

Regionalisasi Laboratorium Pengujian Sterilitas Badan POM sebagai upaya Efektivitas dan Efisiensi Sumber Daya

Bertha L. Lukita ^{a,1}, Henny Setiawati ^{a,2*}

^aBadan POM, Jalan Percetakan Negara No.23, Jakarta Pusat 10560

¹berthalo.lukita@pom.go.id; ²henny.setiawati@pom.go.id*

* corresponding author

ARTICLE INFO

ABSTRACT / ABSTRAK

Article history

Received: 20
September
2021

Revised: 12
December
2021

Accepted: 21
December
2021

DOI:

<https://doi.org/10.54384/eruditio.v2i1.96>

Produk sediaan steril merupakan sediaan yang harus memenuhi persyaratan fisika, kimia serta harus memenuhi persyaratan bebas dari mikroorganisme baik bakteri maupun jamur. Uji sterilitas digunakan sebagai salah satu parameter untuk pelulusan produk dari pabrik, walaupun bukan untuk menjamin bahwa satu betas produk memenuhi syarat steril. Sediaan steril dibuat di fasilitas yang memiliki karakteristik lingkungan yang ketat untuk memperkecil risiko kontaminasi mikroba ke dalam produk. Pengujian produk steril juga memerlukan kondisi aseptik dalam laminar kelas A di ruangan kelas B atau dilakukan di isolator untuk menghindari terjadinya kontaminasi mikroba (hasil positif palsu). Oleh karena itu pengujian sterilitas hanya dapat dilakukan pengulangan pengujian jika terdapat kesalahan pada laboratorium pengujian. Hasil uji sterilitas yang memberikan hasil tidak steril perlu direview apakah hasil yang diperoleh dihasilkan dari produk atau karena kesalahan laboratorium akibat personel atau pencemaran lingkungan selama pengujian. Fasilitas atau instrumen pengujian yang mahal menyebabkan laboratorium uji sterilitas tidak dimiliki oleh semua Balai Besar/Balai POM (BB/BPOM) saat ini. Regionalisasi laboratorium sterilitas di BB/BPOM yang direncanakan oleh Badan POM bertujuan untuk melakukan pengujian sterilitas yang memenuhi standar dan mengurangi biaya yang besar. Dengan adanya regionalisasi laboratorium pengujian sterilitas akan mengurangi biaya pembangunan fasilitas atau pembelian instrumen (isolator) serta meningkatnya kapasitas pengujian. Kajian ini dibuat berdasarkan studi literatur mencakup standar pengujian sterilitas berdasarkan pedoman nasional dan internasional, fasilitas pengujian sterilitas, kelemahan pengujian sterilitas serta investigasi hasil pengujian sterilitas dengan tujuan supaya laboratorium pengujian sterilitas yang terpilih di tiap region dapat memenuhi standar minimal yang diperlukan.

Sterile products are preparations that meet the physical, chemical requirements and free from microorganisms, both bacteria and fungi. The sterility test is used as one of the parameters for released products from a manufacturer, even though it is not to guarantee the entire of the batch meets the sterile requirements. Sterile preparations are manufactured in a facility that has strict environmental characteristics to minimize the risk of microbial contamination. Sterility testing is conducted under aseptic

conditions such as a class A laminar-air-flow cabinet located within a class B or an isolator to avoid false-positive results. Sterility testing is only be repeated if there is an error in laboratory testing. Non-sterile results must be reviewed to ensure the results are obtained from the product or due to laboratory errors such as operator or contamination from testing environment. Expensive testing facilities causes the testing is not conducted by all Provincial Laboratory. The regionalized laboratory is a concept to conduct sterility testing that meets national/international guidelines and reduces large costs. The regionalized laboratory will reduce the cost of building facilities or purchasing instruments, as well as increasing testing capacity. This assessment is based on a literature study covering sterility testing based on national and international guidelines, sterility testing facilities, limitations of sterility testing and investigation of sterility test failure with aim to meet minimal standard for regionalized laboratories in term of sterility testing.

Keywords: sterility testing, sterile, regionalized laboratory, microbial contamination
Kata Kunci: uji sterilitas, steril, regionalisasi laboratorium, kontaminasi mikroba

1. Pendahuluan

Pengujian sterilitas dilakukan untuk produk farmasi steril seperti infus, injeksi, tetes mata, atau alat kesehatan. Uji sterilitas memiliki banyak kekurangan seperti waktu inkubasi yang lama dan tergantung pada probabilitas (*Therapeutic Good Administration, 2006; Sutton, 2011; Pharmacoepial Forum, 2017*). Probabilitas dalam uji sterilitas adalah kemungkinan yang kecil untuk mendeteksi tingkat kontaminasi yang rendah walaupun dalam bets produk yang homogen (*European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2016*). Walaupun memiliki banyak kekurangan, uji sterilitas wajib dilakukan karena dipersyaratkan dalam regulasi (*Food and Drug Administration, 2004; Therapeutic Good Administration, 2006; Pharmaceutical Inspection Convention, 2007; World Health Organization, 2011; Ministry of Health, Labour and Welfare, 2016; Badan POM, 2018; United States Pharmacopeial Convention, 2019*). Hasil uji sterilitas terkadang akan menghasilkan hasil “tidak steril”. Hal tersebut mengharuskan untuk memeriksa kembali hasil uji laboratorium atau pemeriksaan proses produksi untuk menentukan mengapa muncul hasil uji sterilitas yang “tidak steril”. Dari hasil pemeriksaan tersebut akan disimpulkan penyebab uji yang tidak steril baik berasal dari kesalahan laboratorium atau terjadi kontaminasi dalam proses pembuatan produk (*Sandle, 2020*).

Pengujian sterilitas tidak dapat dilakukan pengulangan kecuali pengujian dinyatakan invalid karena kesalahan laboratorium. Pengujian sterilitas yang valid harus dilakukan di fasilitas pengujian yang terkontrol, baik jumlah partikel, jumlah mikroba dan kecepatan aliran udara (*Therapeutic Good Administration, 2006; Food and Drug Administration, 2004; Pharmaceutical Inspection Convention, 2007; World Health Organization, 2011; United States Pharmacopeial Convention, 2019*). Fasilitas pengujian sterilitas membutuhkan biaya yang besar, sehingga tidak memungkinkan semua Balai Besar/Balai POM memiliki fasilitas tersebut. Saat ini, sebagian besar fasilitas pengujian sterilitas terpusat di Pulau Jawa, sehingga belum adanya pemerataan kapasitas pengujian di wilayah tertentu. Badan POM, saat ini sedang melakukan pembahasan mengenai konsep regionalisasi untuk uji sterilitas. Konsep regionalisasi laboratorium adalah mengelompokkan BB/BPOM menjadi tujuh region, di mana tiap region memiliki laboratorium pengujian spesifik tertentu. Uji Sterilitas merupakan salah satu pengujian spesifik yang akan menggunakan konsep regionalisasi. Dengan adanya regionalisasi, maka Balai besar/Balai POM dalam satu region hanya membutuhkan satu fasilitas pengujian sterilitas, sehingga mengurangi biaya pembangunan fasilitas atau pembelian instrumen (isolator). Saat ini fasilitas pengujian sterilitas di Badan POM sebagian besar dimiliki di BB/BPOM di Pulau Jawa, sehingga dengan adanya regionalisasi laboratorium, maka kapasitas pengujian di luar Pulau Jawa dapat meningkat.

Tujuan dari kajian ini adalah untuk memberikan gambaran tentang pengujian sterilitas dan hal-hal yang perlu disiapkan untuk laboratorium Pengujian Sterilitas. Dari kajian ini dihasilkan rekomendasi untuk melengkapi laboratorium yang akan menjadi laboratorium spesifik dengan sumber daya manusia dan fasilitas yang memadai.

2. Metodologi

Sumber informasi yang berkaitan dengan uji sterilitas diperoleh melalui:

- a. Pedoman yang dikeluarkan oleh lembaga/organisasi internasional dan nasional (Badan POM) yang div melalui website institusi tersebut yaitu: <https://jdih.pom.go.id/>, <https://picscheme.org/>, <https://www.tga.gov.au/>, <https://www.fda.gov/> dan <https://www.who.int/>
- b. Pedoman berupa buku resmi yaitu Farmakope atau kompendial yang berlaku yaitu Farmakope Indonesia (FI), *British Pharmacopeia (BP)*, *European Pharmacopoeia*, *United States Pharmacopeia (USP)*.
- c. Mengumpulkan informasi dari jurnal atau artikel yang telah dipublikasikan dengan mesin pencari Google dan *Google Scholar* dengan kata pencarian “sterility testing failure”.
- d. Memperoleh informasi langsung mengenai regionalisasi laboratorium sterilitas yang sedang dalam tahap pembahasan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengujian Sterilitas

Pengujian sterilitas dilakukan untuk produk-produk farmasi steril dan alat kesehatan dengan label steril. Sterilitas suatu produk ditentukan oleh tidak adanya mikroorganisme yang berkembang biak secara aktif ketika diuji dalam media kultur tertentu. Di Indonesia, pengujian sterilitas harus didasarkan pada Farmakope Indonesia Edisi VI Tahun 2020 (Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020) dan persyaratan fasilitas uji tertuang pada Petunjuk Operasional Cara Pembuatan Obat yang Baik, Tahun 2012 (Badan POM, 2012). Pengujian sterilitas dilakukan pada produk akhir dan merupakan salah satu kontrol kualitas produk sebelum dipasarkan. Uji sterilitas tidak dapat digunakan untuk menunjukkan sterilitas seluruh bets, tetapi dapat membantu untuk mengidentifikasi produk yang tidak steril pada suatu bets produk. Metode pengujian harus sesuai dengan metode yang terdapat pada farmakope yang digunakan. Metode uji sterilitas terbagi dua yaitu metode penyaringan membran dan metode inokulasi langsung. Metode penyaringan membran menjadi pilihan utama bila produk dapat difiltrasi untuk mengurangi resiko negatif palsu. Pada umumnya, media yang digunakan adalah media *Soybean Casein Digest (SCD)* dan *Fluid Thioglycollate Medium (FTM)* (*Therapeutic Good Administration, 2006; Pharmaceutical Inspection Convention, 2007; European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2016; United States Pharmacopeial Convention, 2019; Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020*). Media alternatif dapat digunakan dan disesuaikan jika sifat produk atau metode pembuatan menyebabkan mikroorganisme sulit untuk tumbuh misalnya vaksin, produk darah dan lain-lain (*Pharmaceutical Inspection Convention, 2007*). Inkubasi dilakukan selama setidaknya selama 14 hari. Untuk produk-produk yang memberikan kekeruhan, maka diperlukan tambahan tahapan reinokulasi selama 4 hari (*United States Pharmacopeial Convention, 2019; Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020*). Sebagian besar hasil uji sterilitas “tidak steril” hanya terjadi pada salah satu dari dua media. Sebanyak 55% terjadi pertumbuhan mikroba pada media SCD dan 39% pada media FTM serta hanya 9% yang tumbuh pada kedua media. Pertumbuhan mikroba terjadi antara inkubasi pada 7 dan 14 hari (*Pharmaceuteial Forum, 2017*).

Jumlah pengambilan sampel uji sterilitas tertera pada Farmakope serta pedoman internasional. Berikut ini adalah jumlah pengambilan sampel yang tertera pada Farmakope (Tabel 1 dan 2). Tabel 1 menetapkan jumlah minimum sampel yang akan diambil dari setiap bets dan Tabel 3 mengatur

jumlah minimum sampel yang akan diuji dari setiap wadah.

Tabel 1. Jumlah Minimum Sampel yang diuji sesuai dengan Jumlah Bahan dalam Bets

Jumlah wadah dalam bets*	Jumlah minimum wadah yang diuji untuk 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 < 5 g	20 wadah
- Produk ruahan dalam kemasan > 5 g	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 di atas 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

Sumber: Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020

*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.

Pengujian sterilitas membutuhkan waktu pengujian yang lama (minimal selama 14 hari) serta jumlah sampel yang cukup banyak (Tabel 2). Hasil pengujian yang gagal akan menyebabkan kemungkinan dilakukan pengulangan pengujian sehingga membutuhkan jumlah sampel lebih banyak yang mengakibatkan meningkatnya biaya yang dibutuhkan. Pengulangan pengujian juga membutuhkan waktu yang lebih panjang karena waktu inkubasi yang lama sehingga memperlambat dalam penentuan kualitas produk yang beredar. Laboratorium BB/BPOM yang ditunjuk sebagai laboratorium spesifik sterilitas perlu memiliki Sumber Daya Manusia (SDM) dengan kemampuan untuk melakukan pengujian sterilitas yang didukung dengan fasilitas sesuai standar yang berlaku.

Tabel 2. Jumlah Minimum Sampel yang Digunakan 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 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

Sumber: Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020

3.2. Fasilitas Pengujian Sterilitas

Untuk mencegah kontaminasi, pengujian sterilitas harus dilakukan dalam kondisi aseptik yaitu dilakukan pada kondisi yang memenuhi kelas A atau ISO kelas 5 atau kelas 100 (Tabel 3, Gambar 1). Pengujian dapat dilakukan di laminar kelas A yang terletak di dalam ruang bersih kelas B atau isolator (Gambar 2). Berdasarkan regulasi nasional dan internasional, persyaratan ruangan pengujian sterilitas dijelaskan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Pengujian Sterilitas perlu dilakukan di kelas A yang berarti jumlah maksimum partikulat udara yang diperbolehkan adalah sebanyak 3.520 partikel/m³. Sedangkan batas cemaran mikroba yang disarankan di kelas A <1 cfu pada sampel udara per m³, <1 cfu pada cawan papir (Ø 90 mm) selama 4 jam, <1 cfu pada cawan kontak (Ø 55 mm) dan <1 cfu pada sarung tangan 5 jari.

Tabel 3. Jumlah maksimum partikulat udara yang diperbolehkan untuk tiap Kelas kebersihan

CPOB, Badan POM		EU-GMP		FDA Guidelines		ISO 14644-1	
Kelas	Operasional (jumlah maks. partikel ukuran ≥ 0,5 µm /m ³)	Kelas	Operasional (jumlah maks. partikel ukuran ≥ 0,5 µm /m ³)	Kelas	Operasional (jumlah maks. partikel ukuran ≥ 0,5 µm /m ³)	Kelas	Operasional (jumlah maks. Partikel ukuran ≥ 0,5 µm /m ³)
A	3.520	A	3.520	100	3.520	5	3.520
B	352.000	B	352.000	1.000	35.200	6	35.200
C	3.520.000	C	3.520.000	10.000	352.000	7	352.000
D	tidak ditentukan	D	tidak ditentukan	100.000	3.520.00	8	3.520.000

Sumber : FDA 2004; EU-GMP 2008; ISO 14644-1, 2015; Badan POM, 2018

Tabel 4. Batas mikroba yang disarankan untuk pemantauan area bersih

Kelas	Batas yang disarankan untuk cemaran mikroba			
	Sampel udara cfu/m ³	Cawan papir (Ø 90 mm) cfu / 4 jam	Cawan kontak (Ø 55 mm) cfu / plate	Sarung tangan 5 jari (cfu/sarung tangan)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Sumber : Badan POM, 2018



Gambar 1. Contoh Fasilitas ruang bersih (*cleanroom*) (gambar diambil dari: *Cleanroom Technology*)



Gambar 2. Contoh Instrumen Isolator (gambar diambil dari: *Isotechdesign*)

Laboratorium BB/BPOM yang ditunjuk sebagai laboratorium spesifik sterilitas perlu dilengkapi dengan pembangunan fasilitas atau pembelian instrument (isolator). Tanpa fasilitas yang memadai akan sulit untuk melakukan pengujian sterilitas dengan valid. Hal yang perlu diperhatikan juga adalah biaya pemeliharaan dari fasilitas yang ada dan kalibrasi berkala yang harus dilakukan.

3.3. Kelemahan uji sterilitas

Uji sterilitas memiliki kelemahan diantaranya adalah hanya untuk mendeteksi keberadaan bakteri dan jamur, waktu inkubasi yang panjang yaitu selama 14 hari, dan hasilnya tergantung pada probabilitas. Hasil uji sterilitas yang memenuhi syarat tidak dapat menggambarkan secara keseluruhan bahwa seluruh produk steril, hal ini disebabkan karena jumlah sampel yang kecil yang diuji sehingga secara statistik tidak memberikan populasi yang signifikan untuk menjamin seluruh

produk. Berikut adalah dasar perhitungan probabilitas hasil uji sterilitas (*Therapeutic Good Administration, 2006; Sutton, 2011*):

- Probabilitas unit terkontaminasi = λ
- Berdasarkan distribusi *Poisson*, peluang terambilnya unit steril (dilambangkan P) adalah $e^{-\lambda}$, atau $2,7182818^{-\lambda}$
-
- Jika kita mengambil 20 sampel dari 1 (satu) betas produksi, maka probabilitas lolos uji sterilitas adalah P^{20} dan kemungkinan uji sterilitas gagal adalah $1 - P^{20}$

Dari perhitungan di atas maka diperoleh nilai probabilitas seperti yang terdapat pada Tabel 5.

Tabel 5. Probabilitas hasil uji yang tidak lolos berdasarkan frekuensi sampel terkontaminasi

Frekuensi sampel terkontaminasi	Probabilitas hasil uji yang tidak lolos uji sterilitas
0,001	0,0198 – 2%
0,005	0,0952 – 9,5%
0,01	0,1813 – 18%
0,05	0,6321 – 63,2%
0,1	0,8647 – 86,5%
0,5	1 – 100%

Sumber : Sutton, 2011; Pharmacopeial Forum, 2017

Probabilitas yang kecil (pengujian yang tidak representatif) menunjukkan bahwa ketika hanya ada beberapa wadah sampel yang tidak steril dalam satu betas yang homogen dengan jumlah besar. Pengulangan uji sterilitas diperbolehkan jika pengujian dinyatakan invalid (*Therapeutic Good Administration, 2006; European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2016; Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, 2019; United States Pharmacopeial Convention, 2019; Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020*).

Probabilitas yang kecil untuk mendeteksi kontaminan dalam satu betas produksi menyebabkan pengujian sterilitas harus dilakukan oleh sumber daya manusia yang terlatih terutama untuk pengerjaan sampel-sampel yang membutuhkan pengerjaan yang rumit yang memungkinkan terjadinya kontaminasi selama pengerjaan.

3.4. Investigasi Kegagalan Uji Sterilitas

Menurut Data US-FDA tahun 2012-2019, penarikan produk steril paling banyak disebabkan oleh kontaminasi *Aspergillus spp*; mikroba Gram positif yaitu *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus circulans*, *Staphylococcus warneri* serta bakteri Gram negatif yaitu *Variovorax paradoxus*, *Herbaspirillum huttiense*, *Achromobacter xylooxidans*, *Sphingomonas paucimobilis* dan *Klebsiella pneumoniae* (Jimenez, L. 2019). Pada tahun 1998-2006 US-FDA melakukan penarikan 193 produk steril, dimana 7% karena kontaminasi kapang dan khamir (Jimenez, L. 2007). Selama kurun waktu 2004 hingga 2019, penarikan produk steril oleh US-FDA disebabkan kurangnya jaminan sterilitas (*sterility assurance*) (Sutton, Jimenez, L 2012; Jimenez, L. 2019). Laju pertumbuhan kontaminan uji sterilitas mungkin sangat lambat dan beberapa jenis mikroorganisme kadang tidak terlihat selama pemantauan lingkungan, misalnya *Propionibacterium acnes* (mikroaerofilik atau anaerobik) dan spesies *Cladosporium* (jamur *Dematiaceous*) (Muhvich, K.H. 2015).

Tabel 6. Identifikasi mikroba dari produk steril yang ditarik US-FDA pada tahun 2012-2019

No.	Mikroorganisme	2012-2019
1.	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1
2.	<i>Aspergillus spp</i>	4
3.	<i>Bacillus circulans</i>	1
4.	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1
5.	<i>Burkholderia cepacia</i>	0
6.	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	1
7.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
8.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0
9.	<i>Ralstonia picketti</i>	0
10.	<i>Staphylococcus warneri</i>	1
11.	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
12.	<i>Variovorax paradoxus</i>	1

Sumber : Jimenez, L. 2019

Untuk setiap hasil uji sterilitas yang memberikan hasil “tidak steril” harus dilakukan pemeriksaan lebih lanjut apakah hasil yang diperoleh benar-benar dihasilkan dari produk atau karena uji laboratorium yang invalid akibat pencemaran lingkungan selama pengujian atau karena kesalahan personil penguji (Sandle, 2020). Setiap isolat dari pengujian sterilitas harus diidentifikasi sampai tingkat spesies dan sangat disarankan untuk menggunakan teknik genotipe. Untuk mendukung hasil pengujian sterilitas, program pemantauan lingkungan uji sterilitas perlu dilakukan secara berkala untuk mengidentifikasi spesies yang terdapat pada laboratorium pengujian. Pengujian dinyatakan invalid jika satu atau lebih kondisi di bawah ini dipenuhi menurut EP 2016, BP 2019, USP 2019, FI 2020 (*European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2016; Medicines an Healthcare products Regulatory Agency, 2018; United States Pharmacopeial Convention, 2019; Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2020*):

- a. Terdapat ketidaksesuaian pada data pemantauan lingkungan secara mikrobiologi terhadap fasilitas uji sterilitas.
- b. Terdapat ketidaksesuaian terhadap prosedur uji yang digunakan pada saat pengujian
- c. Pada kontrol negatif terdapat pertumbuhan mikroba
- d. Hasil identifikasi mikroba yang diisolasi dari hasil uji menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba (beberapa mikroba) dapat dianggap berasal dari kesalahan pada bahan uji.

Beberapa aspek yang perlu ditinjau untuk hasil pengujian sterilitas yang tidak steril adalah (Sandle, 2020):

- a. Identifikasi kontaminan, dapat membantu menentukan sumber kontaminasi. Sebagai contoh adalah bakteri yang berasal dari kulit misalnya *Staphylococcus* atau *Micrococcus* dapat mengindikasikan aktivitas personel; *Corynebacteria* menunjukkan aktivitas personel serta *Bacillus* yang bersumber dari lingkungan.
- b. Prosedur uji sterilitas yang kompleks. Produk-produk steril seperti beku-kering, produk bervolume kecil, produk yang sulit larut membutuhkan teknik pengerjaan yang lebih rumit yang dilakukan oleh penguji, sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi
- c. Data pemantauan lingkungan. Rekaman data pemantauan lingkungan diperlukan dalam penentuan hasil uji yang tidak steril. Identifikasi hingga ke tingkat spesies mikroorganisme yang terdapat di lingkungan pengujian diperlukan untuk menentukan apakah suatu pengujian valid atau tidak. Pemantauan lingkungan harus dilakukan pada saat bekerja dan terdiri dari beberapa teknik pemantauan seperti pengambilan sampel udara aktif, pengambilan udara pasif (*settling plate*), kontak permukaan (*RODAC*) dan sarung tangan penguji.
- d. Riwayat uji sterilitas harus dipertimbangkan, terutama frekuensi kegagalan uji sterilitas. Hal ini akan memberikan informasi tentang keandalan pengujian dan lingkungan pengujian.

Apabila kegagalan uji sterilitas jarang terjadi dan lingkungan pengujian telah terbukti terkendali, maka investigasi dapat dilakukan ke lingkungan produksi (*Sandle, 2015*).

Kegagalan uji sterilitas membutuhkan waktu yang panjang untuk melakukan investigasi, karena memerlukan prosedur yang panjang untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang ditemukan hingga ke tingkat genus atau spesies. Laboratorium spesifik sterilitas harus memiliki sumber daya manusia yang terlatih dalam pengujian sterilitas serta dapat melakukan investigasi apabila ditemukan hasil uji yang positif. Personil laboratorium harus dapat mengidentifikasi mikroorganisme kontaminan serta mereview hasil pemantauan lingkungan pengujian.

3.5. Regionalisasi Laboratorium Uji Sterilitas

Badan POM saat ini sedang menyusun konsep regionalisasi laboratorium. Regionalisasi laboratorium adalah pengelompokan laboratorium berdasarkan region dan spesialisasi pengujian dalam rangka meningkatkan efektivitas dan efisiensi pengujian untuk mewujudkan pengujian yang unggul, inovatif dan adaptif terhadap perubahan lingkungan strategis pengawasan obat dan makanan. Regionalisasi laboratorium memiliki konsep klusterisasi, dimana dari seluruh wilayah di Indonesia terbagi menjadi tujuh region. Pembagian region berdasarkan dari kedekatan secara geografis serta kemudahan transportasi. Dalam satu region terdiri dari balai koordinator, balai spesifik tertentu dan balai anggota.

Uji Sterilitas merupakan salah satu pengujian spesifik. Balai POM yang ditunjuk sebagai balai spesifik untuk uji sterilitas memiliki tugas untuk melakukan pengujian sampel (parameter uji sterilitas) yang berasal dari balai anggota lain di dalam region tersebut. Dengan adanya regionalisasi, setiap BB/BPOM tidak perlu menyediakan fasilitas atau isolator, serta kebutuhan bahan habis pakai yang diperlukan untuk uji sterilitas. BB/BPOM dalam satu region hanya membutuhkan satu laboratorium sterilitas. Fasilitas pengujian yang sesuai standar akan menurunkan hasil positif palsu yang disebabkan oleh kesalahan laboratorium sehingga berdampak pada kecepatan hasil pengujian serta menurunkan penambahan biaya sampling. Dengan adanya regionalisasi laboratorium juga diharapkan dapat memperluas pengawasan produk-produk sediaan steril di seluruh Indonesia karena meningkatnya kapasitas pengujian khususnya di luar Pulau Jawa, serta pengujian sterilitas menjadi lebih efektif dan efisien karena hanya dilakukan di satu laboratorium BB/BPOM tertentu di setiap regionnya.

4. Kesimpulan

Pengujian sterilitas memerlukan fasilitas ruangan tertentu atau isolator untuk menghindari terjadinya kontaminasi mikroba (hasil positif palsu), sehingga membutuhkan biaya yang besar untuk pengadaan dan pemeliharaan fasilitasnya. Pengujian sterilitas juga membutuhkan anggaran sampling yang cukup besar karena jumlah sampel yang dibutuhkan cukup banyak dibandingkan pengujian mikrobiologi lain, sehingga fasilitas pengujian yang memadai sangat diperlukan untuk meminimalisir kegagalan uji sterilitas. Regionalisasi laboratorium untuk pengujian sterilitas yang akan dilaksanakan oleh BB/BPOM dilakukan untuk mengurangi biaya pembangunan fasilitas atau pembelian instrumen (isolator) sehingga lebih efektif dan efisien, mengurangi kemungkinan terjadinya hasil positif palsu serta meningkatnya kapasitas pengujian terutama di luar Pulau Jawa. Pengujian sterilitas juga memerlukan sumber daya manusia yang terlatih dengan baik untuk meminimalkan kegagalan pengujian yang disebabkan oleh penguji.

5. Rekomendasi

Dengan adanya regionalisasi laboratorium, Balai POM yang ditunjuk sebagai balai spesifik tetapi belum memiliki fasilitas pengujian dan belum pernah melakukan pengujian sterilitas, harus mengakselerasi untuk melengkapi fasilitas yang diperlukan sesuai dengan standar yang berlaku. Peningkatan kompetensi personel juga perlu dilakukan melalui pelatihan yang meliputi teknis

pengujian sterilitas, pemantauan lingkungan pengujian serta investigasi kegagalan hasil uji sterilitas.

Daftar Referensi

- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. (2013). Petunjuk Operasional Penerapan Cara Pembuatan Obat yang Baik Tahun 2012 Jilid I. ISBN 978-979-3707-78-5 (Jilid I).
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. (2018). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 tahun 2018 tentang Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik.
- Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- European Commission. (2008). *EU GMP Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Products*. https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/files/eudralex/vol-4/2008_11_25_gmp-an1_en.pdf (diakses pada tanggal 17 September 2021)
- European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. (2016). *EP Vol. 8.0: Sterility*. Strasbourg: EDQM.
- International Organization for Standardization. (2015). ISO 14644-1: *Cleanrooms and associated controlled environment – Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration*.
- Jimenez, L. (2007). Microbial diversity in pharmaceutical product recalls and environments. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 61, 383-399.
- Jimenez, L. (2019). Analysis of FDA Enforcement Reports (2012-2019) to Determine the Microbial Diversity in Contaminated Non-Sterile and Sterile Drugs. <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/518912-Analysis-of-FDA-Enforcement-Reports-2012-2019-to-Determine-the-Microbial-Diversity-in-Contaminated-Non-Sterile-and-Sterile-Drugs/> (diakses pada tanggal 17 September 2021)
- Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. (2018). *British Pharmacopoeia Volume V: Sterility Testing*. London: MHRA.
- Ministry of Health, Labour and Welfare. (2016.) *Japanese Pharmacopoeia 17th Ed. Sterility Test*. Tokyo
- Muhvich, K.H. (2015). *Successful Sterility Test Failure Investigations - A Practical Approach*. <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/173160-Successful-Sterility-Test-Failure-Investigations-A-Practical-Approach/> (diakses pada tanggal 17 September 2021)
- Pharmaceutical Inspection Convention. (2007). *Recommendation on Sterility Testing*. <https://picscheme.org/docview/3442>
- Pharmacopeial Forum. (2017). The development of compendial rapid sterility tests. Article in Pharmacopeial Forum: <https://www.researchgate.net/publication/319943401>
- Sandle, T. (2013). Sterility, Sterilisation and Sterility Assurance for Pharmaceuticals. Woodhead Publishing, pp 3, 8.
- Sandle, T. (2014). The Test for Sterility of Medicinal Products. *International Journal of Microbiology and Allied Sciences*, Vol 1 (1).
- Sandle, T. (2015). Investigating Sterility Test Failures. DOI: 10.13140/RG.2.1.2969.9688. <https://www.researchgate.net/publication/277141856> (diakses pada tanggal 16 September 2021)
- Sandle, T. (2020). How to Investigate Sterility Test Failures. <https://www.researchgate.net/publication/342109941>
- Sutton, S. (2011). Sterility Tests: Rapid Sterility Testing J. Moldenhauer (ed) PDA/DHI Publ pp 7-24 http://microbiologynetwork.com/content/file/sutton_the-sterility-tests.pdf (diakses pada tanggal 17 September 2021)
- Sutton, S.W., and L. Jimenez. (2012). A review of reported recalls involving microbiological control 2004-2011 with emphasis on FDA considerations of “Objectionable Organisms”. *American Pharmaceutical Review* 15, 42-57.
- Therapeutic Good Administration (TGA). (2006). Guidelines for sterility testing of therapeutic goods. <https://www.tga.gov.au/sites/default/files/manuf-sterility-testing-guidelines.pdf>. (diakses pada tanggal 17 September 2021)
- United States Pharmacopeial Convention. (2019). *USP 42 NF 37 Online: Sterility Testing*.
- United States Pharmacopeial Convention. (2019). *USP 42 NF 37 Online: Pharmaceutical Compounding Sterile Preparations*.

- U.S. Food and Drug Administration. (2004). Guidance on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing. <https://www.fda.gov/media/71026/download>. (diakses pada tanggal 17 September 2021).
- World Health Organization. (2011). Annex 6: WHO Good Manufacturing Practices for Sterile Pharmaceutical Products. *WHO Technical Report Series*, No. 96. <https://www.isotechdesign.com/product/pharmaceuticals/sterility-testing/>) (diakses pada tanggal 18 September 2021)
- https://www.cleanroomtechnology.com/news/article_page/Cleanroom_monitoring_with_image_documentation_for_safe_preparation_of_steriles/129174 (diakses pada tanggal 20 September 2021).