

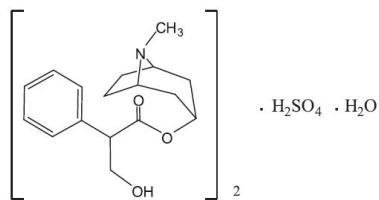
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Atropin Sulfat

2.1.1 Definisi dan Struktur Kimia

Atropin sulfat berupa garam sulfat dari atropin dimana merupakan alkaloid dari tanaman genus *Atropa* dan *Hyoscyamus*. Atropin adalah antagonis reseptor muskarinik atau antikolinergik yang digunakan dalam berbagai praktis medis, termasuk sebagai obat untuk mengatasi miopia, bradikardia, antispasmodik, dan untuk mengurangi sekresi saluran pernapasan sebelum anestesi. Atropin sulfat sering digunakan dalam bentuk sediaan injeksi dan tetes mata untuk menginduksi dilatasi pupil (midriasis) dan mengurangi spasme otot polos (Katyal & Sharma, 2016).



Gambar 2. 1 Struktur Atropin Sulfat

Pemerian : Berbentuk hablur tak berwarna atau serbuk hablur putih; tidak bau; mengembang di udara kering; perlahan-lahan terdegradasi oleh cahaya.

Kelarutan : Sangat larut dalam air; mudah larut dalam gliserin.

Titik leleh: 195°C

Dosis lazim: 100 mg

Daftar obat: Keras sediaan tetes mata

pH: 3,5-6,0

pKa: 9,9

(Farmakope Indonesia VI, 2020).

2.1.2 Mekanisme Kerja

Sebagai agen antimuskarinik non-selektif, atropin berfungsi sebagai antikolinergik dengan memblokir reseptor muskarinik M1, M3, dan M4 pada sklera, serta meningkatkan sintesis dopamin oleh sel amakrin retina. Atropin mempunyai efektivitas pada mata untuk mengurangi tonus otot yang berkontribusi pada kontraksi pupil dan mengurangi sekresi air mata yang dapat berguna dalam prosedur diagnostik (Tanjung *et al.*, 2024). Sebagai antagonis asetilkolin yang bersifat non-selektif, Atropin menstimulasi kerja nodus sinoatrial (NSA) dan mempercepat transmisi impuls di nodus atrioventrikular (NAV) jantung. Mekanisme ini terjadi melalui penghambatan saraf vagus, pengikatan reseptor asetilkolin, serta penurunan sekresi di saluran pernapasan. Efek pada pupil berkaitan dengan aktivasi reseptor kolin, sehingga terjadi midriasis (pelebaran pupil) serta peningkatan dilatasi simpatik, disertai penurunan kontraksi otot siliaris serta menyebabkan paralisis otot siliaris atau sikloplegia (Al, 2018).

2.1.3 Indikasi Penggunaan

Atropin digunakan untuk menangani efek antivagal, keracunan organofosfat, bradikardia, iritis, maupun uveitis, serta sebagai agen parasimpatolitik yang memicu midriasis dan sikloplegia (McLendon K, 2023). Tetes mata atropin berperan sebagai agen parasimpatolitik yang diindikasikan untuk melebarkan pupil (midriasis) dan melumpuhkan akomodasi mata (sikloplegia), terutama pada pemeriksaan oftalmologis, pengobatan iritis dan uveitis, atau saat prosedur diagnostik mata diperlukan. Atropin tetes mata juga digunakan untuk menghambat progresivitas miopia pada anak-anak (Eze *et al.*, 2022).

2.1.4 Efek Samping

Atropin sulfat menimbulkan efek samping yang berhubungan dengan aktivitas antimuskarinik, termasuk penglihatan buram, fotofobia (terutama pada penggunaan tetes mata), mulut kering (xerostomia), takikardia, kulit memerah, dan terasa panas. Pada kasus yang jarang, dapat terjadi delirium atau koma. Reaksi hipersensitivitas mungkin muncul, sebagai ruam kulit yang bisa berkembang hingga terjadi pengelupasan (Wu *et al.*, 2019).

2.1.5 Toksisitas

Overdosis dapat menyebabkan peningkatan efek samping antimuskarinik berupa pupil yang melebar, kulit yang panas dan kering, takikardia, tremor, ataksia, delirium, dan koma. Pada toksisitas yang ekstrem menyebabkan peredaran darah disebabkan kegagalan pernapasan dapat terjadi setelah kelumpuhan dan koma. Dosis ± 10 mg dapat berakibat fatal pada anak-anak sementara tidak ada dosis mematikan untuk orang dewasa yang diketahui. Pengobatan overdosis meliputi barbiturat atau diazepam kerja pendek sesuai kebutuhan untuk kejang atau kegembiraan. Hindari pemberian dosis untuk sedasi karena dapat menyebabkan penurunan pernapasan. Physostigmine berguna sebagai penangkal untuk mengobati delirium dan koma. Dosis berulang mungkin diperlukan karena physostigmine memiliki waktu paruh yang lebih pendek. Pantau upaya pernapasan dan suplemen, jika perlu (Krzyzak *et al.*, 2018).

2.2. Obat Tetes Mata

Sediaan tetes mata merupakan larutan atau suspensi steril dengan meneteskan langsung ke permukaan mata. Obat mata sendiri harus steril yang bebas dari partikel asing, dibuat dan dikemas sedemikian rupa sehingga aman dan sesuai untuk penggunaan pada mata (Farmakope Indonesia VI, 2020). Obat tetes mata umumnya mengandung zat aktif yang berfungsi sebagai antibiotik, antiinflamasi, pelumas, atau antihistamin sesuai indikasinya (Dubald *et al.*, 2018).

2.3. Formulasi dalam Obat Tetes Mata

Zat aktif pada obat tetes mata harus cukup larut dalam air atau menggunakan sistem penghantaran tertentu agar dapat melintasi kornea atau konjungtiva. Pemilihan zat aktif dalam formulasi obat tetes mata harus mempertimbangkan kelarutan, stabilitas, sterilitas, dan bioavailabilitas. Penetrasi obat menjadi tantangan utama karena kornea memiliki lapisan hidrofobik (epitelium) dan hidrofilik (stroma) yang sulit ditembus (Abdassah *et al.*, 2015).

Air murni sering menjadi pelarut utama dalam obat tetes mata. Pelarut tambahan atau kosolven seperti propilen glikol digunakan untuk meningkatkan kelarutan zat aktif. Sistem penghantaran terbaru, seperti nanopartikel, emulsi, dan hidrogel, dikembangkan untuk memperpanjang waktu kontak obat di permukaan mata dan meningkatkan absorpsi (Yuniarsih *et al.*, 2023).

Obat tetes mata harus memiliki pH yang mendekati fisiologis mata (pH 5,5-7,4) untuk menghindari iritasi, buffer yang umum digunakan adalah asam borat, fosfat buffer, dan sitrat buffer (Rahmawati *et al.*, 2025). Osmolaritas formulasi perlu disesuaikan agar isotonik dengan cairan air mata, jika tidak sesuai dapat menyebabkan ketidaknyamanan dan merangsang air mata, sehingga mengurangi waktu tinggal obat di mata. Benzalkonium klorida, methylparaben, dan chlorobutanol sering ditambahkan dalam produk multidosis untuk mencegah kontaminasi mikroba. Namun, penggunaan pengawet juga berpotensi menimbulkan iritasi mata (Abdassah *et al.*, 2015).

Penstabil seperti EDTA digunakan untuk mencegah degradasi zat aktif, sementara agen pembasah, seperti polietilen glikol atau povidon, ditambahkan untuk meningkatkan viskositas larutan. Agen pembasah membantu memperpanjang waktu kontak obat di mata, sehingga meningkatkan penyerapan obat (Warya & Wijayanti, 2019).

2.4. Uji Sterilitas Obat Tetes Mata

Uji sterilitas merupakan salah satu uji kritis dalam proses pengendalian mutu produk farmasi, terutama untuk sediaan steril seperti obat tetes mata di mana bebas dari mikroorganisme hidup, baik bakteri maupun jamur. Obat tetes mata yang tidak steril dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganisme, yang berisiko menyebabkan infeksi serius seperti keratitis mikroba atau endophthalmitis hingga kebutaan (Abu Shaqra *et al.*, 2020).

Uji sterilitas dilakukan untuk memastikan bahwa suatu produk benar-benar steril atau telah disterilisasi, yang ditunjukkan dengan tidak ditemukannya kontaminasi mikroba pada sampel di bawah kondisi pengujian. Dalam proses ini, metode sterilisasi atau prosedur aseptik yang digunakan harus divalidasi. Uji ini mencakup bahan, sediaan, serta peralatan yang memang harus dalam keadaan steril (Farmakope Indonesia VI, 2020).

Uji ini wajib dilakukan sesuai dengan standar badan regulasi seperti Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan Farmakope Indonesia atau *United States Pharmacopeia* (USP). Menurut Peraturan CPOB (Cara Pembuatan Obat yang Baik) poin 131 dan 132 Tahun 2024, menyatakan bahwa ketentuan dalam uji sterilitas adalah; (131) Setiap radiofarmaka untuk penggunaan parenteral wajib steril. Walaupun sifat radioaktif produk kadang membuat hasil uji sterilitas tidak dapat ditunggu sebelum pemakaian, pengujian ini tetap merupakan elemen penting dalam pengawasan mutu produksi. Proses produksi juga harus divalidasi secara rutin. (132) Pelaksanaan uji sterilitas harus sesuai dengan metode yang diatur dalam Farmakope Indonesia atau farmakope internasional yang disetujui oleh otoritas terkait.

Pengujian sterilitas harus dilakukan dengan mempertimbangkan faktor-faktor seperti ukuran batch, metode sterilisasi, media dan jenis produk. Prosedur ini melibatkan teknik aseptik yang ketat untuk menghindari kontaminasi selama pengujian. Mikroorganisme yang

terdeteksi dalam uji sterilitas dapat menunjukkan kegagalan proses sterilisasi atau kontaminasi selama produksi atau penyimpanan (Chantra *et al.*, 2022).

2.5. Metode Uji Sterilitas

Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI (2020), ada dua metode utama untuk uji sterilitas yaitu inokulasi langsung pada media dan filtrasi membran.

2.5.1 Metode Inokulasi Langsung

Pada metode ini, sejumlah volume dari produk diuji dan diinokulasi langsung ke dalam media kultur yang sesuai. Jika terjadi pertumbuhan mikroba, maka produk tersebut dianggap tidak steril. Sampel diinkubasi terhadap suhu 35°C untuk bakteri dan 25°C untuk jamur selama minimal 14 hari. Hal ini penting untuk mendeteksi mikroorganisme yang mungkin memerlukan waktu lebih lama untuk tumbuh (Farmakope Indonesia VI, 2020).

2.5.2 Metode Filtrasi Membran

Dalam metode ini, melibatkan penyaringan sampel melalui membran dengan pori-pori berukuran 0,45 µm atau lebih kecil yang dapat menahan partikel mikroba. Setelah filtrasi, membran ditempatkan dalam media pertumbuhan untuk mengamati adanya pertumbuhan mikroba (Farmakope Indonesia VI, 2020).

2.6 Media Uji Sterilitas

Media pertumbuhan mikroba yang umum digunakan dalam uji sterilitas adalah *Fluid Thioglycollate Medium* (FTM) untuk bakteri aerob dan anaerob, serta *Soybean Casein Digest Medium* (SCDM) untuk jamur dan bakteri aerob (Farmakope Indonesia VI, 2020). Kedua media ini harus divalidasi terlebih dahulu untuk memastikan kemampuannya mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Validasi media pertumbuhan merupakan langkah penting dalam uji sterilitas untuk memastikan bahwa media tersebut

dapat mendeteksi keberadaan mikroorganisme secara efektif. Selain itu, kondisi inkubasi juga harus dikontrol dengan ketat, yaitu pada suhu 35°C untuk bakteri dan 25°C untuk jamur selama 14 hari (Farmakope Indonesia Edisi VI, 2020).

2.7 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Uji Sterilitas

Hasil uji sterilitas bisa dipengaruhi dengan berbagai faktor, seperti bahan baku, lingkungan produksi, proses sterilisasi, metode dan media uji yang digunakan, hingga penyimpanan produk setelah produksi. Analisis mendalam terhadap faktor-faktor ini sangat penting untuk memastikan keandalan hasil uji sterilitas dan menjaga kualitas obat tetes mata yang beredar di pasaran (Fitri *et al.*, 2025).

2.7.1 Proses Sterilisasi

Beberapa metode sterilisasi yang sering dipakai antara lain sebagai berikut:

a. Sterilisasi Panas Basah (Autoklaf)

Menggunakan uap panas bertekanan tinggi untuk membunuh mikroorganisme. Metode ini efektif untuk bahan yang tahan panas tetapi kurang tepat digunakan pada komponen yang sensitif suhu tinggi (Suriawati *et al.*, 2021).

b. Sterilisasi Penyaringan (Filtrasi Membran)

Metode yang sering digunakan untuk larutan obat tetes mata yang tidak tahan panas. Filtrasi membran 0,22 mikron dapat menangkap mikroorganisme tanpa merusak formulasi (Suriawati *et al.*, 2021).

c. Sterilisasi Radiasi (Gamma atau UV)

Sterilisasi yang digunakan untuk bahan kemas dan produk yang tidak dapat disterilasi dengan panas atau filtrasi. Radiasi gamma dapat membunuh bakteri dan spora, tetapi dosis yang tidak tepat dapat menyebabkan degradasi produk (Suriawati *et al.*, 2021).

2.7.2 Teknik Aseptik Selama Pengujian

Teknik aseptik adalah salah satu faktor utama yang memengaruhi keberhasilan uji sterilitas. kontaminasi silang selama pengujian dapat menyebabkan hasil positif palsu, yang mengindikasikan adanya mikroorganisme padahal sebenarnya produk steril. Kontaminasi ini sering terjadi karena kurangnya kepatuhan terhadap protokol aseptik, seperti penggunaan sarung tangan yang tidak steril atau lingkungan laboratorium yang tidak memenuhi standar. Untuk mengurangi risiko kontaminasi silang, pengujian harus dilakukan di *cleanroom* atau *laminar air flow cabinet* dengan tingkat partikel udara yang dikontrol. Selain itu, penguji harus menjalani pelatihan intensif untuk memastikan teknik aseptik yang tepat diterapkan selama pengujian (Chantra *et al.*, 2022).

2.7.3 Pengaruh Bahan Aktif dan Kualitas Bahan Baku

Bahan aktif dalam obat tetes mata dapat memengaruhi hasil uji sterilitas, terutama jika bahan tersebut bersifat antimikroba. Seperti benzalkonium klorida, yang sering digunakan sebagai bahan pengawet dalam obat tetes mata, memiliki sifat antimikroba alami yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme target selama uji sterilitas. Hal ini dapat menyebabkan hasil negatif palsu. Air yang digunakan dalam formulasi juga merupakan sumber potensial kontaminasi seperti *purified water* dan *water for injection* (WFI) harus diproduksi dengan sistem yang memenuhi persyaratan *Good Manufacturing Practices* (GMP) untuk memastikan bebas dari mikroorganisme dan endotoksin (Suci *et al.*, 2022).

2.7.4 Lingkungan Laboratorium

Keberadaan partikel udara, suhu, dan kelembapan dapat memengaruhi hasil uji sterilitas. Partikel udara yang mengandung mikroorganisme dapat menyebabkan kontaminasi silang, sementara suhu dan kelembapan yang tidak sesuai dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme pada media kultur (Suriawati *et al.*, 2021). Lingkungan pengujian sterilitas harus

memenuhi standar kebersihan yang ketat untuk menghindari kontaminasi silang. Menurut FI IV <71>, (2020), ruang uji sterilitas harus memenuhi standar kelas kebersihan ISO 5 atau lebih tinggi. Selain itu sistem HVAC (*Heating, Ventilation, and Air Conditioning*) harus berfungsi dengan baik untuk menjaga kebersihan udara.

2.7.5 Waktu Inkubasi dan Suhu

Waktu inkubasi dan suhu juga merupakan faktor penting dalam uji sterilitas. Waktu inkubasi yang direkomendasikan adalah 14 hari pada dua suhu yang berbeda 20-25°C untuk jamur, suhu 30-35°C untuk bakteri aerob dan anaerob. Inkubasi yang tidak sesuai dengan standar ini dapat menghasilkan hasil negatif palsu karena mikroorganisme tidak memiliki waktu atau kondisi yang cukup untuk tumbuh. Selain itu, fluktuasi suhu selama inkubasi dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme (Farmakope Indonesia VI, 2020).

2.7.6 Volume Sampel yang Diuji

Volume sampel yang diuji juga memengaruhi hasil uji sterilitas, volume sampel yang terlalu kecil dapat menghasilkan hasil negatif palsu karena jumlah mikroorganisme yang terdeteksi tidak mencerminkan kontaminasi keseluruhan produk. Sebaliknya, volume sampel yang terlalu besar dapat menyebabkan kesulitan dalam proses filtrasi membran. Menurut FI IV, (2020) menetapkan persyaratan ketat untuk volume sampel (min. 10% batch untuk produk <100 kontainer). Oleh karena itu, volume sampel harus disesuaikan dengan karakteristik produk dan metode pengujian yang digunakan. Untuk obat tetes mata, volume sampel yang direkomendasikan biasanya berkisar antara 10-20 mL, tergantung pada metode filtrasi atau kultur langsung yang digunakan.

Tabel 1. Jumlah Minimum untuk Tiap Media

Isi per wadah	Jumlah minimum yang digunakan (Kecuali dinyatakan lain)
Larutan	
Kurang dari 1 mL	Seluruh isi tiap wadah
1 – 40 mL	setengah isi tiap wadah, tetapi tidak kurang dari 1 mL
Lebih dari 40 mL, tidak lebih dari 100 mL	20 mL
Lebih dari 100 mL	10% isi wadah, tetapi tidak kurang dari 20 mL
Larutan antibiotik	1 mL
Sediaan larut dalam air lainnya atau dalam isopropil miristat	Seluruh isi tiap wadah, sebanding dengan tidak kurang dari 200 mg
Sediaan yang tidak larut, krim, dan salep, yang tersuspensi atau teremulsi	Gunakan isi tiap wadah yang sebanding dengan tidak kurang dari 200 mg
Zat Padat	
Kurang dari 50 mg	Seluruh isi tiap wadah
50 mg atau lebih, tetapi kurang dari 300 mg	Setengah isi tiap wadah, tetapi tidak kurang dari 50 mg
300 mg – 5 g	150 mg
Lebih besar dari 5 g	500 mg
Benang bedah dan peralatan bedah lainnya untuk penggunaan dokter hewan	3 potongan untuk helai (panjang tiap potong 30 cm)
Pembalut/ kapas/perban (dalam kemasan)	100 mg per kemasan
Benang bedah dan bahan sejenis yang dikemas untuk penggunaan sekali pakai	Seluruh alat
Alat Kesehatan lainnya	Seluruh alat, potong kecil-kecil atau diuraikan

Tabel 2. Jumlah Bahan uji Sesuai Jumlah Bahan Bets

Jumlah wadah dalam Bets*	Jumlah Minimum wadah yang diuji tiap media (Kecuali dinyatakan lain**)
Sediaan parenteral	
Tidak lebih dari 100 wadah	10% atau 4 wadah, diambil yang lebih besar
Lebih dari 100, tetapi tidak lebih dari 500 wadah	10 wadah
Lebih dari 500 wadah	2% atau 20 wadah, diambil yang lebih kecil
Untuk sediaan volume besar	2% atau 10 wadah, diambil yang lebih kecil
Zat Padat antibiotik	
Produk ruahan dalam kemasan <5g	20 wadah
Produk ruahan dalam kemasan ≥5g	6 wadah
Produk ruahan dan campuran	lihat <i>Produk ruahan padat</i>
Sediaan mata dan sediaan lain yang tidak disuntikkan	
Tidak lebih dari 200 wadah	5% atau 2 wadah, diambil yang lebih besar
Lebih dari 200 wadah	10 wadah
Jika sediaan dalam bentuk wadah dosis tunggal, gunakan skema diatas untuk sediaan parenteral	
Benang bedah dan peralatan bedah lainnya untuk penggunaan dokter hewan	2% atau 5 kemasan, diambil yang lebih besar, sampai total maksimum 20 kemasan
Tidak lebih dari 100 bahan	10% atau 4 bahan, diambil yang lebih besar
Lebih dari 100, tetapi tidak lebih dari 500 bahan	10 bahan
Lebih dari 500 bahan	2% atau 20 bahan, diambil yang lebih kecil
Produk ruahan padat	
Sampai 4 wadah	Tiap wadah
Lebih dari 4 wadah, tetapi tidak lebih dari 50 wadah	20% atau 4 wadah, diambil yang lebih besar
Lebih dari 50 wadah	2% atau 10 wadah, diambil yang lebih besar

* Jika besarnya bets tidak diketahui, gunakan jumlah maksimum

** Jika isi satu wadah cukup untuk diinokulasikan ke dalam dua media, kolom ini menyatakan jumlah wadah yang diperlukan untuk kedua media.

2.7.7 Faktor Kemasan dan Masa Penyimpanan Produk

Kemasan obat tetes mata harus mampu menjaga sterilitas selama masa penyimpanan dan penggunaan. Pemilihan bahan kemasan, seperti botol plastik steril atau kaca, sangat berpengaruh terhadap risiko kontaminasi setelah sterilisasi awal. Faktor-faktor seperti suhu penyimpanan, kelembaban, dan desain kemasan memainkan peran penting dalam mempertahankan sterilitas selama masa simpan. Penggunaan pengawet dalam formulasi seperti benzalkonium klorida (BAK), fenilmerkuri nitrat, dan klorheksidin dapat membantu mencegah pertumbuhan mikroorganisme selama penggunaan, terutama untuk produk multidose. Namun, pemilihan pengawet baik dari segi jenis maupun konsentrasinya, harus diperhatikan dengan seksama supaya tidak menyebabkan iritasi atau efek pada mata. Oleh karena itu, formulasi tanpa pengawet (*preservative-free formulations*) menjadi tren baru dalam industri farmasi, dengan teknologi kemasan yang lebih aman untuk mencegah kontaminasi selama penggunaan (Suriawati *et al.*, 2021).

2.7.8 Keterampilan

Keterampilan dan pengalaman yang melakukan uji sterilitas juga memainkan peran penting dalam menentukan hasil uji. Penguji yang tidak terlatih dapat membuat kesalahan teknis, seperti pengambilan sampel yang tidak tepat atau penanganan media kultur yang tidak sesuai dengan protokol. Kesalahan ini dapat menyebabkan hasil yang tidak akurat, baik positif palsu maupun negatif palsu. Pelatihan rutin sangat dianjurkan untuk meyakinkan dapat memiliki kemampuan dan pengetahuan yang memadai untuk melakukan uji sterilitas (Chantra *et al.*, 2022).