

**PENENTUAN DOSIS STERILISASI MEMBRAN SELULOSA
MIKROBA DENGAN IRADIASI BERKAS ELEKTRON
BERDASARKAN ISO 11137**

Darmawan Darwis, Yenni Wicakanti dan Lela Handayani

ata, citation and similar papers at core.ac.uk

brought to you by

Jl. Besar Barat Raya No. 15, Kotan Baru 1002 Jember, Jakarta 12116

provided by Badan Tenaga Nuklir Nasional: J

Tel. 021 7690709, Fax. 021 7691607

E-mail : Darmawan_p3tir@batan.go.id

Diterima 03 September 2009; disetujui 30 September 2009

ABSTRAK

PENENTUAN DOSIS STERILISASI MEMBRAN SELULOSA MIKROBA DENGAN IRADIASI BERKAS ELEKTRON BERDASARKAN ISO 11137. Telah dilakukan perhitungan dosis sterilisasi membran selulosa bakteri dengan iradiasi berkas elektron berdasarkan pada *International Standard Organization* (ISO) 11137. Pelikel selulosa mikroba dibuat dari fermentasi statis bakteri *A. xylinum* dalam media yang mengandung air kelapa sebagai sumber mikronutrien. Pelikel kemudian ditekan pada suhu kamar menggunakan alat *hand press* sehingga dihasilkan membran dengan ketebalan $0,03 \pm 0,01$ mm. Dosis sterilisasi iradiasi berkas elektron ditentukan berdasarkan ISO 11137 melalui 3 tahap yaitu: penghitungan jumlah kontaminasi awal mikroba (*bioburden*), penentuan dosis verifikasi dan penetapan dosis sterilisasi menggunakan Tabel 2. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai *bioburden* rata-rata *batch* 1, 2 dan 3 masing-masing adalah 67,4; 92,6; 91 cfu. Sedangkan *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch* membran adalah 83,7 cfu. *Bioburden* rata-rata masing-masing *batch* lebih kecil dari dua kali *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch*, sehingga *bioburden* yang digunakan untuk penetapan dosis verifikasi adalah *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch*. Berdasarkan pada ISO 11137, maka dosis verifikasi adalah 7,8 kGy. Hasil pengujian pertumbuhan mikroba pada 100 sampel membran setelah menerima dosis verifikasi menunjukkan bahwa hanya satu mikroba yang tumbuh sehingga dosis verifikasi dapat diterima. Dari hasil ini disimpulkan bahwa dosis sterilisasi iradiasi berkas elektron untuk membran mikroba pada tingkat *Sterility Assurance Level* (SAL) 10^6 adalah 21 kGy.

Kata kunci : selulosa mikroba, ISO 11137, iradiasi berkas elektron, steril, *sterility assurance level* (SAL), *bioburden*, dosis sterilisasi

ABSTRACT

DETERMINATION OF STERILIZATION DOSE OF CELLULOSE MICROBIAL MEMBRANE BY ELECTRON BEAM IRRADIATION USING ISO 11137. The calculation of sterilization dose of cellulose microbial by electron beam irradiation has been done based on International Organization for Standardization (ISO) 11137. Cellulose microbial pellicle was prepared by static fermentation of *A. xylinum* in a medium containing coconut water as a micronutrient source. The pellicle was then hand pressed at ambient temperature in order to get membrane with thickness of 0.03 ± 0.01 mm. Sterilization dose of electron beam was determined based on ISO 11137 through three steps: calculation of *bioburden*,

determination of verification dose and sterilization dose based on Table 2. The results showed that the average bioburden of batch 1, 2 and 3 were 67.4; 92.6; 91 cfu, respectively and overall average bioburden was 83.7 cfu. The batch average bioburden was smaller than twice of overall average bioburden, so overall average of bioburden was used to determine the verification dose. Based on ISO 11137, the verification dose was at 7.8 kGy. The results of sterility test on 100 pieces of membranes after irradiated at verification dose, showed that only one membrane had positive bacteria growth. From these results, it can be concluded that sterilization dose of cellulose microbial membrane irradiated by electron beam with the SAL of 10^{-6} was 21 kGy.

Key words : microbial cellulose, ISO 11137, electron beam irradiation, sterile, sterility assurance level (SAL), bioburden, verification dose

PENDAHULUAN

Selulosa mikroba merupakan selulosa alam yang diperoleh dari fermentasi bakteri *A. xylinum* dalam media yang mengandung sumber karbon, nitrogen dan mikronutrien. Jika air kelapa digunakan sebagai sumber mikronutrien, maka selulosa yang dihasilkan disebut pelikel selulosa mikroba (*nata de coco*) [1, 2, 3]. Produksi pelikel tergantung pada berbagai faktor, antara lain: konsentrasi media yang digunakan, suhu inkubasi, pH inkubasi, kondisi lingkungan dan usia kelapa yang digunakan [4].

Darmawan Darwis [5] telah berhasil mensintesis selulosa mikroba pada kondisi yang optimum dan telah melakukan karakterisasi terhadap membran selulosa untuk mempelajari pengaruh iradiasi terhadap sifat-sifat membran [6]. Dari hasil yang diperoleh disimpulkan bahwa membran selulosa mikroba sangat berpotensi untuk digunakan sebagai material pada *tissue engineering* terutama pada operasi periodontal yang memerlukan membran seperti *guided bone regeneration (GBR)*.

Salah satu persyaratan bahan *implant* adalah steril. Oleh karena itu membran selulosa yang akan digunakan sebagai *implant* pada GBR atau operasi lainnya harus disterilkan terlebih dahulu.

Sterilisasi suatu produk dimaksudkan untuk mendapatkan suatu produk yang steril setelah melalui suatu proses sterilisasi dan diharapkan tidak mengalami perubahan kualitas. Oleh karena itu, diperlukan pemilihan cara sterilisasi yang tepat sehingga dihasilkan suatu produk yang steril dengan kualitas yang baik.

Radiasi pengion merupakan salah satu cara sterilisasi produk kesehatan terutama untuk material yang tidak tahan sterilisasi panas [7]. Berkas elektron merupakan salah satu radiasi pengion yang banyak digunakan untuk tujuan sterilisasi produk kesehatan karena mempunyai beberapa keunggulan antara lain: mempunyai laju dosis yang sangat tinggi (berkisar 1500 kGy/jam) sehingga hanya diperlukan waktu iradiasi yang sangat singkat (beberapa menit), aman, dapat digunakan pada produk kemasan akhir, dan tidak menimbulkan panas yang berarti. Namun kelemahan iradiasi berkas elektron adalah daya tembusnya yang terbatas (hanya beberapa cm). Oleh karena itu berkas elektron sangat efektif digunakan untuk produk-produk yang tipis (hingga beberapa cm).

Di dalam *International Standard Organization* (ISO) 13409 disebutkan bahwa dosis radiasi (gamma atau berkas elektron) minimum 25 kGy dapat digunakan untuk mensterilkan suatu produk kesehatan tanpa memperhitungkan jumlah kontaminasi awal mikroba (*bioburden*) yang terdapat pada produk yang akan disterilkan [8]. Beberapa material seperti selulosa dapat mengalami degradasi akibat interaksinya dengan radiasi gamma/berkas elektron.

Besarnya dosis iradiasi yang diperlukan untuk mensterilkan suatu produk sangat tergantung pada jumlah kontaminasi awal mikroba (*bioburden*) yang terdapat pada produk yang akan disterilkan. Semakin sedikit *bioburden* suatu produk, semakin kecil dosis iradiasi yang diperlukan untuk mensterilkan produk tersebut, karena pemberian dosis iradiasi yang berlebihan dapat mengakibatkan kerusakan pada produk yang disterilkan. Oleh karena itu, diperlukan dosis yang tepat untuk mendapatkan produk yang steril sekaligus meminimalkan kerusakan yang mungkin terjadi pada suatu produk.

ISO 11137 dan ISO seri 11737 [9, 10, 11] memberikan petunjuk (*guidance*) untuk menentukan dosis sterilisasi radiasi berdasarkan pada perhitungan jumlah kontaminasi awal mikroba pada suatu produk.

Pada makalah ini akan dibahas penentuan dosis sterilisasi membran selulosa mikroba dengan iradasi berkas elektron berdasarkan pada ISO 11137.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Strain bakteri *Acetobacter xylinum*, amonium sulfat, natrium hidroksida Na(OH), air kelapa, gula pasir, hidrogen peroksida (H₂O₂), asam asetat glasial, media *Tryptic Soy Agar (TSA)*, media *Tryptic Soy Broth (TSB)* dan air suling.

Alat

Alat yang digunakan adalah : Erlenmeyer, gelas ukur, pH meter, otoklaf, inkubator, timbangan analitik, *laminar air flow*, tabung reaksi, plastik polietilen, *hand-press*, cawan petri, pinset, pipet ukur, dosimeter cellulose triacetate (CTA) film, mesin berkas elektron (MBE).

Metode

Tahapan pembuatan membran selulosa bakteri adalah sebagai berikut :

1. Pembuatan starter/ bibit larutan selulosa mikroba

Satu liter air kelapa yang telah disaring ditambah dengan 200 gram sukrosa (gula pasir) (20% dari berat air kelapa) dan 25 gram amonium sulfat. Campuran diaduk hingga homogen dan keasaman di cek dengan pH meter. Bila pH larutan lebih besar dari 4, maka ditambahkan asam asetat glasial hingga pH larutan sekitar 4. Larutan disterilkan dalam otoklaf selama 10 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar. Ke dalam larutan tersebut, ditambahkan 20% larutan biakan *A. xylinum*, kemudian larutan dimasukkan ke dalam wadah botol yang telah steril dan diinkubasi pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari.

2. Pembuatan pelikel selulosa mikroba (gel *nata de coco*)

Air kelapa yang telah disimpan selama 2 hari disaring untuk menghilangkan sisa kotoran. Sebanyak 200 ml air kelapa dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 40 gram dan amonium sulfat sebanyak 0,5 gram. Campuran diaduk hingga membentuk larutan homogen dan pH diukur dengan pH

meter. Bila nilai pH lebih besar dari 4, maka ke dalam larutan ditambahkan asam asetat glasial hingga pH menjadi 4. selanjutnya larutan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit. Larutan didinginkan dan dituang kedalam 4 buah wadah plastik yang telah steril masing-masing sebanyak 50 ml secara aseptis di ruang *laminar air flow*, lalu ditambahkan 10 ml (20%) starter *A. xylinum*. Wadah plastik ditutup dengan kertas koran untuk menghindari kontaminasi debu maupun mikroorganisme lain selama inkubasi. Larutan selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 8 hari pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Setelah diinkubasi selama 8 hari, pelikel yang terbentuk dikeluarkan dari larutan, lalu dicuci dengan air mengalir selama 24 jam.

3. Perlakuan dengan larutan Na(OH) dan H₂O₂

Pelikel selulosa mikroba yang telah dihilangkan sisa asam dan gula kemudian dimurnikan dengan cara direndam dalam larutan NaOH 4% sambil dipanaskan pada suhu 90-95°C selama 1 jam. Pelikel selanjutnya dicuci dengan air mengalir sambil dilakukan pemerasan dengan kain serat (Kanebo) sebanyak 7-10 kali untuk menghilangkan sisa NaOH. Untuk mengoptimalkan penghilangan sisa NaOH sehingga diperoleh pH netral lempeng nata selanjutnya direndam dengan air mengalir selama 24 jam. Pelikel selanjutnya direndam kembali dengan larutan H₂O₂ 0,25% pada suhu 40-45°C selama 30 menit, lalu dicuci dengan akuades.

4. Penekanan pelikel selulosa mikroba

Pelikel yang telah dimurnikan dengan larutan H₂O₂ dibuat membran/film dengan ketebalan 0,03 mm menggunakan alat *hand-press*. Setelah ditekan, pelikel lalu dikeringkan pada suhu kamar.

5. Penentuan jumlah mikroba awal

Sampel membran selulosa bakteri diambil sebanyak 15 buah dengan ukuran 3x3 cm dari 3 *batch* produksi yang berbeda. (Setiap 1 *batch* produksi diambil 5 buah sampel). Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam 20 ml bacto pepton 0,1%, kemudian dikocok. Seluruh air pepton dituang ke dalam 5 buah cawan petri steril masing-masing sebanyak ± 4 ml. Masing-masing cawan petri ditambahkan media

TSA sebanyak ± 8 ml, dikocok perlahan, kemudian dibiarkan mengeras dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4-5 hari. Dilakukan pengamatan terhadap jumlah koloni yang tumbuh pada media TSA setelah diinkubasi [9].

6. Penentuan dosis verifikasi

Dosis verifikasi adalah dosis radiasi yang diestimasikan untuk menghasilkan tingkat jaminan sterilitas (*sterility assurance level*), $\text{SAL} = 10^{-2}$ dan digunakan dalam penetapan dosis sterilisasi. Dosis verifikasi ditentukan setelah jumlah kontaminasi awal diketahui dengan melihat pada Tabel 2 menggunakan $\text{SAL} = 10^{-2}$ [10,11].

7. Iradiasi berkas elektron

Sebanyak 100 sampel membran selulosa bakteri yang berasal dari 1 *batch* produksi berukuran 3×3 cm, dimasukkan ke dalam kantung plastik PE yang telah disterilkan, kemudian diiradiasi menggunakan MBE dengan energi 1,5 MeV dan arus berkas 1,5 mA pada dosis verifikasi yang telah didapatkan. Tiga buah sampel yang sama yang telah diberi dosimeter CTA film diiradiasi dengan dosis yang sama seperti di atas.

8. Uji sterilitas

Sebanyak 100 sampel dengan ukuran 3×3 cm yang telah diiradiasi pada dosis verifikasi diambil dengan menggunakan pinset steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi media TSB. Sampel diatur pada posisi berdiri dan terendam media. Media lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 hari. Adanya mikroba yang tumbuh dihitung [10].

9. Penentuan dosis sterilisasi

Setelah dosis verifikasi diterima, di mana hasil pengujian sterilitas tersebut di atas memberikan nilai positif < 2 maka dosis sterilisasi ditetapkan berdasarkan pada Tabel 2, dengan menggunakan $\text{SAL} = 10^{-6}$. Tingkat jaminan sterilitas (*sterility assurance level*), SAL adalah probabilitas suatu mikroorganisme yang masih hidup pada suatu unit produk setelah proses sterilisasi [10].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pelikel selulosa (*nata de coco*) merupakan selulosa yang dihasilkan melalui fermentasi bakteri *A. xylinum* dalam media yang mengandung air kelapa sebagai sumber nutrisi. Gambar 1, memperlihatkan pelikel selulosa yang dihasilkan oleh *A. xylinum* setelah inkubasi selama 8 hari pada suhu 30°C. Pelikel yang dihasilkan mempunyai ketebalan berkisar antara 10 – 13 mm, berwarna kecoklatan. Pencucian dengan air dan perlakuan dengan NaOH dan H₂O₂ menyebabkan pelikel menjadi bebas dari sisa bakteri *A. xylinum* dan bakteri kontaminan lainnya dan pelikel menjadi putih. Penekanan terhadap pelikel selulosa menghasilkan membran dengan ketebalan sekitar 0,03 mm.



Gambar 1. Pelikel selulosa mikroba yang dihasilkan dari fermentasi *A xylinum* dalam media yang mengandung air kelapa. A = setelah fermentasi 8 hari, B = pelikel telah dicuci dengan larutan NaOH dan H₂O₂, C = membran selulosa mikroba

Penentuan dosis sterilisasi membran selulosa dimaksudkan agar diperoleh dosis sterilisasi yang tepat sehingga membran menjadi steril dan meminimalkan kerusakan yang terjadi akibat interaksi radiasi dengan membran. Berdasarkan pada ISO seri 11137 dosis sterilisasi iradiasi berkas elektron ditentukan melalui beberapa tahapan yaitu penentuan jumlah kontaminasi awal mikroba pada membran, penentuan dosis verifikasi dan penetapan dosis sterilisasi. Jumlah kontaminasi awal mikroba pada membran terlihat pada Tabel 1. Dari tabel tersebut terlihat bahwa jumlah kontaminasi awal mikroba rata-rata tiap *batch* dari tiga *batch* membran selulosa mikroba yang digunakan berturut-turut adalah 67,4; 92,6; dan 91,0 cfu (*cell forming unit*) dan *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch* adalah 83,7 cfu.

Tabel 1. Nilai *bioburden* membran selulosa mikroba pada 3 *batch* yang berbeda

Ulangan	Jumlah mikroba (cfu*)		
	<i>Batch</i> 1	<i>Batch</i> 2	<i>Batch</i> 3
1	97	86	104
2	50	73	79
3	65	103	86
4	42	110	98
5	83	91	88
Rata-rata <i>batch</i>	67,4	92,6	91
Rata-rata keseluruhan <i>batch</i>	$(67,4 + 92,6 + 91)/3 = 83,7$		

*cfu = cell forming unit

Di dalam ISO 11137 disebutkan bahwa jika nilai *bioburden* rata-rata tiap *batch* lebih kecil dari dua kali *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch*, maka nilai rata-rata keseluruhan *batch* digunakan untuk menentukan dosis verifikasi. Dari Tabel 1 di atas, terlihat bahwa *bioburden* rata-rata *batch* 1, 2 dan 3 berturut-turut yaitu 67,4; 92,6; dan 91,0 adalah lebih kecil dari dua kali rata-rata keseluruhan *batch* ($2 \times 83,7$). Maka *bioburden* yang digunakan untuk penetapan dosis verifikasi adalah *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch*.

Sesuai ketentuan ISO 11137, bila, nilai *bioburden* rata-rata tidak terdapat di dalam Tabel 2, maka nilai *bioburden* setingkat di atasnya yang digunakan untuk menghitung dosis verifikasi. Pada Tabel 2 nilai *bioburden* 83,7 tidak ada, maka nilai *bioburden* setingkat di atasnya yaitu 88,67 digunakan untuk menentukan dosis verifikasi. Dengan menggunakan Tabel 2, pada *bioburden* 88,67 dan SAL 10^{-2} , maka dosis verifikasi adalah 7,8 kGy.

Setelah diperoleh dosis verifikasi, selanjutnya sebanyak 100 sampel membran diiradiasi dengan dosis verifikasi 7,8 kGy menggunakan mesin berkas elektron. Untuk mengetahui dosis ril atau dosis terabsorpsi (*absorbed dose*) yang diterima oleh sampel dilakukan pengukuran menggunakan dosimeter CTA film. Hasil pengukuran terhadap CTA film menunjukkan bahwa dosis terabsorpsi berkisar antara 7,6 - 8,3 kGy. Dalam ISO 11137 disebutkan bahwa dosis verifikasi dapat diterima bila dosis terabsorpsi

adalah tidak melebihi 10% dari dosis target (7,8 kGy) dan tidak boleh lebih rendah dari 90 % target dosis. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dosis terabsorpsi berada dalam batas yang diizinkan oleh ISO 11137, karena itu dosis verifikasi dapat diterima.

Tabel 2. Dosis iradiasi (kGy) yang diperlukan untuk mencapai SAL yang diinginkan pada berbagai *bioburden*

<i>Average bioburden (cfu)</i>	<i>Sterility Assurance Level</i>				
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
10.69	5.3	8.1	11.1	14.4	17.8
11.70	5.4	8.2	11.2	14.5	17.9
.....
.....
59.20	7.3	10.3	13.5	16.9	20.4
64.22	7.4	10.4	13.6	17.0	20.5
69.65	7.5	10.5	13.7	17.1	20.7
75.51	7.6	10.6	13.9	17.3	20.8
81.83	7.7	10.7	14.0	17.4	20.0
88.67	7.8	10.9	14.1	17.5	21.0
96.04	7.9	11.0	14.2	17.6	21.2
104.0	8.0	11.1	14.3	17.7	21.3
112.6	8.1	11.2	14.4	17.9	21.4
121.9	8.2	11.3	14.5	18.0	21.5
131.9	8.3	11.4	14.7	18.1	21.7
142.6	8.4	11.5	14.8	18.2	21.8
154.3	8.5	11.6	14.9	18.3	21.9
.....
.....
1099	11.1	14.4	17.8	21.4	25.1
1182	11.2	14.5	17.9	21.5	25.2
1271	11.3	14.6	18.0	21.6	25.3
1387	11.4	14.7	18.2	21.8	25.4
1470	11.5	14.8	18.3	21.9	25.5
1581	11.6	14.9	18.4	22.0	25.7
1699	11.7	15.0	18.5	22.1	25.8
1827	11.8	15.1	18.6	22.2	25.9
1963	11.9	15.2	18.7	22.3	26.0
2109	12.0	15.3	18.8	22.4	26.1

Keterangan : Tabel ini disalin dari Tabel B1. ISO 11137 dengan mengambil hanya sebagian data yang terdapat pada kisaran dosis sterilisasi.

Tabel 3. Hasil uji sterilitas terhadap 100 sampel membran selulosa mikroba setelah di iradiasi dengan dosis 7.8 kGy (dosis verifikasi)

No. Sampel	Nilai	No. Sampel	Nilai	No. Sampel	Nilai	No. Sampel	Nilai	No. Sampel	Nilai
1	0	21	0	41	0	61	0	81	0
2	0	22	0	42	0	62	0	82	0
3	0	23	0	43	0	63	0	83	0
4	0	24	0	44	0	64	0	84	0
5	0	25	0	45	0	65	0	85	0
6	0	26	0	46	0	66	0	86	0
7	0	27	0	47	0	67	0	87	0
8	0	28	0	48	0	68	0	88	0
9	0	29	0	49	0	69	0	89	0
10	0	30	0	50	0	70	0	90	0
11	0	31	0	51	0	71	0	91	0
12	0	32	0	52	0	72	0	92	0
13	0	33	0	53	0	73	0	93	0
14	0	34	0	54	0	74	0	94	0
15	0	35	0	55	0	75	0	95	0
16	0	36	0	56	0	76	0	96	0
17	0	37	0	57	0	77	0	97	0
18	0	38	0	58	0	78	0	98	0
19	0	39	0	59	0	79	0	99	0
20	0	40	0	60	+	80	0	100	0

Nilai nol (0) = membran steril (tidak tumbuh mikroba), nilai positif (+) = membran tidak steril (tumbuh mikroba)

Hasil pengujian sterilitas terhadap 100 sampel yang diiradiasi dengan dosis verifikasi ditunjukkan pada Tabel 3. Pada Tabel tersebut terlihat bahwa dari 100 sampel hanya terdapat 1 sampel yang tidak steril (tumbuh mikroba). Dalam ISO 11137 disebutkan bahwa dosis verifikasi dapat diterima bila dari 100 sampel yang diiradiasi pada dosis verifikasi, maka hanya boleh terdapat maksimum 2 sampel yang tidak steril (terdapat pertumbuhan mikroba). Pada percobaan ini hanya terdapat 1 sampel (sampel no 60) yang tidak steril maka dosis verifikasi dapat diterima dan digunakan untuk menetapkan dosis sterilisasi.

Dalam aplikasinya, membran selulosa digunakan sebagai material implan pada operasi/bedah periodontal. Suatu material yang digunakan berkontak langsung dengan cairan tubuh (darah) dan organ dalam seperti digunakan dalam operasi dipersyaratkan mempunyai tingkat jaminan sterilitas, SAL 10^{-6} . SAL 10^{-6} artinya adalah dari 1 juta produk yang disterilkan hanya dibolehkan maksimum 2 produk yang tidak steril. Membran selulosa mikroba akan digunakan berkontak langsung dengan cairan tubuh, karena itu mempunyai SAL 10^{-6} . Dari Tabel 2 didapatkan bahwa dosis sterilisasi berkas elektron untuk membran selulosa mikroba dengan SAL 10^{-6} adalah 21 kGy.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan:

1. Jumlah kontaminasi awal mikroba (*bioburden*) rata-rata tiap *batch* dari tiga *batch* membran selulosa mikroba berturut-turut adalah 67,4; 92,6; 91,0 cfu dan *bioburden* rata-rata keseluruhan *batch* adalah 83,70 cfu. Nilai *bioburden* yang digunakan untuk penentuan dosis verifikasi adalah 88,67 cfu.
2. Berdasarkan ISO 11137 menggunakan Tabel 2 maka dosis verifikasi adalah 7,8 kGy.
3. Hasil uji sterilitas terhadap 100 membran selulosa yang diiradiasi dengan dosis verifikasi, hanya satu sampel yang tidak steril dan sesuai dengan ISO 11137 maka dosis verifikasi dapat diterima.
4. Dosis sterilisasi radiasi berkas elektron membran selulosa mikroba adalah 21 kGy.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHITE, D.G. and BROWN, R.M.JR., Prospects for the commercialization of biosynthesis of microbial cellulose, In Cellulose and wood-chemistry and technology, Schuerech, C., Ed, John Wiley & sons, New York, 573 (1989).
2. LYND, R.L., WEIMWR, P.J., WILLEM H., and PRETORIUS, I.S., Microbial cellulose utilization: *Fundamental and biotechnology*, *Microbiology and Molecular Biology Review*, **66** (3), 506 (2002).

-
3. SANCHEZ, P.C. and YOSHIDA, T., Microbial cellulose Production and Utilization, Asian Network on Microbial Researches, (1998).
 4. ASTAWAN, M. and MITA, W.A. Pengolahan air kelapa sebagai nata decoco, *Teknologi pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*, **1**, 158, (1991).
 5. DARMAWAN DARWIS, Pengaruh Konsentrasi Media Pertumbuhan Bakteri *A. Xylinum* terhadap Produksi Pelikel Selulosa Mikroba (in Press).
 6. DARMAWAN DARWIS, Effect of Gamma Irradiation on Microbial Cellulose Membrane for Application in Guided Bone Regeneration (GBR), *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan radiasi*, **5** (1), (2009).
 7. GEOFFREY, Radiation Sterilization of Parenteral, disadur dari <http://pharmtech.findpharma.com> tanggal 2 September 2009.
 8. International Organization for Standardization (ISO), Sterilization of Health care products - Radiation sterilization - Substantiation of 25 kGy as a sterilization dose for small or infrequent production batches, ISO/TS 13409, first edition (2002).
 9. International Organization for Standardization (ISO), Sterilization of Medical Devices - Microbiological methods - Part 1: Estimation of population of microorganisms on products, ISO 11737- 1, first edition (1995).
 10. International Organization for Standardization (ISO), Sterilization of Health Care products - Requirements for Validation and Routine Control - radiation Sterilization, ISO 11137, first edition (1995).
 11. International Organization for Standardization (ISO), Sterilization of Medical Devices - Microbiological methods - Part 2: Test of sterility performed in the validation of a sterilization process, ISO 11737-2, first edition (1998).