

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Mata

Mata merupakan organ pengelihatian yang sangat kecil dan amat halus. Organ pengelihatian tersebut terdiri atas:

1. Bola mata (*bulbus oculi*) dengan saraf optik (*nervus opticus*)

Bola mata mempunyai selaput yang terdiri atas tiga lapisan yaitu: lapisan luar yang sangat kenyal dan kuat yang disebut selaput lendir, lapisan dibawahnya atau lapisan tengah yang mengandung banyak pembuluh darah yang disebut selaput hitam. Di bawah selaput hitam terdapat lapisan dalam yang mengandung jaringan saraf yang disebut sebagai selaput jala (retina). Bagian depan selaput bola mata terdapat lapisan luar yang sangat bening, yang disebut selaput bening (kornea). Selaput putih di belakang selaput bening ditutupi di atasnya oleh selaput mata (*konjungtiva*). Selaput mata yang menutupi bola mata dibelakang selaput bening disebut konjungtiva bulber, sedangkan yang menutupi kelopak mata bagian dalam disebut konjungtiva palpebral (Oka 1993).

2. Alat penunjang

2.1 Kelopak mata (*palpebral*). Kelopak mata terdiri atas kelopak mata atas (*palpebral superior*) dan kelopak mata bawah (*palpebral inferior*). Di tepi kelopak mata terdapat bulu mata (Oka 1993).

2.2 Kelenjar air mata (*tear gland*). Air mata mengalir ke dalam pungta atas (*superior lacrimal puncta*) dan pungta bawah (*inferior lacrimal puncta*) dan kemudian sakus *lakrimalis* melalui kanallikuli atas dan bawah. Ductus lasolakrimalis berjalan dari sakus ke hidung. Drynase air mata merupakan suatu proses aktif. Tiap kedipan kelopak mata membantu memompa air mata melalui sistim ini (James, Chew, Bron 2006).

2.3 Otot penggerak bola mata. Otot penggerak bola mata ada 6 buah, yaitu 4 buah otot lurus (otot rektus) dan 2 buah otot miring (otot obliquus). 4 buah otot rektus yaitu: *rektus superior*, *rektus inferior*, *rektus medial*, dan *rektus lateral*. 2 buah otot miring yaitu: *obliquus superior* dan *inferior* (Oka 1993).

3. Rongga orbita (*cavum orbitae*)

Rongga orbita berbentuk piramid dengan puncaknya di belakang, basisnya di depan dan di dinding samping. Dinding rongga orbita terdiri atas tulang orbita. Diantara bola mata dan dinding orbita di dalam rongga orbita terdapat jaringan lemak dan jaringan ikat yang melindungi bola mata dari bahaya benturan yang datangnya dari luar (Oka 1993).

B. Konjungtivitis

Konjungtivitis adalah peradangan pada konjungtiva. Penyakit ini merupakan penyakit mata yang paling umum di dunia. Lokasinya, konjungtiva yang terpapar oleh banyak mikroorganisme dan faktor - faktor lingkungan lain yang mengganggu (Vaughan 2010). Penyakit ini bervariasi mulai dari hiperemia ringan dengan mata berair sampai konjungtivitis berat dengan banyak sekret purulen kental. Jumlah agen-agen yang patogen dan dapat menyebabkan infeksi pada mata semakin banyak, disebabkan oleh meningkatnya penggunaan obat - obatan topikal dan agen immunosupresif sistemik, serta meningkatnya jumlah pasien dengan infeksi HIV dan pasien yang menjalani transplantasi organ dan menjalani terapi immunosupresif (Hurwitz 2009).

Konjungtivitis terjadi karena bakteri yaitu inflamasi konjungtiva yang disebabkan oleh bakteri dengan keluhan mata merah, secret pada mata dan iritasi mata (James 2005). Patofisiologi konjungtivitis karena bakteri Jaringan pada permukaan mata dikolonisasi oleh flora normal seperti *streptococci*, *staphylococci* dan jenis *Corynebacterium*. Perubahan pada mekanisme pertahanan tubuh ataupun pada jumlah koloni flora normal tersebut dapat menyebabkan infeksi klinis. Perubahan pada flora normal dapat terjadi karena adanya kontaminasi eksternal, penyebaran dari organ sekitar ataupun melalui aliran darah (Rapuano 2008).

Penggunaan antibiotik topikal jangka panjang merupakan salah satu penyebab perubahan flora normal pada jaringan mata, serta resistensi terhadap antibiotik. Mekanisme pertahanan primer terhadap infeksi adalah lapisan epitel yang meliputi konjungtiva sedangkan mekanisme pertahanan sekundernya adalah sistem imun yang berasal dari perdarahan konjungtiva, lisozim dan imunoglobulin

yang terdapat pada lapisan air mata, mekanisme pembersihan oleh lakrimasi dan berkedip. Gangguan atau kerusakan pada mekanisme pertahanan ini dapat menyebabkan infeksi pada konjungtiva (Amadi 2009).

Konjungtivitis terjadi karena virus yaitu disebabkan oleh berbagai jenis virus, dan berkisar antara penyakit berat yang dapat menimbulkan cacat hingga infeksi ringan yang dapat sembuh sendiri dan dapat berlangsung lebih lama daripada konjungtivitis bakteri (Vaughan 2010).

Patofisiologi terjadinya konjungtivitis virus ini berbeda-beda pada setiap jenis konjungtivitis ataupun mikroorganisme penyebabnya (Hurwitz 2009). Konjungtivitis herpetic yang disebabkan oleh virus herpes simpleks (HSV) yang biasanya mengenai anak kecil dijumpai injeksi unilateral, iritasi, sekret mukoid, nyeri, fotofobia ringan dan sering disertai keratitis herpes. Konjungtivitis hemoragika akut yang biasanya disebabkan oleh enterovirus dan coxsackie virus memiliki gejala klinis nyeri, foto fobia, sensasi benda asing, hipersekresi airmata, kemerahan, edema palpebra dan perdarahan subkonjungtiva dan kadang-kadang dapat terjadi kimosis (Scott 2010).

Konjungtivitis terjadi karena jamur yaitu paling sering disebabkan oleh *Candida albicans*, *Sporothrix schenckii*, *Rhinosporidium serberi*, dan *Coccidioides immitis* dan merupakan infeksi yang jarang terjadi. Penyakit ini ditandai dengan adanya bercak putih dan dapat timbul pada pasien diabetes dan pasien dengan keadaan sistem imun yang terganggu (Vaughan 2010).

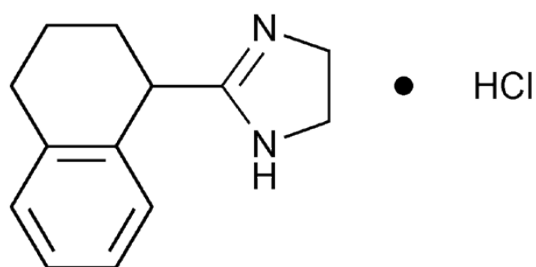
Konjungtivitis terjadi karena alergi yaitu bentuk alergi pada mata yang paing sering dan disebabkan oleh reaksi inflamasi pada konjungtiva yang diperantarai oleh sistem imun. Reaksi hipersensitivitas yang paling sering terlibat pada alergi di konjungtiva adalah reaksi hipersensitivitas tipe 1 (Majmudar 2010). Etiologi dan Faktor Resiko Konjungtivitis alergi dibedakan atas lima subkategori, yaitu konjungtivitis alergi musiman dan konjungtivitis alergi tumbuh-tumbuhan yang biasanya dikelompokkan dalam satu grup, kerato konjungtivitis vernal, keratokonjungtivitis atopik dan konjungtivitis papilar raksasa (Vaughan 2010).

Etiologi dan faktor resiko pada konjungtivitis alergi berbeda-beda sesuai dengan subkategorinya. Misalnya konjungtivitis alergi musiman dan tumbuh-

tumbuhan biasanya disebabkan oleh alergi tepung sari, rumput, bulu hewan, dan disertai dengan rinitis alergi serta timbul pada waktu-waktu tertentu. Vernal konjungtivitis sering disertai dengan riwayat asma, eksema dan rinitis alergi musiman. Konjungtivitis atopik terjadi pada pasien dengan riwayat dermatitis atopik, sedangkan konjungtivitis papilar rak pada pengguna lensa-kontak atau mata buatan dari plastik (Asokan 2007). Konjungtivitis parasit dapat disebabkan oleh infeksi *Thelazia californiensis*, *Loa loa*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*, *Schistosoma haematobium*, *Taenia solium* dan *Pthirus pubis* walaupun jarang (Vaughan 2010).

C. Obat Tetes Mata

Obat tetes mata (*Guttae ophthalmicae*) adalah sediaan steril larutan atau suspensi, digunakan untuk mata dengan cara meneteskan obat pada selaput lendir mata disekitar kelopak mata dan bola mata. Obat tetes mata yang digunakan merupakan obat tetes mata iritasi ringan yang dijual bebas dipasaran. Kandungan obat tetes mata yang dijual bebas dipasaran adalah Tetrahidrozoline HCl, oxymethazoline HCl dan naphazoline HCl. Obat tetes mata ini digunakan pada saat mata merah dalam keadaan terkena iritasi akibat debu, serbuk kecil berenang atau menggunakan kontak lensa. Penelitian menggunakan bahan aktif *tetrahidrozoline* HCl dosis bahan aktif yaitu sebanyak 0,05%.



Gambar 1. Struktur Tetrahidrozoline HCl (Vaughan 2010).

Tetrahidrozolin merupakan salah satu bentuk obat yang disebut *imidazolin* yang umumnya dijumpai pada produk obat tetes mata dan semprotan hidung yang dijual bebas. Bahan obat tetes mata digunakan untuk membantu mengurangi mata merah akibat iritasi mata ringan. Mata yang terpapar imidazolin dapat mengalami reaksi alergi. Keracunan tetrahidrozolin yang dilaporkan umumnya tidak

disebabkan oleh penggunaannya pada mata, tetapi bila seseorang menelan bahan ini, baik sengaja maupun tidak sengaja. Keracunan tetrahidrozolin dapat ditandai dengan berbagai macam tanda dan gejala. Beberapa gejala yang timbul dapat berupa kesulitan bernapas, penglihatan menjadi buram, bibir dan kuku berwarna biru, perubahan ukuran pupil, peningkatan tekanan darah lalu tekanan darah menjadi rendah, denyut jantung cepat, mual, muntah, sakit kepala, tremor, kejang, koma, dan penurunan suhu tubuh. Imidazolin mempunyai indeks terapeutik yang sangat sempit. Anak-anak yang menelan sekitar 24 tetes tetrahidrozolin dapat mengalami keracunan yang mengancam jiwa. Hal ini dapat terjadi secara tidak sengaja, oleh karena itu penyimpanannya harus sangat diperhatikan. Begitu pula pada orang dewasa, keracunan yang mengancam jiwa dapat terjadi bila seseorang menelan 5 - 15 mg tetrahidrozolin, yang setara dengan 15 - 20 botol obat tetes mata (BPOM 2015).

Bahan pengawet yang digunakan yaitu benzalkonium klorida dengan dosis 0,01%. Benzalkonium klorida adalah senyawa amonium kuarterner yang digunakan dalam formulasi farmasetikal sebagai antimikroba yang dalam aplikasinya sama dengan surfaktan kation lain, seperti *cetrimide*. Pengawet Benzalkonium klorida dalam obat tetes mata digunakan pada konsentrasi 0,01%-0,02% b/v. Kombinasi dengan pengawet atau eksipien lain 0,1 % b/v dinatrium edetat untuk meningkatkan aktivitas mikroba (Rowe 2009).

Rute paparan sangat berbahaya dalam kasus kontak mata (iritasi dan korosif), pada konsentrasi 2 - $\geq 10\%$ menyebabkan kerusakan pada kornea dan kebutaan. Konsentrasi $\geq 0,1\%$ menyebabkan keratitis, superficial desquamata, Reaksi inflamasi ditandai dengan kemerahan, berair, gatal-gatal. Benzalkonium klorida pada konsentrasi kurang dari 0,1% biasanya tidak menyebabkan gejala apapun. Paparan berulang pada bentuk larutannya dapat menyebabkan iritasi sementara dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan Paparan berulang atau berkepanjangan menyebabkan iritasi, kerusakan organ sasaran yaitu kerusakan kornea mata dan kebutaan (BPOM 2015).

D. Persyaratan Obat Tetes Mata

Persyaratan obat tetes mata yang baik meliputi :

1. Steril

Sterilisasi merupakan sesuatu yang penting. Larutan mata yang dibuat dapat membawa banyak organisme, yang paling berbahaya adalah *Pseudomonas aeruginosa*, Infeksi mata dari organisme ini yang dapat menyebabkan kebutaan. *Pseudomonas aeruginosa* khususnya berbahaya untuk penggunaan produk nonsteril di dalam mata ketika kornea dibuka. Bahan-bahan partikulat dapat mengiritasi mata, ketidaknyamanan pada pasien dan metode ini tersedia untuk pengeluarannya (Agoes 2009).

2. Isotonis

Isotonis dalam larutan mata, ketika sekresi lakrimal sekarang dipertimbangkan untuk mempunyai tekanan osmotik yang sama sebagai cairan darah, dan kemudian menjadi isotonis dengan 0,9% larutan natrium klorida, perhitungan untuk penyiapan larutan mata isotonis telah disederhanakan. Farmasis selanjutnya selalu menuntut, sebagai bagian dari praktek profesionalnya, untuk menyiapkan larutan mata yang isotonis (Agoes 2009).

3. Kejernihan

Larutan mata adalah dengan definisi bebas dari partikel asing dan jernih secara normal diperoleh dengan filtrasi, pentingnya peralatan filtrasi dan tercuci baik sehingga bahan-bahan partikulat tidak dikontaminasikan untuk larutan dengan desain peralatan untuk menghilangkan pengotor. Pengerjaan penampilan dalam lingkungan bersih (Syamsuni 2006).

4. Viskositas

Viskositas tetes mata dalam air mempunyai kerugian, oleh karena itu dapat ditekan keluar dari saluran konjungtiva oleh gerakan pelupuk mata. Oleh karena itu waktu kontak pada menurun. Viskositas yang meningkat dapat dicapai dengan distribusi bahan aktif yang lebih baik di dalam cairan dan waktu kontak lebih panjang. Tensid ditambahkan kedalam tetes mata bertujuan untuk memperbaiki daya pembasahan sehingga penestrasiannya meningkat. Tensid sering

memiliki kerja fisiologis sejati oleh karena itu penggunaannya agar berhati-hati (Agoes 2009).

5. Pengawet

Obat tetes mata harus diawetkan, maka dalam pembuatannya harus menggunakan bahan pengawet. Bahan pengawet yang digunakan harus memenuhi syarat yang telah ditetapkan khususnya dalam mengatasi problem kuman atau bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*). Bahan pengawet yang sering digunakan yaitu *thiomesal* (0,002%), garam *fenil merkuri* (0,002%) dan garam *benzalkonium* (0,002-0,01%), dalam kombinasinya dengan natrium asetat (0,1%). Pemilihan bahan pengawet dan penentuan konsentrasinya perlu diperhatikan tersangkutnya dengan bahan obat pembantu, material wadah, tutup dan dengan pH sediaan (Agoes 2009).

6. Pendaparan atau isohidris

Kenaikan pH dapat mengganggu kelarutan dan stabilitas obat. Idealnya, sediaan mata sebaiknya pada pH yang ekuivalen dengan cairan mata yaitu 7,4. Dalam prakteknya, ini jarang dicapai. pH dapat berkisar antara 3,5 - 8,5 dan mempunyai kapasitas tertentu (Syamsuni 2006).

E. Penggolongan Obat Tetes Mata

Penggolongan obat tetes mata berdasarkan efek farmakologi meliputi :

Anti inflamasi digunakan secara lokal (seperti tetesmata, salepmata, atau injeksi subkonjungtiva) atau secara oral dan sistemik memiliki peranan penting dalam pengobatan inflamasi segmen anterior termasuk yang disebabkan oleh pembedahan. Contoh obat anti inflamasi yaitu *Tetrahidrozolin HCl*, *Betametason*, *Prednisolon asetat* dan *Kromoolin Natrium*.

Anestetik lokal adalah obat yang dapat menghambat hantaran saraf bila dikenakan secara lokal pada jaringan saraf dengan kadar cukup. Anestetik lokal sebaiknya tidak mengiritasi dan tidak merusak jaringan saraf secara permanen. Contoh obat tetes mata golongan anestetik lokal yaitu *Tetrakain HCl* (Bennett *et al.* 2004).

Anti mikroba digunakan pada gangguan mata karena adanya infeksi oleh mikroba, masuknya benda asing ke dalam kornea mata atau kornea mata luka/ulkus. Contoh obat tetes mata golongan anti mikroba yaitu *Amfoterisin*, *Gentamisin*, *Ofloxacin* dan *Nafamicin* (Bennett *et al.* 2004).

Miotik dan antiglaukoma digunakan dengan tujuan konstriksi memperkecil pupil mata. Obat jenis ini bertolak belakang dengan penggunaan tetes mata midriatik. Sedangkan antiglaukoma digunakan untuk mencegah peningkatan tekanan intraocular yang berakibat pada perubahan patologis optik mata yang dapat menyebabkan kebutaan. Contoh obat tetes mata golongan miotik yaitu *Pilokarpin*, *Latanoprost*, *Brinzolamide*, dan *Timol* (Oka 1993).

F. Penggunaan dan Penyimpanan

Masyarakat perlu memperhatikan penggunaan obat tetes mata yang baik dan benar, yaitu: Cuci tangan terlebih dahulu, duduk di depan cermin sehingga bisa melihat apa yang dilakukan, bersihkan mata dari seluruh sisa-sisa air mata atau kotoran mata dengan tisu bersih, buka tutup botol obat tetes mata dan condongkan kepala ke belakang, tarik dengan lembut kelopak mata bawah, sehingga membentuk kantung dan melihatlah ke atas (ke arah kelopak mata atas), pegang botol atau pipet obat tetes mata, lalu remas dengan lembut sehingga satu tetesan jatuh ke mata. Remas lagi botol obat jika dosis yang disarankan lebih dari satu tetes. Lokasi meneteskannya adalah pada kelopak mata bawah (pada kantung), bukan pada mata hitam dan jangan sampai ujung botol mengenai mata, kedip-kedipkan mata sehingga cairan menyebar ke seluruh permukaan bola mata, bersihkan sisa cairan obat tetes mata yang keluar dari mata dengan tisu bersih, tutup kembali botol dan jangan sampai ujung botol atau pipet obat tetes mata tersentuh dengan apapun, termasuk jari tangan (Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia 2009).

Penggunaan obat tetes mata yang perlu diperhatikan agar obat tetes mata tersebut tetap aman dari cemaran mikroba dalam penyimpanannya. Tata cara penyimpanan obat tetes mata yang baik dan benar menurut, yaitu: Simpanlah botol obat di tempat yang kering atau kotak khusus, simpan obat pada tempat yang tidak mudah dijangkau anak-anak, Jangan meletakkan obat dalam mobil

dalam jangka waktu lama karena perubahan suhu dapat merusak obat, simpan obat cair baik itu sirup maupun suspensi pada suhu ruang 20°C atau dalam lemari pendingin/kulkas dengan suhu 5 - 10°C, tidak menyimpan obat dalam freezer yang dapat merusak obat, jangan lupa untuk selalu menutup rapat botol sirup agar udara tidak masuk. Udara yang masuk bisa membawa bakteri dari luar yang biasa tumbuh dalam media air, hindari obat dari paparan sinar matahari atau cahaya secara langsung biasanya botol sirup sudah didesain kedap cahaya dengan warna botol yang gelap atau cokelat tua (Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia 2009).

G. Bakteri Penyebab Penyakit Mata

Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit atau infeksi pada mata meliputi :

1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan sel sferis gram positif berbentuk bulat, berdiameter 1 mikrometer, tersusun dalam kelompok seperti anggur yang tidak teratur. *Staphylococcus* tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C tetapi, pada pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperatur kamar (20-35°C). Koloni pada media yang padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning emas (Jawetz *et al*, 2008). Koloni pada lempeng agar berbentuk bulat, diameter 1 - 2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Lempeng agar darah umumnya koloni lebih besar dan pada varietas tertentu koloninya di kelilingi oleh zona hemolisis (Syahrurachman *et al*. 2010).

Menurut Syahrurachman *et al* (2010) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *Staphylococcus aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Agar miring dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah dapat tetap hidup selama 6 - 14 minggu (Syahrurachman *et al* 2010). Uji Biokimia *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif cocci dalam kelompok, motilitas negatif, aerobik dan fakultatif anaerob, katalase positif, oksidase negatif, menghidrolisis argini, menghasilkan aseton, memecah gula melalui fermentasi. Bakteri ini dapat menyebabkan konjungtivitis pada orang dewasa dimana infeksi secara akut maupun kronis. Bakteri ini menyerang imun penjamu, lalu Patogen akan melekat kepada permukaan kornea yang cedera dan menghindari mekanisme pemusnahan oleh lapisan air mata dan refleks kedip. Cedera terjadi, bakteri yang bertahan akan melekat pada tepi sel epitel kornea yang rusak dan ke membran basalis atau stroma pada tepi luka. Glikokaliks pada epitel yang cedera sangat rentan terhadap perlekatan mikroorganisme (Biswell 2010).

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies lainnya. *Staphylococcus aureus* memfermentasikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak ada gas. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu ruang (20 - 25°C). Koloni pada media padat berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al* 2012).

Cara untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah dengan mengisolasi sampel pada medium selektif yang sesuai. Koloni yang tumbuh pada medium diamati dan dilanjutkan dengan berbagai uji, yaitu perwarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase. Uji tersebut untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *coccus* lainnya (Jawetz *et al* 2012).

Staphylococcus aureus menghasilkan tiga macam metabolit, yaitu metabolit nontoksin, eksotoksin, dan enterotoksin. Metabolit yang termasuk

nontoksik adalah antigen permukaan, *koagulase*, *lipase*, *tributirinasa*, *fosfatase*, dan katalase. Metabolit yang termasuk eksotoksin terdiri dari *α-hemolisin*, *β-hemolisin*, *leukosidin*, *sitoksin*, dan *toksin eksfoliatin*. Metabolit enterotoksin terbentuk jika *Staphylococcus aureus* ditanam dalam pembenihan semisolid yang mengandung CO₂ 30% (Radji 2011).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang lurus atau lengkung berukuran sekitar 0,6 x 2 mikrometer dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung (sheath), serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. *Pseudomonas aeruginosa* aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media pembiakan, karena memiliki kebutuhan nutrisi yang sangat sederhana. Metabolisme bersifat respiratorik tetapi dapat tumbuh tanpa O₂ bila tersedia NO₃ sebagai akseptor elektron. Baunya manis atau menyerupai anggur yang dihasilkan aminoasetofenon. Beberapa strain menghemolisis darah. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37 - 42°C. Pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri ini oksidase positif, nonfermenter, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa (Cowan and Steel, 1993).

Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* menurut William BW (2010) sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Proteobacteria
 Ordo : Pseudomonadales
 Family : Pseudomonadales
 Genus : Pseudomonas
 Species : *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri penyebab kerusakan pada mata dengan cepat sehingga dapat menyebabkan cedera hingga dilakukan pembedahan (Jawetz *et al* 2013). *Pseudomonas aeruginosa* bakteri sangat berbahaya merupakan mikroorganisme oportunistik yang tumbuh baik pada media dan menghasilkan racun dan anti bakteri. Bakteri ini mudah tumbuh dalam larutan mata dan jika menginfeksi kornea akan menyebabkan kehilangan penglihatan secara keseluruhan dalam jangka waktu 24-48 jam (Muzakkar 2007).

3. *Eschericia coli*

Eschericia coli merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki morfologi kokobasil atau batang pendek, tidak membentuk spora, bermotil dan memiliki dan dapat menghasilkan gas dari glukosa (Jawetz *et al*, 2008). *Eschericia coli* memiliki ukuran $0,4\mu\text{m} - 0,7\mu\text{m} \times 1,4\mu\text{m}$ dan memiliki strain yang berkapsul. *Eschericia coli* memiliki kompleks antigen yang terdiri dari antigen K, O, dan H (Keyser F, 2005). Identifikasi bakteri *Eschericia coli* bersifat aerob dan fakultatif anaerob oksidase negatif, sitrat negatif, terkadang mengalami motilitas, katalase positif, menfermentasi karbohidrat (Cowan *and steel's* 1993).

Klasifikasi *Eschericia coli* menurut William BW (2010) sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Ordo : Enterobacteriales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : Escherichia
 Spesies : *Escherichia coli*

Bakteri *Eschericia coli* dapat menyebabkan konjungtivitis, dimana termasuk dalam golongan penyebab bakteri subakut. Konjungtivitis bacterial biasanya penularan melalui satu mata kemudian mengenai mata yang sebelah melalui tangan dan dapat menyebar ke orang lain. Penyakit ini biasanya terjadi pada orang yang terlalu sering kontak dengan penderita, sinusitis dan keadaan imunodefisiensi (Marlin 2009).

4. *Streptococcus pneumonia*

Streptococcus pneumonia merupakan bakteri gram positif sel gram positif berbentuk bulat telur atau seperti bola, secara khas terdapat berpasangan atau rantai pendek. Bagian ujung belakang tiap pasangan sel secara khas berbentuk tombak (runcing tumpul), tidak membentuk spora dan tidak bergerak tetapi galur yang ganas berkapsul. Hasil alfa-hemolisis pada agar darah akan terlisis oleh garam empedu dan deterjen (Jawetz *et al.* 2008). Uji biokimia identifikasi *Streptococcus pneumonia* yaitu non motil, aerob dan anaerob fakultatif, katalase negatif, oksidase negatif, dan dapat menfermentasi karbohidrat (Cowan and steel's 1993).

Klasifikasi bakteri *Streptococcus pneumonia* menurut William BW (2010) sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Diplococcic
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* merupakan penyebab umum dari infeksi ocular seperti konjungtivitis, keratitis, dan infeksi kornea. Kasus keratitis bakteri *Streptococcus pneumoniae* dapat mengakibatkan kerusakan permanen pada kornea dan juga kehilangan penglihatan, kasus konjungtivitis bakteri ini penularannya melalui dari satu orang ke orang lain yang dalam satu tempat. Gejala umum yang disebabkan oleh bakteri ini yaitu, mata merah, hiperemis pada mata keluarnya sekret purulen yang berlangsung sepanjang hari, edema pada mata dan ketidaknyamanan pada mata (Meilina dan Hasanah 2010).

5. *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter aerogenes merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk basil, dengan ukuran 0,6 - 1,0 μm x 1,2 - 3,0 μm , motil, tidak membentuk spora, berkapsul, dan memiliki flagel, bersifat aerob, atau anaerob fakultatif, uji katalase

terkadang negatif, oksidase negatif, sitrat positif, dapat mereduksi nitrat, menfermentasi karbohidrat glukosa, terkadang dapat memproduksi *ornithine decarboxylase* (Jawetz *et al* 2008).

Klasifikasi *Enterobacter aerogenes* menurut William BW (2010) sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : Enterobacter
Spesies : *Enterobacter aerogenes*

Bakteri ini sering menginfeksi mata dengan caramelawan imunitas pejamu. Patogen akan melekat kepada permukaan kornea yang cedera dan menghindari mekanisme pemusnahan oleh lapisan air mata dan refleks kedip. Setelah cedera terjadi, bakteri yang bertahan akan melekat kepada tepi sel epitel kornea yang rusak dan ke membran basalis atau stroma pada tepi luka. Glikokaliks pada epitel yang cedera sangat rentan terhadap perlekatan mikroorganisme (Biswell 2010).

H. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi yang dilakukan pada sediaan tetes mata yaitu melakukan uji sterilitas dengan melihat adanya mikroba pada sediaan tetes mata yang ditumbuhkan pada media agar, apabila terdapat mikrobadilakukan isolasi atau indentifikasi mikroba. Setelah melakukan uji sterilitas dilanjutkan menghitung jumlah mikroba dengan Total *Count* merupakan salah satu analisis berdasarkan pemeriksaan mikrobiologis. Total *count* yaitu perhitungan jumlah tidak berdasarkan atas jenis, tetapi secara kasar terhadap golongan atau kelompok besar mikroorganisme umum seperti bakteri, fungi, mikroalga ataupun terhadap kelompok bakteri tertentu (Suriawiria 2005).

Salah satu menghitung jumlah bakteri adalah dengan metode *Pour plate*. Prinsip dari metode hitungan cawan (*Pour Plate*) adalah jika sel jasad renik yang

masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik (Fardiaz 1992).

Metode hitungan cawan, bahan pangan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel jasad renik per mL atau per gram atau per cm (jika pengambilan contoh dilakukan pada permukaan), memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri. Inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, dimana jumlah yang terbaik adalah di antara 30 sampai 300 koloni (Fardiaz, 1992). Untuk melaporkan hasil analisis mikrobiologi dengan cara hitung cawan digunakan suatu standart yang disebut *Standard Plate Counts* (SPC) sebagai berikut: Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar di mana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni (Fardiaz 1992).

Isolasi mikroba adalah memisahkan satu mikroba dengan mikroba lain yang berawal dari campuran berbagai mikroba. Cara mengisolasi mikroba umumnya dengan menumbuhkan mikroba dalam medium padat. Dalam mengisolasi mikroba ada beberapa hal yang harus diperhatikan, yakni sifat spesies mikroba yang akan diisolasi, tempat hidup atau asal mikroba, medium pertumbuhan yang sesuai, cara mengisolasi mikroba tersebut, lama inkubasi mikroba, cara menguji bahwa mikroba yang diisolasi bukan murni (Waluyo 2008).

Biakan murni diperlukan dalam berbagai metode mikrobiologis, antara lain digunakan untuk mengidentifikasi mikroba. Identifikasi dan determinasi suatu biakan murni bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi dapat dilakukan dengan cara pengamatan sifat morfologi koloni serta pengujian sifat-sifat fisiologi dan biokimianya. Bakteri dapat diidentifikasi dengan mengetahui reaksi biokimia dari bakteri tersebut. Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia

(Waluyo 2008). Prosedur pewarnaan ada 3 yaitu pewarnaan sederhana (*simple stain*), pewarnaan diferensial (*differential stain*), dan pewarnaan khusus (*special stain*) (Pratiwi 2008).

1. Pewarnaan Sederhana

Pewarnaan ini hanya digunakan satu macam pewarna dan bertujuan mewarnai seluruh sel mikroorganisme sehingga bentuk seluler dan struktur dasarnya terlihat. Bahan kimia ditambahkan kedalam larutan pewarna untuk mengintensifkan warna dengan cara meningkatkan afinitas pewarna pada *specimen* biologi.

2. Pewarnaan Diferensial

Pewarnaan ini menggunakan lebih dari satu pewarna dan memiliki reaksi yang berbeda untuk setiap bakteri. Pewarnaan diferensial yang sering digunakan adalah pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram ini mampu membedakan dua kelompok besar bakteri yaitu Gram positif dan Gram negatif.

3. Pewarnaan khusus

Pewarnaan ini digunakan untuk mewarnai dan mengisolasi bagian spesifik dari mikroorganisme, misalnya endospora, kapsul dan flagella. Endospora bakteri tidak dapat diwarnai dengan pewarna sederhana seperti pewarna gram. Hal ini disebabkan karena endospora memiliki selubung yang kompak sehingga zat warna sulit menembus dinding endospora.

Uji biokimia merupakan salah uji yang digunakan untuk menentukan spesies kuman yang tidak diketahui sebelumnya. Kuman memiliki sifat biokimia yang berbeda sehingga tahapan uji biokimia ini sangat membantu. Uji biokimia yang berbeda sehingga tahapan uji biokimia ini sangat membantu proses identifikasi setelah sampel diinokulasikan pada media differensial atau selektif, kemudian koloni kuman diinokulasikan pada media uji biokimia. 12 jenis uji yang sering digunakan dalam uji biokimia walaupun sebenarnya masih banyak lagi media yang dapat digunakan (Adam 2001).

I. Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan adalah media yang mengandung nutrisi yang disiapkan untuk menumbuhkan bakteri di dalam skala laboratorium. Media

pertumbuhan harus dapat menyediakan energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Media harus mengandung karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, dan faktor pertumbuhan organik. Media pertumbuhan harus mengandung nutrisi yang tepat untuk bakteri spesifik yang akan dibiakkan, kelembababn harus cukup, pH sesuai, kadar oksigen tercukupi, harus steril dan tidak mengandung mikroba lain, media diinkubasi pada suhu tertentu sesuai dengan karakteristik mikroba uji (Radji 2011).

Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroorganisme harus sesuai susunannya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme. Beberapa mikroba dapat hidup baik pada medium yang sangat sederhana yang hanya mengandung garam anorganik ditambah sumber karbon organik seperti gula. Mikroba lainnya memerlukan suatu medium yang sangat kompleks yaitu berupa medium ditambahkan darah atau bahan-bahan kompleks lainnya (Volk *and* Wheeler 1993). Media biakan dapat dikelompokkan dalam beberapa kategori, yaitu:

1. Berdasarkan asalnya

Berdasarkan asalnya, media dibagi atas: Media sintetik yaitu media yang kandungannya diketahui secara terperinci. Contoh: glukosa, kalium fosfat, magnesium fosfat. Media non-sintetik yaitu media yang kandungannya tidak diketahui secara terperinci dan menggunakan bahan yang terdapat di alam. Contohnya: ekstrak daging, pepton (Layand BW 1994).

2. Berdasarkan kegunaannya

Berdasarkan kegunaannya, dapat dibedakan menjadi: Media selektif adalah media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang dapat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membolehkan perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi. Contohnya: MSA, PDA, *Saboaraut Agar* (SA).

Media diferensial adalah media yang digunakan untuk menyeleksi suatu mikroorganisme dari berbagai jenis dalam suatu lempengan agar. Contohnya: EMB, SSA. Media diperkaya adalah media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang diperoleh dari lingkungan alami karena jumlah

mikroorganisme yang ada terdapat dalam jumlah sedikit, beberapa zat organik yang mengandung zat karbon dan nitrogen (Irianto 2006).

3. Berdasarkan konsistensinya

Berdasarkan konsistensinya, media dikelompokkan menjadi dua: media cair merupakan ekstrak kompleks material biologis, maka media tersebut dinamakan rich media atau broth. Media padat merupakan media yang menggunakan bahan pembeku (*solidifying agent*), misalnya agar, suatu kompleks sakarida yang diperoleh dari alga merah (*red algae*). Media yang digunakan untuk pengujian AKK adalah *PotatoDextrose Agar* (PDA). Media ini menyediakan nutrisi untuk menstimulasi pertumbuhan konidium pada jamur (Murray 1999). PDA mengandung dektrosa dan ekstrak kentang sebagai sumber nutrisi yang baik untuk pertumbuhan fungi (Bridson 2006).

Manitol Salt Agar (MSA) merupakan media selektif dan media diferensial. Penanaman dilakukan dengan cara satu usap biakan diambil dari media pepton, dan diusapkan pada media MSA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Lay, 1994). *Staphylococcus aureus* pada media MSA menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan dikelilingi zona kuning karena kemampuan memfermentasi manitol. Bakteri yang tidak mampu memfermentasi manitol tampak zona berwarna merah atau merah muda. Zona kuning menunjukkan adanya fermentasi manitol, yaitu asam yang dihasilkan menyebabkan perubahan *phenol red* pada agar yang berubah dari merah menjadi berwarna kuning (Austin 2006).

J. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah kering, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar - X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu dengan menggunakan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan

tinggi. Bahan atau pelarut yang digunakan dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media atau mengganggu kehidupan dalam proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria 2005).

Media yang digunakan dalam proses sterilisasi terlebih dahulu dimasukkan kedalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan cara dimasukkan kedalam oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan menggunakan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Denyer, Hodges, Gorman. 2004). Lama waktu sterilisasi yang dibutuhkan bahan dipengaruhi oleh retensi mikroorganisme, dan enzim terhadap panas, kondisi pemanasan, pH bahan, ukuran wadah atau kemasan yang disterilkan serta keadaan fisik bahan (Machmud 2008).

K. Landasan Teori

Konjungtivitis adalah peradangan pada konjungtiva. Penyakit ini merupakan penyakit mata yang paling umum di dunia. Konjungtiva terpapar oleh banyak mikroorganisme dan faktor-faktor lingkungan lain yang mengganggu (Vaughan 2010). Penyakit ini bervariasi mulai dari hiperemia ringan dengan mata berair sampai konjungtivitis berat dengan banyak sekret purulen kental (Hurwitz 2009). Jumlah agen-agen yang patogen dan dapat menyebabkan infeksi pada mata semakin banyak, disebabkan oleh meningkatnya penggunaan obat-obatan topikal dan agen immunosupresif sistemik, serta meningkatnya jumlah pasien dengan infeksi HIV dan pasien yang menjalani transplantasi organ dan menjalani terapi immunosupresif (Vaughan 2010).

Obat tetes mata (*Guttae Ophtalmicae*) adalah sediaan steril larutan atau suspensi, digunakan untuk mata dengan cara meneteskan obat pada selaput lendir mata disekitar kelopak mata dan bola mata. Menurut FI IV larutan obat mata adalah larutan steril, bebas partikel asing, merupakan sediaan yang dibuat dan dikemas sedemikian rupa hingga sesuai digunakan pada mata. Pembuatan larutan

obat mata membutuhkan perhatian khusus dalam hal toksisitas bahan obat, nilai isotonisitas, kebutuhan akan dapar, kebutuhan akan pengawet (dan jika perlu pemilihan pengawet) sterilisasi dan kemasan yang tepat.

Obat tetes mata yang digunakan merupakan obat tetes mata iritasi ringan yang dijual bebas dipasaran. Kandungan obat tetes mata yang dijual bebas dipasaran adalah tetrahidrozoline HCl, oxymethazoline HCl dan naphazoline HCl. Obat tetes mata ini digunakan pada saat mata merah dalam keadaan terkena iritasi akibat debu, serbuk kecil berenang atau menggunakan kontak lensa. Tetes matadipenelitian menggunakan bahan aktif tetrahidrozoline HCl dosis pada bahan aktif yaitu sebanyak 0,05%.

Tetrahidrozolin merupakan salah satu bentuk obat yang disebut imidazolin yang umumnya dijumpai pada produk obat tetes mata dan semprotan hidung yang dijual bebas. Obat tetes mata, bahan ini digunakan untuk membantu mengurangi mata merah akibat iritasi mata ringan. Mata yang terpapar imidazolin dapat mengalami reaksi alergi. Keracunan tetrahidrozolin yang dilaporkan umumnya tidak disebabkan oleh penggunaannya pada mata, tetapi bila seseorang menelan bahan ini, baik sengaja maupun tidak sengaja. Keracunan tetrahidrozolin dapat ditandai dengan berbagai macam tanda dan gejala yang timbul berupa kesulitan bernapas, penglihatan menjadi buram, bibir dan kuku mberwarna biru, perubahan ukuran pupil, peningkatan tekanan darah lalu tekanan darah menjadi rendah, denyut jantung cepat, mual, muntah, sakit kepala, tremor, kejang, koma, dan penurunan suhu tubuh. Imidazolin mempunyai indeks terapetik yang sangat sempit. Anak-anak yang menelan sekitar 24 tetes tetrahidrozolin dapat mengalami keracunan yang mengancam jiwa hal ini dapat terjadi secara tidak sengaja, oleh karena itu penyimpanannya harus sangat diperhatikan. Begitu pula pada orang dewasa, keracunan yang mengancam jiwa dapat terjadi bila seseorang menelan 5-15 mg tetrahidrozolin, yang setara dengan 15 - 20 botol obat tetes mata (BPOM 2015).

Persyaratan obat tetes mata yang baik meliputi steril, isotonis, kejernihan, viskositas, pengawet dan pendaparan atau isohidris. Penggolongan obat tetes mata berdasarkan efek farmakologi meliputi Anti inflamasi digunakan secara lokal

(seperti tetesmata, salepmata, atau injeksi subkonjungtiva) atau secara oral dan sistemik memiliki peranan penting dalam pengobatan inflamasi segmen anterior termasuk yang disebabkan oleh pembedahan. Contoh obat anti inflamasi yaitu Tetrahidrozolin HCl, Betametason, Prednisolon asetat dan Kromoolin Natrium. Anestetik lokal adalah obat yang dapat menghambat hantaran saraf bila dikenakan secara lokal pada jaringan saraf dengan kadar cukup. Anestetik lokal sebaiknya tidak mengiritasi dan tidak merusak jaringan saraf secara permanen. Contoh obat tetes mata golongan anestetik lokal yaitu, Tetrakain HCl. Anti mikroba digunakan pada gangguan mata karena adanya infeksi oleh mikroba, masuknya benda asing ke dalam kornea mata atau kornea mata luka/ulkus. Contoh obat tetes mata golongan anti mikroba yaitu Amfoterisin, Gentamisin, Ofloxacin dan Nafamicin.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan oleh masyarakat terhadap penggunaan obat tetes mata yang baik dan benar, yaitu: Cuci tangan terlebih dahulu, Sebaiknya duduk di depan cermin sehingga bisa melihat apa yang dilakukan, Bersihkan mata dari seluruh sisa-sisa air mata atau kotoran mata dengan tisu bersih, Buka tutup botol obat tetes mata dan condongkan kepala ke belakang, tarik dengan lembut kelopak mata bawah, sehingga membentuk kantung dan melihatlah ke atas (ke arah kelopak mata atas), pegang botol atau pipet obat tetes mata, lalu remas dengan lembut sehingga satu tetesan jatuh ke mata. Remas lagi botol obat jika dosis yang disarankan lebih dari satu tetes. Perlu diperhatikan, lokasi meneteskannya adalah pada kelopak mata bawah (pada kantung), bukan pada mata hitam dan jangan sampai ujung botol mengenai mata, Kedip-kedipkan mata sehingga cairan menyebar ke seluruh permukaan bola mata, bersihkan sisa cairan obat tetes mata yang keluar dari mata dengan tisu bersih, tutup kembali botol dan jangan sampai ujung botol atau pipet obat tetes mata tersentuh dengan apapun, termasuk jari tangan (Depkes 2008).

Obat mempunyai masa penyimpanan terbatas karena semakin lama disimpan, obat akan terurai secara kimiawi karena adanya pengaruh cahaya, udara, dan suhu, sehingga dapat mengakibatkan berkurangnya khasiat obat. Kerusakan obat terkadang tidak ditandai dengan tanda – tanda yang jelas. Proses perubahan ini tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Bentuk dan bau obat

mungkin tidak berubah, tetapi kadar zat aktifnya sudah banyak berkurang atau jika lebih buruk lagi zat aktifnya dapat terurai membentuk zat – zat beracun. Pengurangan kadar zat aktif dapat diketahui dengan analisis laboratorium (tan dan Raharja 2010).

Penggunaan obat tetes mata, diharapkan membuang botol tetes mata pada waktu yang direkomendasikan kecuali, ada keterangan lain biasanya 4 minggu setelah pertama kali botol di buka. Mencatat tanggal waktu pada saat pertama kali membuka botol, harus dilakukan sehingga dapat dengan mudah mengingat kapan obat tetes mata tidak dapat digunakan lagi (Widayanti 2007).

Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit atau infeksi pada mata meliputi *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Eschericia coli*, *Streptococcus pneumonia* dan *Enterobacter aerogenes*. Uji mikrobiologi yang dilakukan pada sediaan tetes mata yaitu melakukan uji sterilitas dengan melihat adanya mikroba pada sediaan tetes mata yang ditumbuhkan pada media agar, apabila terdapat mikrobadi lakukan isolasi atau indentifikasi mikroba. Setelah melakukan uji sterilitas dilanjutkan menghitung jumlah mikroba dengan *Total Count* merupakan salah satu analisis berdasarkan pemeriksaan mikrobiologis. *Total count* yaitu perhitungan jumlah tidak berdasarkan atas jenis, tetapi secara kasar terhadap golongan atau kelompok besar mikroorganisme umum seperti bakteri, fungi, mikroalga ataupun terhadap kelompok bakteri tertentu (Suriawiria 2005).

Media adalah suatu bahan nutrisi tempat menumbuhkan bakteri di laboratorium. Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Pada media pertumbuhan dapat dilakukan isolat mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya (Machmud 2008). Media pembenihan harus dapat menyediakan energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Media harus mengandung sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfor dan faktor pertumbuhan organik (Radji 2010).

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah kering, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar - X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu dengan menggunakan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi. Bahan atau pelarut yang digunakan dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media atau mengganggu kehidupan dalam proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria 2005).

L. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

1. Kondisi suhu penyimpanan memiliki pengaruh terhadap sterilitas sediaan tetes mata setelah penggunaan dan penyimpanan.
2. Lama waktu penyimpanan obat tetes mata setelah penggunaan memiliki batas steril yang berbeda.