

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> Persiapan dan Homogenisasi Sampel untuk Pengujian Mikrobiologi	No : PPM067
		Revisi : 03
		Berlaku : <b>15 MAR 2021</b>
		Paraf : 

### 1 Tujuan

Sebagai panduan dalam melakukan persiapan pengujian sampel untuk uji batas mikroba, uji sterilitas, dan uji endotoksin bakteri di laboratorium mikrobiologi.

### 2 Cakupan

Protap ini berlaku untuk persiapan sebelum pengujian sampel sesuai permintaan yang meliputi semua perbekalan farmasi mulai dari bahan baku, bahan pengemas, produk ruah dan produk jadi.

### 3 Penanggung Jawab

Penanggung jawab protap ini adalah Supervisor Pengujian Mikrobiologi

### 4 Bahan dan Alat

#### 4.1 Bahan

- 4.1.1 Alkohol 70 %
- 4.1.2 Tryptic Soy Broth (TSB) atau Pelarut lain yang cocok.
- 4.1.3 Deionized water (DIW).
- 4.1.4 Bacto Pepton Water (BPW)
- 4.1.5 Bacto pepton (BP) 1 %

#### 4.2 Alat

- 4.2.1 Botol
- 4.2.2 Gunting
- 4.2.3 *Vortex*
- 4.2.4 Sprayer
- 4.2.5 Timbangan
- 4.2.6 LAF cabinet
- 4.2.7 Erlenmeyer
- 4.2.8 Pinset
- 4.2.9 Pembuka vial
- 4.2.10 Pematah ampul
- 4.2.11 Bunsen
- 4.2.12 Pisau

### 5 Definisi

- 5.1 Persiapan Sampel : adalah cara penyiapan sampel secara aseptis
- 5.2 Homogenisasi Sampel : adalah cara persiapan sampel uji untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin di dalam sampel yang diuji.
- 5.3 Prinsip Persiapan dan Homogenisasi Sampel : adalah membebaskan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel sampel dan untuk menggiatkan kembali sel-sel yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan di dalam sampel.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> Persiapan dan Homogenisasi Sampel untuk Pengujian Mikrobiologi	No : PPM067
		Revisi : 03
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : 

## 6 Prosedur

- 6.1 Persiapan sampel untuk uji batas mikroba botol (PSM, PET, HDPE, PVC dan semua jenis botol).
- 6.1.1 Lakukan semua aktivitas di dalam *LAF cabinet*.
  - 6.1.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan sampel dengan alkohol 70 %.
  - 6.1.3 Buka wadah (setelah alkohol kering) dan keluarkan sampel kemudian diletakkan berdiri berjajar di atas meja kerja LAF.
  - 6.1.4 Masukkan media TSB ke dalam botol (atur agar media 90 ml/ 100, ml) cukup untuk membilas semua botol yang berjumlah 10 botol secara aseptis.
  - 6.1.5 Bilas botol dengan media yang dimasukkan tadi sedemikian rupa agar bagian dalam botol terbilas semua.
  - 6.1.6 Setelah seluruh botol terbilas, tampung kembali bilasan media kedalam botol media asal.
  - 6.1.7 Media hasil pembilasan selanjutnya digunakan untuk uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi bahan.
- 6.2 Persiapan sampel untuk uji batas mikroba *tube* kosong.
- 6.2.1 Lakukan semua aktivitas di dalam *LAF cabinet*.
  - 6.2.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan sampel dengan alkohol 70 %.
  - 6.2.3 Buka wadah (setelah alkohol kering) dan keluarkan sampel kemudian diletakkan dengan posisi tutup *tube* di bawah, berjajar di atas rak tabung yang sebelumnya telah didesinfeksi dengan alkohol 70%.
  - 6.2.4 Masukkan media TSB ke dalam semua *tube* secukupnya.
  - 6.2.5 Lakukan pembilasan bagian dalam *tube* dengan media tersebut sedemikian rupa hingga seluruh bagian dalam *tube* terbilas semua.
  - 6.2.6 Tampung kembali semua media bilasan *tube* dalam botol media.
  - 6.2.7 Lakukan pengujian uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi bahan.
- 6.3 Persiapan sampel untuk uji batas mikroba foam, sumbat botol plastik, dan kapas, kasa.
- 6.3.1 Lakukan semua aktifitas di dalam *LAF cabinet*.
  - 6.3.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan sampel dengan alkohol 70%.
  - 6.3.3 Buka wadah (setelah alkohol kering) dan keluarkan sampel dengan bantuan pinset steril satu per satu sambil digunting – gunting menjadi berukuran kecil dan ditimbang sebanyak 1 g atau per lembar sampel.
  - 6.3.4 Masukkan sampel ke dalam media TSB dan dikocok, selanjutnya lakukan pengujian uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi bahan.
- 6.4 Persiapan sampel untuk uji batas mikroba kapsul kosong.
- 6.4.1 Lakukan semua aktifitas di dalam *LAF cabinet*.
  - 6.4.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan sampel dengan alkohol 70 %.
  - 6.4.3 Buka wadah (setelah alkohol kering), timbang sampel 10 g.
  - 6.4.4 Masukkan sampel ke dalam media TSB, tutup dan dikocok.
  - 6.4.5 Masukkan ke dalam refrigerator selama 30 menit.

	<b>PROTAP</b> Persiapan dan Homogenisasi Sampel untuk Pengujian Mikrobiologi	No : PPM067
		Revisi : 03
		Berlaku : <b>15 MAR 2021</b>
		Paraf : 

- 6.4.6 Selanjutnya larutkan di atas tangas air suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  yang telah disiapkan terlebih dahulu sebelumnya.
- 6.4.7 Lakukan pengujian uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi bahan.
- 6.5 Persiapan sampel untuk uji batas mikroba sirup, suspensi dan bentuk cair lain.
- 6.5.1 Lakukan semua aktifitas di dalam *LAF cabinet*.
- 6.5.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan sampel dengan alkohol 70 %.
- 6.5.3 Buka wadah setelah alkohol kering, kemudian pindahkan beberapa ml dari tiap wadah atau botol kedalam wadah lain seperti erlenmeyer.
- 6.5.4 Lakukan homogenisasi sampel dalam wadah tersebut.
- 6.5.5 Lakukan pengujian uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi produk.
- 6.6 Persiapan sampel uji batas mikroba untuk sampel berbentuk padatan dan serbuk.
- 6.6.1 Lakukan semua aktifitas di dalam *LAF cabinet*.
- 6.6.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan sampel dengan alkohol 70 %.
- 6.6.3 Buka wadah kemasan dengan gunting, keluarkan isi tiap wadah dan tempatkan dalam wadah steril lain, lakukan homogenisasi.
- 6.6.4 Jika wadah tunggal, homogenisasi dapat langsung dilakukan pada wadah tersebut.
- 6.6.5 Lakukan pengujian uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi produk.
- 6.7 Persiapan sampel uji batas mikroba pipet dan pipet tetes
- 6.7.1 Lakukan semua aktifitas di dalam *LAF cabinet*.
- 6.7.2 Lakukan desinfeksi wadah / kemasan dengan alkohol 70 %.
- 6.7.3 Secara aseptis buka kemasan sampel dan gunting- gunting (sedapat mungkin pisahkan semua bagian sampel masukkan dalam media).
- 6.7.4 Lakukan homogenisasi sampel.
- 6.7.5 Lakukan pengujian uji batas mikroba sesuai Metode Umum Uji Batas Mikroba dan spesifikasi bahan.
- 6.8 Persiapan sampel uji sterilitas ampul kosong, *vial*, *rubber*, *allucap*, dan botol tetes.
- 6.8.1 Lakukan seluruh aktifitas di dalam ruang uji sterilitas sesuai protap cara pengopersian ruang uji sterilitas.
- 6.8.2 Desinfeksi wadah sampel bagian luar dengan alkohol 70%, sebelum dimasukkan dalam *LAF cabinet*.
- 6.8.3 Masukkan sampel ke dalam media BP 1% (Dalam uji sterilitas disebut cairan A), lakukan pengocokan sampel dan media sedemikian rupa sehingga diyakini seluruh sampel terbilas sempurna.
- 6.8.4 Lakukan pengujian sampel sesuai protap cara MF terhadap media bilasan sampel tersebut atau cara langsung dimana sampel secara aseptis langsung di masukkan ke dalam media FTM dan TSB, jika penetapan bakteriostatik dan fungistatik telah menunjukkan aktivitas yang tidak merugikan dalam kondisi pengujian.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> Persiapan dan Homogenisasi Sampel untuk Pengujian Mikrobiologi	No : PPM067
		Revisi : 03
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : 

- 6.9 Persiapan sampel uji sterilitas alat suntik kosong.
- 6.9.1 Lakukan seluruh aktifitas di dalam ruang uji sterilitas sesuai protap cara pengopersian ruang uji sterilitas.
- 6.9.2 Secara aseptis pisahkan / lepaskan semua bagian dari alat suntik kosong dan masukkan dalam botol yang berisi media BP 1 % steril (Dalam uji sterilitas disebut cairan A).
- 6.9.3 Kocok-kocok botol media sedemikian rupa sehingga diyakini seluruh sampel terbilas sempurna.
- 6.9.4 Lakukan pengujian sampel sesuai protap cara MF terhadap media bilasan sampel tersebut atau cara langsung dimana sampel secara aseptis langsung di masukkan ke dalam media FTM dan TSB, jika penetapan bakteriostatik dan fungistatik telah menunjukkan aktivitas yang tidak merugikan dalam kondisi pengujian.
- 6.10 Persiapan sampel uji sterilitas untuk uji sarung tangan, kapas, dan kasa pembalut.
- 6.10.1 Lakukan seluruh aktifitas di dalam ruang uji sterilitas sesuai protap cara pengopersian ruang uji sterilitas.
- 6.10.2 Secara aseptis keluarkan sampel dari dalam pembungkusnya dan digunting menjadi potongan-potongan kecil diatas cawan petri steril hingga mudah dikontakkan dengan media.
- 6.10.3 Lakukan pengujian sterilitas secara langsung dengan memasukkan sampel kedalam media FTM dan TSB atau secara membran filtrasi.
- 6.11 Persiapan sampel uji sterilitas untuk bentuk serbuk
- 6.11.1 Lakukan seluruh aktifitas di dalam ruang uji sterilitas sesuai protap cara pengopersian ruang uji sterilitas.
- 6.11.2 Secara aseptis, buka wadah-wadah sesuai jumlah dan masukkan  $\pm$  300 mg sampel dari tiap wadah dalam pelarut BP 1 % steril, homogenisasikan.
- 6.11.3 Lakukan pengujian sterilitas sesuai Metode Umum Uji Sterilitas.
- 6.12 Persiapan sampel uji sterilitas untuk bentuk cair.
- 6.12.1 Lakukan seluruh aktifitas di dalam ruang uji sterilitas sesuai protap cara pengopersian ruang uji sterilitas.
- 6.12.2 Secara aseptis, buka ampul-ampul sampel dengan bantuan pematih ampul steril dan dengan bantuan spuit steril, ambil cairan sampel dari 20 wadah, kemudian tampung dalam *reservoir (holder)* steril.
- 6.12.3 Lakukan pengujian sterilitas sesuai Metode Umum Uji Sterilitas.
- 6.13 Persiapan sampel untuk pengujian endotoksin bakteri.
- 6.13.1 Untuk ampul, secara komposit diambil cairan dari beberapa ampul dan dihomogenisasikan.
- 6.13.2 Untuk vial, rekonstitusikan isi vial dengan sejumlah API bebas pirogen.
- 6.13.3 Untuk bahan kemas, masukkan sejumlah pelarut (API) bebas pirogen dalam sampel kemas. Pengujian dilakukan terhadap cairan bilasan sampel tersebut.
- 6.13.4 Lakukan pengujian endotoksin bakteri sesuai Metode Umum Uji Endotoksin Bakteri.

	<b>PROTAP</b> Persiapan dan Homogenisasi Sampel untuk Pengujian Mikrobiologi	No : PPM067
		Revisi : 03
		Berlaku : <b>15 MAR 2021</b>
		Paraf : 

## 7 Catatan Perubahan

Revisi	Berlaku	Perubahan
01	02 DES 2014	1. Perubahan pada Prosedur 2. Perubahan pada format dokumen sesuai dengan Ketentuan Umum Penyusunan Dokumen XQS011
02	29 OCT 2018	1. Perubahan pada logo perusahaan 2. Perubahan pada format <i>header</i> 3. Perubahan pada kode bidang
03	<b>15 MAR 2021</b>	1. Perubanhn Pada Penanggung Jawab 2. Perubahan pada Alat dan Bahan dengan menggabungkan Preaksi dan Media Uji ke Bahan 3. Perubahan Jabatan Asman Pengujian Mikrobiologi menjadi Asman Pengujian Mikrobiologi dan IPC

## 8 Tinjauan Ulang

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

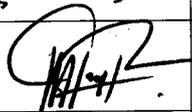
## 9 Distribusi

Bidang Pengawasan Mutu.

## 10 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Mikrobiologi	AM		09 Mar 2021
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Mikrobiologi dan IPC	AM		09 Mar 2021
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	AM		09 Mar 2021
	Manajer Pemastian Mutu	PM		09 mar 2021

## 11 Tinjauan

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda tangan	Rekomendasi
1	Manajer Pengawasan Mutu	08 Mar 2023		Protap masih sesuai
	Manajer Pemastian Mutu	08 mar 2023		Masih Sesuai
2	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			

