

Uji Sterilitas Sediaan Steril Tetes Mata Tetrahydrozoline HCl, Benzalkonium Chloride dan Sediaan Non Steril Suspensi dengan Kandungan Aluminium hidroksida, Magnesium hidroksida, dan Simethicone

Sterility Test of Sterile Eye Drops Preparations of Tetrahydrozoline HCl, Benzalkonium Chloride and Non-Sterile Suspension Preparations with Aluminum Hydroxide, Magnesium Hydroxide, and Simethicone Content

Anisa Oktaviana Putri^{1*}), Amelia Ulmaladipa²⁾, Meira Nadira Putri¹⁾, Ahmad Fadhil¹⁾

¹Program Studi Bioteknologi, Universitas Negeri Malang, Indonesia

¹Program Studi Farmasi, Universitas Islam Malang, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: anisa.oktaviana.2203336@students.um.ac.id

Diterima: 4 Desember 2023; **Diperbaiki:** 30 Mei 2026; **Disetujui:** 17 Juni 2026

Abstrak

Sediaan steril merupakan sediaan yang memenuhi syarat bebas dari mikroorganisme. Biasanya digunakan untuk produk seperti injeksi, tetes mata dan implan medis. Sediaan steril yang digunakan berupa obat tetes mata dengan kandungan tetrahydrozoline HCl dan benzalkonium klorida. Berbeda dengan sediaan non steril, sediaan yang tidak mensyaratkan bebas mikroorganisme. Umumnya digunakan untuk produk yang tidak memerlukan kesterilan seperti tablet, kapsul, suspensi dan sebagainya. sediaan non steril yang digunakan berupa obat suspensi dengan kandungan aluminium hidroksida, magnesium hidroksida, dan simethicone. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan mikroorganisme pada sediaan steril dan non steril. Pada uji sterilitas ini media yang digunakan yaitu media *Nutrient Broth* (NB) untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan media *Tryptic Soybean Broth* (TSB) untuk pertumbuhan *Candida albicans*. Ada beberapa tahap pengujian pada uji sterilitas ini seperti uji sterilitas media, uji fertilitas, uji bakteriostatik dan fungistatik, dan uji sterilitas cara inokulasi langsung. Berdasarkan hasil pengamatan selama 14 hari inkubasi dapat disimpulkan bahwa pada uji sterilitas pada sediaan steril tidak menunjukkan pertumbuhan mikroba pada media NB dan TSB, sedangkan hasil uji sterilitas pada sediaan non steril menunjukkan pertumbuhan mikroba pada media NB dan TSB.

Kata Kunci: Uji sterilitas, Tetes mata, Suspensi, Tetrahydrozolin HCl

Abstract

Sterile preparations are preparations that meet the requirements to be free from microorganisms. It is commonly used for products such as injections, eye drops and medical implants. The sterile preparation used is eye drops containing tetrahydrozoline HCl and benzalkonium chloride. Unlike non-sterile preparations, preparations that do not require free microorganisms. Generally used for products that do not require sterility such as tablets, capsules, suspensions and so on. non-sterile preparations used in the form of suspension drugs containing aluminum hydroxide, magnesium hydroxide, and simethicone. The purpose of this

study is to determine the presence or absence of microorganism growth in sterile and non-sterile preparations. In this sterility test, the media used are Nutrient Broth (NB) media for the growth of *Bacillus subtilis* and Tryptic Soybean Broth (TSB) media for the growth of *Candida albicans*. There are several stages of testing in this sterility test such as media sterility tests, fertility tests, bacteriostatic and fungistatic tests, and sterility tests for direct inoculation. Following a 14-day incubation, results from the sterility test indicated no microbial growth in NB and TSB media for the sterile formulations, whereas microbial growth was observed in both media for the non-sterile formulations.

Keywords: Sterility test, Eyedrops, Suspension, Tetrahydrozoline HCl

Cara mengutip artikel ini (APA 6th): Putri A. O., Ulmaladipa, A., Putri, M. N., & Fadhil, A. (2026). Uji sterilitas sediaan steril tetes mata tetrahydrozoline HCl, benzalkonium chloride dan sediaan non steril suspensi dengan kandungan aluminium hidroksida, magnesium hidroksida, dan simethicone. *BIOGENIC: Jurnal Ilmiah Biologi*, 4(1), 1-17. DOI: <https://doi.org/10.36841/biogenic.v4vi1i.3822>

BIOGENIC: Jurnal Ilmiah Biologi diterbitkan oleh Program Studi Biologi Universitas Abdurachman Saleh Situbondo.

©2026 Anisa Oktaviana Putri, Amelia Ulmaladipa, Meira Nadira Putri, Ahmad Fadhil. This is an open access article under the [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

PENDAHULUAN

Pengujian sterilitas dilakukan untuk produk farmasi steril seperti infus, injeksi, tetes mata, atau alat kesehatan. Tidak adanya mikroorganisme yang berkembang biak secara aktif ketika diuji dalam media kultur tertentu menunjukkan bahwa sediaan tersebut steril. Uji sterilitas tidak dapat digunakan untuk menunjukkan sterilitas seluruh batch, tetapi dapat membantu untuk mengidentifikasi produk yang tidak steril pada suatu batch produk (Setiawati, 2021).

Uji sterilitas dapat dilakukan dengan dua macam metode, yaitu metode penyaringan membran dan metode inokulasi langsung. Metode inokulasi langsung dilakukan dengan memindahkan jumlah atau volume sampel yang telah ditentukan sebelumnya ke tabung reaksi yang berisi media kultur cair. Sampel dengan aktivitas antimikroba harus dinetralkan secara kimia karena gangguan ini dapat menyebabkan hasil negatif palsu (da Silva and Lourenco, 2020). Metode penyaringan membran menjadi pilihan untuk mengurangi resiko negatif palsu, seperti yang dinyatakan dalam *United States Pharmacopeial Convention* (2019).

Berdasarkan Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan (2020) dalam Farmakope Indonesia Edisi VI, hasil uji sterilitas inokulasi langsung yang menunjukkan adanya mikroorganisme (perubahan media menjadi keruh) menandakan bahwa produk tersebut tidak steril. Sediaan steril merupakan sediaan yang tidak boleh mengandung mikroba. Berbeda dengan sediaan steril, sediaan farmasi non steril tidak mempersyaratkan bebas mikroba hidup di dalam produk. Meskipun sediaan non steril tidak bebas mikroba hidup, jumlah mikroba yang terkandung harus diperhatikan dan ada spesies-spesies tertentu yang tidak boleh terkandung di dalam sediaan (Wibowo, 2021).

Obat tetes mata adalah salah satu contoh sediaan steril berupa larutan atau suspensi, digunakan untuk mata dengan cara meneteskan obat pada selaput lendir mata di sekitar kelopak mata dan bola mata. Tetes mata berupa larutan jernih, bebas dari zat asing, serat dan benang (Ayuchecaria, et al., 2020), sebagaimana dinyatakan oleh Sandle (2014) mengingat rute pemberiannya melalui mata langsung sehingga proses produksinya harus benar-benar steril bebas dari kontaminasi mikroba.

Salah satu bahan dalam sediaan tetes mata seperti tetrahydrozoline hydrochloride, merupakan turunan imidazoline yang sudah ditemukan sejak tahun 1950 merupakan agonis reseptor α 1-adrenergik selektif dan mekanisme kerja utamanya adalah penyempitan pembuluh darah konjungtiva. Sediaan ini berfungsi untuk meredakan kemerahan pada mata yang disebabkan oleh iritasi mata ringan. Tetrahydrozoline digunakan dalam formulasi tetes mata dan hidung (EL-Bagary, 2016; Hosten, 2020)

Tungadi (2017) menyatakan bahwa penggunaan bahan tambahan dalam larutan mata seperti surfaktan diperbolehkan, namun diberikan dalam jumlah tertentu. Benzalkonium klorida sebagai pengawet digunakan dalam jumlah besar dalam larutan dan suspensi mata komersial. Benzalkonium klorida digunakan untuk mencegah perkembangan mikroorganisme yang mungkin terdapat selama penggunaan tetes mata.

Suspensi dengan kandungan aluminium hidroksida, magnesium hidroksida, dan simethicone merk X dipasaran merupakan contoh dari sediaan farmasi non steril. Suspensi ini memiliki fungsi mengurangi gejala-gejala yang berhubungan dengan asam lambung, tukak lambung, dan gastritis. Meskipun termasuk golongan sediaan non steril, pastinya dalam proses produksi sediaan tersebut memenuhi aturan CPOB (Cara Pembuatan Obat yang Baik). Sediaan non steril disini adalah sediaan harus bebas mikroorganisme patogen (Alfiza, 2017).

Sediaan non steril harus memenuhi kriteria kemurnian mikrobiologis yang ditetapkan dalam farmakope yang berlaku. Pengendalian produk obat merupakan mekanisme preventif yang bertujuan untuk mencegah masuknya produk berbahaya ke pasar konsumen. Banyak patogen yang mempunyai kapasitas untuk memecah atau menonaktifkan zat obat. Selain itu, apabila obat-obatan diminum oleh orang-orang dengan kekebalan yang lemah, dikhawatirkan akan menyebabkan infeksi sehingga farmakope memberikan batasan pada kontaminasi mikroba (Ratajczak, et al., 2015)

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui sterilitas sediaan steril tetes mata dengan kandungan tetrahydrozoline HCL, benzalkonium klorida dan sediaan non steril suspensi dengan kandungan aluminium hidroksida, magnesium hidroksida, dan simethicone.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-November 2023. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Biomolekuler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *laminar air flow*, tabung reaksi steril, rak tabung reaksi, pipet ukur steril, mikropipet, tips 1 ml, bunsen dan autoklaf. Bahan yang digunakan yaitu tisu, alkohol, sediaan steril tetes mata tetrahydrozoline HCL dan sediaan non steril suspensi yang mengandung aluminium hidroksida,

magnesium hidroksida, dan simethicone. Pada uji sterilitas ini media yang digunakan yaitu media *Nutrient Broth* (NB) untuk pertumbuhan bakteri dan media *Tryptic Soybean Broth* (TSB) untuk pertumbuhan khamir. Isolat bakteri *Bacillus subtilis* dan jamur *Candida albicans* digunakan dalam uji fertilitas.

Prosedur Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini harus steril terlebih dahulu untuk menghindari dari kontaminasi mikroba. Sediaan semua harus terlindung dari sinar matahari secara langsung dan disimpan pada suhu kamar tidak lebih dari 30°C. Pengamatan ada atau tidaknya mikroba yang tumbuh pada media dilakukan selama 1-14 hari. Pada uji sterilitas ini ada beberapa tahap pengujian yang dilakukan seperti uji sterilitas media, uji fertilitas, uji bakteriostatik dan fungistatik, dan uji sterilitas cara inokulasi langsung.

Uji sterilitas media dilakukan untuk mengetahui apakah media yang digunakan steril atau tidak steril. Media *Nutrient Broth* (NB) dan media *Tryptic Soybean Broth* (TSB) dalam tabung reaksi dilakukan sterilisasi, diinkubasikan pada suhu 37°C untuk media NB dan 20°C untuk media TSB. Pengamatan kekeruhan media dilakukan selama 1-14 hari.

Uji fertilitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan media dalam menumbuhkan bakteri pada media NB dan TSB yang menggunakan bakteri *B. subtilis* dan jamur *C. albicans*. Bakteri *B. subtilis* diinokulasikan pada media NB dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 35-37°C, sedangkan *C. albicans* diinokulasikan pada media TSB dalam tabung reaksi serta diinkubasi pada suhu 20-25°C. Inokulasi dan pengamatan dilakukan selama 1-14 hari.

Uji bakteriostatik dan fungistatik dilakukan untuk mengetahui tingkat aktivitas bakteriostatik dan fungistatik pada suatu sediaan. Sediaan tetes mata diinokulasikan 1 ml pada media dalam tabung reaksi. Pada media NB diinokulasikan dengan bakteri *B. subtilis* dan diinkubasi pada suhu 35-37°C. Pada media TSB diinokulasikan dengan jamur *C. albicans* dan diinkubasikan pada suhu 20-25°C. Kemudian diamati apakah terjadi kekeruhan atau tidak selama 1-14 hari.

Uji sterilitas sediaan dilakukan dengan cara inokulasi sediaan tetes mata pada media dalam tabung reaksi tanpa ditambahkan mikroba. Inkubasi media NB dilakukan pada suhu 35-37°C, sedangkan media TSB pada suhu 20-25°C. Pengamatan dilakukan selama 1-14 hari. Jika menunjukkan tidak adanya kontaminasi mikroba, maka akan menegaskan sterilitas suatu sediaan. Uji sterilitas dilakukan pada sediaan steril dan non steril. Sediaan steril yang digunakan berupa obat tetes mata dengan kandungan tetrahydrozoline HCl dan benzalkonium klorida. Sedangkan sediaan non steril yang digunakan berupa obat suspensi asam lambung dengan kandungan aluminium hidroksida, magnesium hidroksida, dan simethicone.

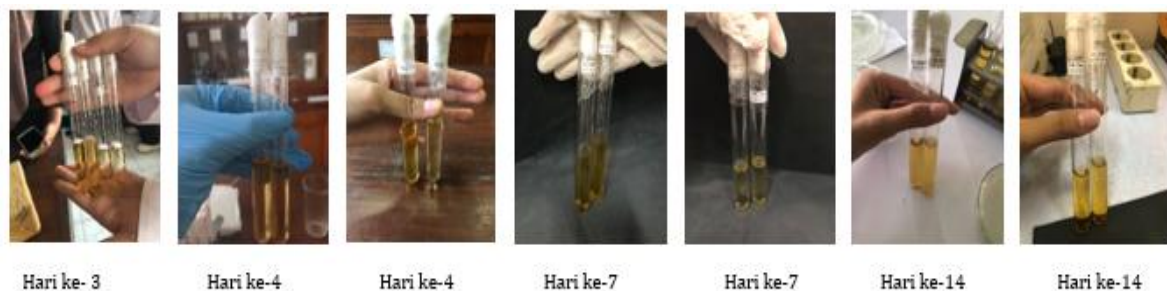
Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif kualitatif berdasarkan pengamatan visual terhadap perubahan yang terjadi pada media selama masa inkubasi (1–14 hari). Parameter utama yang diamati adalah adanya kekeruhan (turbiditas), terbentuknya endapan, atau perubahan warna media sebagai indikator pertumbuhan mikroba. Pada uji sterilitas media, data dinyatakan dalam bentuk kategori “steril” apabila media tetap jernih selama masa inkubasi, dan “tidak steril” apabila terjadi kekeruhan. Pada uji fertilitas, keberhasilan media dalam mendukung pertumbuhan mikroba ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan, yang menandakan bahwa media layak digunakan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

Pada uji bakteriostatik dan fungistatik, analisis dilakukan dengan membandingkan tingkat kekeruhan media yang mengandung sediaan uji dengan kontrol. Tidak adanya pertumbuhan mikroba (media tetap jernih) menunjukkan adanya aktivitas bakteriostatik atau fungistatik dari sediaan, sedangkan adanya kekeruhan menunjukkan bahwa sediaan tidak menghambat pertumbuhan mikroba. Sementara itu, pada uji sterilitas dengan metode inokulasi langsung, data dianalisis dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba tanpa penambahan inokulum. Sediaan dinyatakan steril apabila tidak terjadi kekeruhan selama masa inkubasi (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian uji sterilitas sediaan steril dan non steril diperoleh berdasarkan beberapa uji yang telah dilakukan antara lain uji sterilitas media, uji fertilitas, uji bakteriostatik dan fungistatik, serta uji sterilitas cara inokulasi langsung. Hasil yang diperoleh berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan selama 14 hari inkubasi. Hasil disajikan pada Tabel 1-4.



Gambar 1. Hasil pengamatan uji sterilitas pada media NB dan TSB

Media atau sediaan dikatakan memenuhi syarat sterilitas jika pada media tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme dalam waktu 1-14 hari inkubasi. Berdasarkan hasil uji sterilitas yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa kedua media NB(1) dan NB(2) setelah dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diinkubasi dan diamati selama 1-14 hari media tetap jernih (media steril bebas kontaminan). Hasil uji sterilitas media tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Artinya, media tersebut steril dan dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya. Sedangkan media TSB setelah beberapa hari setelah inkubasi media tersebut tetap jernih tetapi pada saat hari ketujuh terjadi kekeruhan pada media TSB(1).

Tabel 1. Hasil pengamatan uji sterilitas media NB dan TSB

Jenis media	Hari ke-													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
TSB (1)	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
TSB (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Keterangan: (+) = ada pertumbuhan mikroba; (-) = tidak ada pertumbuhan mikroba

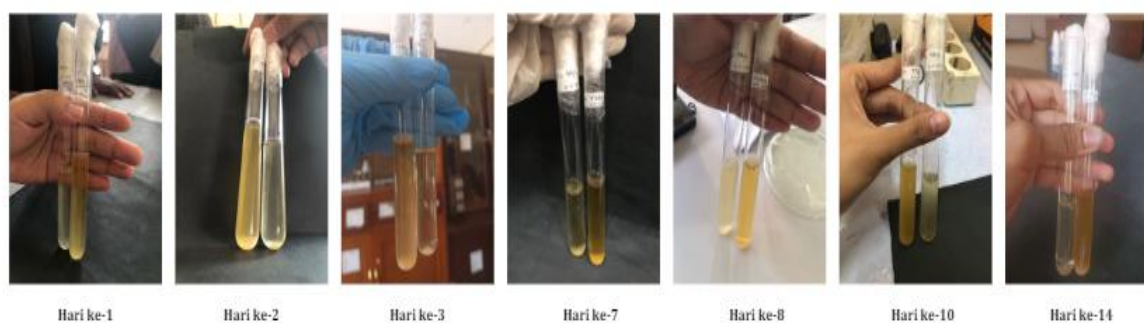
Hasil keruh pada salah satu media ini menunjukkan ada beberapa faktor yang menyebabkan media terkontaminasi mikroorganismenya seperti terjadi kesalahan saat pembuatan media, teknik bekerja yang kurang aseptis, alat yang digunakan tidak steril, masa penyimpanan, serta faktor lain seperti mikroba yang tidak sengaja terbawa pada benda-benda sekitar tempat kerja menyebabkan terjadi kontaminasi pada media saat pengujian. Pada media TSB(2) tidak menunjukkan adanya kekeruhan selama pengamatan dari hari pertama sampai hari keempat belas yang berarti media yang digunakan tetap steril.

Tabel 2. Hasil pengamatan uji fertilitas

Jenis media	Hari ke-													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
TSB+ <i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+ <i>B. Subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*Keterangan: (+) = ada pertumbuhan mikroba; (-) = tidak ada pertumbuhan mikroba

Uji fertilitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan media NB dapat menumbuhkan bakteri *B. subtilis* dan media TSB dapat menumbuhkan jamur *C. albicans*. Suatu media dapat dikatakan memenuhi uji syarat uji fertilitas apabila terdapat hasil keruh pada media tersebut (Widyasari, E. et al, 2016). Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan selama 14 hari pada Tabel 3, didapatkan hasil bahwa kedua media dapat menumbuhkan mikroba baik bakteri *B. subtilis* maupun jamur *C. albicans*. Adanya aktivitas pertumbuhan bakteri dan jamur diketahui berdasarkan dari timbulnya kekeruhan yang nyata pada media yang telah diberi biakan bakteri *B. subtilis* dan jamur *C. albicans*.



Gambar 2. Hasil pengamatan uji fertilitas pada media NB dan TSB

Hasil kekeruhan pada media mulai terdeteksi pada pengamatan hari ke-1. Kekeruhan yang timbul menandakan bahwa bakteri mampu tumbuh dan berkembang pada media NB dan TSB. Pertumbuhan bakteri dan jamur pada media NB dan TSB menunjukkan bahwa media memiliki nutrisi yang dapat menunjang pertumbuhan suatu mikroba. *Nutrient broth* (NB) termasuk media dengan sumber karbon dan nitrogen yang utama sehingga mampu menutrisi bakteri untuk dapat tumbuh pada media tersebut. Selain pada media NB yang dapat menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis*, pada media TSB juga mengandung berbagai nutrisi dan mineral sehingga dapat menunjang pertumbuhan dari jamur *Candida albicans* yang telah diinokulasikan pada media. Dimana pada media TSB kaldu triptik mampu mendukung pertumbuhan bakteri dengan masa inkubasi yang tepat.

Bakteri dan jamur yang tumbuh pada media pada awalnya tumbuh pada bagian dasar media. Pertambahan masa waktu inkubasi membuat jumlah mikroba yang tumbuh semakin banyak dan lebat. Kekeruhan yang terlihat semakin hari semakin jelas dan nyata. Mikroba mampu tumbuh dan berkembang dengan baik pada media NB dan TSB yang digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba.

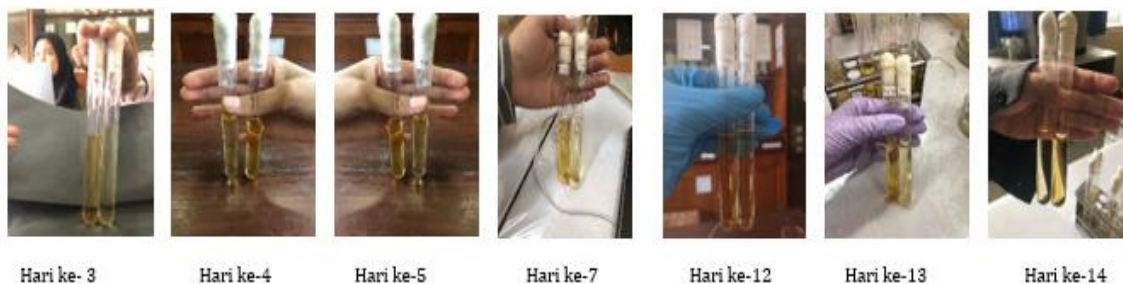
Tabel 3. Hasil pengamatan uji bakteriostatik dan fungistatik sediaan steril

Jenis media	Hari ke-													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
TSB + <i>C. albicans</i> + Tetrahydrozoline HCL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB + <i>B. subtilis</i> + Tetrahydrozoline HCL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Keterangan: (+) = ada pertumbuhan mikroba; (-) = tidak ada pertumbuhan mikroba

Pada uji bakteriostatik dan fungistatik suatu antimikroba bersifat bakteriostatik dan fungistatik jika suatu senyawa antimikroba mampu menghambat pertumbuhan mikroba (Sjafaraenan et al., 2021). Pada kandungan sediaan Tetrahydrozoline HCl terdapat kandungan zat Benzalkonium klorida yang mana zat tersebut merupakan bahan kimia dengan aplikasi luas karena sifat antimikroba spektrum luasnya terhadap bakteri, jamur, dan virus (Andriyanto et al., 2023). Adanya kandungan tersebut pada sediaan memiliki kemampuan untuk

menghambat mikroba hal ini dapat dilihat pada media yang diinokulasi sehingga pada sediaan timbul zona bening pada media nutrient broth (NB) dan tryptic soybean broth (TSB) disekitar media yang menandakan bahwa media tersebut memiliki sifat bakteriostatik dan fungistatik.



Gambar 3. Hasil pengamatan uji bakteriostatik dan fungistatik

Uji bakteriostatik dan fungistatik ini dapat mengevaluasi kemampuan sediaan steril yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Berdasarkan hasil pengamatan uji bakteriostatik dan fungistatik selama 1-14 hari pada media NB pada bakteri *B. subtilis* dan TSB pada jamur *C. albicans* kedua media tersebut tetap jernih, Artinya media tersebut tidak terkontaminasi mikroorganisme yang menyebabkan sediaan tersebut tetap jernih.

Tabel 4. Hasil pengamatan uji sterilitas pada sediaan steril dan non steril

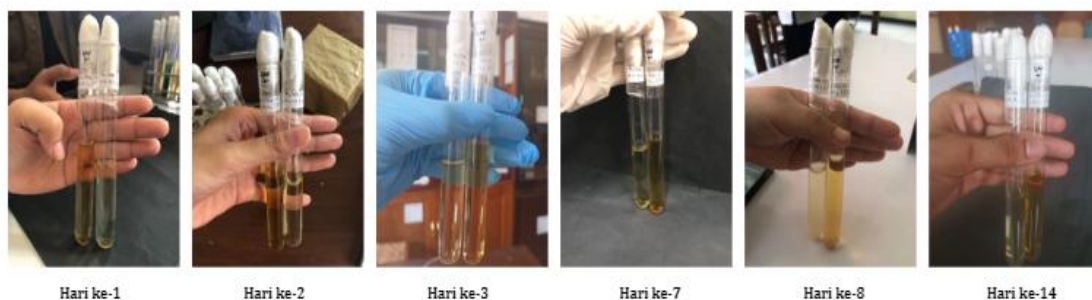
Jenis media	Hari ke-													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
TSB + sediaan steril	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NB + sediaan steril	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSB + sediaan non steril	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
NB + sediaan non steril	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

*Keterangan: (+) = ada pertumbuhan mikroba; (-) = tidak ada pertumbuhan mikroba

Pengujian sterilitas selain melalui tahapan beberapa uji yang telah dilakukan seperti uji fertilitas dan uji sterilitas media juga dapat melalui pengujian secara langsung dengan menginokulasikan sampel pada media. Pengujian sterilisasi sediaan dilakukan secara langsung pada media NB dan TSB. Pada uji sterilitas dengan inokulasi secara langsung pada dasarnya juga untuk menguji adanya aktivitas bakteriostatik dan fungistatik dari sediaan sampel uji secara langsung.

Hasil absah yang menunjukkan bahwa sediaan termasuk steril apabila pada media yang telah diinokulasikan dengan sampel sediaan steril tidak tampak adanya suatu kekeruhan yang menandakan sebagai ciri khas dari aktivitas pertumbuhan dari mikroba.

Uji sterilitas secara langsung dilakukan dengan menguji sampel berupa sediaan steril dan non steril. Hasil pengamatan uji sterilitas sediaan sampel secara langsung disajikan pada Tabel 4. Sampel sediaan steril yang diuji memiliki kandungan utama tetrahydrozoline HCl 0,05% dan benzalkonium klorida 0,1%. Sedangkan sediaan non steril yang diuji sterilitasnya memiliki kandungan 200 mg aluminium hidroksida, 200 mg magnesium hidroksida, dan 20 mg simethicone. Sampel yang diinokulasikan secara langsung pada media pertumbuhan NB dan TSB dengan masa inkubasi selama 14 hari suhu 37°C.



Gambar 4. Hasil pengamatan sediaan steril pada media NB dan TSB

Pada media yang berisi sampel sediaan steril tidak ditemukan adanya kekeruhan pada media sehingga media tetap terlihat jernih. Kejernihan tampak pada media NB dan TSB yang telah diberi sediaan steril. Hal ini terjadi karena adanya kandungan bahan aktif tambahan pada sampel sediaan steril berupa benzalkonium klorida yang merupakan suatu zat yang memiliki kemampuan berupa daya hambat pertumbuhan suatu bakteri mikroba (Juniarto, 2018).

Bahan aktif benzalkonium klorida mampu bersifat antimikroba dengan spektrum luas terhadap mikroba baik bakteri, jamur, maupun virus (Karisma et al., 2021). Benzalkonium klorida termasuk pada senyawa bermuatan positif yang mampu menginduksi kematian bakteri dengan menarik ke membran bakteri yang

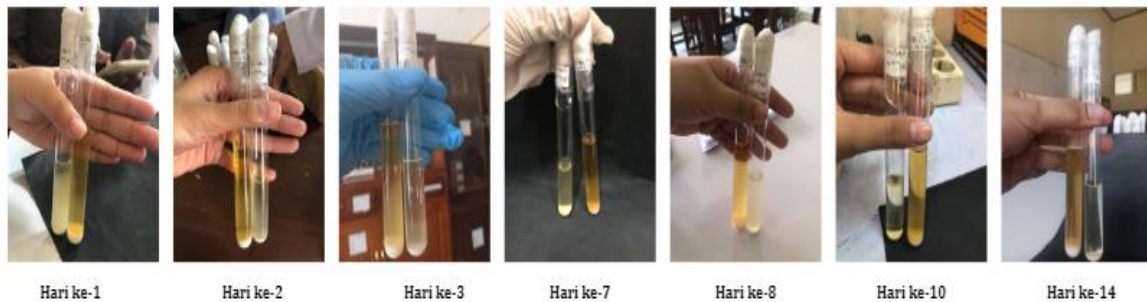
memiliki muatan negatif sebagai mekanisme kerjanya (Nareswari, 2022). Selain itu senyawa ini juga bekerja secara aktif pada permukaan sel bakteri dengan merusak fosfolipid bilayer sel kemudian masuk pada sel. Penambahan benzalkonium klorida pada kandungan sediaan steril tetes mata ini termasuk sebagai pengawet yang mampu menjadi agen antimikroba guna mengontrol pertumbuhan hidup suatu mikroba yang memungkinkan tumbuh atau mengkontaminasi sediaan steril tetes mata pada saat proses pembuatan.

Selain adanya senyawa tambahan benzalkonium klorida sebagai pengawet, sediaan steril obat tetes mata yang digunakan memiliki kandungan bahan aktif utama tetrahydrozoline HCl sebagai pereda mata merah karena akibat infeksi ringan serta membantu menghambat pertumbuhan bakteri. Sediaan obat tetes mata tetrahydrozoline HCl diformulasikan secara steril karena berhubungan langsung dengan bagian tubuh yang rentan seperti halnya bagian mata. Oleh karena itu sediaan obat tetes mata ini dibuat secara steril dan setelah melalui uji sterilitas dengan inokulasi sampel pada media secara langsung tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri atau jamur yang ditandai dengan keruh pada media. Hal ini menunjukkan bahwa obat tetes mata tetrahydrozoline HCl yang digunakan sebagai sampel termasuk sediaan steril yang memiliki sifat antimikroba.

Uji sterilitas dengan inokulasi langsung juga dilakukan untuk menguji sampel sediaan non steril. Sampel yang digunakan berupa obat suspensi asam lambung dengan kandungan 200 mg aluminium hidroksida, 200 mg magnesium hidroksida, dan 20 mg simethicone. Sampel diuji sterilitasnya dengan menginokulasikan langsung pada media pertumbuhan NB dan TSB. Berdasarkan data pengamatan didapatkan hasil bahwa pada sampel sediaan non steril terdapat kekeruhan pada media.

Media yang berisi sediaan non steril berupa suspensi obat asam lambung dari awal inokulasi sudah sedikit keruh karena bentuk suspensi yang putih susu bercampur pada media NB dan TSB. Suspensi yang diinokulasikan mengendap pada bagian bawah tabung reaksi. Pada masa inkubasi hingga hari ke-3 sampel sediaan

mengendap dibawah namun keruh yang terlihat masih berupa keruh dari campuran suspensi dengan media. Hal ini menimbulkan dugaan berupa positif palsu karena warna yang terlihat hampir serupa dengan pertumbuhan mikroba.



Gambar 5. Hasil pengamatan sediaan Non Steril pada media NB dan TSB

Adanya aktivitas pertumbuhan mikroba pada sampel sediaan non steril ini terlihat jelas pada pengamatan hari ke-7 dengan timbulnya bercak putih di bagian atas endapan hingga permukaan media bagian atas. Bakteri dan jamur yang tumbuh dari inkubasi suspensi ini terlihat lebih jelas pada media TSB dimana dari pengujian sterilitas media pada Tabel 1. Hasil menunjukkan bahwa pada media TSB terjadi pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan kekeruhan pada hari ke-7 yang mengindikasikan bahwa media TSB yang dibuat memiliki kualitas yang kurang baik. Sedangkan aktivitas pertumbuhan mikroba pada sampel sediaan non steril mulai terlihat pada hari ke-8 namun bakteri yang tumbuh tidak sebanyak pada media TSB yang ditumbuhi jamur.

Bercak putih keruh pada media menandakan bahwa ada aktivitas pertumbuhan mikroba di dalamnya. Hal ini dapat terjadi karena pada sampel sediaan non steril tidak memiliki kandungan atau bahan yang bersifat antimikroba sehingga tidak ada zat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur dan apabila sampel diinokulasikan pada media yang memiliki nutrisi dan diinkubasi dengan waktu tertentu dapat menyebabkan aktivitas pertumbuhan bakteri dan jamur karena ternutrisi pada media tersebut.

Sterilisasi secara langsung merupakan metode yang cepat dalam menentukan suatu sampel termasuk steril atau non steril, namun pada sediaan

tertentu seperti halnya suspensi yang memiliki warna putih dapat memberikan suatu dugaan efek positif palsu akibat kesamaan warna yang ada. Kepekatan warna putih yang berasal dari suspensi menjadi faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengamatan yang dilakukan sehingga pada uji ini kurang valid dilakukan apabila untuk menentukan sterilitas suatu sediaan.

KESIMPULAN

Pada uji fertilitas menunjukkan kedua media mampu menumbuhkan *B. subtilis* dan *C. albicans*. Selain itu, uji bakteriostatik dan fungistatik menunjukkan terbentuknya zona hambat setelah penambahan tetrahydrozoline HCl, yang menandakan adanya aktivitas bakteriostatik dan fungistatik. Hasil uji sterilitas pada sediaan steril tidak menunjukkan pertumbuhan mikroba pada media NB dan TSB. Sedangkan hasil uji sterilitas pada sediaan non steril menunjukkan pertumbuhan mikroba pada media NB dan TSB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada berbagai pihak yang membantu terutama disampaikan kepada kepala laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Negeri Malang yang telah memberi izin dan fasilitas penggunaan laboratorium dan dosen pengampu mata kuliah Mikrobiologi Farmasi selaku pembimbing selama penelitian.

KONTRIBUSI PENULIS

Seluruh penulis berkontribusi secara signifikan terhadap penelitian ini. Penulis pertama sampai keempat berkontribusi dalam pengumpulan data, validasi data, analisis data dan melakukan peninjauan terhadap isi manuskrip serta penyempurnaan aspek kebahasaan dan substansi ilmiah.

PERNYATAAN PENGGUNAAN AI

Penulis menyatakan bahwa teknologi kecerdasan buatan (Artificial Intelligence/AI) digunakan secara terbatas dalam proses penulisan manuskrip ini, khususnya untuk membantu perbaikan tata bahasa, kejelasan kalimat, dan

penyuntingan bahasa. Seluruh ide, analisis, interpretasi data, dan kesimpulan dalam artikel ini sepenuhnya merupakan hasil pemikiran penulis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian dan publikasi artikel ini.

REFERENSI

- Alfiza, I. S. (2017). Kualitas Mikrobiologi sediaan parasetamol sirup yang beredar di apotek di wilayah Kabupaten Purbalingga. Doctoral Dissertation, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Andriyanto, A., Irfanto, R. D., & Yulianto, H. D. K. (2023). Uji komparasi desinfektan septakan, terralin, dan alkohol 70% terhadap daya sterilisasi permukaan kursi dental. *Jurnal Teknosains*, 12(2), 199-207.
- Anggraini, R., Suriawati, J., Rachmawati, S. R., & Adriana, Y. (2021). sterility test of syringes as a pharmaceutical preparation that obtained from Pasar Pramuka. *Sanitas: Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*, 12(2), 186-198.
- Ayuchecaria, N., Nurzaqia, S., & Ahdy, N. F. (2020). Perbedaan tingkat pengetahuan pasien sebelum dan sesudah pemberian leaflet tentang cara penggunaan dan penyimpanan obat tetes mata di Apotek Perintis Kuripan Banjarmasin. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3(2), 369-376.
- Cai, Z. H., Yan, J. W., Lu, M. F., Yang, N., Wu, Q. P., & Li, Y. C. (2014). Comparative study on sterility testing of pharmaceuticals with TSB and MM medium. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 34(10), 1847-1852.
- Da Silva, S. B., & Lourenco, F. R. (2020). Risk of false compliance/non-compliance decisions for sterility test due to false-negative and false-positive test results. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 200, 104005.
- Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan. (2020). Farmakope Indonesia Edisi VI. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- El-Bagary, R. I., Fouad, M. A., El-Shal, M. A., & Tolba, E. H. (2016). Stability-indicating RP-HPLC methods for the determination of fluorometholone in its mixtures with sodium cromoglycate and tetrahydrozoline hydrochloride. *Journal of Chromatographic Science*, 54(6), 923-933.

- Hosten, L. O., & Snyder, C. (2020). Over-the-counter ocular decongestants in the united states—mechanisms of action and clinical utility for management of ocular redness. *Clinical Optometry*, 95-105.
- Juniarto, A. D. (2018). Pengaruh penggunaan benzalkonium klorida untuk meningkatkan kualitas susu sapi. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 3(1).
- Karisma, A. D., Altway, S., Ningrum, E. O., Puspita, N. F., Zuchrillah, D. R., Hamzah, A., & Triastuti, W. E. (2021). Sosialisasi pemanfaatan desinfektan sebagai tindakan preventif infeksi Covid-19 di lingkungan tempat tinggal. *Sewagati*, 5(2), 150-155.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Nareswari, T. L. (2022). *Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat Oral*. ITERA Press.
- Ratajczak, M., Kubicka, M. M., Kamińska, D., Sawicka, P., & Długaszewska, J. (2015). Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3), 303-307.
- Sandle, T. (2014). Sterile ophthalmic preparations and contamination control. *J. Gxp Compliance*, 18, 1-5.
- Setiawati, H., & Lukita, B. L. (2021). Review: uji sterilitas dan regionalisasi laboratorium sterilitas Badan POM. *Eruditio: Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 2(1), 36-46.
- Sjafaraenan, S., Johannes, E., & Tuwo, M. (2021). Efektivitas senyawa asam heksadekanoat dan β -sitosterol isolat dari hydroid *Aglaophenia cupressina* (Lamoureaux) sebagai bahan antimikroba pada bakteri *Salmonella thypi* dan jamur *Aspergillus flavus*. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 6(1), 99-106.
- Tungadi. (2017). *Teknologi Sediaan Steril*. Jakarta: Cetakan Pertama. Edisi Pertama. Hal: 137.
- United States Pharmacopeial Convention. (2019). Usp 42 Nf 37 Online: Sterility Testing.
- Wardani, K. A., Sakati, S. N., Sulami, N., Syahrir, M., & Kanan, M. (2022). *Teori Mikrobiologi*. Yayasan Penerbit Muhammad Zaini.

Wibowo, S. M., (2021). *Peran mikrobiologi farmasi dalam pengawasan mutu dan pengembangan produk farmasi di Indonesia*. Bandung: Forum Guru Besar Itb, 2021

Widyasari, E. M., Sriyani, M. E., Halimah, I., Wongso, H., Wibawa, T. H. A., Iswahyudi, I., & Sidik, A. (2016). Evaluasi aspek farmasetik dan aktivitas antibakteri secara in-vitro kit diagnostik 99MTC-Kanamycin. *Ganendra Majalah Iptek Nuklir*, 18(1), 1-9.