
	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pemeliharaan Mikroba</b>	No : PPM063
		Revisi : 07
		Berlaku : 25 OCT 2022
		Paraf : 

### 1 Tujuan

Agar analis yang bertugas menggunakan cara yang sama dalam melakukan pemeliharaan mikroba yang ada di laboratorium mikrobiologi.

### 2 Cakupan

Protap ini berlaku untuk pengelolaan dan pemeliharaan mikroba yang digunakan untuk pengujian dilaboratorium mikrobiologi, sebagai kontrol positif dan uji fertilitas media (GPT) dari mikroba baku (*master*) maupun turunannya.

### 3 Penanggung Jawab



- 3.1 Pelaksana protap ini adalah analis pengujian mikrobiologi
- 3.2 Penanggung jawab protap ini adalah Supervisor dan Asman Pengujian Mikrobiologi.

### 4 Bahan dan Alat


- 4.1 BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*).
- 4.2 TSA (*Tryptic Soy Agar*).
- 4.3 Media selektif yang sesuai untuk mikroba yang sedang ditangani (EMBA, CETA, MSA, XLDA, PDA, dll).
- 4.4 Pereaksi yang sesuai untuk mikroba yang sedang ditangani.
- 4.5 *Crystal system / API System*.
- 4.6 *Beads* dalam gliserol / mikrobank
- 4.7 Pipet pasteur
- 4.8 *Freezer*
- 4.9 Ose (kait, spraid, jarum, loop)
- 4.10 Paraffin cair steril

### 5 Prosedur

- 5.1 Pengelolaan Stock Mikroba di Laboratorium Mikrobiologi
  - 5.1.1. Petugas memeriksa mikroba yang diterima apakah sesuai dengan permintaan, *expired date*, keadaan fisik, jumlah mikroba dan pastikan bahwa spesifikasi mikroba pada kemasan sesuai dengan yang tertera pada COA.
  - 5.1.2. Jika sesuai, paraf pada dokumen yang menyertai mikroba, jika tidak kembalikan ke administrasi bidang untuk dimintakan penggantian.
  - 5.1.3. Catat tanggal datang / diterima, produsen, nomor lot, *passage*, *expired date* dan jumlah mikroba pada Formulir Catatan Pengelolaan Stock Mikroba (Master Kultur) di Laboratorium Mikrobiologi No. FPM 042.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pemeliharaan Mikroba</b>	No : PPM063
		Revisi : 07
		Berlaku : <b>25 OCT 2022</b>
		Paraf : 

- 5.1.4. Beri identitas pada mikroba dengan label yang berisikan nama mikroba, No. Lot, *passage*, tanggal datang, tanggal daluarsa, tanggal dibuka dan paraf petugas seperti label dibawah ini.

 <b>indofarma</b>	Label Identitas Mikroba	No : FPM040 Revisi : 00 Berlaku : 01 Okt 2018
Nama Mikroba	:	
No. Lot	:	
<i>Passage</i>	:	
Tgl. Datang	:	
Tgl. Daluarsa	:	
Tgl. Dibuka	:	
Paraf Petugas	:	

- 5.1.5. Catat kembali setiap pemakaian pada Formulir Catatan Pemakaian Mikroba (Master Kultur) No. FPM 043 dan periksa jumlah persediaan setiap waktu, laporkan jika persediaan menipis / sebelum habis.

- 5.1.6. Simpan mikroba sesuai petunjuk penyimpanannya.

## 5.2 Pembuatan Kultur Stok

- 5.2.1 Buat kultur stok dalam 2 bentuk penanganan yaitu *beads* dan atau agar tegak.

- 5.2.2 Kultur stok dalam bentuk *beads* dibuat dengan cara :

5.2.2.1. Goreskan biakan dari master kultur (yang dibeli dari produsen dalam bentuk kwikstik) pada masing-masing empat (4) tabung agar miring TSA/PDA kemudian inkubasikan sesuai dengan jenis mikroba, yang tercantum dalam daftar DPM004.



5.2.2.2. Suspensikan biakan dari tiga (3) tabung agar miring TSA ke dalam tabung *beads*, lalu homogenkan. Sedangkan 1 tabung yang lainnya dilakukan uji identifikasi dengan media selektif dan konfirmasi untuk uji kemurnian mikroba (pewarnaan gram dan Crystal System).

5.2.2.3. Buang kelebihan gliserol pada *beads* menggunakan pipet steril secara aseptis sampai habis, tutup tabung *beads* dan beri identitas bakteri secara lengkap (Nama bakteri, ATCC, Tgl Pembuatan, Pasase dan ED).

5.2.2.4. Simpan *beads* dalam *freezer* dengan suhu minimal  $-15^{\circ}\text{C}$ .

5.2.2.5. Catat semua hasil pengamatan pada Formulir Catatan Histori (generasi) Mikroba Dalam *Beads* (No.FPM004).

- 5.2.3 Kultur stok dalam bentuk agar tegak dibuat dengan cara :

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pemeliharaan Mikroba</b>	No : PPM063
		Revisi : 07
		Berlaku : 25 OCT 2022
		Paraf : 



- 5.2.3.1. Inokulasi biakan dari master kultur (yang dibeli dari produsen dalam bentuk kwikstik) ke media TSA/PDA kemudian inkubasikan sesuai dengan jenis mikrobyanya, yang tercantum dalam daftar DPM004.
- 5.2.3.2. Suspensikan ke dalam media BHIB 9 ml, inkubasi pada suhu 30-35 °C selama 24 jam.
- 5.2.3.3. Goreskan biakan pada masing-masing empat (4) tabung agar tegak TSA, kemudian inkubasi pada suhu 30-35 °C selama 24 jam atau sesuai dengan mikrobyanya.
- 5.2.3.4. Untuk mikroba yang sudah tumbuh pada media agar tegak TSA, tambahkan secara aseptis parafin cair steril  $\pm \frac{1}{2}$  cm diatas permukaan agar. Dan beri identitas bakteri secara lengkap (Nama bakteri, ATCC, Tgl Pembuatan, Pasase dan ED).
- 5.2.3.5. Simpan agar tegak TSA dalam refrigerator dengan suhu 2 – 8 °C.
- 5.2.3.6. Catat semua hasil pengamatan pada Formulir Catatan Histori (generasi Mikroba Dalam Agar Tegak (No.FPM019).

5.2.4 Pemantauan kultur stok dilakukan secara rutin, yaitu:

- Setiap 3 bulan : Setiap kultur stok di cek dengan pewarnaan gram
- Setiap 6 bulan : Setiap kultur stok di cek dengan identifikasi menggunakan API atau Crystal System.

### 5.3 Pembuatan Kultur Kerja

- 5.3.1 Dari *Beads* sebagai berikut:
  - 5.3.1.1. Ambil tabung *beads* dari dalam freezer, keluarkan satu butir *beads* dengan cepat menggunakan jarum ose kait.
  - 5.3.1.2. Masukkan *beads* dalam 0,5 ml media BHIB dan homogenkan.
- 5.3.2 Dari Agar Tegak sebagai berikut :
  - 5.3.2.1. Ambil tabung agar tegak TSA dari dalam refrigerator, buang lapisan paraffin cair secara aseptis.
  - 5.3.2.2. Ambil koloni menggunakan ose jarum dan inokulasikan dalam 0,5 ml media BHIB dan homogenkan.
- 5.3.3 Gores suspensi BHIB pada media selektif yang sesuai dengan mikrobyanya atau identifikasi menggunakan crystal system, dan inokulasikan juga pada 4 tabung agar miring TSA/PDA. Dan beri identitas mikroba secara lengkap (Nama bakteri, ATCC, Tgl Pembuatan, Pasase dan ED).
- 5.3.4 Inkubasikan pada suhu 30-35 °C selama 24 jam atau sesuaikan dengan mikrobyanya.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pemeliharaan Mikroba</b>	No : PPM063
		Revisi : 07
		Berlaku : <b>25 OCT 2022</b>
		Paraf : 



- 5.3.5 Lakukan pengamatan koloni spesifik pada media selektif atau crystal system, dan catat hasil pengamatan pada formulir Catatan Pemeliharaan Stok Kultur (No.FPM014 dan FPM020).
- 5.3.6 Bila koloni spesifik pada media selektif atau crystal system sama dengan koloni spesifik pada kultur stok, maka biakan agar miring TSA/PDA dapat digunakan sebagai kultur kerja untuk 1 bulan, dengan catatan tiap 1 tabung agar miring TSA/PDA untuk 1 minggu
- 5.3.7 Lakukan pembuatan kultur kerja dengan cara yang sama dari butir *beads* kultur stok atau dari agar tegak TSA untuk bulan berikutnya.
- 5.3.8 Setiap pembuatan kultur kerja lakukan dari langkah No. 5.2.1 sampai dengan 5.2.7.
- 5.3.9 Pemantauan kultur kerja (dari *beads* atau agar tegak) dilakukan setiap 1 bulan dengan menggunakan media selektif atau crystal system.
- 5.3.10 Mikroba hanya dapat diturunkan sampai pasase ke 5. Dengan catatan uji identifikasi/konfirmasi masih sesuai.
- 5.3.11 Mikroba yang telah melebihi pasase ke 5 atau ED tidak boleh digunakan dalam pengujian dan harus dimusnahkan atau didestruksi.

## 6 Lampiran

- 6.1 Daftar Strain Penghambat, Media Indicative dan Media Promosi Pertumbuhan untuk Mikroba Uji (DPM004).
- 6.2 Formulir Catatan Histori (Generasi) Mikroba dalam *Beads* (No.FPM004).
- 6.3 Formulir Catatan Histori (Generasi) Mikroba dalam Agar Tegak (No.FPM019).
- 6.4 Formulir Catatan Pemeliharaan Stok kultur (*Beads*) ke Kultur Kerja (No.FPM014).
- 6.5 Formulir Catatan Pemeliharaan Stok kultur dalam Agar Tegak ke Kultur Kerja (No.FPM020).
- 6.6 Label Identitas Mikroba (No. FPM040)
- 6.7 Formulir Catatan Pengelolaan Stock Mikroba (Master Kultur) di Laboratorium Mikrobiologi (No. FPM042)
- 6.8 Catatan Pemakaian Mikroba (Master kultur) (No. FPM043)

## 7 Pustaka

- 7.1 USP 36, 2013. Microbiological Tests. The United States Pharmacopoeial Convention 12601, Twinbook Parkway, Rockville, MD 20852.
- 7.2 Kirskop, GE, dan A Doyl, *Maintenance of microorganism and cultur press limited*, London,

	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pemeliharaan Mikroba</b>	No : PPM063
		Revisi : 07
		Berlaku : <b>25 OCT 2022</b>
		Paraf : 

### 8 Catatan Perubahan

Revisi	Berlaku	Perubahan
05	28 Agu 2018	1. Perubahan pada logo perusahaan 2. Perubahan pada format <i>header</i> 3. Perubahan pada suhu penyimpanan beads dalam <i>freezer</i> menjadi -15 °C
06	28 Sep 2018	1. Perubahan pada prosedur yaitu penambahan cara pengelolaan Stock Mikroba (Master Kultur) di Laboratorium Mikrobiologi. 2. Perubahan pada Lampiran yaitu penambahan Label Identitas Mikroba (No. FPM040), Formulir Catatan Pengelolaan Stock Mikroba (Master Kultur) di Laboratorium Mikrobiologi (No. FPM042) dan Catatan Pemakaian Mikroba (Master kultur) (No. FPM043).
07	<b>25 OCT 2022</b>	1. Perubahan pada pengesahan Asman pengujian Mikrobiologi menjadi Asman Pengujian Mikrobiologi dan IPC





### 9 Tinjauan ulang

Protap ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun atau kurang bila diperlukan oleh Manajer Pengawasan Mutu dan Manajer Pemastian Mutu.

### 10 Distribusi

10.1 Laboratorium Pengujian Mikrobiologi

### 11 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Mikrobiologi	AM		24 okt 2022
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Mikrobiologi dan IPC	AM		24 okt 2022
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	AM		24 okt 2022
	Manajer Pemastian Mutu	PM		24 okt 2022

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pemeliharaan Mikroba</b>	No : PPM063
		Revisi : 07
		Berlaku : <b>25 OCT 2022</b>
		Paraf : <i>J.</i>

## 12 Tinjauan

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda Tangan	Rekomendasi
1	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			
2	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			