

Uji Cemarkan Mikrobi Udara Pada Beberapa Ruang Produksi Non Betalaktam Lafiau Sesuai Dengan Standar CPOB Tahun 2018

Asep Edi Sukmayadi¹, Yusrin Hayati², Azka Nurkhairiyah Rahmah³

¹Politeknik Kesehatan TNI AU Ciumbuleuit Bandung, a.ediapt@gmail.com

²Politeknik Kesehatan TNI AU Ciumbuleuit Bandung, yusrinhayati07@gmail.com

³Politeknik Kesehatan TNI AU Ciumbuleuit Bandung, azkanurkhairiyahrahmah@gmail.com

ABSTRAK

Salah satu penunjang kritis industri farmasi adalah Sistem tata udara yang meliputi Pengendalian udara berkelanjutan terhadap kebersihan dan kualitas udara yang diperlukan untuk memenuhi kondisi ruangan yang dipersyaratkan oleh CPOB. Batas mikroba merupakan parameter syarat kelas kebersihan ruangan farmasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah kualitas mikroba udara dalam ruangan memenuhi syarat kualitas udara yang baik berdasarkan jumlah koloni yang didapat serta karakteristik bakteri yang terdapat pada ruang Produksi Non Betalaktam LAFIAU. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental-deskriptif, menggunakan kombinasi metode kualitatif dan kuantitatif dengan menghitung jumlah mikroba dan mengidentifikasi jenis mikroba sehingga dapat digunakan sebagai bahan evaluasi kualitas udara di ruang tersebut. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa jumlah mikroba udara pada beberapa ruang produksi memenuhi persyaratan yang sudah ditentukan menurut PerBPOM No 34 Tahun 2018 yakni < 200 CFU/m³. Identifikasi menunjukkan bahwa jenis mikroba yang ditemukan adalah bakteri genus *staphylococcus Sp* dengan karakteristik gram positif dan uji katalase positif, jamur genus *aspergillus Sp*, serta cemarkan. Kesimpulan pada penelitian ini bahwa ruang produksi yang dipilih sebagai lokasi penelitian telah memenuhi persyaratan. Peneliti menyarankan kepada pihak LAFIAU agar selalu melakukan *hygiene* dan sanitasi secara berkala dan monitoring kebersihan ruangnya.

Kata Kunci : Sistem tata udara, unit produksi, jumlah mikroba, CPOB

ABSTRACT

*One of the critical supports of the pharmaceutical industry is the air system which includes continuous air control of the cleanliness and air quality needed to meet the room conditions required by CPOB. Microbial limit is a parameter of pharmaceutical room cleanliness class requirements. This study was conducted to determine whether the microbial quality of indoor air meets the requirements of good air quality based on the number of colonies obtained and the characteristics of bacteria found in the mixing room and weighing room of the LAFIAU Non Betalactam Production Unit. This research is an experimental-descriptive research, using a combination of qualitative and quantitative methods by counting the number of microbes and identifying the types of microbes so that it can be used as an evaluation of air quality in the place. The results of the study showed that the number of air microbes in the mixing room and weighing room met the requirements determined according to PerBPOM Number 34 of 2018 which is < 200 CFU/m³. Identification shows that the types of microbes found are bacteria of the genus *staphylococcus Sp* with gram-positive characteristics and positive catalase tests, fungi of the genus *aspergillus Sp*, and contamination. The conclusion of this study is that the mixing room and weighing room chosen as the research location have met the requirements. Researchers suggest to the LAFIAU to always carry out hygiene and sanitation regularly and monitor the cleanliness of the room.*

Keywords: Air system, air quality, production unit, microbial count, CPOB

PENDAHULUAN

Pencemaran udara adalah suatu kondisi dimana kualitas udara menjadi rusak terkontaminasi oleh zat-zat, baik yang tidak berbahaya maupun yang membahayakan. (Kusnoputranto, 2002). Banyak faktor yang dapat menyebabkan pencemaran udara, salah satu faktornya dapat berasal dari kegiatan produksi yang ada di industri.

Industri farmasi adalah badan usaha yang memiliki izin dari Menteri Kesehatan untuk melakukan kegiatan pembuatan obat atau bahan obat. Tujuan utama industri farmasi adalah untuk menghasilkan obat yang aman dan efektif untuk digunakan dalam terapi (*efficacy, safety, toxicity*) dan untuk kepentingan ekonomi suatu negara (Menkes, 2010). Salah satu sarana penunjang kritis industri farmasi adalah udara.

Adanya sistem tata udara yang baik mampu memperkecil adanya cemaran mikroba udara dalam suatu industri. Sistem HVAC merupakan suatu sistem yang terdiri dari tiga komponen saling bekerja sama untuk memindahkan panas dari tempat yang diinginkan (dalam ruangan) ke tempat yang tidak diinginkan (luar ruangan) (Sugarman, 2007).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rudi dan Abdunnaser (2018), mengenai Perancangan instalasi tata udara ruang bersih area penimbangan pada industri farmasi kelas E bahwa perhitungan jumlah partikel pada ruangan penimbangan bahan baku menurut ISO 14644-1 pada ukuran partikel 0,5 µm jumlahnya sebesar 446.771,3769 partikel/m³ pada standar kelas E (100.000 partikel dibatasi pada jumlah 3,520,000 partikel/m³, sedangkan pada ukuran partikel 5 µm jumlahnya sebesar 47.760,7813 partikel/m³ pada standar dibatasi pada jumlah 29,300 partikel/m³. Penelitian tentang ruang bersih telah dilakukan berbagai simulasi dengan berbagai kelas ruang bersih. Hal yang perlu diperhatikan juga adalah bahwa ruang bersih harus memenuhi standar CPOB yang didalamnya memuat ISO 14644-1. Hal ini penting dilakukan sebagai tanggung jawab industri farmasi terhadap aturan pemerintah tentang CPOB (Amalia,

2018). Peneliti beranggapan bahwa dalam suatu ruang industri adanya cemaran mikroba kemungkinan dapat terjadi. Sehingga perlu adanya pengujian untuk memastikan ada atau tidaknya cemaran mikroba.

Analisis mikrobiologi adalah salah satu uji dan studi analisis yang dilakukan untuk menentukan kesehatan suatu produk. Uji mikrobiologi adalah salah satu pengujian yang menggunakan perubahan sifat mikroba terhadap lingkungan sebagai tolak ukurnya. Dalam fasilitas pembuatan obat, terutama di ruangan produksi farmasi diwajibkan adanya uji mikroba atau sampling udara. Uji mikroba pada udara ini wajib secara CPOB 2018, uji ini dilakukan untuk memastikan ruangan produksi bebas atau terkontrol mikroba yang sangat beresiko kontaminasi pada produk sediaan obat. Batas mikroba ini merupakan salah satu parameter syarat kelas kebersihan ruangan farmasi.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah mikroba, mengidentifikasi jenis mikroba, serta mengetahui kualitas udara di beberapa ruang produksi Non Betalaktam LAFIAU sesuai standar CPOB 2018.

KAJIAN LITERATUR

Udara merupakan media penyebaran bagi mikroorganisme. Mereka terdapat dalam jumlah yang relatif kecil bila dibandingkan dengan di air atau di tanah. Udara tidak mengandung komponen nutrisi yang penting untuk bakteri, adanya bakteri di udara kemungkinan terbawa oleh debu, tetesan uap air kering ataupun terhembus oleh tiupan angin. Kelompok mikroorganisme yang tersebar luas di udara adalah bakteri : *bacillus*, *staphylococcus*, *streptococcus*, jamur : *aspergillus*, *rhizopus*, *penicillium* (termasuk ragi) dan juga mikroalga (Waluyo, 2016). Kandungan udara di dalam dan di luar ruangan akan berbeda. Taraf pencemaran di dalam ruangan oleh mikroba dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti laju ventilasi, padatnya orang, sifat, dan tingkat aktivitas orang yang menempati ruangan tersebut.

Uji cemaran mikroba adalah

menentukan cemaran mikrobiologi yang terkandung tidak melebihi batas yang telah ditetapkan sehingga dapat diketahui kualitas dan keamanan dari bahan baku yang akan dijadikan sediaan. Dalam fasilitas pembuatan obat, terutama di ruangan produksi farmasi diwajibkan adanya uji mikroba atau sampling udara. Batas mikroba ini merupakan salah satu syarat kelas kebersihan ruangan farmasi. Uji cemaran mikroba pada udara ini merupakan hal yang sangat utama dalam proses pembuatan produk steril yang dilakukan di ruang kelas kebersihan steril (A,B,C,D). Ini dilakukan untuk

Kerangka Konsep Penelitian

Cemaran mikroba dapat digunakan sebagai indikator kualitas udara. Adanya cemaran mikroba menunjukkan tingkat kebersihan udara di dalam ruangan tersebut. Ruangan industri farmasi harus memiliki kualitas udara yang baik yang memenuhi standar yang telah ditetapkan. Kualitas udara di dalam ruangan dipengaruhi oleh banyaknya aktivitas di dalam ruangan dan adanya mikroorganisme di udara. Penelitian ini bersifat eksperimental-deskriptif, menggunakan kombinasi metode kualitatif dan kuantitatif, menghitung jumlah mikrobanya dan mengidentifikasi jenis mikroba sehingga dapat digunakan sebagai bahan evaluasi kualitas udara di tempat tersebut.

Desain Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas udara berdasarkan jumlah mikroba yang ada di dalam ruang mixing dan ruang timbang bagian unit produksi Non BetaLaktam LAFIAU. Penelitian meliputi beberapa tahapan kerja yaitu, tahap persiapan dan tahap pelaksanaan. Tahap persiapan meliputi penetapan judul, survey tempat untuk pengambilan sampel dan penyusunan proposal penelitian. Tahap pelaksanaan meliputi penyiapan alat dan bahan, pembuatan media *Plate Counter Agar*, pengambilan sampel, perhitungan jumlah koloni bakteri, dan identifikasi jenis bakteri.

memastikan ruangan produksi bebas atau terkontrol mikroba yang sangat berisiko kontaminasi pada produk steril. Batas mikroba yang disarankan untuk pemantauan area bersih pada ruang produksi kelas D selama kegiatan berlangsung sesuai CPOB Tahun 2018 adalah kurang dari 200 CFU/m³. Untuk kelas E dapat ditentukan sendiri oleh industri farmasi berdasarkan kajian risiko. Kelas kebersihan F dan G tidak perlu dilakukan pemantauan mikroba, kecuali dinyatakan lain.

METODE PENELITIAN

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah Unit Produksi Non Betalaktam LAFIAU. Sampel penelitian ini adalah mikroba udara yang terdapat di ruang mixing, ruang timbang, ruang koridor, dan ruang filing kapsul pada Unit Produksi Non Betalaktam LAFIAU.

Instrumen Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrient Agar* (Himedia), *Mannitol Salt Agar* (Oxoid), Alkohol 70%, Alkohol 96%, Asam Sulfat p.a (Merck), Barium Chlorida p.a (Merck), Hidrogen Peroksida Teknis (Merck), Kristal Violet (Merck), Safranin (Merck), Iodine (Megasetia), Kalium Iodine (JT Baker), Natrium Hidroksida p.a (Merck), Asam Klorida p.a (Merck), Aquadest, NaCl fisiologis.

Alat

Neraca Analitik Mettler Toledo ME204E, Autoclave All American Model No 75X, Colony Counter Health, Ika Oven 125 Basic Dry, Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu Seri UV 19001, pH Meter, Inkubator Lab Companion, Mikroskop, Laminar Air Flow, Hot Plate Maspion, Mikro pipet Pipette, dan alat – alat yang umum digunakan di laboratorium mikrobiologi

Teknik Pengumpulan dan Analisis Data Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Alat disterilkan terlebih dahulu, ditimbang media agar pada neraca analitik

sesuai perhitungan. Lalu *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam *beaker glass*, tambahkan aquades sesuai kebutuhan. Pelarutan dilakukan di atas *hot plate* sambil diaduk. Media yang sudah terlarut dipindahkan ke dalam erlenmeyer. Media *Nutrient Agar* disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121° C. *Laminar Air Flow* disterilkan dengan alkohol 70%, kemudian nyalakan api bunsen. Media *Nutrient Agar* dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow*. Selanjutnya, tanam media dalam cawan petri sebanyak 20 ml. Ditunggu sampai media membeku. Media Diinkubasi selama 1 X 24 jam.

Pengambilan Sampel

Cawan petri berisi media *Nutrient Agar* (NA) yang telah diinkubasi diletakkan dan dibuka selama 4 jam di dalam ruang produksi dengan titik di ruang mixing dan ruang timbang. Dalam ruang mixing di simpan 4 cawan petri dan di ruang timbang disimpan 4 cawan petri yang berisi media NA (*Nutrient Agar*). Setelah itu cawan petri ditutup dan diinkubasi dalam keadaan terbalik pada suhu 37°C selama 3-5 hari.

Perhitungan Koloni Bakteri Menggunakan Metode *Total Plate Count* (TPC)

Koloni yang tumbuh setelah diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 37°C dihitung pada media dengan menggunakan *colony counter* dengan satuan CFU/m³. Koloni yang tumbuh setelah diinkubasi dapat dihitung dengan persyaratan sebagai berikut :

1. Dua atau lebih koloni yang bergabung menjadi satu merupakan kumpulan koloni yang besar dapat dihitung sebagai satu koloni (jumlah koloni diragukan).
2. Suatu deretan atau rantai yang terlihat dalam satu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.
3. Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung Dua koloni.
4. Koloni lebih besar dari setengah cawan petri tidak dihitung.

5. Koloni bakteri dapat dihitung manual dengan memberi tanda titik pada koloni yang sudah dihitung.

Dilakukan perhitungan mikroba rata-rata dengan rumus sebagai berikut :

Jumlah mikroba rata-rata

$$= \frac{\text{Jumlah koloni dalam semua cawan petri}}{\text{banyaknya cawan petri}}$$

CFU

Hasil koloni yang didapat kemudian dikonversikan ke dalam satuan CFU/m³ menggunakan Metode *Koch sedimentation method* yang mengacu pada Polish Standard PN 89/Z-04008/08 dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{CFU/m}^3 = \frac{n \times 10.000}{S \times k}$$

Keterangan :

- n = jumlah koloni pada cawan petri (CFU)
 S = luas permukaan cawan petri yang digunakan (untuk 9 cm, S = 3,14 x R² = 63,5 cm²)
 k = koefisien waktu paparan dalam menit (k = 1 untuk 5 menit; k = 2 untuk 10 menit; k = 3 untuk 15 menit, dst.)

Metode Pembuatan Media MSA (*Manitol Salt Agar*)

Alat disterilkan dengan oven selama 2 jam pada suhu 180°C. Ditimbang media *mannitol salt agar* sebanyak 27,75 gram. Media *mannitol salt agar* dilarutkan dengan aquadest sebanyak 250 mL diatas kompor. Setelah larut, dinginkan media sampai suam – suam kuku. Media diukur pHnya ± 7,2 – 7,4. Jika pH terlalu asam tambahkan NaOH 0,1 N. Jika terlalu basa tambahkan HCl 0,1 N sampai pH yang telah ditentukan. Media yang sudah sesuai pHnya dipindahkan ke dalam Erlenmeyer. Media *Mannitol Salt Agar* disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121° C. *Laminar Air Flow* disterilkan dengan alkohol 70%, kemudian nyalakan api bunsen. Media *mannitol salt agar* yang telah steril dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow*. Selanjutnya, tanam media dalam cawan petri sebanyak 20 ml. Tunggulah sampai media membeku. Media Diinkubasi selama 1 X 24 jam.

Purifikasi Bakteri Pada Media MSA

Disiapkan cawan petri yang berisi media MSA. Ambil satu ose biakan bakteri pada media *nutrient agar*,

kemudian diinokulasikan secara higienis pada permukaan media MSA dengan goresan *streak T*, selanjutnya diinkubasi pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 2 X 24 jam. Amati perubahan warna yang terjadi pada media.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Disiapkan sembilan tabung untuk pembuatan suspensi bakteri. Tabung diisi dengan 10 ml NaCl fisiologis. 1-2 ose bakteri diambil dan disuspensikan ke dalam tabung yang berisi NaCl fisiologis. Kocok hingga homogen.

Perhitungan Jumlah Mikroba Metode Turbidimetri

Alat disterilkan terlebih dahulu kemudian disiapkan 11 tabung reaksi. 11 tabung di isi dengan BaCl_2 1% dan H_2SO_4 1% sesuai dengan standar McFarland mulai dari skala 0,5 sampai 10. Suspensi bakteri diamati kekeruhannya dengan standar McFarland sampai kekeruhannya setara dengan salah satu konsentrasinya. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 625 nm. Dari hasil absorbansi dibuat kurva standar bakteri.

Pewarnaan Bakteri

Alat disterilkan terlebih dahulu. Kemudian Bunsen dinyalakan. *object glass* diambil menggunakan penjepit kayu. Sterilkan *Object glass* di atas bunsen. Sterilkan jarum ose dengan cara di panaskan di atas api bunsen sampai terlihat merah menyala. Setetes aquades diambil menggunakan jarum ose kemudian diletakkan pada *object glass*. Sterilkan biakan bakteri dengan cara di gilirkan di atas bunsen. Biakan bakteri diambil dengan jarum ose, kemudian diletakan pada *object glass* dengan cara melingkar, usahakan tidak menumpuk dan terlihat merata. *Object glass* dikeringkan pada bunsen sampai benar-benar mengering. Tahap pertama pewarnaan dengan kristal

violet. Kristal violet diambil menggunakan pipet tetes, kemudian tetesi 2 – 3 tetes kristal violet, tunggu selama satu menit. Setelah satu menit dibilas menggunakan aquades. Tahap kedua pewarnaan dengan iodine. Iodine diambil menggunakan pipet tetes, kemudian tetesi 2 – 3 tetes iodine, tunggu selama satu menit. Setelah satu menit dibilas menggunakan aquades. Selanjutnya lanjutkan dengan dialiri alkohol 95% selama 5 detik, lalu dibilas menggunakan aquades. Tahap akhir pewarnaan dengan safranin. Safranin diambil menggunakan pipet tetes, kemudian tetesi 2 – 3 tetes safranin, tunggu selama satu menit. Setelah satu menit dibilas menggunakan aquades. Area *object glass* di lap dengan tisu, perhatikan jangan sampai terkena cetakan. Cetakan dikeringkan dengan di gulir di atas Bunsen. Setelah kering amati preparat dibawah mikroskop.

Uji Katalase

Disiapkan *object glass* yang bersih, selanjutnya diambil satu ose biakan bakteri yang berasal dari kultur media MSA dan dioleskan pada *object glass*. Di teteskan Hidrogen Peroksida (H_2O_2) 3% pada biakan bakteri di atas *object glass*. Diamati gelembung gas yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Angka Mikroba Rata - rata Metode Total Plate Count (TPC)

Hasil perhitungan jumlah angka mikroba udara pada ruang mixing dan ruang timbang Unit Produksi Non Betalaktam LAFIAU data yang diperoleh terdiri dari hasil jumlah rata – rata koloni yang berasal dari perhitungan dengan Metode *total plate count* (TPC) yang di konversikan ke dalam *Koch sedimentation method* mengacu pada Polish Standard PN 89/Z-04008/08. Data hasil perhitungan koloni dan konversi berdasarkan *Koch sedimentation method* adalah sebagai berikut :

Tabel 4 .1 Hasil Perhitungan Koloni dan Konversi berdasarkan *Koch Sedimentation Method*

Titik	No Cawan Petri	Jumlah Koloni Bakteri Udara	Jumlah Rata – rata Mikroba		Ket. Standar <200 CFU/m ³
			CFU	CFU/m ³	
Ruang Mixing	M1	Jamur : 5 koloni Bakteri : 12 koloni	15,5	50,85	MS
	M2	Jamur : 9 koloni Bakteri : 14 koloni			
	M3	Jamur : 1 koloni Bakteri : 4 koloni			
	M4	Jamur : 2 koloni Bakteri : 15 koloni			
Ruang Timbang	T1	Jamur : 2 koloni Bakteri : 5 koloni	10,25	33,62	MS
	T2	Jamur : 2 koloni Bakteri : 10 koloni			
	T3	Jamur : 2 koloni Bakteri : 5 koloni			
	T5	Jamur : 4 koloni Bakteri : 11 koloni			
Ruang Filling Kapsul	F1	Jamur : 7 koloni Bakteri : 7 koloni	47,25	155,01	MS
	F2	Jamur : 2 koloni Bakteri : 156 koloni			
	F3	Jamur : Tidak ada Bakteri : 3 koloni			
	F4	Jamur : 1 koloni Bakteri : 13 koloni			
Ruang Koridor	K1	Jamur : 1 koloni Bakteri : 2 koloni	26,6	87,27	MS
	K2	Jamur : 2 koloni Bakteri : 97 koloni			
	K3	Jamur : Tidak ada Bakteri : 11 koloni			
	K4	Jamur : 2 koloni Bakteri : 13 koloni			
	K5	Jamur : 2 koloni Bakteri : 3 koloni			

Keterangan:

MS = Memenuhi Syarat

TMS = Tidak Memenuhi Syarat

Berdasarkan tabel 4.1 hasil perhitungan koloni dan konversi *Koch sedimentation method* di ruang mixing dan ruang timbang Unit Produksi Non Betalaktam LAFIAU menunjukkan hasil bahwa jumlah angka mikroba udara memenuhi persyaratan batas maksimum mikroba pada ruang kelas D sesuai dengan Peraturan Badan Pengawas Obat dan

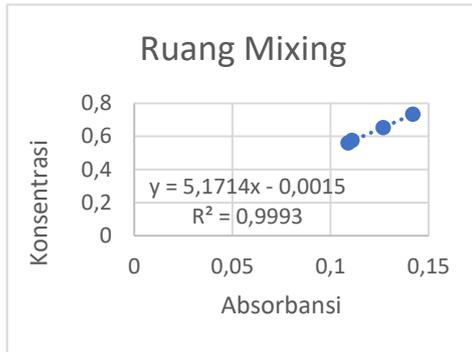
Makanan Nomor 34 Tahun 2018 Tentang Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik yakni angka bakteri kurang dari 200 CFU/m³.

Metode Turbidimetri

Metode Turbidimetri adalah cara cepat untuk menghitung jumlah bakteri dalam

suatu larutan dimana jumlah bakteri dihitung dengan membandingkan

kekeruhan suspensi bakteri menggunakan larutan standar McFarland. Hasil yang didapatkan dalam perhitungan mikroba udara menggunakan metode turbidimetri dapat dilihat pada tabel 4.2 sebagai berikut



Tabel 4 .2 Hasil Perhitungan Metode Turbidimetri

Titik	No Cawan Petri	Jumlah Sel Bakteri (CFU/ml)	Log Jumlah Sel (CFU/ml)	Absorbansi	Konsentrasi
Ruang Mixing	M1	30 x 10 ⁸	9,5	0,142	0,734
	M2	21 x 10 ⁸	9,3	0,111	0,575
	M3	9,0 x 10 ⁸	9	0,109	0,561
	M4	21 x 10 ⁸	9,4	0,127	0,653
Ruang Timbang	T1	9,0 x 10 ⁸	9	0,084	0,422
	T2	30 x 10 ⁸	9,5	0,137	0,708
	T3	21 x 10 ⁸	9,3	0,117	0,601
	T4	27 x 10 ⁸	9,4	0,125	0,645
Ruang Filling Kapsul	F1	2,4 x 10 ⁹	9,4	0,122	0,122
	F2	9,0 x 10 ⁸	9	0,113	0,113
	F3	3,0 x 10 ⁹	9,5	0,132	0,132
	F4	9,0 x 10 ⁸	9	0,114	0,114
Ruang Koridor	K1	3,0 x 10 ⁹	9,5	0,135	0,135
	K2	6,0 x 10 ⁸	8,8	0,104	0,104
	K3	2,4 x 10 ⁹	9,4	0,125	0,125
	K4	3,0 x 10 ⁹	9,5	0,148	0,148
	K5	3,0 x 10 ⁹	9,5	0,137	0,137

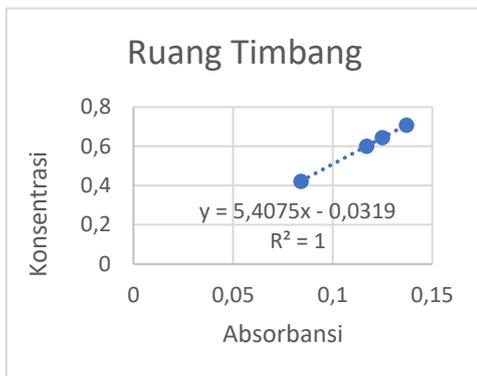
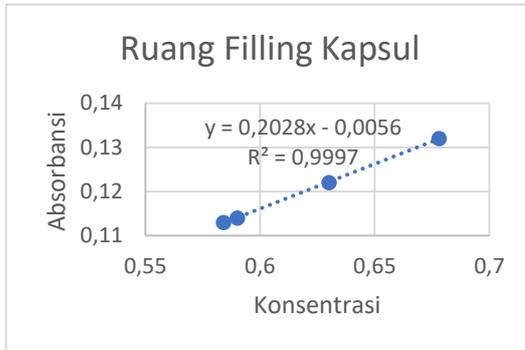
Kurva standar bakteri merupakan suatu kurva untuk menghitung jumlah sel bakteri secara tidak langsung, dengan cara meregresikan nilai absorbansi dan konsentrasi ke dalam persamaan garis kurva standar $y = ax + b$, dimana y = jumlah koloni, dan x = besarnya nilai absorbansi. Data data tabel 4.2 di atas

dibuat kurva standar yaitu grafik hubungan antara Absorban pada sumbu x dengan konsentrasi pada sumbu y. Pada gambar 4.1 didapatkan garis persamaan linear $y = 5,1714x - 0,0015$. Pada gambar 4.2 didapatkan garis persamaan linear $y = 54075x - 0,0319$. Kurva standar bakteri dapat dilihat sebagai berikut :

Gambar 4 .1 Kurva Standar Bakteri Ruang Mixing

Gambar 4. 2 Kurva Standar Bakteri Ruang Timbang

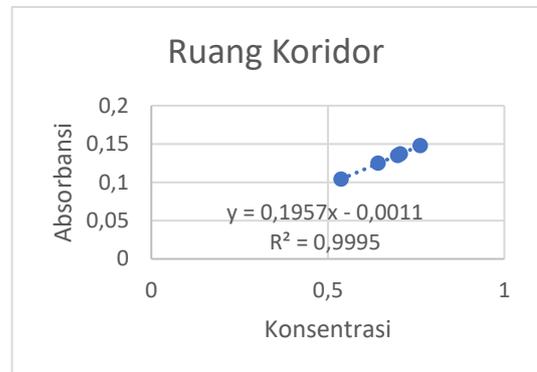
Gambar 4.3 Kurva Standar Bakteri Ruang Filling



Karakteristik Jenis Bakteri Udara

Menurut hafsan, dkk 2014 karakteristik ialah ciri yang dimiliki oleh satu bakteri yang dilihat dari bentuk, ukuran, permukaan, warna, elevasi dan margin. Pada pengamatan karakteristik dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengamatan makroskopis dan pengamatan mikroskopis. Hasil penelitian pada pengamatan morfologi secara mikroskopis dapat dilihat dari beberapa bentuknya seperti *Coccus*, *Diplococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Tetrads*, *Sarcina*, *Cocco basil*, *Basil*, *Streptobasil*, dan *Helical*.

Gambar 4.4 Kurva Standar Bakteri Ruang Koridor



Uji katalase menggunakan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% yang bertujuan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada bakteri. Warna merupakan

salah satu pembeda yang lebih tampak dari suatu bakteri. Pewarnaan Gram adalah suatu proses untuk mengetahui bakteri yang didapatkan termasuk bakteri Gram negatif atau Gram positif. Diantara macam - macam bakteri yang diwarnai, ada yang menahan zat warna ungu dalam tubuhnya meskipun telah di dekolorisasi dengan alkohol. Bakteri yang memberikan reaksi semacam ini dinamakan bakteri Gram positif. Sebaliknya, bakteri yang tidak dapat menahan zat warna setelah dekolorisasi dengan alkohol akan kembali menjadi tidak berwarna dan bila dibiarkan pengecatan dengan warna kontras, akan berwarna sesuai dengan zat warna kontras. Bakteri ini dinamakan bakteri Gram negatif. Hasil penelitian karakteristik jenis bakteri udara bisa dilihat pada tabel 4.3 sebagai berikut :

Tabel 4.3 Karakteristik Jenis Bakteri Udara

Ttik	No Cawan Petri	Uji Katalase	Pewarnaan Gram	
		Positif	Warna	Bentuk
Ruang	M1	+	Ungu	<i>Coccus Bergerombol</i>
Mixing	M2	+	Ungu	<i>Coccus Bergerombol</i>

	M3	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	M4	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
Ruang Timbang	T1	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	T2	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	T3	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	T4	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
Ruang Filling Kapsul	F1	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	F2	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	F3	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	F4	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
Ruang Koridor	K1	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	K2	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	K3	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	K4	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol
	K5	+	Ungu	<i>Coccus</i> Bergerombol

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa karakteristik sampel isolat bakteri dari pewarnaan gram merupakan jenis bakteri gram positif yang ditunjukkan dengan koloni berwarna ungu dan bentuk *Coccus* (bulat) bergerombol. Hasil uji katalase terhadap sampel penelitian ini didapatkan, bahwa semua isolat bakteri menunjukkan reaksi positif.

Pembahasan

Uji cemaran mikroba udara dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah mikroba yang terdapat pada ruang mixing, ruang timbang, ruang filling dan ruang koridor unit produksi non betalaktam LAFIAU. Ruang mixing, ruang timbang, ruang koridor, dan ruang filling kapsul ialah ruangan yang dipilih untuk mengetahui kualitas udara dalam ruangan tersebut ditinjau dari aspek mikrobiologis. Ruang timbang adalah ruang dimana bahan baku pertama kali masuk sebelum dilakukan proses selanjutnya. Ruang mixing adalah ruang dimana terdapat proses pencampuran bahan baku. Ruang koridor merupakan ruang dimana terdapat aktivitas berlalu-lalang para pelaku produksi untuk berpindah dari satu tempat ke tempat lainnya. Sedangkan ruang filling kapsul merupakan ruang dimana terdapat aktivitas pengisian obat ke dalam kapsul setelah bahan baku diolah. Ruang tersebut termasuk ke dalam klasifikasi ruang kelas D di industri farmasi.

Hasil penelitian koloni yang tumbuh setelah diinkubasi selama 3 – 5 hari pada suhu 37°C dihitung menggunakan *colony counter* dengan satuan CFU/m³. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan media Nutrient Agar sebagai media pengambilan sampel dengan paparan selama 4 jam yang di sebar di beberapa titik masing-masing ruangan. Berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa jumlah mikroba udara pada ruang mixing sebesar 50,85 CFU/m³, ruang timbang sebesar 33,62 CFU/m³, ruang koridor sebesar 87,27 CFU/m³, dan ruang filling kapsul sebesar 155,01 CFU/m³. Angka mikroba udara tersebut masih sesuai dengan persyaratan batas maksimum mikroba udara berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 34 Tahun 2018 untuk kelas D jumlah mikroba udara kurang dari 200 CFU/m³. Hal ini menunjukkan bahwa sistem tata udara di Unit produksi Non Betalaktam LAFIAU telah sesuai dengan standar CPOB. Meskipun jumlah angka mikroba masih memenuhi persyaratan, adanya koloni menunjukkan pencemaran udara yang dapat menjadi resiko adanya kontaminasi.

Tinggi atau rendahnya jumlah angka mikroba udara diduga dipengaruhi oleh kondisi ruangan saat pengamatan. Saat dilakukan penelitian keadaan ruang sedang tidak ada produksi. Sehingga, tidak banyak lalu lalang para pekerja serta frekuensi terbukanya pintu sangat minim dimana partikel maupun mikroba dari

koridor tidak terlalu banyak terbawa ke dalam ruangan. Ditinjau dari pernyataan Dai et al. (2015) tingginya aktivitas manusia di suatu ruangan dapat meningkatkan jumlah mikroba udara hingga 132%. Sehingga industri farmasi harus lebih memperhatikan kondisi sistem tata udaranya.

Selain itu, beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan jumlah bakteri di ruangan adalah proses pembersihan ruangan yang dilakukan harus sesuai dengan standar maka akan mempengaruhi jumlah koloni bakteri yang ada pada ruangan tersebut, kondisi pintu tidak dalam keadaan tertutup yang dapat menyebabkan kontaminasi dari luar ruangan dan kontaminasi mikroorganisme dalam ruangan juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti luas ventilasi, kepadatan hunian, tingkat aktivitas individu yang berada dalam ruangan, luas ruangan yang ditempati.

Setelah dilakukan perhitungan jumlah mikroba dengan Metode TPC, perhitungan dilanjutkan dengan metode turbidimetri. Berdasarkan hasil penelitian, perhitungan diawali dengan membuat larutan standar McFarland mulai dari konsentrasi 0,5 sampai 10. Selanjutnya, dilakukan pengujian terhadap semua sampel yang mana pengujian ini mengamati kekeruhan dari suspensi bakteri dan menyetarakan dengan standar McFarland yang sudah ada sampai kekeruhannya sama. Setelah didapat hasil jumlah sel dan log jumlah sel bakteri, maka dilanjutkan dengan perhitungan menggunakan metode turbidimetri, dimana metode ini mengukur nilai Absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer UV – Vis pada Panjang gelombang 625 nm. Rentang absorbansi yang baik pada suspensi bakteri adalah pada rentang 0,08 – 0,1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa absorbansi yang dihasilkan memenuhi persyaratan dengan nilai absorbansi paling kecil 0,084 dan yang paling tinggi 0,0148. Larutan standar yang digunakan adalah larutan standar McFarland konsentrasi 0,5. Dimana hasil absorbansi dari larutan standarnya adalah 0,097.

Selanjutnya, peneliti membuat kurva standar antara absorbansi dengan konsentrasinya. Didapatkan hasil garis persamaan regresi linear $y = 5,1714x - 0,0015$ dengan nilai R^2 0,9993 untuk ruang mixing; ruang timbang didapatkan garis persamaan linear $y = 54075x - 0,0319$ dengan nilai R^2 1; ruang koridor didapatkan garis persamaan linier $y = 0,1957x - 0,0011$ dengan nilai R^2 0,9995; ; ruang filling kapsul didapatkan garis persamaan linier $y = 0,2028x - 0,0056$ dengan nilai R^2 0,9997 Nilai R^2 mendekati satu menunjukkan bahwa kurva tersebut linier. Hal ini sesuai dengan teori Hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi larutan standar semakin besar absorbansinya.

Setelah dilakukan perhitungan jumlah angka mikroba dilanjutkan dengan identifikasi karakteristik jenis mikroba yang terdapat pada sampel. Pada pengamatan karakteristik jenis mikroba dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengamatan makroskopis dan pengamatan mikroskopis. Mikroba di udara bersifat sementara dan beragam diantaranya termasuk bakteri, kapang, maupun khamir. Kehadiran jasad hidup tersebut di udara, ada yang dalam bentuk vegetatif (tubuh jasad) maupun dalam generatif (umumnya spora). Mikroba yang paling banyak ditemukan adalah jenis bakteri seperti *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*. Beberapa jenis lain yang terdeteksi mencemari udara antara lain: *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Bacillus sp*, dan jamur *Aspergillus*. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa jenis mikroba yang terdapat pada media NA ditemukan beberapa jenis mikroba terdiri dari genus bakteri yang diduga *Staphylococcus*, spesies jamur genus *Aspergillus* serta adanya spesies jamur berkembangbiak dengan membentuk spora kecil yang dapat dengan mudah tumbuh di udara. Tubuh *Aspergillus Sp* biasanya cepat tumbuh berwarna putih, kuning, kuning coklat, coklat, sampai hitam atau hijau. Untuk memperoleh identifikasi yang sempurna maka selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan uji biokimia dimana sebelum dilakukan

pengujian, spesies bakteri yang terdapat pada sampel media NA dilakukan purifikasi ke dalam media MSA cemar. Dimana purifikasi ini bertujuan untuk memisahkan koloni bakteri agar hanya didapatkan bakteri murni (Austin, n.d.) Berdasarkan hasil purifikasi bakteri diketahui bahwa ditemukan bakteri udara genus *Staphylococcus* pada semua sampel. Bakteri genus *Staphylococcus* dapat dibedakan terutama berdasarkan warna dan bentuk koloni pada media msa. Penelitian ini berkaitan dengan penelitian yang dilakukan oleh rahmawati dan kurniatuhadi (2017) yakni koloni bakteri spesies *Staphylococcus aureus* pada media msa membentuk koloni yang berwarna kuning keemasan sedangkan bakteri spesies *Staphylococcus epidermidis* berwarna putih atau merah muda. Adanya perbedaan warna disebabkan karena bakteri spesies *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi mannitol menjadi asam yang kemudian merubah warna dari merah menjadi kuning sedangkan bakteri genus *Staphylococcus* yang lain tidak dapat memfermentasi mannitol (Rahmi et al., 2015).

Selanjutnya dilakukan pengamatan karakteristik secara mikroskopik dengan cara pengecatan gram. Pengecatan Gram merupakan pengecatan diferensial yang digunakan secara luas dalam bakteriologi. Pengecatan Gram dibagi menjadi dua kelompok yaitu Gram negatif dan Gram positif. Larutan yang digunakan dalam pengecatan Gram adalah larutan kristal violet, lugol iodin, alkohol, dan safranin. Larutan kristal violet berperan sebagai cat utama yang mewarnai sel bakteri menjadi ungu. Larutan Lugol iodin berfungsi sebagai mordant yang meningkatkan interaksi antar sel bakteri dan cat utama. Larutan Alkohol berfungsi sebagai *decoloriser* yang akan mencuci kristal violet. Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks kristal violet iodin, sedangkan Gram negatif akan menjadi tidak berwarna. Larutan Safranin berperan sebagai *counterstain* yang akan memberikan warna merah pada sel bakteri (Harly & L, 2002) Dalam identifikasi morfologi secara mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop.

Pengamatan ini dilakukan untuk melihat bentuk dan warna sel di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 1,25. Perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada dinding selnya (Sylvia, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil sesuai bahwa dari seluruh sampel bakteri berwarna ungu dan berbentuk *Coccus* bergerombol. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel merupakan jenis bakteri gram positif. Hal ini sejalan dengan pernyataan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus yang menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram. Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu kristal violet. Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Fardiaz, 1993). Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri dan mengetahui kemurnian sel bakteri (Fardiaz, 1993)

Selanjutnya dilakukan pengujian biokimia dengan uji katalase. Uji Katalase bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dengan menghasilkan enzim katalase. Dilakukan dengan larutan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hasil uji katalase terhadap delapan sampel yang tumbuh pada media MSA didapatkan, bahwa semua isolat (bakteri) menunjukkan reaksi positif sesuai tabel 4.3 yang ditunjukkan dengan adanya gelembung udara yang terbentuk setelah diberi 2 – 3 tetes larutan hidrogen peroksida. Fungsi uji katalase pada bakteri berbentuk kokus adalah untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . Menurut Schliefer 1986 Semua galur *staphylococcus* adalah katalase positif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil uji katalase ini merupakan bakteri genus *staphylococcus*.

Penunjang kritis industri farmasi adalah udara. Sistem tata udara yang baik di industri farmasi adalah adanya HVAC. Dimana dalam HVAC terdapat salah satu komponen penting yaitu *High Efficiency Particulate Air* (HEPA). HEPA merupakan sebuah filter khusus yang dirancang dapat menyaring udara sampai dengan partikel debu ukuran mikron. Berdasarkan hasil penelitian, kualitas udara di ruang mixing, ruang timbang, ruang koridor, dan ruang filling kapsul Unit produksi LAFIAU dapat dikatakan baik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa jumlah angka mikroba rata – rata dibawah batas maksimum yakni $< 200 \text{ CFU/m}^3$. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa ruang mixing dan ruang timbang memiliki ventilasi yang baik dengan filter HEPA

Penutup

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Uji Cemar Udara Pada Beberapa Ruang Produksi Non Betalaktam LAFIAU Sesuai Dengan Standar CPOB Tahun 2018, dapat disimpulkan bahwa :

1. Jumlah angka mikroba udara pada ruang timbang sebesar $33,62 \text{ CFU/m}^3$, ruang mixing sebesar $50,85 \text{ CFU/m}^3$, ruang koridor sebesar $87,27 \text{ CFU/m}^3$ dan ruang filling kapsul sebesar $155,01 \text{ CFU/m}^3$ sehingga telah sesuai dengan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 34 Tahun 2018 Tentang Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik (CPOB).
2. Jenis mikroba yang terdapat pada ruang timbang, ruang mixing, ruang koridor, ruang filling kapsul adalah bakteri genus *Staphylococcus Sp*, jamur genus *Aspergillus Sp*, serta

sebagai pengendali udara untuk menghindari kontaminasi pencemaran baik langsung ataupun silang. Meskipun jumlah angka mikroba masih memenuhi persyaratan, adanya koloni menunjukkan pencemaran udara yang dapat menjadi resiko adanya kontaminasi. Sehingga suatu industri harus lebih memperhatikan sistem tata udaranya. Selain itu, menerapkan sistem *hygiene* dan sanitasi yang baik mampu menunjang mutu dan kualitas produk yang diproduksi. Higienitas dan sanitasi mampu menghilangkan pencemaran silang baik dari faktor manusia maupun lingkungan produksi. Menurut (Adawiyah, 2017) juga menyatakan pandangan yang sama bahwa semakin tinggi *hygiene* dan sanitasi suatu proses produksi maka akan menurunkan jumlah mikroba produk tersebut.

mikroba lain yang belum teridentifikasi.

3. Jumlah mikrobiologi udara pada koridor dan ruang filling kapsul Unit Produksi Non Betalaktam LAFIAU tidak lebih dari 200 CFU/m^3 hal ini berarti sistem tata udara HVAC yang terdapat pada ruang tersebut berfungsi dengan baik sehingga kualitas udaranya memenuhi persyaratan sesuai Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 34 Tahun 2018 Tentang Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik (CPOB).

Disarankan bagi Akademik, diharapkan kepada mahasiswa yang ingin melakukan penelitian dapat melanjutkan penelitian ini di unit produksi yang berbeda dan metode pengukuran yang berbeda, dan bagi LAFIAU Kepada LAFIAU diharapkan untuk selalu melakukan *hygiene* dan sanitasi secara berkala dan selalu memonitoring kebersihan ruangan.

REFERENSI

Adawiyah, R., 2017. Hubungan hygiene sanitasi produksi dengan jumlah mikroba pada petis hasil olahan desa Sungonlegowo kecamatan Bungah kabupaten Gresik (thesis). In:

Malang:Universitas Muhammadiyah Malang.

Amalia, T. (2018). Tanggung Jawab Industri Farmasi Terhadap Penerapan Aturan Pemerintah

- Tentang Cpob. *Jurnal Inkofar*,
1(1).
- Austin, T. X., n.d. Manitol Salt Agar. In:
s.l.:Austin Community College
District.
- BPOM, 2018. *Cara Pembuatan Obat yang
Baik*. Jakarta: s.n.
- Fardiaz, S., 1993. Analisis Mikrobiologi
Pangan. In: Jakarta: PT Prasindo
Persada.
- Harly, J. P. & L, M. P., 2002. Laboratory
exercises in microbiology 5 th ed..
In: New York: The mcGrAw-hill
Componies, p. 466.
- Kusnoputranto, 2002. *Kesehatan
Lingkungan Pemukiman dan
Perkotaan*. s.l.:FKM UI.
- Menkes , R., 2010. *Peraturan Menteri
Kesehatan Republik Indonesia
Nomor 1799
MENKES/PER/XII/2010 tentang
Industri Farmasi*. s.l.:s.n.
- Menkes, n.d. *Peraturan Menteri
Kesehatan Republik Indonesia No.
48 tahun 2016 Standar Keselamatan
dan Kesehatan Kerja Kantor*.
Jakarta: s.n.
- Sugarman, S. C., 2007. HVAC
Fundamentals 2 Edition. *The
Fairmont Press*.
- Waluyo, L., 2016. *Mikrobiologi Umum*.
Malang: Universitas Muhmmadiyah
Malang Press.