labs Indonesia, serta Laboratorium Biologi ITERA. Adapun alat dan bahan serta diagram alir yang digunakan dalam penelitian tugas akhir ini adalah sebagai berikut:

3.4.1 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir tahapan pada penelitian tugas akhir ini ditunjukkan pada **Gambar 3.2**.



Gambar 3. 2 Diagram alir penelitian

3.4.2 Prosedur

Prosedur penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

3.4.2.1 Pembuatan Hydroxyapatite Serbuk/*Powder*

A. Serbuk/*Powder Hydroxyapatite Tanpa Doping*

1. Menentukan berat atau gram dari Di-Ammonium Hydrogen Phosphat (DAP)= $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ dan Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca.Nit)= $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ dengan perbandingan mol adalah 0,03 mol DAP: 0,05 mol Ca.Nit. Sehingga didapatkan gramnya melalui perhitungan (DAP= mol x Mr DAP)= (0,03 mol x 132,05 gram/mol) menjadi (3,9615 gram). (Ca.Nit = mol x Mr Ca.Nit) = (0,05 mol x 236,15 gram/mol) menjadi (11,8075 gram).
2. Menimbang DAP dan Ca.Nit hasil perhitungan masing-masing sebanyak 3,9615 gram DAP dan 11,8075 gram Ca.Nit.
3. Larutkan gram DAP dan gram Ca.Nit ke dalam 250 mL akuades dalam wadah gelas beaker yang berbeda. Misal larutan A untuk DAP dan larutan B untuk Ca.Nit. perlakuannya dengan menggunakan suhu 95°C pada *hotplate* dan *stirrer* dengan kecepatan 6 rad/sekon selama 10 menit.



Gambar 3. 3 Melarutkan DAP dan Ca.Nit dalam wadah yang berbeda

4. Mencampurkan larutan A ke dalam larutan B dengan perlakuan suhu 95°C pada *hotplate* dan di *stirrer* dengan kecepatan 6 rad/sekon selama 20 menit.



Gambar 3. 4 Pencampuran Larutan

5. Tambahkan Ammonia Solution 32% [NH₃] ke dalam campuran sebanyak 20 mL dan kemudian lanjutkan proses *stirrer* dengan kecepatan 6 rad/sekon dengan suhu 95°C selama 24 jam.



Gambar 3. 5 Penambahan Ammonia

6. Kemudian dilakukan pengecekan nilai pH dan kondisi suhu pada campuran. Didapatkan nilai pH = 8 dan suhu 62°C.
7. Dilakukan penyaringan menggunakan mesin vakum dan disterilkan menggunakan akuades sebanyak 1000 mL dan etanol sebanyak 500 mL, lalu diamkan selama 12 jam agar mengurangi sisa-sisa air yang terkandung.



Gambar 3. 6 penyaringan dan sterilisasi

8. Lakukan pengeringan menggunakan *hairdryer* selama 10 menit untuk mengurangi sisa-sisa air yang terkandung.
9. Oven selama 4 jam dengan suhu 80°C dan dilanjut dengan *sintering* dengan suhu 650°C sebagai proses pengeringan.

10. Setelah dilakukan proses *sintering*, selanjutnya adalah dilakukan penghalusan sampel menggunakan mortar dan dilakukan penyaringan menggunakan saringan ukuran 16 mikron agar dapat dibuat *hydroxyapatite* granul.
11. Penimbangan hasil total *hydroxyapatite* (HA) serbuk tanpa doping yang didapat adalah 4,1762 gram.
12. *Hydroxyapatite* (HA) serbuk atau *powder* tanpa doping siap untuk menjadi bahan dasar pembuatan HA granul.

B. Serbuk/Powder *Hydroxyapatite* doping 2% mol SrCO₃

1. Menentukan berat atau gram dari 2% mol SrCO₃ terlebih dahulu dari perbandingan 0,05 mol Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca.Nit)= [Ca(NO₃)₂.4H₂O] melalui perhitungan:

$$2 \% \text{ mol SrCO}_3 \text{ dari (Ca.Nit)} = \frac{2}{100} \times 0,05 \text{ mol [Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] = 0,001$$

mol

$$\text{Gram SrCO}_3 = \text{mol} \times \text{Mr SrCO}_3 = 0,001 \text{ mol} \times 147,6289 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram SrCO}_3 = 0,001 \text{ mol} \times 147,6289 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram SrCO}_3 = 0,1476289 \text{ gram}$$

Kemudian dilakukan penimbangan berat SrCO₃ seberat 0,1476289 gram.

2. Menentukan dan melakukan perhitungan molaritas 2 % mol SrCO₃. Maka didapatkan nilai molaritas 2 % mol SrCO₃ adalah = $\frac{\text{mol}}{\text{Vol}} = \frac{0,001}{0,25\text{l}} = 0,004 \text{ M}$

3. Melakukan perhitungan dan menentukan berat atau gram dari Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca.Nit) = [Ca(NO₃)₂.4H₂O] dari perbandingan mol awal (Ca.Nit) 0,05 mol dikurangi dengan mol SrCO₃ 0,001 mol. Maka didapatkan untuk gram Ca.Nit adalah:

$$\text{Gram Ca.Nit} = (\text{mol [Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] - \text{mol SrCO}_3) \times \text{Mr [Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$$

$$\text{Gram Ca.Nit} = (0,05 \text{ mol} - 0,001 \text{ mol}) \times 236,15 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram Ca.Nit} = 11,57135 \text{ gram}$$

- Melakukan perhitungan dan menentukan berat Di-Ammonium Hydrogen Phosphat (DAP) = $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ berdasarkan perbandingan 0,03 mol. Sehingga didapatkan:

$$\text{Gram (DAP)} = 0,03 \text{ mol} \times 132,05 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram (DAP)} = 3,9615 \text{ gram}$$

- Larutkan (DAP) ke dalam gelas beaker berisi akuades 250 ml dengan suhu 95°C pada *hotplate* dan dengan kecepatan *stirrer* 6rad/sekon sebagai larutan A selama 10 menit. Kemudian Larutkan (Ca.Nit) dan SrCO_3 ke dalam gelas beaker yang berisi akuades 250 ml yang *distirrer* dengan kecepatan 6 rad/sekon dan 95°C suhu pada *hotplate* sebagai larutan B selama 10 menit.



Gambar 3. 7 Melarutkan DAP, Ca.Nit dan SrCO_3

- Mencampurkan larutan A ke dalam larutan B dengan kecepatan putaran 6 rad/sekon dan suhu 95°C selama 20 menit.
- Menambahkan Ammonia Solution 32% $[\text{NH}_3]$ sebanyak 20ml setelah di *stirrer* selama 20 menit.



Gambar 3. 8 Menambahkan ammonia

- Proses *Stirrer* dilanjutkan selama 24 jam dengan suhu 95°C .

9. Dilakukan pengukuran nilai pH menggunakan pH indikator dan pengukuran suhu menggunakan termometer. Maka didapatkan nilai pH adalah 8 dan suhunya 58°C .



Gambar 3. 9 Pengukuran suhu dan pH

10. Dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan mesin vacum dan sterilisasi menggunakan akuades sebanyak 1000ml dan etanol sebanyak 500ml. kemudian setelah dilakukan penyaringan dan sterilisasi selanjutnya sampel didiamkan selama 12 jam agar kadar air berkurang.
11. Mengurangi kadar air pada sampel yang sudah didiamkan semalaman menggunakan hair dryer selama 10 menit.
12. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 4 jam. Kemudian dilanjutkan dengan proses *sintering* menggunakan suhu 650°C selama 2 jam.
13. Setelah dilakukan proses *sintering*, selanjutnya adalah dilakukan penghalusan sampel menggunakan mortar dan dilakukan penyaringan menggunakan saringan ukuran 16 mikron agar dapat dibuat *hydroxyapatite* granul.



Gambar 3. 10 Proses Penyaringan HA ukuran 36 mikron

14. Penimbangan *hydroxyapatite* (HA) serbuk terdoping 2% mol SrCO_3 didapatkan berat total 4.2530 gram.



Gambar 3. 11 Proses Penimbangan HA serbuk terdoping 2% mol SrCO₃

15. *Hydroxyapatite* (HA) serbuk atau *powder* terdoping 2% mol SrCO₃ siap untuk menjadi bahan dasar pembuatan HA granul.

C. Serbuk/Powder *Hydroxyapatite* doping 4% mol SrCO₃

1. Menentukan berat atau gram dari 4% mol SrCO₃ terlebih dahulu dari perbandingan 0,05 mol Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca.Nit)= [Ca(NO₃)₂.4H₂O] melalui perhitungan:

$$4 \% \text{ mol SrCO}_3 \text{ dari (Ca.Nit)} = \frac{4}{100} \times 0,05 \text{ mol [Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O]} = 0,002$$

mol

$$\text{Gram SrCO}_3 = \text{mol} \times \text{Mr SrCO}_3 = 0,002 \text{ mol} \times 147,6289 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram SrCO}_3 = 0,002 \text{ mol} \times 147,6289 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram SrCO}_3 = 0,2952578 \text{ gram}$$

Kemudian dilakukan penimbangan berat SrCO₃ seberat 0,2952578 gram



Gambar 3. 12 Menimbang massa SrCO₃

2. Menentukan dan melakukan perhitungan molaritas 4 % mol SrCO_3 . Maka didapatkan nilai molaritas 4 % mol SrCO_3 adalah $\frac{\text{mol}}{\text{vol}} = \frac{0,002}{0,25\text{l}} = 0,008 \text{ M}$

3. Melakukan perhitungan dan menentukan berat atau gram dari Calcium Nitrate Tetrahydrate (Ca.Nit) = $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ dari perbandingan mol awal (Ca.Nit) 0,05 mol dikurangi dengan mol SrCO_3 0,002 mol. Maka didapatkan untuk gram Ca.Nit adalah:

$$\text{Gram Ca.Nit} = (\text{mol } [\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}] - \text{mol SrCO}_3) \times \text{Mr } [\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$$

$$\text{Gram Ca.Nit} = (0,05 \text{ mol} - 0,002 \text{ mol}) \times 236,15 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram Ca.Nit} = 11,3352 \text{ gram}$$



Gambar 3. 13 Menimbang Massa Ca.Nit

4. Melakukan perhitungan dan menentukan berat Di-Ammonium Hydrogen Phosphat (DAP) = $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ berdasarkan perbandingan 0,03 mol, sehingga didapatkan:

$$\text{Gram (DAP)} = 0,03 \text{ mol} \times 132,05 \text{ gram/mol}$$

$$\text{Gram (DAP)} = 3,9615 \text{ gram}$$



Gambar 3. 14 Menimbang massa DAP

- Larutkan (DAP) ke dalam gelas beaker berisi akuades 250 ml dengan suhu 95°C pada *hotplate* dan dengan kecepatan *stirrer* 6rad/sekon sebagai larutan A selama 10 menit. Kemudian Larutkan (Ca.Nit) dan SrCO_3 ke dalam gelas beaker yang berisi akuades 250 ml yang di*stirrer* dengan kecepatan 6 rad/sekon dan 95°C suhu pada *hotplate* sebagai larutan B selama 10 menit.



Gambar 3. 15 Melarutkan DAP, Ca.Nit dan SrCO_3

- Mencampurkan larutan A ke dalam larutan B dengan kecepatan putaran 6 rad/sekon dan suhu 95°C selama 20 menit.
- Menambahkan Ammonia Solution 32% $[\text{NH}_3]$ sebanyak 20ml setelah di *stirrer* selama 20 menit.



Gambar 3. 16 Menambahkan ammonia

- Proses *Stirrer* dilanjutkan selama 24 jam dengan suhu 95°C .
- Dilakukan pengukuran nilai pH menggunakan pH indikator dan pengukuran suhu menggunakan termometer. Maka didapatkan nilai pH adalah 10 dan suhunya 53°C

10. Dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan mesin vacum dan sterilisasi menggunakan akuades sebanyak 1000ml dan etanol sebanyak 500ml. kemudian setelah dilakukan penyaringan dan sterilisasi selanjutnya sampel didiamkan selama 12 jam agar kadar air berkurang.



Gambar 3. 17 Penyaringan dan Sterilisasi

11. Mengurangi kadar air pada sampel yang sudah didiamkan semalaman menggunakan hair dryer selama 10 menit.
12. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 4 jam. Kemudian dilanjutkan dengan proses *sintering* menggunakan suhu 650°C selama 2 jam.



Gambar 3. 18 Proses Oven

13. Setelah dilakukan proses *sintering*, selanjutnya adalah dilakukan penghalusan sampel menggunakan mortar dan dilakukan penyaringan menggunakan saringan ukuran 16 mikron agar dapat dibuat *hydroxyapatite* granul.



Gambar 3. 19 Proses Penyaringan HA ukuran 36 mikron

14. Penimbangan *hydroxyapatite* (HA) serbuk terdoping 4% mol SrCO₃ didapatkan berat total 4.5516 gram.



Gambar 3. 20 Proses Penimbangan HA serbuk terdoping 4% mol SrCO₃

15. *Hydroxyapatite* (HA) serbuk atau *powder* terdoping 4% mol SrCO₃ siap untuk menjadi bahan dasar pembuatan HA granul.

3.4.2.2 Pembuatan Granul *Hydroxyapatite*

1. Persiapan segala peralatan dan bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan granul *hydroxyapatite* (HA) seperti gelas beaker, gelas ukur, saringan, kertas saring, jarum suntik, batang pengaduk, pipet tetes, pipet volumetrik, hairdryer, oven, *furnace*, alginat (C₆H₈O₆)_n, akuades, calcium chlorid didydrat CaCl₂.2H₂O 0.1M, alkohol 96% C₂H₅OH, dan *hydroxyapatite* (HA) serbuk hasil sintesis tanpa doping, doping 2% mol SrCO₃, 4% mol SrCO₃.
2. Pembuatan larutan CaCl₂.2H₂O 0.1M dengan cara melakukan perhitungan terlebih dahulu untuk mengetahui gram dan volume yang dibutuhkan sebagai berikut:

$$M = \frac{mol}{vol} \rightarrow 0,1M = \frac{mol}{50ml}$$

$$n = 5 \text{ mmol}$$

$$\text{gram} = \text{mol} \times \text{Mr CaCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$$

$$\text{gram} = 5 \text{ mmol} \times 147,02 \text{ gram/mol}$$

$$\text{gram} = 735,1 \text{ mgram}$$

$$\text{gram} = 0,7351 \text{ gram dalam } 50\text{ml akuades}$$

Pembuatan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dibuat lima kalinya sebagai larutan cadangan, sehingga:

$$\text{gram} = 0,7531 \text{ gram} \times 5$$

$$\text{gram} = 3,6755 \text{ gram } \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$$

maka untuk volume akuades yang dibutuhkan adalah sebagai berikut:

$$\text{vol} = 50 \text{ ml} \times 5$$

$$\text{vol} = 250 \text{ ml}$$

3. Pembuatan larutan alginat dengan penimbangan *alginate* sebanyak satu gram yang dilarutkan dalam 250 ml akuades.



Gambar 3. 21 Menimbang *alginate*

4. Melarutkan *alginate* dalam 250 ml akuades selama 2 jam dengan menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 4 rad/sekon. Setelah 1 jam kemudian kecepatan dinaikkan menjadi 6 rad/sekon.



Gambar 3. 22 Melarutkan Alginat

5. Proses menimbang $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ seberat 3,6755 gram yang akan dilarutkan dalam 250 ml akuades sebagai $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M.



Gambar 3. 23 Menimbang $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

6. Melarutkan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 250 ml akuades selama 10 menit menggunakan *stirrer* tanpa suhu selama 10 menit dengan kecepatan 5 rad/sekon.



Gambar 3. 24 Melarutkan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

7. Mempersiapkan dan mengamplas jarum suntik yang akan digunakan sebagai proses penetes. Ukuran jarum suntik adalah $18\text{G} \times 1\frac{1}{2}$ ($1,20 \times 38$ mm).



Gambar 3. 25 Mempersiapkan dan mengamplas jarum suntik

8. Mempersiapkan dan menimbang *hydroxyapatite* (HA) serbuk hasil sintesis untuk yang tanpa doping, doping 2% mol SrCO_3 , dan doping 4% mol SrCO_3 . Kemudian masing-masing HA ditimbang sebanyak 4 gram.



Gambar 3. 26 Menimbang massa HA untuk dibuat granul

9. Setelah dilakukan penimbangan untuk ketiga sampel HA dengan masing-masing berat sampel 4 gram. Dimana terdiri atas HA serbuk tanpa doping, HA dengan doping 2% mol SrCO_3 , dan HA dengan doping 4% mol SrCO_3 . Selanjutnya adalah pencampuran masing-masing sampel HA dengan larutan *alginate* sebanyak 40ml ke dalam 3 wadah atau gelas beaker.



Gambar 3. 27 Pencampuran HA dengan *alginate*

10. Campuran HA dan *alginate* di-*stirrer* selama 3 jam dengan kecepatan 4-5 rad/sekon.

11. Menyiapkan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 50 mL untuk ketiga sampel doping yakni murni, doping SrCO_3 2% mol, dan 4 % mol yang digunakan sebagai media penetes granula HA.



Gambar 3. 28 Larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1M

12. Melakukan proses penetes larutan Ca.Alginat ke dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1M dengan menggunakan jarum suntik dengan jarak penetes 4cm yang dibuat sebagai variabel tetap.



Gambar 3. 29 Proses Penetes Pembuatan Granul HA

13. Perendaman dan sterilisasi granula HA hasil proses penetes dengan etanol 96% selama 15 menit.



Gambar 3. 30 Proses sterilisasi granula HA dengan etanol 96%

14. Setelah direndam kemudian granul HA disaring dan ditiriskan. Kemudian didiamkan selama 12 jam atau semalaman.
15. Pengeringan granul HA menggunakan hairdryer selama 10 menit kemudian dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven selama 3 jam dengan suhu 80°C .



Gambar 3. 31 Pengeringan Granul HA

16. Kalsinasi sampel granul HA dalam *furnace* dengan suhu 1000°C selama 2 jam.
17. Granul HA hasil kalsinasi didiamkan hingga mencapai suhu ruang. Kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing wadah untuk dilakukan pengujian dan karakterisasi sampel. Hasil pengujian dan karakterisasi kemudian ditimbang untuk melihat sisa granul HA yang tersisa.



Gambar 3. 32 Granul HA hasil sintesis siap untuk dilakukan pengujian.

3.5 Pengujian dan Karakterisasi Granul *Hydroxyapatite* (HA)

3.5.1 Analisis Ukuran Diameter, Gambaran Permukaan dan Sferisitas Granul HA

Setelah berhasil di sintesis untuk granul *hydroxyapatite* (HA) dari berbagai konsentrasi doping SrCO_3 2% mol, 4 % mol, dan tanpa doping sebagai variabel bebas. Kemudian dilakukan analisa untuk menentukan ukuran diameter, gambaran

permukaan dan spesifitas dari granul HA yang dihasilkan dengan mengambil tiga sampel acak di bawah mikroskop OM dengan menggunakan perbesaran 220 kali (merah), 550 kali (kuning), 1100 kali (hijau) dan kemudian dilakukan pengolahan data pada aplikasi *Infinity Analyze*.

3.5.2 Analisis Morfologi dan Unsur yang Terkandung pada Granul HA

Untuk mengetahui gambaran dan morfologi permukaan granul *hydroxyapatite* (HA) yang dihasilkan 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.

3.5.3 Analisis Fasa dan Kristalinitas Granul HA

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 mengetahui ukuran kristal dihitung dengan menggunakan persamaan Schererr:

$$D = \frac{0.9\lambda}{B \cos \theta} \dots\dots\dots(10)$$

Dengan D adalah ukuran kristal, B lebar setengah puncak maksimum, λ adalah panjang gelombang sinar-X dan θ adalah sudut Bragg pada puncak difraksi dalam derajat.

Parameter kisi kristal dapat dicari menggunakan persamaan (2).5 Hubungan antara jarak antar kisi (d) dengan parameter kisi (a,c) struktur heksagonal:

$$\frac{1}{d^3} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + l^2}{a^2} \right) + \frac{1}{c^2} \dots\dots\dots(11)$$

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.

3.5.4 Analisis Gugus Fungsi

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. Dengan hasil keluaran yang diharapkan terdapat gugus fungsi dari Ca(OH), PO₄, dan Sr (OH).

3.5.5 Analisis Anti-Bakteri

Untuk mengetahui sifat granul HA bersifat sebagai anti bakteri, dilakukan pengujian anti bakteri untuk ketiga sampel granul HA yakni tanpa doping, doping SrCO_3 2% mol dan SrCO_3 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 ke dalam sumur difusi yang dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades 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 di sekitar area yang terdapat sampel granul HA.