

FM-UAD-PBM-11-04/R3

**PETUNJUK PRAKTIKUM
PP/FAR/STERIL/04/3**

**FORMULASI DAN TEKNOLOGI
SEDIAAN STERIL**

**Disusun Oleh :
Tim Praktikum FTS Steril**

**LABORATORIUM TEKNOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
YOGYAKARTA 2022
Edisi Maret 2022**

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah atas rahmat dan hidayah Allah SWT, buku petunjuk praktikum Formulasi dan Teknologi Sediaan Steril dapat terselesaikan. Praktikum Formulasi dan Teknologi Sediaan Steril ini berbobot 1 sks.

Praktikum Formulasi dan Teknologi Sediaan Steril ini bertujuan untuk mengenalkan siswa terhadap formulasi dan evaluasi sediaan steril serta kontrol kualitasnya. Buku petunjuk ini diharapkan dapat menjadi petunjuk teknis dalam melaksanakan praktikum ini. Kami yakin buku ini masih banyak kekurangan dan perlu perbaikan seiring dengan perkembangan penelitian dalam bidang pengembang sediaan steril. Untuk itu, kami mohon kritik dan saran kami untuk menjadi pertimbangan dalam memperbaiki edisi berikutnya.

Selanjutnya kami ucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya buku petunjuk praktikum ini.

Yogyakarta, Maret 2022

Tim Praktikum FTS Steril

Tim Praktikum FTS Steril :

Apt. Azis Ikhsanudin, M.Sc, apt. Yudha Rizky Nuari, M.Sc, Apt. Putri Rachmah N, M.Pharm.Sci., Dr. Apt. Arif Budi Setianto, M.Si. ; Dr. Apt. Nining Sugihartini, M.Si., ; Apt. Nuri Ari Efiana, MSc. ; Apt. Lina Widiyastuti M.Sc. ; Apt. Siti Fatmawati Fatimah M.Sc.

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----------|
| KATA PENGANTAR | 2 |
| DAFTAR ISI..... | 2 |
| DAFTAR TABEL..... | 4 |
| PENDAHULUAN | 7 |
| STERILISASI | 10 |
| UJI STERILITAS | 15 |
| PYROGEN..... | 15 |
| TONISITAS | 17 |
| BAHAN PENGEMAS/WADAH..... | 21 |
| VALIDASI..... | 29 |
| PERCOBAAN 1. PENCUCIAN DAN STERILISASI KARET | 30 |
| PERCOBAAN 2. UJI ALKALINITAS GELAS | 32 |
| PERCOBAAN 3. INJEKSI THIAMIN HIDROCLORID DENGAN STERILISASI UAP BASA | 33 |
| PERCOBAAN 4. INFUS RINGER | 35 |
| PERCOBAAN 5. TETES MATA DAN SALEP MATA NA SULFASETAMID..... | 37 |
| PERCOBAAN 6. VALIDASI..... | 42 |
| PEMBAGIAN MATERI PRAKTIKUM..... | 44 |
| KARTU KONTROL..... | <u>45</u> |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 1. Pembagian Kelas Ruangan menurut cGMP (2006) | 13 |
| Tabel 2. Pembagian Kelas Ruangan Menurut CPOB 2018 | 13 |
| Tabel 3. Batas mikroba are bersih..... | 13 |
| Tabel 4. Penggolongan Tipe Gelas | 21 |
| Tabel 5. Persyaratan Hasil Uji Alkalinitas Untuk Masing-Masing Tipe Gelas | 23 |
| Tabel 6. Syarat Transmisi | 24 |
| Tabel 7. Tingkat Mutu Lulus Cacat Tampak | 24 |
| Tabel 8. Toleransi Tinggi..... | 25 |
| Tabel 9. Toleransi Badan (Diameter)..... | 25 |
| Tabel 10. Penyimpangan Konsentrisitas | 25 |
| Tabel 11. Syarat Toleransi Isi | 26 |
| Tabel 12. Tebal Gelas Minimum | 27 |

TATA TERTIB PRAKTIKUM

I. PRETES (Minikuis dan diskusi secara online)

1. Praktikan diwajibkan join tepat waktu sesuai jadwal pretest, apabila terlambat dosen pengampu berhak memotong nilai pretest.
2. Penilaian pretes dan minikuis berdasarkan rubrik penilaian pretes dan minikuis.
3. Praktikan wajib lulus minikuis (minimal nilai 6) sebelum praktikum, kalau belum 6, praktikan boleh mengulang maksimal 2 kali, dengan dosen jaga masing sesuai dengan waktu disepakati.
4. Pada saat pretest, praktikan diwajibkan mengumpulkan laporan sementara yang diisi lengkap (formula, spesifikasi dan cara kerja dalam bentuk bagan)
5. Tanpa mengumpulkan laporan sementara, maka pre test tidak diijinkan.

II. PRAKTIKUM (Offline)

1. Praktikan diwajibkan hadir tepat waktu sesuai jadwal praktikum, apabila terlambat dosen jaga berhak memotong nilai praktikum. Toleransi keterlambatan 15 menit, jika lebih dari 15 menit tanpa alasan yang jelas tidak mendapatkan nilai praktikum.
2. Praktikan wajib mentaati protokol kesehatan dengan ketat.
3. Praktikan wajib cuci tangan dan cek suhu sebelum masuk laboratorium dengan suhu tidak $> 37,5^{\circ}\text{C}$, jika suhu lebih dari ketentuan mahasiswa dipersilahkan istirahat dirumah atau dikos.
4. Izin praktikum wajib disertai keterangan yang sah dan diberikan dosen jaga, dan diperkenankan praktikum dihari lain (denan tema percobaan yang sama)
5. **Praktikan wajib mengumpulkan laporan akhir**, mengisi daftar hadir.
6. Ketika pretest dan praktikum, praktikan wajib bersikap sopan, tidak merokok, tidak gaduh, dan menjaga ketertiban praktikum
7. Praktikan wajib bersikap sopan dalam berpakaian, cara bicara, maupun cara bergaul termasuk didalamnya tidak merokok, tidak membuat kegaduhan, dan menjaga ketertiban praktikum, tidak diperkenankan makan, tetapi diperkenankan untuk minum.

III. HASIL PENGAMATAN DAN LAPORAN PRAKTIKUM

1. Data praktikum diperoleh ketika praktikan melakukan praktik di laboratorium dan hasil wajib diverifikasi kepada asisten dosen dan dosen pengampu termasuk bukti diskusinya.
2. Setiap praktikan wajib membuat laporan resmi percobaan yang dilakukan berdasarkan data simulasi yang sudah diverifikasi dosen jaga dan diserahkan sebelum melakukan percobaan berikutnya.
3. Apabila belum menyerahkan laporan resmi maka praktikan tidak diperkenankan mengikuti praktikum berikutnya.
4. Laporan bersifat individu dan penilaian berdasarkan rubrik laporan.

IV. PENILAIAN

Sistem penilaian praktikum meliputi :

- a. General test dengan materi tinjauan teori dalam buku petunjuk praktikum ini (5) dilakukan diluar jam praktikum secara serentak (semua kelas)
- b. Penilaian harian oleh masing-masing dosen meliputi :
 - 1) Minikuis (total 12)
 - 2) pretest (total 12)
 - 3) praktikum (total 24)
 - 4) Laporan resmi dengan format cover terlampir (total 12), yang terdiri dari :
 - a) Kelengkapan administratif: judul percobaan; logo UAD; nama, NIM, kelompok, dan golongan praktikan; nama asisten dosen; tanggal dan hari praktikum
 - b) *Batch record* yang telah dilengkapi hasil praktikum
 - c) Perhitungan (jika ada)
 - d) Pembahasan
 - e) Kesimpulan
 - f) Daftar pustaka (buku petunjuk praktikum tidak boleh digunakan sebagai pustaka)
- c. Presentasi (total 5)
- d. Responsi akhir: responsi akhir (total 30)
- e. Syarat mengikuti responsi harus mengumpulkan laporan lengkap sesuai dengan jumlah praktikum.

V. TATA TERTIB YANG BELUM TERCANTUM AKAN DIATUR KEMUDIAN

Yogyakarta, Maret 2022
Koordinator Praktikum FTS Steril

PENDAHULUAN

Injeksi telah digunakan untuk pertama kalinya pada manusia sejak tahun 1660, meskipun demikian perkembangan pertama injeksi semprot baru berlangsung pada tahun 1852. Injeksi adalah penyemprotan larutan (atau suspensi) ke dalam tubuh, untuk tujuan terapi atau diagnostik. Injeksi dapat dilakukan langsung ke dalam aliran darah, ke dalam jaringan dan organ. Berdasarkan volume yang disemprotkan injeksi dapat dibagi mejadi dua, kelompok :

1. Injeksi (*Injectio* = memasukkan ke dalam *injectabilia*)

Bila volume yang disemprotkan sampai dengan 20 ml.

2. Infusi (*Infusio* = dengan ke dalam *Infundibilia*)

Bila volume yang disemprotkan dalam jumlah besar (mencapai beberapa liter)
(Kemenkes RI 2020)

Bentuk-bentuk tersebut dinyatakan sebagai pemasukan parenteral obat (parenteron = di luar usus) yang merupakan kebalikan dari penerapan enteral yang berlangsung melalui saluran lambung-usus. Terapi parenteral memiliki beberapa keuntungan penting dibandingkan enteral antara lain :

1. Dapat memilih tempat pemakaiannya.
2. Dapat menentukan lama aksi, efek cepat atau lambat/depot.
3. Dapat digunakan untuk obat-obatan yang mengiritasi lambung atau obat-obat yang mengiritasi lambung atau obat-obat yang rusak dengan adanya cairan pencernaan
4. Dapat digunakan pada pasien yang tidak sadar dan pasien *non-cooperative*.
5. Untuk mendapatkan efek local.
6. Dapat digunakan untuk mensuplai makanan dalam jangka waktu yang lama (infus) (Kemenkes RI 2020).

Selain keuntungan, sediaan parenteral juga memiliki kerugian yaitu

1. Terapi dengan injeksi lebih mahal
2. Tidak semua obat ada sediaan injeksinya.
3. Cara penggunaannya hanya boleh dilakukan oleh dokter/perawat.
4. Memerlukan peralatan khusus.
5. Menimbulkan rasa sakit.
6. Umumnya kurang disukai oleh pasien.

Ada beberapa cara penggolongan bentuk sediaan steril

1. Berdasarkan kemasan, dikenal sediaan dalam bentuk Ampul, *Disposable syringe*, Vial dan Volume besar, seperti infus.
2. Berdasarkan indikasi penggunaan klinis yaitu Larutan irrigasi, Larutan dialisa, Larutan allergen, Bahan pendiagnosa, dan Larutan ophthalmic steril
3. Berdasarkan bentuk fisik sediaan yaitu Larutan steril Padat steril dan Emulsi steril (Kemenkes RI 2008; 2020)

Ada beberapa rute penggunaan sediaan parenteral yang dapat digunakan, antara lain :

1. *Intradermal route (ID)* atau *intracutan (IC)*
 - a. Obat diinjeksikan pada lapisan paling atas kulit
 - b. Dalam jumlah sedikit (0,1 ml)
 - c. Untuk tes diagnostik
 - d. Absorpsi obat lambat
2. *Subcutan route (SC)*
 - a. Obat diinjeksikan ke dalam jaringan di bawah kulit
 - b. Dalam volume kecil
 - c. Respon obat lebih cepat dibanding ID (IC)
3. *Intramuscular route (IM)*
 - a. Diinjeksikan ke dalam jaringan otot
 - b. Dalam volume 2 ml, atau maksimum 5 ml
 - c. Absorpsi lebih cepat subcutan (SC)

- d. Aksi dapat diperpanjang bila diberikan dalam bentuk sediaan suspense
4. *Intravena route* (IV)
- a. Diinjeksikan ke dalam vena (Seringkali pada bagian dalam siku)
 - b. Memberikan efek paling cepat
 - c. Digunakan untuk pemberian cairan infus

Selain dari beberapa metode tersebut di atas ada beberapa metode, yaitu : *Intra arteri, intralumbal, intraperitorial, intrapleural, intrameural, perinueral, intrakardial*, dll. Pemilihan metode/route tersebut di atas adalah tergantung dari bentuk sediaan dan tujuan yang akan dicapai.

Sediaan parenteral diinjeksikan ke dalam badan menembus mekanisme pertahanan tubuh, masuk ke dalam sirkulasi darah/jaringan tubuh. Dengan demikian maka sediaan yang diinjeksikan harus betul-betul memenuhi persyaratan sediaan parenteral/steril. Beberapa persyaratan dari sediaan parenteral antara lain :

1. Pelarut atau pembawa yang digunakan harus memenuhi kemurnian khusus dan memenuhi standar-standar lain yang menjamin keamanan obat suntik.
2. Penggunaan zat-zat penambah sebagai penstabil pengawet anti mikroba, mengikuti petunjuk-petunjuk khusus penggunaan dan dilarang pada produk parenteral tertentu. Penggunaan zat warna dilarang keras.
3. Produk parenteral selalu disterilkan dan memenuhi standar sterilitas dan harus bebas pirogen.
4. Larutan parenteral harus bebas dari partikel-partikel.
5. Produk parenteral harus dibuat dalam daerah lingkungan yang diawasi, memenuhi standart sanitasi yang ketat, dan oleh pekerja yang khusus dilatih dan memakai pakaian khusus untuk mempertahankan standart sanitasi.
6. Produk-produk parenteral dikemas dalam wadah khusus yang kedap udara yang tinggi kualitasnya dan spesifik. Cara-cara khusus pengawasan kualitas digunakan untuk menjamin tutup/segel kedap udara dan kondisi steril.
7. Setiap wadah obat suntik diisi sampai volume sedikit melebihi ukuran yang tertera di etiket agar ada yang tertinggal. Kelebihan memberi kemudahan dalam

- pengambilan kembali dan pemberian volume sesuai dengan yang ada di etiket.
8. Ada pembatasan-pembatasan dalam melebihi volume obat suntik yang diperbolehkan pada wadah dosis berganda dan juga pembatasan-pembatasan untuk jenis wadah (dosis tunggal atau berganda) yang dapat digunakan untuk obat suntik tertentu.
 9. Peraturan-peraturan khusus pemberian etiket yang digunakan untuk obat suntik.
 10. Bubuk steril yang dimaksudkan untuk dijadikan larutan atau suspensi segera sebelum disuntikkan, sering dikemas sebagai bubuk hasil horilisasi atau pengeringan dingin untuk memungkinkan pembentukan larutan atau suspensi dengan mudah pada waktu diberi pelarut atau pembawa (BPOM RI 2018; Kemenkes RI 2020; 2008).

STERILISASI

Sterilisasi adalah suatu proses untuk menghilangkan, mematikan atau menghancurkan semua bentuk mikroorganisme hidup baik yang patogen maupun tidak, baik dalam bentuk vegetatif maupun tidak vegetatif (spora) dari suatu obyek atau bahan. Dengan sterilisasi akan diperoleh obyek/bahan yang steril.

Pada umumnya suatu proses yang dapat menghancurkan zat hidup juga mampu menyebabkan beberapa kerusakan pada obyek saat disterilkan. Dengan alasan inilah maka kadang-kadang diperlukan energi minimum, misal dalam bentuk panas, untuk memperkecil kerusakan bahan, tetapi dalam jumlah yang cukup menjamin bahwa semua bentuk mikroorganisme telah dihancurkan dalam obyek atau bahan tersebut.

Dalam pembuatan sediaan parenteral maka, metode sterilisasi apa yang akan digunakan tergantung pada apakah obat (dalam larutan) tahan panas atau tidak tahan panas. Pada umumnya dikenal lima macam cara sterilisasi untuk produk-produk sediaan farmasi, yaitu :

1. Sterilisasi uap

Penanganan dilakukan dengan uap air jenuh bertekanan tinggi dalam sterilisator uap yang disebut autoklaf pada daerah suhu 110 – 140°C. Didalam farmakope ditetapkan untuk media atau pereaksi adalah selama 15 menit pada suhu 121 °C

kecuali dinyatakan lain (Peraturan BPOM No 14 Tahun 2021 2021; Kemenkes RI 2008; 2020).

2. Sterilisasi panas kering

Proses tersebut dilakukan dengan udara, yang . dipanaskan dalam sterilisator udara panas pada daerah suhu 140-200°C. Waktu sterilisasi (waktu kerja) yang bergantung dari suhu dapat diperoleh dari sebuah diagram atau untuk suhu tertentu, misalnya 180°C dalam waktu 15 atau 30 menit (Commission 2020; BPOM RI 2018).

3. Sterilisasi gas

Pilihan sterilisasi gas sering dilakukan jika bahan yang akan disterilkan tidak tahan terhadap suhu tinggi pada proses sterilisasi uap atau panas kering. Bahan aktif yang sering digunakan adalah etilen oksida. Keburukan dari bahan aktif ini antara lain sifatnya yang sangat mudah terbakar, walaupun sudah dicampur dengan gas inert yang sesuai, bersifat mutagenik, dan kemungkinan adanya residu toksik di dalam bahan yang disterilkan, terutama, yang mengandung ion klorida.

Proses sterilisasi pada umumnya berlangsung di dalam bejana bertekanan yang didesain sama seperti pada, otoklaf, tetapi dengan tambahan bagian khusus yang hanya terdapat pada alat sterilisasi yang menggunakan gas (Commission 2020; BPOM RI 2018).

4. Sterilisasi dengan radiasi pengionan

Untuk alat kesehatan yang tidak tahan terhadap sterilisasi panas dan kekhawatiran tentang keamanan etilen oksida mengakibatkan peningkatan penggunaan sterilisasi radiasi. Tetapi cara ini juga dapat digunakan pada bahan obat dan bentuk sediaan akhir. Keunggulan sterilisasi radiasi meliputi reaktifitas kimia rendah, residu rendah yang dapat diukur, dan kenyataan yang membuktikan bahwa variable yang dikendalikan lebih sedikit. Teknik sterilisasi dengan radiasi hanya menimbulkan sedikit kenaikan suhu, tetapi dapat mempengaruhi kualitas dan jenis plastik atau kaca tertentu.

Ada dua jenis radiasi ion yang digunakan yakni disintegrasi radioaktif dari

radioisotop (radiasi Gamma) dan radiasi berkas electron (Commission 2020; BPOM RI 2018).

5. Sterilisasi dengan penyaringan

Sterilisasi dengan penyaringan digunakan untuk larutan yang menggunakan bahan yang dapat menahan mikroba, hingga mikroba yang dikandung dapat dipisahkan secara fisika. Perangkat penyaring pada, umumnya terdiri dari suatu matriks berpori bertutup kedap dirangkaikan pada wadah yang tidak permeable.

Efektifitas dari penyaring media atau penyaring substrat tergantung dari ukuran pori bahan dan dapat tergantung pada daya absorpsi bakteri pada atau didalam matriks penyaring atau tergantung pada, mekanisme pengayakan.

Penyaringan untuk tujuan sterilisasi umumnya dilaksanakan menggunakan rakitan yang memiliki membran dengan porositas minimal 0,2 mikron atau kurang, berdasarkan pada perbandingan yang telah divalidasi untuk kurang dari 10' suspensi pseudomonas diminta tiap cm^2 dari luas permukaan penyaring (Commission 2020; BPOM RI 2018).

6. Metode aseptik

Bahan-bahan obat yang tidak tahan pemanasan (termolabil) tidak mungkin dilakukan sterilisasi dengan metode pemanasan, bahan-bahan metode ini memerlukan pengolahan pada kondisi yang tidak memerlukan pemanasan dan pada, daerah yang miskin kuman (BPOM RI 2018; Peraturan BPOM No 14 Tahun 2021 2021).

Pembuatan sediaan obat secara metode aseptik diartikan, bahwa bahan obat dan bahan pembantu yang diperlukan sedapat mungkin harus disterilisasikan terlebih dahulu dan pembuatannya dilakukan dengan alat-alat yang telah disterilisasikan. Keseluruhan proses tersebut harus dilakukan pada ruangan yang miskin kuman atau nyaris bebas kuman. Pembagian Kelas Ruangan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pembagian Kelas Ruang menurut cGMP (2006) (World Health Organization 2011)

| ISO 14644-1 Class | At Rest | | In Operation | |
|--------------------|---|---------|--------------|-------------|
| | Maksimum permitted number of particles/m ³ equal to or above | | | |
| | 0,5 µ m | 5 µ m | 0,5 µ m | 5 µ m |
| Class 5 (UDF) I A | 3,500 | 30 | 3,500 | 30 |
| Class 5 (Turb) I B | 3,500 | 30 | 35,000 | 300 |
| Class 6 | 35,000 | 300 | 350,000 | 3,000 |
| Class 7 II C | 350,000 | 3,000 | 3,500,000 | 30,000 |
| Class 8 III D | 3,500,000 | 30,000 | 35,000,000 | 300,000 |
| Class 9 IV | 35,000,000 | 300,000 | Not Defined | Not Defined |

UDF = Laminar Air Flow or Uni Direction Flow

Turb = Turbulent or Non Uni Direction Flow

Tabel 2. Pembagian Kelas Ruang Menurut CPOB 2018 (BPOM RI 2018)

| Ukuran Partikel Kelas | Nonoperasional | | Operasional | |
|--------------------------|---|---------|------------------|------------------|
| | Jumlah maksimum partikel /m ³ yang diperbolehkan | | | |
| | ≥ 0,5 µ m | ≥ 5 µ m | ≥ 0,5 µ m | ≥ 5 µ m |
| A | 3.520 | 20 | 3.520 | 20 |
| B | 3.520 | 29 | 352.000 | 2.900 |
| C | 352.000 | 2.900 | 3.520.000 | 29.000 |
| D | 3.520.000 | 29.000 | Tidak ditetapkan | Tidak ditetapkan |

Tabel 3. Batas mikroba area bersih selama kegiatan berlangsung (BPOM RI 2018)

| | Batas yang disarankan untuk cemaran mikroba (*) | | | |
|-------|---|--|---|--|
| Kelas | Sampel udara <i>cfu/m³</i> | Cawan papir (dia. 90 mm) <i>cfu/4 jam</i> (**) | Cawan kontak (dia. 55 mm) <i>cfu/plate</i> | Sarung tangan 5 jari <i>cfu/sarung tangan</i> |
| A | <1 | <1 | <1 | <1 |
| B | 10 | 5 | 5 | 5 |
| C | 100 | 50 | 25 | - |
| D | 200 | 100 | 50 | - |

Langkah revolusioner dalam teknik kerja aseptik adalah system aliran laminar (*laminar-air-flow*). Dengan menggunakan sistem tersebut daerah kerja steril dihasilkan dalam area yang tidak steril.

UJI STERILITAS

Bahan atau sediaan dapat dinyatakan sebagai steril, jika telah melalui uji sterilitas dan terbukti bahwa mereka, bebas mikroorganisme. Jika tidak ada, pembuktian terhadap sterilitas, maka, identifikasi dilakukan menurut informasi cara sterilisasi yang telah dilakukan.

Dalam beberapa, farmakope banyak dicantumkan beberapa media kultur untuk pengujian sterilisasi yang diperlukan. Masing-masing mikroorganisme menunjukkan kebutuhan kondisi pertumbuhan optimalnya berbeda-beda (suhu dan jenis medium).

Jika pada pengujian terhadap sterilisasi, selama seluruh waktu pembiakan dalam wadah kultur tidak ada pertumbuhan mikroorganisme (dapat dikenali dari pembentukan koloni atau kekeruhan atau perubahan warna setelah penambahan indikator), maka zat yang diuji dinyatakan sebagai steril. Jika terjadi pertumbuhan atau resultat yang meragukan, maka, seluruh penelitian harus diulang. Sebaliknya jika terjadi pertumbuhan mikroorganisme, maka zat yang diuji dinyatakan sebagai tidak steril.

Angka kuman adalah kriteria kemurnian bahan atau sediaan secara mikrobiologis yang diperoleh dari jumlah mikroorganisme yang ditentukan pada kondisi pengujian dalam 1 ml atau 1 gram zat yang diuji.

PYROGEN

Pyrogen didefinisikan sebagai hasil metabolik dari mikroorganisme hidup yang menyebabkan respon piretic spesifik pada, penyuntikan (injeksi). Secara kimia pyrogen berupa lipopolysaccarida, larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut organik. Pyrogen ini dapat disaring (dengan ukuran tertentu) dan merupakan zat padat makro molekul dengan BM antara 15.000 – 4.000.000.

Karena larut dalam air maka baik sterilisasi dengan uap air bertekanan maupun filtrasi melalui filter penyeteril tidak dapat menghilangkan pyrogen, meskipun proses tersebut dapat menghilangkan mikroorganisme. Pyrogen yang dihasilkan oleh mikroorganisme Gram negatif adalah yang paling poten.

Dalam tubuh manusia reaksi pyrogen ditandai dengan timbulnya demam dan kedinginan. Setelah diberikan injeksi dengan waktu laten 45 sampai 90 menit, kemudian

kenaikan yang cepat dari temperatur badan yang diikuti dengan kedinginan, sakit kepala dan malaise (perasaan tidak enak badan).

Pyrogen yang terdapat dalam sediaan parenteral dapat berasal dari salah satu dari ke-3 (tiga) sumber berikut :

1. Air yang dipakai sebagai solven.
2. Wadah atau alat yang dipakai untuk pembuatan, pengemasan, penyimpanan atau penggunaan.
3. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk membuat larutan/sediaan parenteral.

Beberapa cara dapat digunakan untuk menghilangkan pyrogen. Sebagai senyawa organik, pyrogen dapat dihancurkan dengan panas tinggi (oksidasi) atau dibakar. Temperatur yang cukup memuaskan adalah 250°C selama 30 – 45 menit atau 170°C – 180°C selama 3 – 4 jam. Metode di atas cukup efektif untuk alat-alat/wadah dari gelas dan metal, tetapi tidak dapat digunakan untuk larutan. Dalam larutan, pyrogen dapat dihilangkan dengan dua cara:

1. Inactivasi
 - a. Kimiawi (oksidasi, alkilasi, atau hidrolisa dari endotoksin), cara ini dapat digunakan untuk bahan dan air.
 - b. Panas kering atau dibakar pada suhu 170 – 350°C (suhu 250°C selama 30 menit). Jika temperatur diturunkan maka waktu yang dibutuhkan lebih lama.
 - c. Panas kering biasanya digunakan untuk alat gelas, minyak tahan panas dan serbuk.
2. Removal
 - a. Pembilasan/pengenceran dengan aqua p.i dapat diterapkan untuk wadah dan tutup.
 - b. Ultrafiltrasi, dengan kombinasi filter 0,1 m dan 0,2 mikron (sterilizer filter)
 - c. *Depth* filter, dengan menggunakan lapisan kaolin dan aluminium oksid atau Kiesleguhr.
 - d. Absorpsi elektrostatis, prinsip, dari cara ini adalah perbedaan muatan antara sampel dengan alat yang digunakan.
 - e. Adsorpsi, menggunakan charcoal dan barium sulfat suspensi.

- f. Ion exchange resin
- g. Gamma, irradiation.

Dari segi praktek, pendekatan yang paling baik untuk menghindari terjadinya reaksi pyrogen adalah membuat sediaan parenteral dengan solven, pengemas, alat dan bahan yang bebas pyrogen (Kemenkes RI 2020; 2008).

Tes Pyrogen dan endotoksin

Adanya pyrogen dan endotoksin dalam sediaan parenteral dapat diketahui dengan melakukan uji pyrogen dan endotoksin. Uji tersebut dapat dilakukan dengan :

1. Menggunakan kelinci (uji pyrogen)

Larutan parenteral disuntikkan pada vena telinga, kemudian diamati kenaikan suhu kelinci.

2. Menggunakan *Limulus lyate test* (LAL-tes) ada tidaknya penggumpalan dalam larutan yang diuji (uji endotoksin).

LAL-tes memberikan keuntungan dibandingkan dengan uji dengan kelinci, antara lain Mudah/serhana, lebih sensitive, dan Reliable (Kemenkes RI 2020)

TONISITAS

Tonisitas berhubungan dengan tekanan osmose yang diberikan oleh suatu larutan dari zat atau zat padat yang terlarut. Cairan badan atau cairan mata memberikan tekanan osmose yang sama dengan tekanan osmose normal saline atau larutan NaCl 0,9%. Suatu larutan dengan jumlah solute/zat terlarut lebih dari cairan badan/cairan mata mempunyai tekanan osmose lebih besar dan larutan ini disebut larutan hipertonis. Sebaliknya jika jumlah solute lebih sedikit sehingga tekanan osmoses lebih rendah disebut hypotonis.

Cairan badan termasuk pula cairan mata mengandung sejumlah zat terlarut yang dapat menurunkan titik beku larutan 0,52°C. Demikian pula larutan NaCl 0,9 % dapat menurunkan titik beku 0,52°C. Oleh karena itu. larutan NaCl 0,9% dan cairan badan disebut isotonis.

Beberapa cara dapat digunakan untuk menghitung nilai isotonis (tonisitas) suatu larutan antara lain :

a. Metode krioskopik (Penurunan titik beku)

Adalah penurunan titik beku sejumlah larutan obat ditentukan dengan eksperimen atau perhitungan teoritis jika diketahui BM dan L_{iso} tipe ionnya

Contoh perhitungan:

Diketahui larutan pencuci mata mengandung 1 % asam borat. Asam borat 1 % menyebabkan penurunan titik beku sebesar $0,29^{\circ}\text{C}$. Hitung NaCl yang harus ditambahkan untuk mendapatkan larutan isotonis.

Jawab :

Larutan NaCl 0,9% = larutan isotonis

Penurunan titik beku cairan mata = $0,52^{\circ}\text{C}$

Asam Borat 1% menurunkan titik beku $\frac{0,29^{\circ}\text{C}}{0,23^{\circ}\text{C}}$

NaCl harus ditambahkan untuk menurunkan titik beku (fp) sebesar $-0,23^{\circ}\text{C}$

Larutan 0,9% NaCl menurunkan $0,52^{\circ}\text{C}$

Sehingga jumlah NaCl yang harus, ditambahkan :

$$\frac{0,52^{\circ}\text{C}}{0,9\%} = \frac{0,23^{\circ}\text{C}}{X}$$

$$X = \frac{0,52^{\circ}\text{C}}{9\%} = 0,40\%$$

Jadi NaCl yang diperlukan = 0,40g/100ml

b. Metode ekuivalen Natrium Klorida

Ekuivalen natrium klorida (E) disebut juga ekuivalen tonisitas dari larutan obat adalah banyaknya natrium klorida yang ekuivalen dengan 1 gram obat.

Contoh perhitungan :

Suatu larutan mengandung 1,0 gram efedrin sulfat dalam 100ml. Berapa banyak NaCl yang ditambahkan agar larutan isotonis? Jika diketahui E efedrin sulfat 0,23.

Jawab:

Kesetaraan efedrin sulfat dengan NaCl = $1,0 \text{ g} \times 0,23 = 0,23 \text{ gram}$.

Untuk memperoleh larutan isotonis diperlukan 0,9 gram NaCl, jadi masih diperlukan tambahan NaCl sebanyak $(0,9 - 0,23) \text{ gram} = 0,67 \text{ gram}$.

c. Metode Disosiasi

Suatu larutan isotoni bila terpenuhi

$$\frac{fa}{Ma} Xa + \frac{fb}{Mb} Xb + \dots = 0,28$$

Untuk menghitung banyaknya zat pembantu yang diperlukan untuk mencapai isotonis, dinyatakan dalam gram setiap liter (=Xh), rumus

$$Xh = \frac{Mh}{Fh} (0,28 - (\frac{fa}{Ma} Xa + \frac{fb}{Mb} Xb + \dots))$$

Ma, Mb = Berat molekul zat-zat terlarut (obat)

Mh = Berat molekul zat pembantu (misalnya NaCl, glukosa, dekstroza)

Xa, Xb = Kadar zat-zat dalam gram setiap liter

fa, fb, fh = faktor disosiasi senyawa obat (a dan b) dan senyawa pembantu yang mempunyai harga berikut :

- a) Zat yang tidak terdisosiasi (glukosa, gliserin) 1
- b) Basa dan asam lemah dengan 1 derajat disosiasi 1,5
- c) Basa dan asam kuat, garam-garam uni-uni valen 1,8

Contoh perhitungan :

Hitung tonisitas dari formula berikut:

| | | |
|--------------------------------------|--------|-----------|
| R/ NaCl | 0,6 | (BM 58,5) |
| KCI | 0,03 | (BM 74,5) |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 0,01 | (BM 219) |
| Aqua p.i. ad | 100 ml | |

Jawab :

Konsentrasi zat dirubah dalam gram/liter terlebih dahulu, baru dimasukkan dalam rumus

$$\text{NaCl} \quad 0,6 = 0,6\% = 0,6 \text{ gr}/100 \text{ ml} = 6 \text{ gr}/\text{L}$$

$$\text{KCl} \quad 0,03 = 0,03\% = 0,03 \text{ gr}/100\text{ml} = 0,3 \text{ gr}/\text{L}$$

$$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \quad 0,01 = 0,01\% = 0,01 \text{ gr}/100\text{ml} = 0,1 \text{ gr}/\text{L}$$

Aqua ad 100ml

Jadi tonisitas formula diatas adalah

$$\frac{f_{\text{NaCl}}}{M_{\text{NaCl}}} X_{\text{NaCl}} + \frac{f_{\text{KCl}}}{M_{\text{KCl}}} X_{\text{KCl}} + \frac{f_{\text{CaCl}_2}}{M_{\text{CaCl}_2}} X_{\text{CaCl}_2} = \dots$$

$$\frac{1,8}{58,5} \times 6 + \frac{1,8}{74,5} \times 0,3 + \frac{1,8}{219} \times 0,1 = 0,193 < 0,28 \text{ (hipotonis)}$$

NaCl yang ditambahkan agar isotonis adalah

$$\frac{M_{\text{NaCl}}}{F_{\text{NaCl}}} (0,28 - (\frac{f_{\text{NaCl}}}{M_{\text{NaCl}}} X_{\text{NaCl}} + \frac{f_{\text{KCl}}}{M_{\text{KCl}}} X_{\text{KCl}} + \frac{f_{\text{CaCl}_2}}{M_{\text{CaCl}_2}} X_{\text{CaCl}_2}))$$

$$\frac{58,5}{1,8} (0,28 - 0,193) = 2,828 \text{ gr}/\text{L}$$

Jadi untuk membuat isotonis formula diperlukan NaCl sebanyak 0,283 gr/100ml

d. Metode White-Vincent

Perhitungan tonisitas ini melibatkan penambahan air dalam larutan obat agar diperoleh larutan isotonis dan kemudian dilakukan penambahan larutan pengencer isotonis sampai volume yang dikehendaki. Rumus yang digunakan :

$$V = w \times E \times 111,1$$

Akan dibuat larutan kokain HCl 1% sebanyak 30 ml yang isotonis dengan cairan tubuh. Berapa pelarut yang ditambahkan jika diketahui E kokain HCl 0,16.

Jawab:

1. $0,3 \text{ gram} \times 0,16 = 0,048 \text{ gram}$ (kesetaraan dengan NaCl)
2. Untuk isotonis diperlukan 0,9 gram/100ml, jadi untuk 0,048 gram diperlukan

$$\text{volume sebanyak } 0,048 \text{ gram} \times \frac{100}{0,9} = 5,3 \text{ ml}$$
3. Untuk mencapai volume yang diinginkan ditambahkan lagi cairan NaCl 0,9% sampai 30ml

e. Metode Sprowls

Merupakan pengembangan metode White-Vincent

$V = w \times E \times 111,1$, digunakan untuk menyusun tabel nilai V bila digabungkan dengan berat obat. Tabel dapat dilihat dalam USP.

BAHAN PENGEMAS/WADAH

Wadah obat suntik, harus tidak berinteraksi dengan sediaan, baik secara fisik maupun secara kimia sehingga akan mengubah kekuatan dan efektifitasnya. Wadah biasanya terbuat dari gelas atau bahan plastik yang bermutu.

I. GELAS

a. Ruang lingkup

Standar yang digunakan adalah Standar Botol Gelas untuk Farmasi. Standar ini mencakup penggolongan jenis, syarat-syarat mutu yang terdiri dari alkalinitas tegangan dalam, transmisi cahaya, kejutan suhu, cacat-cacat tampak, dimensi toleransi isi, tebal gelas minimum, tingkat mutu lulus, serta tujuan penggunaan, cara pengambilan contoh dan cara-cara pengujiannya yang disyaratkan bagi botol gelas untuk farmasi.

b. Ketentuan

Tabel 4. Penggolongan Tipe Gelas

| Tipe gelas | Sifat gelas |
|------------|---|
| Tipe I | Adalah wadah dari gelas yang mempunyai ketahanan kimiawi yang sempurna sehingga tidak mempengaruhi sediaan parenteral yang sangat peka. Umumnya terdapat dalam gelas borosilikat. |
| Tipe II | Adalah wadah dari gelas soda kapur silikat yang telah mengalami pelapisan pada permukaan gelas yang berhubungan dengan isinya dan mempunyai ketahanan kimiawi yang baik sehingga tidak mempengaruhi preparat farmasi yang diisikan. |
| Tipe III | Adalah wadah dari gelas soda kapur silikat yang mempunyai ketahanan kimiawi yang cukup sehingga tidak mempengaruhi preparat farmasi yang diisikan |
| Tipe IV | Adalah wadah dari gelas, soda kapur silikat yang mempunyai sifat - sifat yang umum |

1) Definisi

Botol gelas untuk farmasi adalah wadah dibuat dari gelas yang digunakan untuk melindungi sediaan farmasi.

2) Penggolongan tipe gelas, jenis dan sifat-sifat yang dimiliki

Standar ini menggolongkan jenis-jenis wadah gelas untuk farmasi berdasarkan nilai alkalinitasnya.

3) Pemberian tanda dan pengemasan

Botol yang diproduksi harus diberi tanda pengenal (inisial) dari produsennya. Pengemasan. Jika botol diperdagangkan dalam kemasan tertutup, maka kemasan harus diberi tanda-tanda yang jelas sehingga mudah dikenal produsennya, jenis dan jumlah botol yang dikemas.

4) Syarat mutu:

Cara penyimpanan hendaknya dilakukan sedemikian sehingga mudah dapat dilakukan pengambilan contoh.

c. Syarat mutu

Botol gelas untuk farmasi harus memenuhi syarat-syarat mutu dibawah.

Definisi:

"Tingkat mutu lulus" (Acceptable Quality Level) adalah presentase maksimum cacat-cacat botol yang ditemukan dalam pengujian contoh, yang dianggap cukup sebagai rata-rata proses untuk meluluskan kelompok barang yang dinilai yang telah diwakili oleh jumlah contoh yang di uji.

1) Alkalinitas

Pengujian alkalinitas bertujuan menguji botol gelas terhadap serangan kimiawi preparat farmasi yang disimpan dalam botol gelas (persyaratan Masing-masing tipe gelas dapat dilihat pada tabel, pengujiannya meliputi:

- a) Pengujian terhadap contoh yang dijadikan bubuk (powder test). Cara ini dipergunakan untuk semua jenis botol gelas terkecuali jenis II
- b) Pengujian permukaan botol gelas yang berhubungan dengan isinya dilakukan dengan menggunakan air suling sebagai bahan penyerang (water attack test)

Tabel 5. Persyaratan Hasil Uji Alkalinitas Untuk Masing-Masing Tipe Gelas

| Jenis | Ukuran isi (ml) | Pengujian | Max ml H_2SO_4 0,02 N |
|-------|-----------------|-------------------------|-------------------------|
| I | Semua | Sampel dijadikan serbuk | 1 |
| II | < 100 | Sampel diisi aquadest | 0,7 |
| II | >100 | Sda | 0,2 |
| III | Semua | Sampel dijadikan bubuk | 8,5 |
| IV | Semua | Sda | 15 |

2) Tegangan dalam

Pengujian tegangan dalam dimaksudkan untuk mengetahui tegangan-tegangan annealing dan cord pada botol gelas, dengan pengujian dan syarat-syarat sebagai berikut:

a) Pengujian annealing dilakukan dengan :

- Menggunakan polariskop dengan standar referensi, atau
- Pengukuran dengan polarimeter.

Syarat tegangan annealing tidak boleh lebih besar dari pada temper no.5 atau harus lebih kecil daripada 37,4 derajat rotasi.

b) Pengujian tegangan cord menggunakan mikroskop polarisasi dan kompensator.

Syarat tegangan cord tidak boleh lebih besar dari pada 114 nm per cm tebal gelas (dalam lampiran lihat referensi)

Catatan : Tingkat mutu lulus =1

3) Transmisi cahaya:

Botol gelas untuk farmasi yang dipergunakan untuk menyimpan atau melindungi preparat-preparat terhadap pengaruh cahaya harus memenuhi syarat-syarat sbb :

Pada sinar dengan panjang gelombang 290 s/d 450 mu untuk masing-masing ukuran isi

Tabel 6. Syarat Transmisi

| Ukuran Isi ml | Transmisi Max% |
|---------------|----------------|
| 1 | 25 |
| 2 | 20 |
| 3 | 15 |
| 10 | 13 |
| 20 | 12 |
| 50 | 10 |

Keterangan :

Untuk ukuran isi yang tidak terdapat dalam tabel diatas harus dipergunakan % transmisi max. dari ukuran isi yang lebih besar berikutnya yang ada dalam tabel. Untuk ukuran isi lebih besar daripada 50 ml. Harus dipakai transmisi max 10%.

4) Kejutan suhu

Botol harus diuji ketahanannya terhadap kejutan suhu. Syarat perbedaan suhu untuk semua jenis adalah 42 skala C dimana suhu terendah adalah 21°C.

5) Cacat tampak

Cacat tampak diklasifikasikan dalam, tiga jenis yaitu

- a) Cacat kritis : adalah cacat botol gelas yang membahayakan pemakai
- b) Cacat fungsional : adalah cacat botol gelas yang mengakibatkan kegagalan dalam pengemasan
- c) Cacat rupa: ialah cacat botol yang tidak mengakibatkan kegagalan dalam pengemasan walaupun tampak kurang baik.

Contoh cacat tampak tertera dalam lampiran standar ini, dan tingkat mutu lulus cacat tampak adalah tertera dalam tabel 6.

Tabel 7. Tingkat Mutu Lulus Cacat Tampak

| Cacat-cacat | Tingkat mutu lulus |
|------------------|--------------------|
| Cacat kritis | 0,065 |
| Cacat fungsional | 1 |
| Cacat rupa | 6,5 |

6) Dimensi

Kesalahan ukuran adalah kesalahan dimensi yang terjadi pada botol gelas yang menyebabkan kegagalan dalam pemakaian yaitu

- a) Kesalahan tinggi
- b) Kesalahan badan
- c) Penyimpangan konsentrasitas
- d) Kesalahan isi

Kesalahan-kesalahan ukuran tidak boleh melebihi toleransi-toleransi yang tertera dalam tabel.

Tabel 8. Toleransi Tinggi

| Tinggi botol mm | Toleransi mm |
|-------------------|--------------|
| Dibawah 108 | 0,8 |
| 108 sampai 215,9 | 1,2 |
| 57,2 sampai 304,8 | 1,6 |
| 304,8 sampai 381 | 2,0 |
| 381 sampai 508 | 2,4 |
| 508,0 keatas | 3,2 |

Tabel 9. Toleransi Badan (Diameter)

| Diameter mm | Toleransi mm |
|--------------------|--------------|
| Dibawah 25,4 | 0,6 |
| 25,4 sampai 57,2 | 0,8 |
| 57,2 sampai 76,2 | 1,2 |
| 76,2 sampai 114,3 | 1,6 |
| 114,3 sampai 146,0 | 2,0 |
| 146,0 sampai 171.5 | 2,4 |
| 171,5 sampai 196,0 | 2,8 |
| 196,0 keatas | 3,2 |

Tabel 10. Penyimpangan Konsentrisitas

| Jenis Mulut | Penyimpangan Maksimum |
|---------------------------|-----------------------|
| Botol dengan mulut sempit | 0,8 % x tinggi botol |
| Botol dengan mulut sedang | 1% x tinggi botol |
| Botol dengan mulut lebar | 1,3% x tinggi botol |

Catatan : Tingkat mutu lulus kesalahan ukuran = 1

7) Toleransi isi

Isi botol gelas untuk keperluan farmasi harus memenuhi syarat toleransi isi dalam tabel.

Tabel 11. Syarat Toleransi Isi

| Ukuran isi ml | Toleransi ml |
|------------------------|---------------------|
| Dibawah 0,36 | 0,2 |
| 14,2 sampai 28,4 | 0,44 |
| 28,4 sampai 56,8 | 0,90 |
| 56,8 sampai 92,3 | 1,3 |
| 92,3 sampai 120,8 | 2,2 |
| 120,8 sampai 142,1 | 2,7 |
| 142,1 sampai 170,5 | 3,1 |
| 170,5 sampai 227,3 | 3,6 |
| 227,3 sampai 284,1 | 4,4 |
| 284,1 sampai 340,9 | 5,3 |
| 340,9 sampai 454,6 | 6,2 |
| 454,6 sampai 568,2 | 7,1 |
| 268,2 sampai 824,0 | 8,9 |
| 824, 0 sampai 1.051,3 | 10,7 |
| 1051,3 sampai 1.307,0 | 12,4 |
| 1307,0 sampai 1.619,5 | 14,2 |
| 1619,5 sampai 2.130,9 | 17,8 |
| 2130,9 sampai 2.689,2 | 21,3 |
| 2689,2 sampai 3.267,4 | 24,9 |
| 3.267,4 sampai 3.977,7 | 28,4 |
| 3.977,7 sampai 4.488,0 | 42,6 |
| 4.688,0 sampai 5.465,1 | 56,8 |
| 5.465,1 sampai 7.273,5 | 85,2 |
| 7.273,5 sampai 13.688 | 113,6 |
| 13.688 sampai 22.730 | 170,5 |
| 22.730 keatas | 227,3 |

Catatan : Tingkat mutu lulus = 1

8) Tebal gelas minimum

Botol untuk keperluan farmasi harus memenuhi tebal gelas minimum

Tabel 12. Tebal Gelas Minimum

| Isi (ml) | Botol Penampang Bulat & Lonjong (mm) | Botol Penampang Persegi (mm) |
|----------|--------------------------------------|------------------------------|
| 0-100 | 0,9 | 1,0 |
| 100-230 | 1,0 | 1,1 |
| 230-500 | 1,1 | 1,1 |
| 500-1125 | 1,3 | 1,3 |
| >1125 | 1,5 | 1,5 |

Tingkat mutu lulus =1

Catatan : Pengujian dilakukan bersama pengujian cacat rupa.

d. Cara Pengambilan Contoh/ Teknik Sampling

- 1) Cara pengambilan contoh digunakan dan berlaku untuk pengujian-pengujian tegangan dalam, tegangan hydrotastik, kejutan suhu cacat tampak, kesalahan ukuran dan dimensi.

Pengambilan contoh untuk pengujian-pengujian harus dilakukan secara acak yang merata dari jumlah kelompok barang yang dinilai. Untuk pengujian tegangan dalam yang dipengaruhi oleh annealing dan cord maka contoh harus diambil dari kelompok.

- 2) Pengambilan contoh untuk tingkat mutu lulus yang telah ditetapkan harus memenuhi jumlah yang dipersyaratkan dalam farmakope untuk pengambilan contoh cara tunggal dan contoh cara ganda, sekaligus dengan batas-batas lulus/ditolak untuk masing-masing tingkat mutu lulus.

Untuk menguji tebal minimum dinding tidak perlu contoh khusus karena ini dilakukan sekaligus bersama pengujian cacat rupa.

II. PLASTIK

Plastik merupakan polimer dengan BM tinggi dengan berbentuk padat. Plastik (polimer) dibagi dalam dua kategori :

- a. Thermoplastik padat pada temperatur kamar tetapi dapat lunak dengan panas dan tekanan.
- b. Thermosetting plastik (thermoset), stabil terhadap panas.

Beberapa keuntungan dari panas plastik, antara lain :

- a. Relatif murah
- b. Lebih ringan
- c. Tahan terhadap benturan mekanis
- d. Fleksibel
- e. Beberapa jenis plastik bersifat transparan

III. KARET

Penutup untuk wadah sediaan pada urnumnya menggunakan karet. Penutup karet ini memberikan kemudahan untuk pengambilan isinya, serta tetap dapat memberikan perlindungan isi nya dari pengaruh luar. Persyaratan karet sebagai penutup :

- a. Fisika, antara lain : elastis, tidak melepaskan partikel
- b. Kimia, tidak melepaskan zat kimia ke dalam isi/larutan.

Dikenal ada dua macam karet

- a. Karet alam
- b. Karet sintetis

VALIDASI

Definisi validasi adalah Suatu tindakan pembuktian dengan cara yang sesuai bahwa tiap bahan, proses, prosedur, kegiatan, system, perlengkapan, atau mekanisme yang digunakan dalam produksi dan pengawasan senantiasa mencapai hasil yang diinginkan. Maksud dan Tujuan validasi adalah

1. Mengidentifikasi parameter proses yang kritis.
2. Menetapkan batas toleransi yang dapat diterima (acceptable) dari masing-masing parameter proses yang kritis.
3. Memberi cara/metode pengawasan terhadap proses yang kritis.

Obyek atau Komponen Validasi :

1. Fasilitas/Bangunan
2. Prosedur analisis
3. Bahan awal
4. Tahap pembuatan
5. Operator
6. Peralatan
7. Sistem penunjang (yang kritis)

PERCOBAAN 1. PENCUCIAN DAN STERILISASI KARET

TUJUAN : Mahasiswa mampu memahami tahapan-tahapan dalam proses pencucian dan sterilisasi karet, ampul, vial dan botol infus

ALAT : Autoclave, Oven, Glass ware

BAHAN : Natrium karbonat 0,5%, Tepol 1% Aquadest Alkohol, HCl encer

PROSEDUR KERJA :

A. Pencucian Tutup karet

1. Tutup karet direndam dalam larutan HCl 2% selama 2 (dua) hari
2. Selanjutnya cairan perendam diganti dengan larutan I (tepol 1% + Na-Karbonat 0,5%) dan perendaman dilanjutkan selama 1 (satu) hari.
3. Larutan I diganti yang baru, selanjutnya tutup karet dididihkan dalam larutan tersebut.
4. Tindakan (3), diulang minimal 3 kali sampai larutan kelihatan jernih dan bersih.
5. Setelah bersih tutup karet dimasukkan ke beaker gelas dan ditambahkan aqua p.i blanko (dipastikan aqua p.i. nya tidak mempunyai serapan pada rentang panjang gelombang UV), autoclave suhu 121°C, 30 menit
6. Selanjutnya aqua p.i yang dipakai untuk mengautoclave tersebut dilihat profil spektrumnya (absorbansinya) pada panjang gelombang UV (200 – 400 nm) dan dibandingkan dengan profil absorbansi aqua p.i larutan blanko).
7. Tutup karet kemudian dibilas dengan larutan II (spirituss dilutus + aqua p.i. aa)
8. Terakhir tutup karet dibungkus kertas 2 lapis kemudian diautoclave pada suhu 121°C selama 30 menit.

B. Pencucian ampul/vial/botol infus (glassware)

1. Ampul/vial/botol infus dicuci dengan HCl encer
2. Ampul/vial/botol infus dididihkan dengan larutan I sama banyak
3. Diulang langkah no.2 sampai diperoleh filtrat yang jernih

4. Filtrate yang diperoleh dilihat profil absorbansinya (profil absorbansi aqua p.i dibandingkan dengan profil absorbansi larutan blanko)
5. Cucilah ampul/vial/botol infus dengan aquadest, kemudian disterilisasi dengan panas basah atau panas kering:
 - a. Untuk panas basah dibungkus dengan kertas seperti prosedur tutup karet di atas.
 - b. Untuk panas kering dibungkus dengan aluminium foil dua lapis kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 200°C selama 1 (satu) jam.

PERTANYAAN :

1. Sebutkan macam-macam tipe wadah gelas dan jelaskan bentuk sediaan yang dapat dikemas di dalamnya!
2. Jelaskan maksud tahapan percobaan di atas!
3. Sebutkan macam-macam wadah sediaan steril dan jelaskan keuntungan dan kerugiannya!
4. Sebutkan kontrol kualitas untuk karet dan wadah gelas!

PERCOBAAN 2. UJI ALKALINITAS GELAS

- TUJUAN : Untuk mengetahui ketahanan gelas terhadap serangan kimiawi preparat farmasi yang disimpan dalam botol gelas
- ALAT : Autoclave, Lumpang dan alu baja, Pengayak baja nomor 20, 40, dan 50, Alat-alat gelas
- BAHAN : Air kemurnian tinggi, Larutan metil merah, H₂SO₄ 0,02 N, Aceton

PROSEDUR KERJA :

- A. Uji serbuk kaca gelas tipe 1 (Farmakope Indonesia Edisi V halaman 1619).
Apakah gelas yang digunakan memenuhi persyaratan gelas tipe 1?
- B. Uji ketahanan kaca terhadap air pada suhu 121⁰C (FI V halaman 1621)
1. Pilih secara acak sejumlah wadah (sesuai ketentuan Farmakope Indonesia edisi V halaman 1620) yang telah dibilas 2x dengan air murni!
 2. Periksa hasil volume titrasi dengan ketentuan Farmakope Indonesia Edisi V yang tertera di halaman 1621!

PERTANYAAN :

1. Apa perbedaan uji serbuk kaca dengan uji ketahanan kaca?
2. Berapa batasan uji serbuk kaca maupun ketahanan kaca pada tiap tipe wadah gelas?

PERCOBAAN 3. PEMBUATAN INJEKSI THIAMIN HIDROCLORID

- TUJUAN : Agar mahasiswa memahami, mampu dan terampil membuat injeksi thiamin hidoclorid dan uji sterilitasnya
- ALAT : Autoclave Glassware Timbangan , Sduit
- BAHAN : Thiamin hidoclorid, Aqua p.i., Karbo adsorben, BHI

FORMULA :

R/ Thiamin hidoclorid 10
Aqua p.i. ad 100 ml

- A. Susunlah spesifikasi sediaan injeksi sesuai Farmakope Indonesia V!
- B. Prosedur kerja :

METODE ASEPTIS (*seluruh kegiatan dilakukan dalam ruang aseptis*)

1. Hitung tonisitas larutan yang akan dibuat dengan metode penurunan titik beku!
2. Sterilkan alat dan bahan yang digunakan sesuai dengan karakter masing-masing dan masukkan dalam LAF
3. Larutkan thiamin hidoclorid dengan sebagian aqua p.i!
4. Gojok larutan dengan karbo adsorben 0,1% yang telah diaktifkan 5-10 menit, diamkan kemudian saring hingga jernih.
5. Sterilisasi larutan dengan metode filtrasi dan masukkan larutan ke dalam vial dan tutup kemasanya dengan etiket volume 2 ml dengan kadar 10%
6. Periksa larutan terhadap kebocoran (Farmakope Indonesia) pemeriksaan visual terhadap partikel asing (petunjuk operasional CPOB 2012), Uji kejernihan dan warna larutan (<881> Farmakope Indonesia Edisi V) dan Penetapan volume injeksi dalam wadah (<1131> Farmakope Indonesia Edisi V)!

METODE NONASEPTIS (STERILISASI AKHIR)

1. Hitung tonisitas larutan yang akan dibuat dengan metode penurunan titik beku!
2. Larutkan thiamin hidoclorid dengan sebagian aqua p.i

3. Goyok larutan dengan karbo adsorben 0,1 % yang telah diaktifkan 5-10 menit, diamkan kemudian saring hingga jernih.
 4. Masukkan larutan ke dalam ampul dengan dosis sekali pakai (cek dosis Thiamin HCl), tutup dan sterilkan dalam autoclave 121⁰C selama 30 menit.
 5. Periksa larutan terhadap kebocoran (Farmakope Indonesia), pemeriksaan visual terhadap partikel asing (petunjuk operasional CPOB 2012), Uji kejernihan dan warna larutan (<881> Farmakope Indonesia Edisi V) dan Penetapan volume injeksi dalam wadah (<1131> Farmakope Indonesia Edisi V)!
- C. Evaluasi sediaan berdasar Farmakope Indonesia V (yang dikerjakan saat praktikum)
1. Penetapan pH (cek lampiran Farmakope Indonesia V, 1071),
 2. Uji sterilitas jika satu betas produksi sebanyak 1000 wadah (seluruh kegiatan dilakukan di dalam LAF)
 - a. Siapkan sampel yang telah diaseptiskan dalam ruang LAF
 - b. Buka tutup sampel, gunakan spuit steril untuk mengambil isi sampel dan masukkan dalam media BHI.
 - c. Tutup media yang sudah di treatment, inkubasikan dalam incubator pada suhu optimal.
 - d. Amati adanya pertumbuhan bakteri setelah inkubasi 24 jam.

PERTANYAAN

1. Jelaskan kerja aseptis dan non aseptic dan berikan contohnya!
2. Mengapa larutan parenteral harus isotonis!
3. Sebutkan cara-cara depirogenasi dan bagaimana uji pyrogen?
4. Sebutkan media yang cocok untuk uji sterilitas
5. Berapa volume kelebihan yang harus di tambahkan pada sediaan injeksi, dan mengapa hal ini dilakukan ?
6. Berapa syarat pH sediaan injeksi thiamin HCl?, mengapa boleh tidak isohidris?

PERCOBAAN 4. PEMBUATAN INFUS RINGER

TUJUAN : Mahasiswa mampu memahami dan mampu membuat infus ringer.

ALAT : Penangas Air, Glassware, Timbangan

BAHAN : NaCl, KCl, CaCl₂ . 2 H₂O , Aqua p.i., Karbo adsorben, HCl 0,1 N
NaOH 0,1 N

FORMULA

| | |
|--------------------------------------|--------|
| R/ NaCl | 0,6 |
| KCl | 0,03 |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 0,01 |
| Aqua p.i. ad | 100 ml |

A. Susunlah spesifikasi sediaan injeksi sesuai Farmakope Indonesia V!

B. Prosedur kerja :

1. Hitunglah tonisitas larutan dengan metode penurunan titik beku dan kesetaraan NaCl! jika tidak isotonis, maka buatlah menjadi isotonis!
2. Buat air bebas CO₂, kemudian larutkan semua bahan dalam air bebas CO₂ yang telah dingin
3. Cek pH larutan antara 5-7, jika kurang asam ditambah HCl 0,1 N sedangkan bila kurang basa ditambah NaOH 0,1 N
4. Tambahkan sisa air bebas CO₂
5. Gojok larutan dengan karbo adsorben aktif 0,1 %, diamkan, saring hingga jernih
6. Masukkan larutan dalam wadah yang sesuai dan tutup
7. Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit.
8. Periksa larutan terhadap kebocoran (Farmakope Indonesia), pemeriksaan visual terhadap partikel asing (petunjuk operasional CPOB 2012), Uji kejernihan dan warna larutan (<881> Farmakope Indonesia Edisi V) dan Penetapan volume injeksi dalam wadah (<1131> Farmakope Indonesia Edisi V)!
9. Beri etiketnya

1. Sebutkan semua evaluasi sediaan berdasar Farmakope Indonesia V
2. Penetapan pH (cek lampiran Farmakope Indonesia V, 1071)
3. Uji sterilitas jika 1 betas produksi sebanyak 500 wadah (seluruh kegiatan dilakukan di dalam LAF)

Siapkan sampel yang telah diaseptiskan dalam ruang LAF

- c. Buka tutup sampel, gunakan spuit steril untuk mengambil isi sampel dan masukkan dalam media BHI.
- d. Tutup media yang sudah di treatment, inkubasikan dalam incubator pada suhu optimal.
- e. Amati adanya pertumbuhan bakteri setelah inkubasi 24 jam.

PERTANYAAN :

1. Jelaskan tujuan pemberian larutan elektrolit!
2. Tuliskan beberapa cara menghitung (rumus) tonisitas dan terangkan arti masing-masing dalam rumus tersebut!
3. Sebutkan beberapa bahan yang sering ditambahkan dalam pembuatan larutan parenteral dan berikan contohnya!
4. Apa tujuan penggunaan karbo adsorben, bagaimanakah usaha yang dilakukan agar karbo adsorben bekerja lebih efektif, Jelaskan!
5. Jelaskan perbedaan syarat sediaan infus dan injeksi!

PERCOBAAN 5. PEMBUATAN TETES MATA DAN SALEP MATA NA SULFASETAMID

- TUJUAN : Mahasiswa dapat memahami dan mampu membuat tetes mata dan salep mata Natrium Sulfasetamid
- ALAT : **Tetes mata** : *Glassware*, Timbangan
Salep mata : LAF, Oven, Peralatan gelas, Penangas air, Timbangan, Inkubator, Peralatan porselen, Sudip
- BAHAN : **Tetes mata** : Na. Sulfasetamid, Asam borat, Natrium Tetra Borat, Aq. Destilata, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N
Salep mata: Na. Sulfasetamid, Parafin Cair, Vaseline kuning, Na Karbonat, Aquadest, Alkohol, Tepol

PEMBUATAN TETES MATA NATRIUM SULFASETAMID

Tiap 10 ml mengandung :

| | |
|---------------------|--------|
| R/ Na. Sulfasetamid | 10% |
| Asam borat | 150 mg |
| Na. Tetra Borat | 30 mg |

- A. Susunlah spesifikasi sediaan injeksi sesuai Farmakope Indonesia V!
- B. Prosedur Kerja
1. Hitung tonisitas tetes mata menggunakan metode penurunan titik beku!
 2. Larutkan asam borat dan natrii tetra borat dalam sebagian aquadest
 3. Larutkan Natrium Sulfasetamid dalam sisa aquadest, kemudian campurkan pada larutan 1
 4. Lakukan sterilisasi sediaan tetes mata!
 5. Masukkan wadah dan beri etiket!
 6. Lakukan uji sterilitas dengan menyiapkan sejumlah sampel jika dalam 1 betas diproduksi sebanyak 1000 wadah!
 7. Periksa larutan terhadap kebocoran (Farmakope Indonesia), pemeriksaan visual terhadap partikel asing (petunjuk operasional CPOB 2012), Uji kejernihan dan

warna larutan (<881> Farmakope Indonesia Edisi V)!

1. Evaluasi sediaan berdasar Farmakope Indonesia V
2. Uji sterilitas jika dalam 1 betas diproduksi sebanyak 1000 wadah! (seluruh kegiatan dilakukan di dalam LAF)

Siapkan sampel yang telah diaseptiskan dalam ruang LAF

- a. Buka tutup sampel, gunakan spuit steril untuk mengambil isi sampel dan masukkan dalam media BHI.
- b. Tutup media yang sudah di treatment, inkubasikan dalam incubator pada suhu optimal.
- c. Amati adanya pertumbuhan bakteri setelah inkubasi 24 jam

PERTANYAAN :

1. Sebutkan persyaratan yang harus dipenuhi untuk sediaan tetes mata.
2. Apakah tetes mata harus bebas pyogen? Jelaskan!
3. Sebutkan macam-macam bentuk sediaan untuk pengobatan mata.
4. Sebutkan pemeriksaan yang dilakukan untuk sediaan tetes mata.
5. Sebutkan keuntungan dan kekurangan penggunaan bentuk tetes/larutan dari bentuk lain (mis. Salep) pada pengobatan mata!

PEMBUATAN SALEP MATA NATRIUM SULFASETAMID

Dibuat salep mata sebanyak 1000 tube @5gram, dalam setiap gram salep mengandung:

| | |
|------------------|--------|
| Na. Sulfasetamid | 25 mg |
| Vaselin kuning | 0,475g |
| Parafin cair | 0,5 g |

PROSEDUR KERJA

1. Sterilisasi Alat

a. Sterilisasi *glass ware*

- 1) Pipet, sendok, mortir, stamper, petri dish dan glassware lainnya dicuci dengan HCl 0,1 N.
- 2) Lalu glass ware diatas dididihkan dengan larutan I (tepol 1% + Na Karbonat 0,5%).
- 3) Perlakuan pendidihan dengan larutan I diulang sebanyak dua kali, lalu glass ware dicuci dengan aquades.
- 4) Glass ware yang telah bersih dipanaskan di dalam oven (menggunakan aluminium foil) pada suhu 200°C selama 1 jam.

b. Sterilisasi *Porcelen Ware*

- 1) *Porcelen Ware* dicuci dengan aquades.
- 2) *Porcelen Ware* direndam dengan alkohol 75% selama 15 menit.
- 3) Kemudian perendamnya diganti, porselen direndam dalam alkohol 96% selama, dua puluh lima menit.
- 4) Lalu *Porcelen Ware* diangkat dari rendaman dan dicuci dengan aquades kemudian dibungkus dengan aluminium foil dan dioven pada suhu 150°C selama dua setengah jam.

c. Sterilisasi Tube (yang terbuat dari aluminium)

- 1) Tube dicuci dengan larutan I (Tepol 1% + Na-Karbonat 0,5%).
- 2) Lalu Tube dicuci dengan aquades dan selanjutnya tube dibungkus dengan aluminium foil di oven pada 150° C selama dua setengah jam.

- d. Persiapan ruang LAF untuk kerja aseptis

Ruang LAF disterilisasi dengan cara menyemprotkan alkohol 70% ke sekeliling ruangan, sampai ruangan (sudut-sudut) terkena alkohol, kemudian didiamkan selama 30 menit. Setelah itu lampu UV dinyalakan selama 30 menit, hidupkan fan setelah lampu UV dimatikan.

2. **Sterilisasi Bahan**

- a. Na-Sulfasetamid dibungkus dengan aluminium foil, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 150°C, selama dua setengah jam.
- b. Basis salep yang merupakan campuran dari vaselin dan paraffin dipanaskan dalam oven pada suhu 170°C, selama satu jam.
- c. Sebelum dilakukan pembuatan salep lakukan cek sterilitas terhadap basis salep, zat aktif, alat).
- d. Cek sterilitas alat dan wadah dengan meneteskan steril WFI dalam tube, porselen dan *glass ware*, ratakan ke seluruh permukaan, kemudian air bilasan diteteskan ke BHI dan di inkubasi selama 24 jam.

3. Cara Pembuatan

- a. Sebelum salep dibuat, pastikan bahan-bahan dasar salep (zat aktif dan basis) dalam keadaan steril.
- b. Pembuatan salep dilakukan didalam LAF.
- c. Na-Sulfasetamid digerus (sampai halus) di mortir, dan salep yang terbentuk nantinya tidak akan mengandung partikel kasar.
- d. Basis campuran antara vaselin dan paraffin dibuat menjadi meleleh dan kemudian sedikit demi sedikit dicampurkan kedalam Na Sulfasetamid, aduk sampai benar-benar homogen.
- e. Setelah homogen, masukkan ke dalam tube yang sudah steril lalu di tutup.

4. Uji Sterilitas salep.

- a. Seluruh uji sterilitas dilakukan di LAF.
- b. Siapkan sampel sesuai dengan jumlah yang di produksi
- c. Salep dikeluarkan dari tube dan digoreskan pada BHI padat, kemudian BHI diinkubasi selama 24 jam.
- d. Sterilitas LAF diuji dengan memaparkan media agar BHI pada LAF yang sebelumnya telah disterilkan selama 30 menit, lalu media agar BHI ditutup dan diinkubasi selama 24 jam.
- e. Pada uji sterilitas ini suhu inkubator yang dipakai untuk inkubasi adalah 37°C.

PERCOBAAN 6. VALIDASI

TUJUAN : Mahasiswa mampu memahami tahapan-tahapan dalam proses validasi metode sterilisasi

ALAT : *Autoclave*, Oven, LAF (*Laminar Air Flow*), *Glassware*

BAHAN : Aquades, BHI

PROSEDUR KERJA:

A. Validasi LAF

1. Validasi kecepatan udara LAF
 - a. Lakukan pembersihan dan desinfeksi ruangan LAF dengan etanol 70%
 - b. Letakan anemometer di depan HEPA filter
 - c. Hidupkan lampu dan LAF
 - d. Ukur kecepatan aliran udara dalam LAF (0,45 m/s)
2. Validasi sterilitas udara LAF
 - a. Lakukan pembersihan dan desinfeksi ruangan LAF dengan etanol 70%
 - b. Hidupkan lampu dan LAF
 - c. Letakkan Piring petri yang berisi media diletakkan di dalam LAF pada bagian yang ada aliran HEPA filter selama 2-4 menit (terpapar)
 - d. Kemudian inkubasi media tersebut selama 18-24 jam dalam inkubator.
 - e. Cek sterilitasnya
3. Untuk mengecek sterilitas dinding LAF
 - a. Lakukan pembersihan dan desinfeksi ruangan LAF dengan etanol 70%
 - b. Media dalam cawan petri yang berbentuk cembung ditempelkan ke lantai atau dinding bagian dalam LAF kemudian ditutup.
 - c. Media dalam cawan diinkubasi selama 18-24 jam dalam inkubator
 - d. Cek sterilitasnya

B. Validasi Metode Sterilisasi dengan Autoclave

1. Dibuat masing-masing 2 buah sediaan berupa aquades dalam botol infus, vial dan ampul.
2. Masing-masing sediaan diautoclave dengan suhu yang sama dengan waktu yang berbeda (suhu 121°C, waktunya 20 menit dan 30 menit)
3. Dicek sterilitas aquades dalam masing-masing wadah dengan media BHI (preparasi di dalam ruang aseptis)
4. Inkubasi media BHI yang sudah diisi sampel sediaan selama 24 jam.

C. Validasi Metode Sterilisasi menggunakan Oven

1. Wadah vial, ampul dan gelas beker masing-masing 2 buah disterilkan dalam oven dengan suhu yang sama dengan waktu yang berbeda (suhu 180°C dengan waktu 30 menit dan 60 menit).
2. Masing-masing wadah dibilas dengan *steril WFI (Water for Injection)* pada bagian dalamnya dan hasil bilasan dimasukkan dalam media BHI
3. Inkubasi media BHI selama 24 jam
4. Cek sterilitasnya

PERTANYAAN:

1. Berikan contoh validasi proses pada produk sediaan steril
2. Apa beda validasi dengan kalibrasi

PEMBAGIAN MATERI PRAKTIKUM

| No | Minggu ke- | Acara Praktikum | PIC |
|-----------------------|-------------------|--|---|
| 1 | 1 | Asistensi General test | Dosen Jaga Koordinator Praktikum (GF) |
| 2 | 2 | Pretest P1 (Pencucian dan sterilisasi | Dosen Jaga |
| 3 | 3 | Praktikum P1 | Dosen Jaga |
| 4 | 4 | Pretest P2 (Alkalinitas Gelas) | Dosen Jaga |
| 5 | 5 | Praktikum P2 | Dosen Jaga |
| 6 | 6 | Pretest P3 (Pembuatan injeksi Thiamin HCl) | Dosen Jaga |
| 7 | 7 | Praktikum P3 | Dosen Jaga |
| UTS | | | |
| 8 | 8 | Pretest P4 (Pembuatan Infus Ringer) | Dosen Jaga |
| 9 | 9 | Praktikum P4 | Dosen Jaga |
| 10 | 10 | Pretest P5 (Pembuatan Tetes mata dan salep mata) | Dosen Jaga |
| 11 | 11 | Praktikum P5 | Dosen Jaga |
| 12 | 12 | Pretest P6 (Validasi) | Dosen Jaga |
| 13 | 13 | Praktikum P6 | Dosen Jaga |
| 14 | 14 | Presentasi dan Review | Dosen Jaga |
| UAS (Responsi) | | | |

DAFTAR PUSTAKA

- B POM RI. 2018. “Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 34 Tahun 2018 Tentang Cara Pembuatan Obat Yang Baik.” *Bpom*, 70–73.
- Commission, European. 2020. “Annex 1 Draft 2020: Manufacture of Sterile Medicinal Products.” *EudraLex Volume 4: EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use.*, 1–52.
- Kemendes RI. 2008. “Farmakope Indonesia Edisi V.” *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*, 1105. ???
- . 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI. Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Peraturan BPOM No 14 Tahun 2021. 2021. “Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.” *Bpom Ri* 11: 1–16.
- World Health Organization. 2011. “Annex 6 WHO Good Manufacturing Practices for Sterile Pharmaceutical Products.” *WHO Technical Report Series*, no. 961: 45–47. https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/GMPSterilePharmaceuticalProductsTRS961Annex6.pdf.

Link Youtube Video Prak. FTS Steril UAD

1. Penetapan Volume Injeksi pada Wadah (https://youtu.be/8k_H5Yx0vcA)
2. Uji Sterilitas Inokulasi Langsung (<https://youtu.be/rXTIqMvSp3s>)
3. Uji Bebas Partikel <https://youtu.be/GXPUZopWlv4>