

STERILISASI UDARA DAN CLEAN ROOM MENGGUNAKAN PERALATAN FOGGING AEROSEPT 8000

Robertus Dwi Hendarto*, Eddy Lestari, Sudarsih, Suharmadi

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka – BATAN

*e-mail: robertdh@batan.go.id

ABSTRAK

Salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam produk kit radiofarmaka adalah steril. Kit radiofarmaka harus bebas dari kontaminasi mikroorganisme dan partikel patogen lainnya yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Pembuatan kit radiofarmaka umumnya tidak dilakukan sterilisasi akhir sehingga proses dilakukan secara aseptis. Proses aseptis adalah proses steril tanpa sterilisasi akhir. Metode aseptik memiliki resiko kontaminasi lebih besar daripada metode sterilisasi akhir. Untuk menghindari kontaminasi terhadap produk, ruang proses (clean room) harus bebas kontaminasi mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan cara yang tepat dan efektif dalam mematikan mikroorganisme baik berupa bakteri maupun jamur sehingga didapatkan ruang proses (clean room) yang steril dan dapat dipergunakan sebagai ruang proses aseptis. Untuk itu telah dilakukan disinfeksi terhadap udara maupun permukaan benda di dalam ruang proses (clean room) menggunakan alat fogging AEROSEPT 8000 produksi Anios Laboratories Perancis. Larutan disinfektan yang digunakan adalah ANIOS 2R. Lamanya penyemprotan (fogging) 4,5 menit untuk volume ruang proses (clean room) 75 m³ dengan kapasitas loading 8000 ml/60 menit, tekanan udara 4 bar, contac time selama 90 menit dan recovery ruangan selama 60 menit. Untuk mengetahui efektifitas dari kegiatan sterilisasi, dilakukan monitoring lingkungan dengan menggunakan media steril TSA (Tryptic Soy Agar) untuk pertumbuhan mikroba yang diletakkan pada 11 titik dengan cawan petri dan 10 titik dengan rodac plate. Setelah diamati selama 4 hari berturut-turut didapat data yang menunjukkan rata-rata pertumbuhan koloni untuk ruang kelas A= 0 (< 1), kelas B= 1/3 (maks 5) dan kelas C= 1/3 (maks 50). Dari hasil pemantauan menunjukkan bahwa pelaksanaan sterilisasi telah berhasil mematikan mikroorganisme secara menyeluruh dalam clean room.

Kata-kata kunci: sterilisasi, clean room, radiofarmaka, fogging, aseptis.

PENDAHULUAN

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR) adalah salah satu satuan kerja di Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN) yang mempunyai tugas pokok (tupoksi) mengembangkan teknologi radioisotop dan radiofarmaka. Salah satu teknologi yang telah berhasil dikembangkan adalah teknologi pembuatan sediaan kit radiofarmaka. Kit radiofarmaka adalah sediaan non-radioaktif yang terdiri dari beberapa senyawa kimia yang akan ditandai dengan radioisotop untuk menjadi sediaan radiofarmaka yang siap digunakan untuk diagnosa atau terapi.[1] Beberapa sediaan kit radiofarmaka yang telah dibuat di PTRR antara lain kit kering DTPA (diethylen triamine penta acetic acid) untuk penyidik ginjal, MIBI (metoksi isobutil isonitrit) untuk penyidik jantung, dan MDP (metilen difosfonat) untuk penyidik tulang, HMPAO (hexamethylpropyleneamine oxime) untuk penyidik otak, sedangkan yang masih dalam

penelitian adalah kit Tetrofosmin untuk diagnosis jantung dan Ec L-etilen disistein untuk diagnosis fungsi ginjal. Kit radiofarmaka sebagai sediaan yang akan dimasukkan kedalam tubuh manusia secara parenteral atau injeksi harus steril, bebas pirogen dan bebas kontaminasi partikel lain. Untuk mendapatkan produk steril maka sesuai dengan persyaratan CPOB (Cara Pembuatan Obat yang Baik) selama proses pembuatannya termasuk ruang yang digunakan untuk proses harus dalam kondisi steril dan aseptis.[2] Pembuatan sediaan radiofarmaka umumnya dilakukan tanpa sterilisasi akhir sehingga proses harus dilakukan secara aseptis. Proses aseptis adalah proses pembuatan produk steril tanpa sterilisasi akhir.[3] Proses aseptis memiliki resiko kontaminasi lebih besar daripada metode sterilisasi akhir, maka untuk menghilangkan kontaminasi selain bahan dan peralatan juga ruang proses (clean room) harus bebas kontaminasi mikroorganisme disamping persyaratan lainnya seperti bebas partikel, aliran

udara (air flow) , suhu dan kelembaban udara (Rh). Untuk mendapatkan ruang yang steril telah dilakukan berbagai cara sterilisasi antara lain : pemvakuman dengan vacuum cleaner, pengelapan permukaan dinding, fasilitas dan peralatan dengan larutan saflon dan alkohol 70% namun hasilnya belum maksimal karena masih ditemukan pertumbuhan mikroba yang jumlahnya melampaui persyaratan yang ditentukan. Untuk mengatasi hal tersebut telah dilakukan metode fogging. Adapun tujuan teknik fogging adalah untuk mematikan mikroorganisme termasuk jamur dan bakteri yang berada di udara maupun permukaan dalam ruang proses .

Metode yang digunakan adalah Airborn disinfection yaitu proses disinfeksi dengan menggunakan suatu peralatan untuk mendifusikan produk disinfektan dari suatu jarak tertentu dengan memakai udara sebagai media (carrier) disinfeksi. [4] Disinfektan yang digunakan adalah ANIOS 2R buatan Anios, sedangkan lamanya waktu penyemprotan (diffusion time) dihitung berdasarkan volume ruangan , kapasitas loading 8 ml/m³ , contact time : 90 menit (waktu yang diperlukan mikroorganisme kontak dengan disinfektan), room recovery time (waktu yang diperlukan ruangan tersebut bebas dari bahan Anios 2R) : 60 menit. Selanjutnya dilakukan monitoring udara dan permukaan ruang dengan menggunakan media pertumbuhan TSA (Tryptic Soy Agar) untuk mengetahui pertumbuhan mikroorganisme. Media pertumbuhan TSA diletakkan atau ditempelkan pada titik-titik tertentu dalam clean room (Gambar 3). Media TSA kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu-suhu tertentu selanjutnya pertumbuhan mikroorganisme diamati dan dihitung selama 4 hari berturut-turut.

Keunggulan cara fogging yaitu jangkauan disinfeksi lebih luas dan menyeluruh sehingga dapat menjangkau bagian-bagian tersembunyi yang tidak bisa didisinfeksi dengan cara konvensional. Disamping itu cara ini dapat mematikan mikroba yang berada di udara (air born) dalam clean room. Dengan cara ini semua peralatan proses seperti : dua buah freeze dryer, dua buah laminar air flow (LAF), empat buah glove box dan peralatan proses lainnya dimana terdapat bagian-bagian yang tidak dapat

dijangkau dengan cara konvensional dapat didisinfeksi dengan sempurna. Clean room yang ada di PTRR-BATAN terdiri dari ruang kelas A, kelas B dan kelas C . Klasifikasi ini berdasarkan persyaratan jumlah partikel dan jumlah kontaminasi mikroba yang diijinkan dalam setiap m³ atau ft³ udara. Jumlah partikel yang diijinkan dari tiap kelas dalam clean room dapat dilihat di Tabel 1, sedangkan untuk persyaratan kontaminasi mikroba dapat dilihat pada Tabel 2, klasifikasi ini mengacu pada Pharmaceutical Clean Room Classification EU GGMP Eropa.[5]

Tabel 1 : Jumlah partikel yang diijinkan dalam Clean Room (EU GGMP)

Grade	Maximum permitted number of particles/m ³ equal or above			
	At rest		In operation	
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5,0 µm
A	3500	0	3500	0
B	3500	0	3500	2000
C	350000	2 000	3500000	20000

Tabel 2 : Jumlah kontaminasi mikroba yang diijinkan dalam Clean Room (EU GGMP)

Grade	Recommended limits for microbial contamination		
	Air sample Cfu/m ³	Settle plate (dia 90 mm),cfu/4h	Contac plate (dia 55 mm) cfu/plate
A	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5
C	100	50	25

Dalam makalah ini akan dilaporkan tentang hasil-hasil yang telah diperoleh dari kegiatan sterilisasi udara dan clean room menggunakan tehnik fogging.

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan

Pada kegiatan sterilisasi ini bahan yang digunakan sebagai disinfektan adalah ANIOS 2R buatan Anios, larutan Saflon dari Saniflon, Alkohol teknis 70% steril lokal dan penyaring bakteri 0,22 µ dari Millipore, sedangkan bahan untuk media pertumbuhan bakteri digunakan TSA (Tryptic Soy Agar) Difco, cawan petri dan rodac plate. Sedangkan peralatan yang

digunakan adalah mesin aerosol AEROSEPT 8000 buatan Anios, Perancis (Gambar 1), mesin kompresor merk Swan dan inkubator LAB-LINE (Gambar 4).

METODE

Metode yang digunakan dalam kegiatan sterilisasi ini adalah Airbone disinfection yaitu proses disinfeksi dengan menggunakan suatu peralatan untuk mendifusikan disinfektan dari suatu jarak tertentu dengan memakai udara sebagai media (carrier).[4] Mesin aerosol terlebih dahulu didisinfeksi dengan dilap secara sempurna seluruh permukaannya dengan larutan saflon dan alkohol 70% lalu selang mesin kompresor dihubungkan dengan mesin aerosol. Semua sistem pendingin udara (AC), exhaust dan blower dimatikan, jerigen yang berisi larutan disinfektan ANIOS 2R ditempatkan pada mesin aerosol dan selang penyedot dimasukkan kedalam jerigen. Tombol switch diset ke "0" lalu mesin dihidupkan, lampu power menyala, cover dibuka dengan kunci yang ada, tombol "pressure reducer" diatur sampai tekanan udara 4 bar. Data jam, hari dan lamanya waktu penyemprotan diinput kedalam PLC (Pogramable Logic Counter) (Gbr. 2) dengan cara menekan tombol "ESC" beberapa kali, setelah muncul menu dipilih "set clock" lalu dimasukkan hari dan jam saat ini lalu tekan "OK", ditekan "ESC" beberapa kali lalu dipilih menu "set param" ditekan "OK" muncul menu "B5" ditekan tombol panah beberapa kali dan dipilih menu "B 11" dan muncul menu T = 00 : 00 m ditekan "OK" kursor aktif dan lamanya waktu penyemprotan diinput 04:30 menit (T = 04 : 30) yaitu sesuai dengan volume ruang clean room = 75 m³ lalu ditekan "OK" dan kembali ke menu B5 lalu dipilih hari penyemprotan lalu ditekan kursor sampai pindah di posisi "ON" dan diinput waktu dimulai penyemprotan dan kursor dipindahkan ke posisi "OFF" dan diinput waktu berakhirnya penyemprotan, setelah cocok dengan waktu "OFF" ditekan "OK" dan ditekan tombol "ESC" untuk keluar dari menu B5. Cover mesin ditutup dan tombol "auto/0/man" diset ke arah "auto". Start up mesin dimulai sesuai seting waktu. Setelah penyemprotan selesai dilakukan proses untuk contact time selama 90 menit setelah itu AC/Exhaust/Blower dihidupkan

selama minimal 60 menit untuk recovery ruangan.

Untuk mengetahui hasil dari kegiatan sterilisasi ini, dilakukan monitoring lingkungan menggunakan media tumbuh steril TSA (Triptic Soy Agar) yang diletakkan di 21 titik (10 titik dengan cawan petri dan 10 titik dengan rodac plate). Setelah diinkubasi pada suhu 20-25⁰ C diamati dari hari pertama sampai ke dua untuk pertumbuhan jamur dan pada hari kelima dan keenam pada suhu 30-35⁰ untuk pertumbuhan bakteri. Data dari hasil monitoring lingkungan disajikan seperti pada Tabel 3 pada Bab Hasil dan Pembahasan.



Gambar 1. Alat Aerosol AEROSEPT 8000



Gambar 2. PLC pada alat Aerosol AEROSEPT 8000

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk menentukan lamanya waktu penyemprotan/fogging dihitung berdasarkan besarnya volume ruang dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$T(\text{min}) = \frac{8 \times V (\text{m}^3)}{Dr (\text{ml}/\text{min})}$$

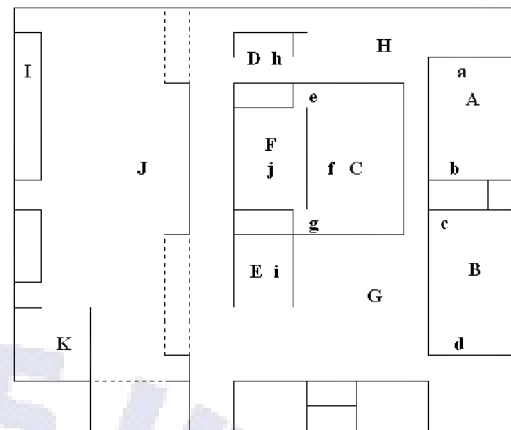
Dimana : T (min) = lamanya waktu untuk
 Penyemprotan (menit)
 V = Volume ruangan $p \times l \times t$ (m^3)
 Dr = Flow Rate mesin AEROSEPT
 (8000 ml/jam)

Dari hasil pengukuran volume ruang proses (clean room) yang telah dilakukan, diperoleh volume kurang lebih $75 m^3$ sehingga apabila dihitung dengan menggunakan rumus di atas dan dengan menetapkan flow rate 8000 ml/60 menit maka akan didapatkan waktu fogging selama 4,5 menit.

Fogging dilakukan selama 4,5 menit dengan tekanan udara 4 bar. Selama proses fogging semua sistem pendingin udara (AC) blower dan exhaust dimatikan hal ini dimaksudkan agar proses contact time lebih optimal. Contact time dilakukan selama 90 menit lalu sistem pendingin udara (AC) blower dan exhaust dihidupkan untuk recovery time.

Untuk mengetahui hasil dari fogging, setelah 2 jam dari recovery time dilakukan monitoring dengan meletakkan cawan petri dan rodac plate yang berisi media tumbuh steril TSA ditempatkan yang telah ditentukan. Penempatan media TSA didasarkan atas potensi kontaminasi pada saat pembuatan sediaan radiofarmaka. Cawan petri diletakkan dengan permukaan terbuka sedangkan rodac plate ditempelkan/dilekatkan pada permukaan benda. Posisi meletakkan cawan petri dan rodac plate dapat dilihat pada (Gambar 3)

Media TSA dibiarkan selama 2 jam (1 s/d 4 jam) dalam clean room lalu diambil dan diinkubasi dalam inkubator (Gambar 4) pada suhu $20-25^{\circ}C$ dan diamati pertumbuhan jamur pada hari pertama dan kedua sedangkan untuk pertumbuhan bakteri, TSA diinkubasi pada suhu $30-35^{\circ}C$ lalu diamati pertumbuhan mikroba pada hari kelima dan keenam.



Gambar 3 : Penempatan Media TSA dalam Clean Room

Keterangan gambar 3 :

A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K = posisi cawan petri
 a,b,c,d,e,f,g,h,i,j = posisi rodac plate
 Kelas A : A,B,C,D,E, dan a,b,c,d,e,f,g,h,i,j
 Kelas B : F,G,H dan Kelas C : I,J,K



Gambar 4. Inkubasi media TSA dalam Inkubator

Tabel 3. Data Monitoring Lingkungan

RUANG	LOKASI	JUMLAH KOLONI										KETERANGAN	
		Inkubasi $20-25^{\circ}C$ (Jamur)					Inkubasi $30-35^{\circ}C$ (Bakteri)						
		Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6						
Kelas A	A/a	0	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0	
	b		0	0	-	-	-	-		0		0	
	B/c	0	0	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
	d		0	0	-	-	-	-		0		0	
	C/e	0	0	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0

(max<1)	f		0		0	-	-	-	-		0		0
	g		0		0	-	-	-	-		0		0
	D/h	0	0	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
	E/i	0	0	0	0	-	-	-	-	0	0	0	0
	j		0		0	-	-	-	-		0		0
Kelas B (max 5)	F	0		1		-	-	-	-	1		1	tumbuh
	G	0		0		-	-	-	-	0		0	
	H	0		0		-	-	-	-	0		0	
Kelas C (max50)	I	0		0		-	-	-	-	0		0	
	J	0		0		-	-	-	-	0		0	
	K	0		1		-	-	-	-	1		1	tumbuh

Dari tabel dapat dilihat bahwa di ruang kelas A (A,B,C,D,E, dan a,b,c,d,e,f,g,h,i,j) pada hari pertama, kedua, kelima dan keenam baik dari cawan petri (A,B,C,D,E) maupun rodac plate (a,b,c,d,e,f,g,h,i,j) tidak ditemukan pertumbuhan jamur dan bakteri. Untuk ruang kelas B (F,G,H) hari pertama tidak ditemukan pertumbuhan jamur sedangkan hari kedua ditemukan 1 pertumbuhan jamur di cawan petri (F), sedangkan hari kelima dan keenam hanya di cawan petri (F) ditemukan 1 pertumbuhan bakteri. Untuk kelas C (IJK) pada hari pertama tidak ditemukan pertumbuhan jamur, hari kedua cawan petri (K) ditemukan 1 pertumbuhan jamur, sedangkan pada hari kelima dan keenam ditemukan 1 pertumbuhan bakteri. Dari data-data tersebut dapat diketahui bahwa untuk kelas A, kelas B maupun kelas C pertumbuhan jamur maupun bakteri masih dibawah batas yang diijinkan yaitu untuk kelas A= 0 (< 1), untuk kelas B=1/3 (maks < 5) dan kelas C = 1/3 (maks < 50).

KESIMPULAN

Telah dilakukan proses sterilisasi udara dan clean room dengan teknik fogging menggunakan peralatan aerosol AEROSEPT 8000 buatan Anios, Perancis dengan larutan disinfektan ANIOS 2R buatan Anios dengan lama penyemprotan 4,5 menit dan tekanan udara 4 bar, flow rate 8000 ml/60 menit, contact time 90 menit dan recovery time 120 menit dan dari pemantauan menggunakan media pertumbuhan mikroba menunjukkan hasil bahwa clean room dinyatakan steril dan telah memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai fasilitas proses aseptis. Teknik sterilisasi fogging ini mempunyai keunggulan dalam mematikan mikroorganisme dibanding dengan cara konvensional karena dapat menjangkau

keseluruh sudut clean room yang tidak dapat dijangkau dengan cara sterilisasi biasa. Untuk lebih memaksimalkan hasil fogging dan untuk menghilangkan sisa-sisa larutan disinfektan yang masih menempel, clean room dilap secara sempurna menggunakan larutan saflon dan alkohol 70 % steril.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Purwoko, Drs, Teknologi Produksi Radiofarmasi, Jurnal Radioisotop & Radiofarmaka, vol 2, no. 2, pp 03-05 Agustus 1996
- [2] Anonim, Petunjuk Operasional Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik, Badan POM RI, Aneks 1, Pembuatan Produk Steril, Edisi 2013
- [3] Nurlaila, Tata Cara Produksi Secara Aseptik, Bandung, 1996.
- [4] Anonim, Intruction Manual, Airborne Disinfection of Surfaces-Aerosept-8000, version 09.03.
- [5] Mikhail Kitain, Cleanrooms in Pharmaceutical Production, Bachelor's thesis Building Services, March 2010. [Online] Available : www.scribd.com/doc/172696545/Kitain-Mikhail.

DISKUSI

Pertanyaan: Apakah dilakukan fogging dengan lama waktu kurang dari 4,5 menit atau lebih dari 4,5 menit? Karna kategori ruang A,B,C jumlah bakteri berbeda?

Jawab: -