



www.esaunggul.ac.id

INTRUMENTASI BIOTEKNOLOGI

Program Studi Bioteknologi

Oleh: Seprianto, S.Pi, M.Si

Meeting 7

Presentasi Mahasiswa Sterilization instruments (BSC, Metode Sterilisasi Basah dan Kering)

Tujuan Perkuliahan

- Mahasiswa dapat membedakan anatara metode sterilisasi basah dan sterilisasi kering
- Dapat Mengatahui masing – masing prinsip kerja alat sterilisasi
- Mahasiswa dapat mengoperasionalkan alat tersebut

ALAT STERILISASI BASAH

Kelompok 2

Cindy Fransisca 20170308002

Indra Wahyu Nugroho 20170308006

Rifqah Mifthahul Jannah 20170308004

STERILISASI

Menurut Sonder, ostrander, Crowley: disinfektan hanya memusnahkan mikroorganisme tertentu dalam bentuk vegetasinya (terbatas dalam kualitas dan kuantitas), sedangkan sterilisasi memusnahkan semua bentuk kehidupan mikroorganisme

Menurut G.F Reddish: sterilisasi adalah suatu proses fisik atau kimia yang dapat mematikan semua bentuk kehidupan mikroorganisme termasuk juga bakteri, fungi, spirichaeata, virus dan juga spora.

Menurut Patterson (1993): sterilisasi adalah suatu proses dimana terjadi keadaan bebas dari pada mikroorganisme.



TUJUAN

Menghindari penularan

1

Alat-alat dapat dipergunakan
sewaktu-waktu

2

Alat-alat dapat terpelihara dan
tahan lama

3

STERILISASI

proses mematikan semua mikroorganisme termasuk bakteri, spora bakteri, kapang dan virus. Sterilisasi yang tidak baik dapat menghasilkan penyebaran infeksi bakteri dan virus seperti hepatitis dan HIV.

PEREBUSAN \neq STERILISASI

Sterilisasi umumnya dilakukan menggunakan **autoklaf** untuk yang menggunakan panas bertekanan

Teknologi pengemasan aseptik untuk minuman yang sensitif terhadap asam →
Larutan PAA sebagai medium sterilisasi

STE
RILI
SASI

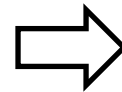
BA
SAH

Dasar sterilisasi basah dengan PAA

Botol disterilkan dengan penyemprotan larutan PAA dengan botol menghadap ke bawah, PAA dan tampung untuk dapat digunakan kembali.



Botol dicuci dengan menyemprotkan air steil (botol menghadap ke bawah), air cucian ditampung untuk dapat digunakan kembali.



Kendalikan laju aliran semprotan, konsentrasi PAA, suhu dan tekanan.

Pengurangan mikroorganisme yang dilakukan dapat mencapai 6 log penurunan (6D)

STERILISASI DENGAN UAP AIR YANG DITEKAN



Proses sterilisasi termal menggunakan uap jenuh di bawah tekanan berlangsung di suatu bejana yang disebut **autoklaf**.

Metode : Suhu 121°C selama 15-20 menit tergantung bahan/prosedur sterilisasi.

Prinsip: Udara di dalam bejana diganti dengan uap jenuh.

- The autoclave is a equipment used to remove microorganisms (Virus, Bacteria, fungus etc.) and spores using high pressure and high temperature steam Sterilization



- **Types of autoclave:**

1) Downward (gravitation) displacement sterilizer

2) Steam sterilizer with pre and post vacuum processes



Gravity Displacement Autoclave

Prinsipnya adalah memanfaatkan keringanan uap dibandingkan dengan udara, sehingga udara terletak di bawah uap.

Prevacuum atau High Vacuum Autoclave

Autoklaf ini dilengkapi pompa yang mengevakuasi hampir semua udara dari dalam autoklaf.

Steam-Flush Pressure-Pulse Autoclave

Autoklaf ini menggunakan aliran uap dan dorongan tekanan di atas tekanan atmosfer dengan rangkaian berulang. Waktu siklus pada autoklaf ini tergantung pada benda yang disterilisasi.

**MACAM
MACAM
AUTOKLAF**

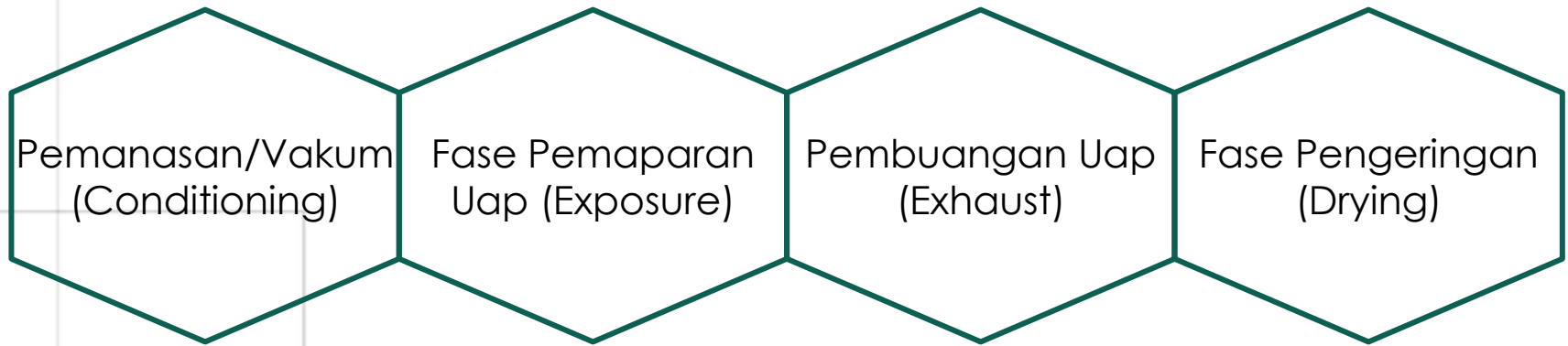
Autoclave



Cara Kerja :

1. Sebelum melakukan sterilisasi cek dahulu banyaknya air dalam dari batas yang ditentukan, maka dapat ditambah air sampai batas tersebut. Gunakan air hasil destilasi, untuk menghindari terbentuknya kerak dan karat.
2. Masukkan peralatan dan bahan. Jika mensterilisasi botol bertutup ulir, maka tutup harus dikendorkan,
3. Tutup autoklaf dengan rapat lalu kencangkan baut pengaman agar tidak ada udara yang keluar dari bibir autoklaf. Klep pengaman jangan dikencangkan terlebih dahulu.
4. Atur timer dengan waktu minimal 15 menit pada suhu 121°C , kemudian nyalakan autoklaf.
5. Tunggu sampai air mendidih sehingga uapnya memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar klep pengaman. Kemudian klep pengaman ditutup (dikencangkan) dan tunggu sampai selesai. Perhitungan waktu 15' dimulai sejak tekanan mencapai 2 atm.
6. Jika alarm tanda selesai berbunyi, maka tunggu tekanan dalam kompartemen turun hingga sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada pressure gauge menunjuk ke angka nol. Kemudian klep-klep pengaman dibuka dan keluarkan isi autoklaf dengan hati-hati

FASE SIKLUS STERILISASI



80% alat dan bahan dapat disterilkan dengan metode ini

Kelebihan: Biaya operasional cukup rendah dibanding metode lain. Temperatur merata pada setiap tempat selama proses. Cepat dan hasil kering

PRINSIP KERJA AUTOKLAF

Uap air yang terbentuk mendesak udara yang mengisi autoclave.

Pada saat tercapai tekanan dan suhu yang sesuai, maka proses sterilisasi dimulai dan timer mulai menghitung waktu mundur.

1

Pada saat sumber panas dinyalakan, air dalam autoclave lama-lama akan mendidih.

2

3

Setelah udara dalam autoklaf di ganti dengan uap air, katup udara atau uap ditutup sehingga tekanan udara dalam autoclave naik.

4

Setelah proses sterilisasi selesai, sumber panas dimatikan dan tekanan dibiarkan turun perlahan hingga mencapai suhu 0.

5

Air Mendidih (Boiling Water)

- Sterilisasi jarum dan alat operasi
- Untuk mematikan beberapa mikroorganisme dan endospora diperlukan waktu 15-30 menit setelah air mendidih
- Dekontaminasi tinggi

Sterilisasi Uap Air

- Sterilisasi dengan Uap air mengalir suhu 100°C (steam)
- Menggunakan alat yang mirip panci kukus
- Alat tersebut dilengkapi dengan sarang

Metode: substansi yang disterilkan diletakkan di atas sarang sehingga substansi tidak kontak dengan air hanya uap air saja.

STERILISASI DENGAN PANAS BASAH

- Air Mendidih (Boiling Water)
- Sterilisasi Uap Air
- Sterilisasi dengan uap air mengalir
- Sterilisasi dengan uap bertekanan

STERILISASI SECARA KIMIAWI



Alkohol 70-80%
Mengkoagulasi
protein



Yodium
Bereaksi dengan
tyrosin



Khlor
Merusak membran
sel dan inaktivasi
enzim



Etilen oksida
Mensterilkan
bahan plastik

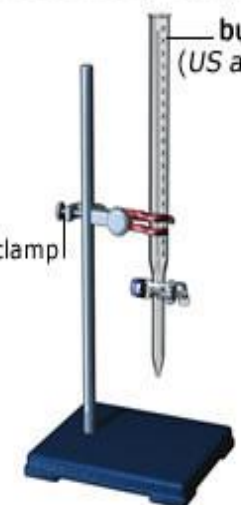
ALAT STERILISASI PANAS KERING

KELOMPOK 1:

Selvi Erna Pratiwi
Muhammad Arreza
Amanda Felicia
Anisa Febriyanti



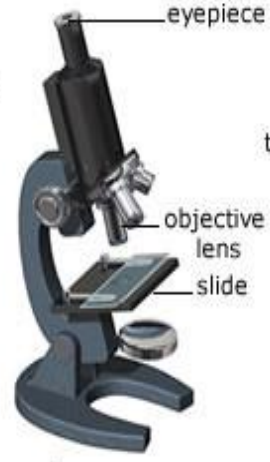
Laboratory equipment



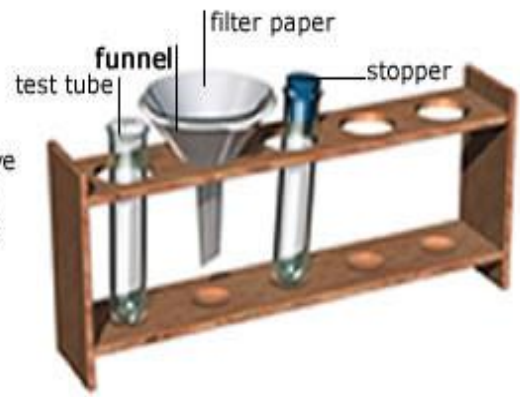
burette
(US also buret)



gauze mat
tripod
flame
rubber tubing
Bunsen burner



eyepiece
objective lens
slide
microscope



test tube
funnel
filter paper
stopper
test tube rack



stand



evaporating dish



Petri dish



crucible



mortar



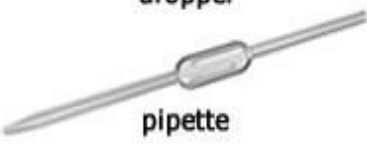
graduated cylinder



syringe



dropper



pipette



tongs



spatula



retort



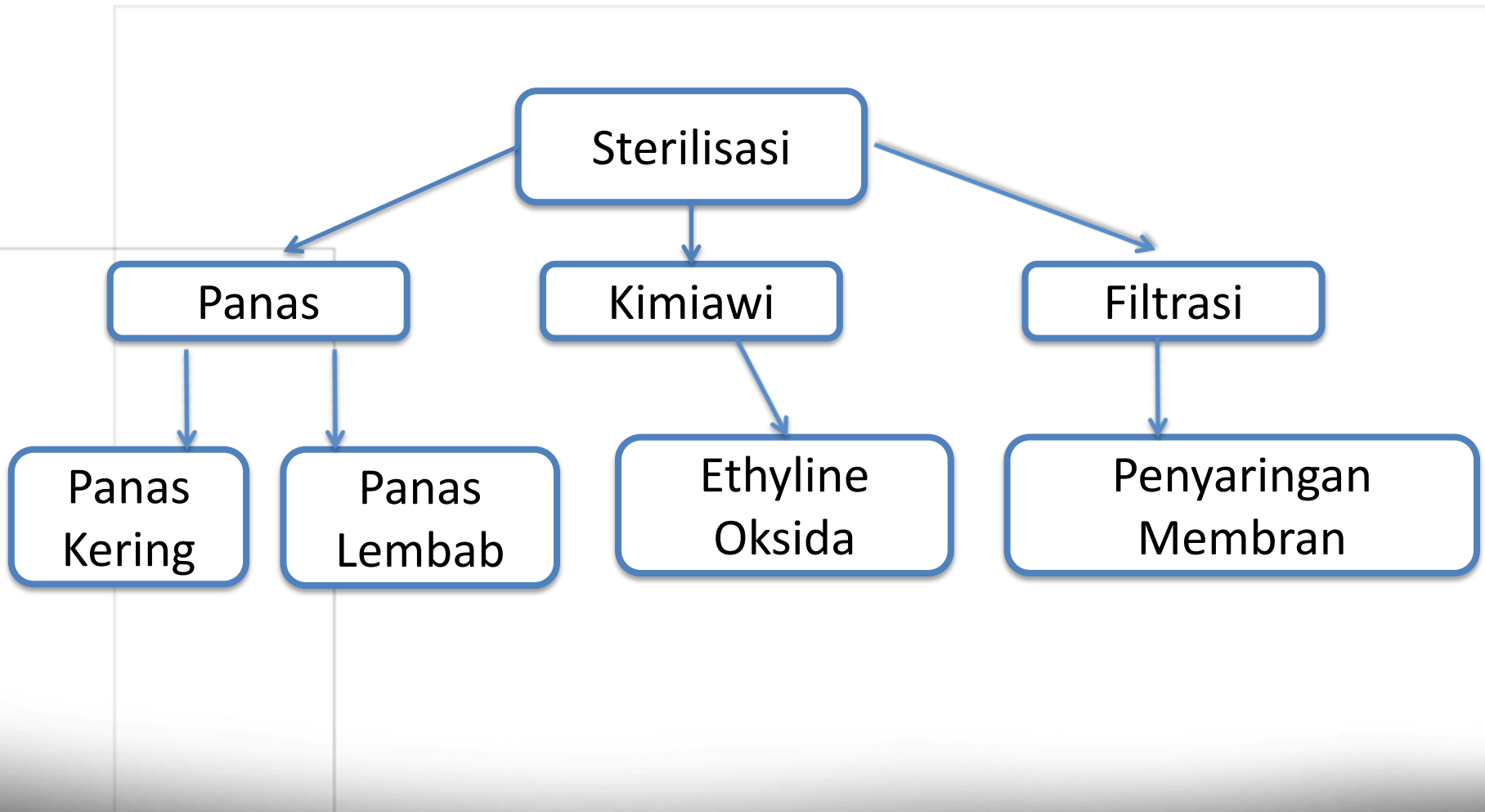
magnet



beaker



JENIS – JENIS STERILISASI



STERILISASI PANAS

Sterilisasi panas memanfaatkan sumber panas untuk membunuh mikroba. Faktor dari sterilisasi panas adalah temperatur sumber panas dan durasi pemanasan. Sumber panasnya dapat dibagi menjadi 2 kategori yaitu panas lembab dan panas kering.

Panas Lembab:

- Autoclave
- Perebusan

Panas Kering:

- Flaming
- Insinerasi
- Oven
- Radiasi:
 - Non-Ionis
 - Ionis

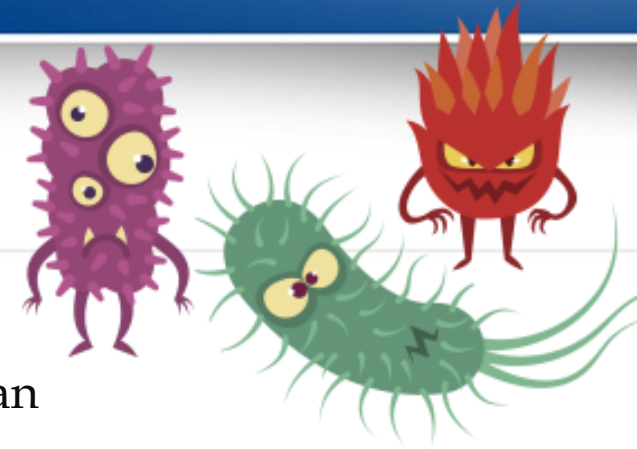


- Sterilisasi panas kering biasanya dilakukan dengan menggunakan oven.
- Metode ini juga efektif untuk mensterilkan alat-alat gelas dan bedah.
- terbuat dari stainless steel.
- Keseluruhan proses terdiri dari pengeringan, pemanasan, sterilisasi dan pendinginan bertahap.

Sterilisasi panas kering umumnya digunakan untuk senyawa-senyawa yang tidak efektif untuk disterilkan dengan uap air panas, karena sifatnya yang tidak dapat ditembus atau tidak tahan dengan uap air. Senyawa-senyawa tersebut meliputi minyak lemak, gliserin (berbagai jenis minyak), dan serbuk yang tidak stabil dengan uap air



PRINSIP KERJA....



✓ Prinsip Kerja Oven:

- Oven merupakan alat sterilisasi dengan menggunakan uap panas kering.
- Mikroba akan mengalami dehidrasi hingga terjadi kekeringan, selanjutnya teroksidasi oleh oksigen di udara sehingga menyebabkan matinya mikroba.

✓ Spesifikasi Alat :

- Merupakan alat untuk mensterilisasi alat dan bahan.
- Tidak semua bahan dapat disterilisasi dengan oven seperti serum, vitamin, antibiotic, dan enzim.
- Tidak menimbulkan embun/kondensasi pada alat yang disterilisasi karena menggunakan uap panas kering.



Oven



Cara Kerja :

1. Bungkus alat-alat gelas dengan menggunakan kertas atau alumunium foil.
2. Atur pengatur suhu oven menjadi 180°C dan alat di sterilkan 2-3 jam.

Perawatan Alat:

1. Rawat motor blower (bagian yang meniup angin panas dalam oven) seperti diolikan secara rutin
2. Letakkan oven di tempat yang memiliki sirkulasi udara agar blower cepat dingin ketika tidak dipakai
3. Pasang oven ke stop kontak dengan voltase yang benar (oven 240V dipasang pada stop kontak yg voltasenya sama)
4. Periksa elemen pemanas oven dengan rutin agar oven dapat bekerja dengan lancar.

OVEN PERLU DIKALIBRASI JUGA...

- ✓ Secara berkala lakukan pemeriksaan suhu dengan menggunakan thermometer
- ✓ Cocokkan hasil yang di dapat antara suhu yang tercantum dalam oven dengan suhu yang ditunjukkan oleh thermometer standar.

Perawatan OVEN



- Pemeliharaan serta cara penggunaan oven laboratorium yang tepat sangat diperlukan. Dalam penggunaan oven, gelas laboratorium atau alat yang disterilisasi biasanya dilapisi dengan kertas aluminium foil.
- Jangan memasukkan alat atau bahan yang mudah rusak seperti plastik ke dalam oven.

- Oven laboratorium sebaiknya dibersihkan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk menghilangkan debu yang ada didalam oven.
- Hindari penggunaan zat abrasif dalam membersihkan oven dan juga hindari mengelap elemen panas dari oven laboratorium.
- Jangan lupa saat melakukan perawatan pada oven laboratorium juga perlu di kalibrasi.
- Labu ukur dan pipet ukur sebaiknya tidak dikeringkan dengan oven laboratorium



Bunsen

Prinsip Kerja :

- Bunsen menggunakan metanol atau bahan bakar gas sebagai bahan bakarnya
- Digunakan untuk memanaskan dan/atau mensterilkan cairan dalam beaker, labu erlenmeyer, dll dan juga untuk mensterilkan alat – alat laboratorium berbasis platina seperti jarum inokulasi.

Spesifikasi Alat :

- Merupakan alat untuk mensterilisasi alat dan bahan menggunakan panas api.
- Untuk alat berbasis platina disterilkan dengan dipanaskan di api bunsen sampai berpijar



Bunsen



Cara Kerja :

1. Pasangkan bunsen ke bahan bakarnya.
2. Putar klep bahan bakar bunsen sehingga bahan bakarnya keluar
3. Nyalakan api bunsen dengan pemantik atau korek api.

Perawatan Alat:

1. Periksa adanya retak atau terkelupasnya selang bahan buker bunsen sebelum dipakai
2. Jangan simpan bunsen yang masih panas, dinginkan dahulu

Biosafety Cabinet

- Instrumen TASI Bioteknologi

- Kelompok 3:

Wilianto

Candra Budiman

Indra Wahyu N

Biosafety Cabinet

- adalah ruang kerja laboratorium yang tertutup dan berventilasi bertujuan untuk bekerja dengan aman dengan bahan yang terkontaminasi (atau berpotensi mengkontaminasi) patogen yang membutuhkan tingkat keamanan hayati yang ditentukan.



Perbedaan
antara lemari
asam, laminar
airflow, dan
Biosafety
cabinet



Biological Safety Compartment

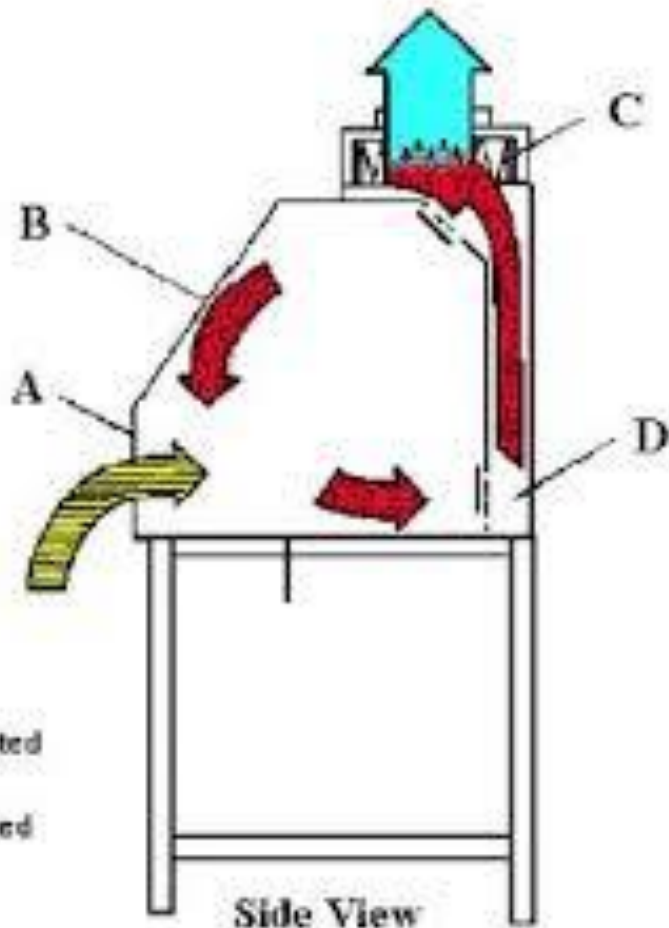
Prinsip Kerja:

- BSC merupakan alat untuk mensterilisasi alat dan bahan dengan menggunakan teknik pengaturan udara dan adanya penyinaran UV. sistem kerja ini sangat erat hubungannya dengan kontaminasi mikroorganismenya. Alat ini juga penting dalam proses Pembuatan Media Pertumbuhan Mikrobiologi agar tidak terjadi kontaminasi.

Spesifikasi alat:

- Dapat dilakukan untuk kerja aseptis.
- Resiko kontaminasi kecil karena adanya pengaturan udara dan sinar UV.
- Tidak dapat langsung digunakan karena harus adanya penyinaran UV selama 2 jam terlebih dahulu.

Biosafety Cabinet level 1



- BSC kelas I hanya melindungi operator dari resiko yang mungkin terjadi. BSC ini memiliki level keselamatan biologis pada level 1,2, dan 3. Aliran udara masuknya jauh dari operator dan filter HEPA mengeluarkan udara ke lingkungan.

KABINET TIPE A 1

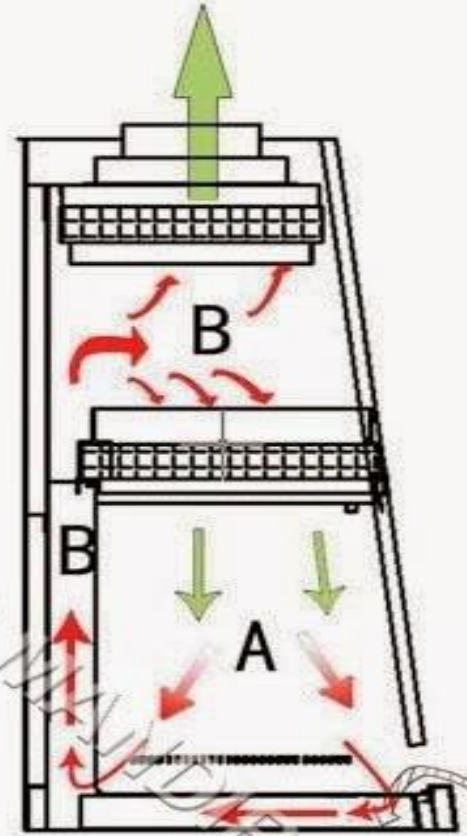
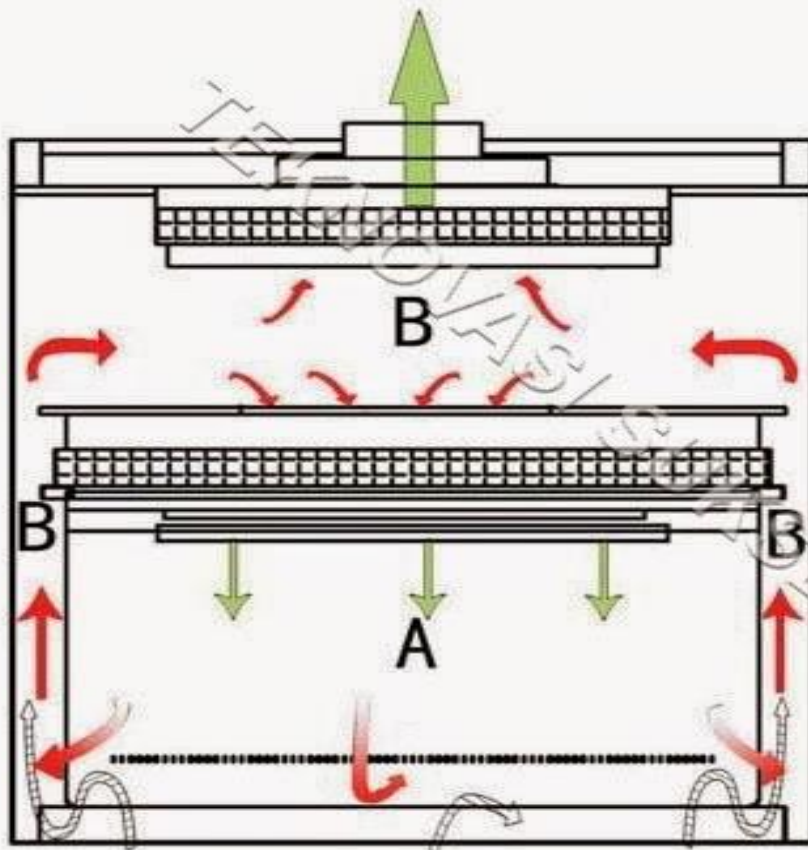
Memiliki kecepatan aliran minimal 0,35 m/detik. Hasil penyaringan udara dengan HEPA Filter dibagi menjadi 70% dipakai lagi, dan hanya 30% dikeluarkan. Hal ini bisa dilakukan karena perbedaan ukuran kedua filter chamber dan filter keluar. Sistem ini tidak diperkenankan jika ada penggunaan bahan kimia berbahaya.




KABINET TIPE A 2

Memiliki kecepatan aliran minimum 0,5 m/detik. Hasil penyaringan udara dengan HEPA Filter dibagi menjadi 70% dipakai lagi, dan hanya 30% dikeluarkan. Hal ini bisa dilakukan karena perbedaan ukuran kedua filter chamber dan filter keluar. Secara umum hampir mirip dengan model A1.

KABINET TIPE A 1

KABINET TIPE A 2



-  Room Air
-  Polluted Air
-  HEPA Filtered Air
- A Protected Area
- B Unprotected Area

Bsc level 2a

- Lain halnya dengan BSC I, BSC kelas II ini dapat melindungi operator dan sampel atau produk, terdapat filter HEPA berlapis dengan alirannya ke bawah. Udara mengandung kontaminan setelah difilter dan menjadi udara bersih terfilter selain dikeluarkan ke lingkungan juga dialirkan kembali ke cabinet. Kesamaan dengan BSC kelas I yaitu sama-sama memiliki aliran udara masuk jauh dari operator. Ada dua BSC kelas II, yaitu BSC II A1 dan BSC II A2.



Bsc level 2a

- Hal yang membedakan keduanya yaitu pada A2 terdapat ruangan kecil (blower suction) yang bertekanan negatif sehingga jika material (udara) dengan kontaminan bertekanan positif memenuhi ruang antar filter HEPA, plenum atau udara padat kontaminan tersebut dapat diisolasi terlebih dahulu sebelum difilter, sedangkan pada A1 plenum bias saja langsung terbebas ke ruangan laboratorium.

Pada BSC kelas II A2 juga ada yang dilengkapi dengan Thimble Ducting. Inovasi ini memungkinkan udara yang telah difilter oleh filter HEPA berupa udara ruangan, HEPA dan udara terkontaminasi bahan kimia dihisap oleh blower yang berada diujung atas BSC untuk dikeluarkan ke lingkungan. Pada tipe ini, blower yang terpasang berjumlah dua, satu untuk menghisap udara terkontaminasi dari cabinet ke filter HEPA, dan satu lagi mengedot udara dari ruang antar filter ke lingkungan.

Bsc level 2b

- BSC kelas II B dibagi menjadi dua tipe yaitu B1 dan B2. Tidak berbeda jauh, hanya saja pada tipe B2 aliran HEPA yang masuk ke cabinet berasal dari udara dalam ruangan dan tidak ada udara terkontaminasi bahan kimia yang kembali masuk ke cabinet, semuanya dibuang ke lingkungan dalam bentuk HEPA dan udara yang mengandung uap kimiawi.



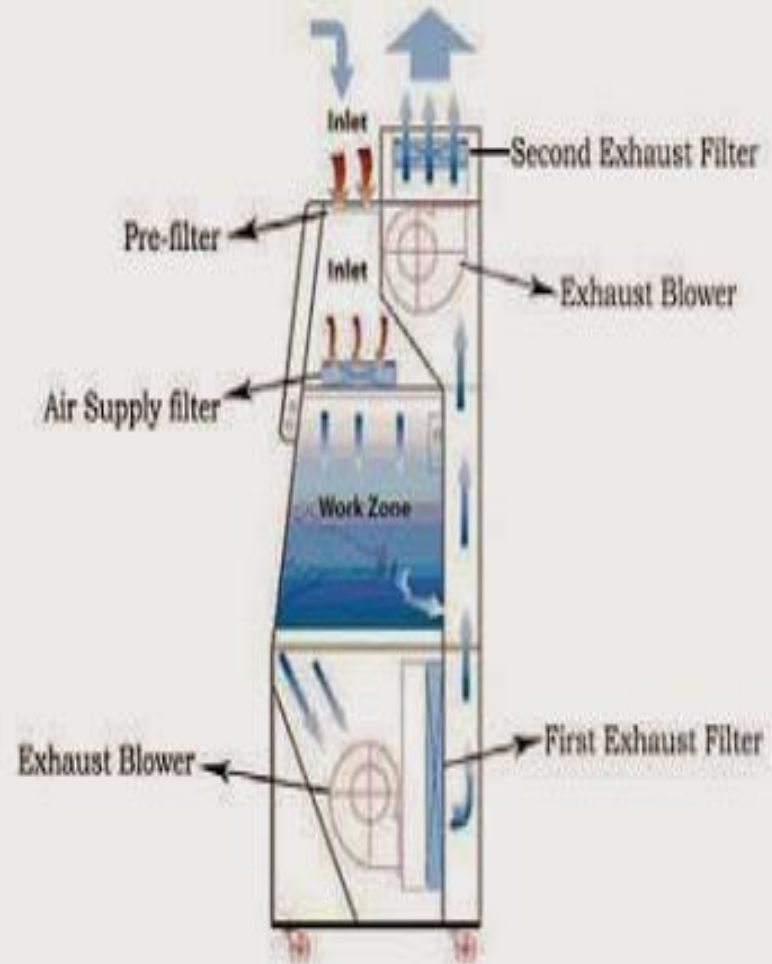
Bsc level 2b

- Kewaspadaan menggunakan BSC II B2 yaitu
- Yakin bahwa bahan kimia yang digunakan tidak membahayakan HEPA atau ULPA filter
- Kipas pembuangan pastikan bisa bekerja dalam cabinet seperti volume aliran udara, tekanan statis, serta tekanan ekstra dari sistem pipa.
- Kondisi fluktuasi dalam exhaust kurang lebih sampai 10%
- Membutuhkan sistem interlock, jika pembuangan gagal, blower dalam cabinet harus dimatikan.



BIOSAFETY KABINET KELAS III

Biosafety cabinet kelas III digunakan di laboratorium dengan pengamanan maksimum, didesain untuk pemakaian dengan bahan patogen yang berbahaya. Sirkulasi udara di dalam chamber ditutup rapat, dan semua material yang masuk dan keluar harus melalui pass box. Sarung tangan disertakan di depan sehingga personil bisa bekerja tanpa kontak langsung dengan material.



Bsc level 3

- BSC kelas III memiliki level keselamatan biologis 1,2,3,4 yang melindungi operator dan produk. Pasokan udara berupa HEPA terfilter yang berasal dari udara ruangan. Terdapat dua kipas pembuangan (exhaust) dalam satu unit atau exhaust tunggal dan sebuah incinerator. Memiliki tekanan udara negatif $> 0.5''\text{WG}$. Tingkat kebocoran gasnya pun sangat kecil yaitu rata-rata sebesar 1×10^5 cc/sec kebocoran.

Bsc level 3

Class III Biological safety Cabinet





**Thank
You!!!**

www.esaunggul.ac.id