

Original Research

VALIDASI METODE DAN PENETAPAN KADAR OLOPATADINE HCL PADA OBAT TETES MATA MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV

METHOD VALIDATION AND DETERMINATION OF OLOPATADINE HCL IN EYE DROPS USING UV SPEKTROPHOTOMETER

Theodorus Rexa Handoyo¹ *, Violetta Djohansah¹, Windy Annisa Arbah¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta, Indonesia, 14035

*E-mail: theodorus.rexa@uta45jakarta.ac.id

Abstrak

Olopatadin HCl merupakan antihistamin generasi kedua dengan mekanisme kerja ganda, yaitu antagonis selektif reseptor histamin H₁ dan stabilisasi membran sel mast, yang efektif untuk terapi alergi seperti konjungtivitis dan rinitis alergi. Penelitian ini bertujuan memvalidasi metode spektrofotometri UV-Vis untuk penetapan kadar olopatadin HCl dalam sediaan obat tetes mata yang beredar di Indonesia. Metode dikembangkan dengan larutan standar pada rentang konsentrasi 20–80 ppm, penentuan panjang gelombang maksimum, serta pengujian parameter validasi meliputi linearitas, akurasi, presisi, dan sensitivitas. Hasil menunjukkan panjang gelombang optimum pada 299 nm dengan persamaan regresi $y = 0,0107x + 0,0016$ ($r = 0,99$). Nilai perolehan kembali sebesar 101,16% dan koefisien variasi 0,65% memenuhi kriteria AOAC, sedangkan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) masing-masing sebesar 0,911 ppm dan 3,037 ppm. Kadar olopatadin HCl dalam sampel diperoleh sebesar $0.116 \pm 0,003\%$. Metode ini terbukti sederhana, ekonomis, dan andal, sehingga layak diterapkan untuk pengendalian mutu rutin di laboratorium penelitian maupun industri farmasi.

Kata kunci: Olopatadin HCl; Validasi metode; Penetapan kadar; Spektrofotometri UV

Abstract

Olopatadine HCl is a second-generation antihistamine with a dual mechanism of action, acting as a selective histamine H₁ receptor antagonist and a mast cell membrane stabilizer, effective for the treatment of allergies such as conjunctivitis and allergic rhinitis. This study aimed to validate a UV-Vis spectrophotometric method for determining the content of olopatadine HCl in eye drop preparations available in Indonesia. The method was developed using a standard solution in the concentration range of 20–80 ppm, determination of the maximum wavelength, and validation parameter testing including linearity, accuracy, precision, and sensitivity. The results showed an optimum wavelength at 299 nm with a regression equation of $y = 0,0107x + 0,0016$ ($r = 0,99$). The recovery value of 101.16% and coefficient of variation of 0.65% met AOAC criteria, while the limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.911 ppm and 3.307 ppm, respectively. The olopatadine HCl content in the sample was found to be $0.116 \pm 0.003\%$. This method proved to be simple, cost-effective, and reliable, making it suitable for routine quality control in research laboratories and the pharmaceutical industry.

Keywords: Olopatadine HCl; Method validation; Quantitative determination; Spectrophotometric UV

PENDAHULUAN

Olopatadin merupakan antihistamin generasi kedua yang memiliki aktivitas farmakologis ganda, yaitu antagonisme selektif terhadap reseptor histamin H_1 dan stabilisasi membran sel mast. Sifat tersebut menjadikannya efektif dalam mengobati kondisi terkait alergi, seperti konjungtivitis alergi dan rinitis alergi, yang ditandai dengan gejala antara lain rasa gatal, kemerahan, bersin, hidung tersumbat, dan keluarnya air mata [1–3]. Mekanisme kerja ganda ini memberikan manfaat berupa peredaan gejala yang cepat sekaligus pencegahan berkelanjutan terhadap pelepasan mediator inflamasi. Kuantifikasi olopatadin HCl yang akurat sangat penting untuk memastikan dosis yang tepat, karena penyimpangan dari konsentrasi yang diinginkan dapat menyebabkan penurunan efektivitas atau timbulnya efek samping yang tidak diharapkan. Oleh karena itu, keandalan formulasi farmasi tidak hanya ditentukan oleh keberadaan zat aktif (active pharmaceutical ingredient, API), tetapi juga oleh ketepatan kuantifikasinya [4,5].

Menurut tinjauan pasar terbaru oleh Exactitude Consultancy [6], pasar global olopatadin HCl diproyeksikan meningkat secara signifikan dari USD 1,5 miliar pada tahun 2024 menjadi hampir USD 2,8 miliar pada tahun 2034 dengan laju pertumbuhan tahunan majemuk (compound annual growth rate, CAGR) sekitar 6,5%. Proyeksi pertumbuhan yang kuat ini mencerminkan meningkatnya permintaan terhadap metode analisis yang tervalidasi, yang tidak hanya akurat dan andal, tetapi juga dapat diadaptasi di berbagai laboratorium dengan tingkat infrastruktur yang beragam. Seiring meningkatnya prevalensi gangguan terkait alergi di seluruh dunia, kebutuhan terhadap produk farmasi berbasis olopatadin diperkirakan akan bertambah sejalan. Tren ini menegaskan pentingnya pengembangan teknik analisis yang sederhana dan hemat biaya sehingga dapat diterapkan untuk pengendalian mutu rutin, termasuk di fasilitas dengan keterbatasan akses terhadap instrumen canggih. Memastikan metode tersebut tetap memenuhi ketelitian analitis tanpa mengorbankan efisiensi sangatlah penting untuk mendukung konsistensi mutu produk dan kepatuhan terhadap regulasi.

Spektrofotometri UV–visible (UV-Vis) hingga kini menjadi salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam analisis farmasi karena kesederhanaan, keterjangkauan, dan kecepatan prosesnya [7–9]. Teknik ini didasarkan pada prinsip pengukuran absorbansi cahaya ultraviolet atau tampak oleh suatu senyawa pada panjang gelombang tertentu, yang berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa tersebut [10]. Dalam penerapannya untuk analisis bahan obat, spektrofotometri UV-Vis menawarkan pendekatan yang praktis untuk mengkuantifikasi API, khususnya jika senyawa tersebut menunjukkan karakteristik serapan yang kuat dan spesifik pada wilayah UV [11].

Olopatadin HCl memiliki gugus kromofor khas yang menyerap pada wilayah UV, sehingga memungkinkan kuantifikasi langsung menggunakan spektrofotometri UV-Vis tanpa memerlukan tahapan derivatisasi yang kompleks [12,13]. Berdasarkan sifat optik dan karakteristik strukturnya, olopatadin HCl dapat dianalisis secara efektif menggunakan metode UV-Vis apabila dilakukan pemilihan panjang gelombang yang tepat dan validasi metode yang memadai. Selain itu, kesederhanaan teknik ini menjadikannya sangat sesuai untuk pengendalian mutu rutin di lingkungan manufaktur maupun laboratorium akademik. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode dan penetapan kadar Olopatadin HCl pada sediaan obat mata yang ada di pasar Indonesia menggunakan metode spektrofotometri UV.

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah Olopatadine HCl (PBFI), metanol (LC Grade), aquadest, dan sampel obat tetes mata yang mengandung Olopatadine HCl..

Prosedur kerja

Target analisis dalam penelitian ini adalah olopatadin HCl yang dikualifikasi menggunakan spektrofotometri ultraviolet–visible (UV-Vis). Metode ini dirancang untuk mengevaluasi linearitas, akurasi, presisi, dan sensitivitas spektrofotometri UV-Vis sebagai teknik analisis tunggal dalam penetapan kadar bahan aktif farmasi (*active pharmaceutical ingredient*, API).

Larutan stok olopatadin HCl dengan konsentrasi 2000 ppm dibuat dengan melarutkan sejumlah baku standar yang sesuai dalam metanol. Dari larutan stok tersebut, dibuat serangkaian larutan standar melalui pengenceran bertingkat hingga diperoleh konsentrasi akhir masing-masing 20, 30, 40, 50, 60, 70, dan 80 ppm. Larutan-larutan standar ini digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi dalam proses validasi metode.

Untuk mengevaluasi akurasi dan presisi metode, dibuat larutan sampel dengan konsentrasi 50 ppm yang kemudian dianalisis menggunakan metode penambahan baku (*standard addition method*). Proses validasi ini dibagi menjadi empat kelompok. Kelompok non adisi (kontrol) terdiri atas 0,2 mL larutan sampel yang diencerkan dengan metanol hingga volume akhir 10 mL. Kelompok P1, P2, dan P3 masing-masing dibuat dengan menambahkan 0,2 mL, 0,35 mL, dan 0,5 mL larutan baku 2000 ppm ke dalam 0,2 mL larutan sampel. Setiap campuran tersebut kemudian diencerkan dengan metanol hingga volume akhir 10 mL. Kombinasi ini menghasilkan konsentrasi teoritis sebesar 30 ppm, 45 ppm, dan 60 ppm, yang mewakili tingkat penambahan rendah, sedang, dan tinggi untuk pengujian perolehan kembali (*recovery test*). Semua preparasi dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk memastikan keterulangan (*reproducibility*) hasil.

Absorbansi setiap larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis jenis *single-beam* pada rentang panjang gelombang 200–400 nm dengan kuvet kuarsa berukuran 1 cm. Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) ditentukan melalui *spectral scanning*, dan seluruh pengukuran absorbansi selanjutnya untuk tujuan kuantifikasi dilakukan pada λ_{maks} yang telah diidentifikasi untuk olopatadin HCl.

Linearitas dievaluasi melalui analisis regresi antara nilai absorbansi dan konsentrasi, sedangkan akurasi ditentukan melalui analisis perolehan kembali (*recovery analysis*) dari sampel yang telah diadisi. Presisi dinilai dengan menghitung koefisien variasi (%CV) dari pengukuran berulang pada setiap tingkat penambahan. Sensitivitas metode dievaluasi dengan menghitung batas deteksi (*limit of detection*, LOD) dan batas kuantifikasi (*limit of quantification*, LOQ) berdasarkan simpangan baku respons dan kemiringan kurva kalibrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

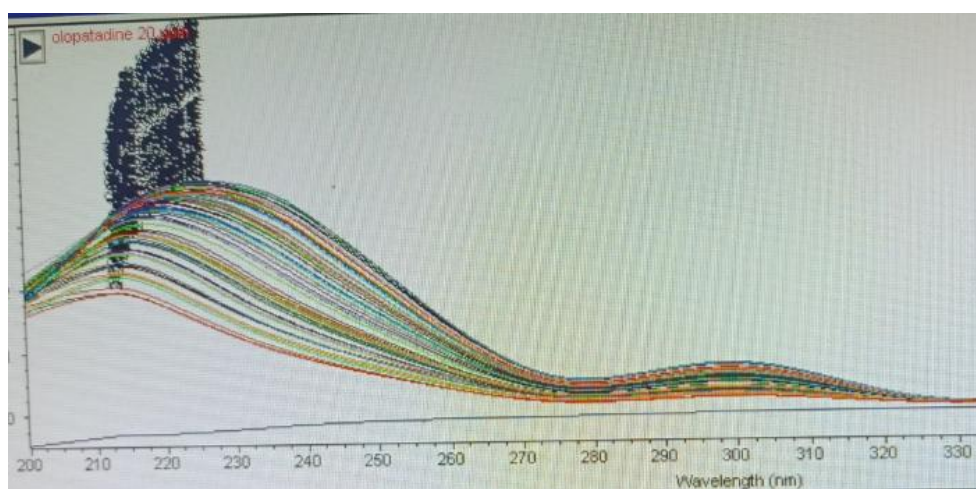
Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan membaca analit menggunakan spektrofotometer UV-Vis jenis *single-beam* pada rentang panjang gelombang 200–400 nm. Didapatkan panjang gelombang optimal pada 299nm.

Uji linearitas dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi bertingkat, yaitu dari 20 hingga 80 ppm. Kurva linearitas diperoleh melalui analisis regresi antara konsentrasi dan nilai area. Hasil pengujian menunjukkan bahwa untuk metode spektrofotometri UV diperoleh persamaan regresi $y = 0,0107 + 0,0016x$, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,99.

Uji rentang dilakukan pada konsentrasi yang termasuk dalam rentang linearitas, dengan tujuan memastikan kisaran konsentrasi analit yang dapat diukur secara tepat menggunakan metode yang diuji. Dari hasil pengujian rentang, diperoleh persamaan regresi $y = 0,0108x + 0,0089$, dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,99.

Meskipun LOD dan LOQ bukan merupakan parameter wajib yang diuji dalam penelitian ini, keduanya dapat memberikan gambaran mengenai kemampuan metode dalam mendeteksi analit. LOD digunakan untuk menentukan konsentrasi terendah analit yang masih dapat terdeteksi oleh metode, sedangkan LOQ digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat diukur secara akurat menggunakan metode yang diterapkan. Pada penelitian ini, metode spektrofotometri UV menghasilkan nilai LOD sebesar 0,911 ppm dan LOQ sebesar 3,037 ppm. Seluruh analisis yang dilakukan berada di atas nilai LOD dan LOQ yang telah ditentukan.

Uji spesifisitas pada metode spektrofotometri UV dilakukan dengan membandingkan spektrum Olopatadin HCL dari larutan baku dan larutan sampel. Hasil pengujian menunjukkan bahwa profil spektrum kedua larutan memiliki kemiripan yang tinggi. Temuan ini mengindikasikan bahwa metode spektrofotometri UV yang digunakan memiliki tingkat spesifisitas yang memadai.



Gambar 1. Spektrum Olopatadine HCl

Pengujianji akurasi dilakukan dengan menghitung persentase *recovery* atau perolehan kembali. Dalam penelitian ini, pengujian akurasi dan presisi menggunakan metode penambahan baku (*standard addition method*) karena tidak tersedianya matriks sampel. Pengujian dilakukan pada tiga konsentrasi yang mewakili tingkat rendah, sedang, dan tinggi dalam analisis, serta dilaksanakan selama tiga hari berturut-turut. Hasil analisis menunjukkan nilai perolehan kembali sebesar 101,16%. Nilai tersebut memenuhi kriteria yang ditetapkan AOAC, di mana untuk kadar antara 10 hingga 100 ppm, persentase perolehan kembali yang dapat diterima berada dalam rentang 85–110%.

Presisi metode dievaluasi melalui perhitungan koefisien variasi. Hasil pengujian menunjukkan nilai koefisien variasi untuk metode yang dilakukan sebesar 0,65%. Nilai tersebut menunjukkan presisi yang baik karena berada di bawah batas maksimum 4% sesuai standar [14].

Penetapan kadar Olopatadin HCl dengan metode spektrofotometri dilakukan menggunakan prosedur dan kondisi analisis yang telah melalui tahap validasi. Pengukuran sampel dilakukan sebanyak lima kali replikasi untuk memastikan konsistensi hasil. Dari hasil analisis, didapatkan kadar sampel sebesar $0,116 \pm 0,003\%$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, metode spektrofotometri UV-Vis terbukti layak digunakan untuk penetapan kadar Olopatadin HCl dalam sediaan obat tetes mata, dengan memenuhi parameter validasi meliputi linearitas, akurasi, presisi, dan sensitivitas sesuai standar AOAC. Panjang gelombang optimum diperoleh pada 299 nm dengan rentang konsentrasi analisis 20–80 ppm, menunjukkan hubungan linier yang kuat antara konsentrasi dan absorbansi. Nilai perolehan kembali sebesar 101,16% dan koefisien variasi 0,65% menegaskan keandalan metode ini dalam menghasilkan data yang akurat dan presisi. Nilai LOD 0,911 ppm dan LOQ 3,037 ppm menunjukkan kemampuan deteksi yang memadai untuk aplikasi analisis rutin. Dengan kemudahan prosedur, biaya yang relatif rendah, serta tingkat ketelitian yang tinggi, metode ini dapat diimplementasikan secara efektif baik di laboratorium penelitian maupun fasilitas pengendalian mutu industri farmasi.

DAFTAR RUJUKAN

1. K M, T K, Y M, K U, M F. Rapid effects of olopatadine hydrochloride on the histamine-induced skin responses. PubMed. 2002;29(11):709-12. doi:10.1111/j.1346-8138.2002.tb00207.x.
2. K O, K H, T K, E O, S K, T Y, A M. Pharmacological, pharmacokinetic and clinical properties of olopatadine hydrochloride, a new antiallergic drug. PubMed. 2002;88(4):379-97. doi:10.1254/jjp.88.379.
3. PubChem. Olopatadine [Internet]. Olopatadine (Compound); 2025 Jun 28 [cited YYYY Mon DD]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281071>
4. Alsamhan HA, Alwaheeby MA. Pharmaceutical Quality Control: Ensuring the Safety and

- Efficacy of Medications. *IJIRMPS*. 2020;8(3):1-4.
5. Rosenwasser LJ, O'Brien T, Weyne J. Mast cell stabilization and anti-histamine effects of olopatadine ophthalmic solution: A review of pre-clinical and clinical research. *Curr Med Res Opin*. 2005;21(9):1377-87. doi:10.1185/030079905X56547.
 6. Exactitude Consultancy. Global Olopatadine Hydrochloride Market Research Report By Product Type (Tablets, Eye Drops, Other Forms), By Application (Allergic Conjunctivitis, Allergic Rhinitis, Other Applications), By End User (Hospitals, Clinics, Retail Pharmacies), By Technology (Conventional, Advanced Delivery Systems), By Distribution Channel (Online, Offline) – Forecast to 2034. (Global Market Research Report 58216). Exactitude Consultancy; 2025. Available from: <https://exactitudeconsultancy.com/global-olopatadine-hydrochloride-market>
 7. Liu M. The Application of Ultraviolet-Visible Spectrophotometry in Pharmaceutical Analysis. *Appl Comput Eng*. 2025;159:85-92. doi:10.54254/2755-2721/2025.23761.
 8. S V, Thiagarajan M, Gangadharan, Nareshkumar, Siva, M S kumar. Current Focus on Utilization of UV-Visible Spectroscopy in Multiple Pharma Research. *Ann Med Health Sci Res*. 2023;13:702-8.
 9. Sayyad MJ, Gite S. A Review Paper On “Comparative Analysis Of Validation Parameters In Uv Spectroscopy. *Int Res J Mod Eng Technol Sci*. 2024;6(11):4795-803.
 10. Dhange BS. A review on UV-visible spectroscopy. *Int J Novel Res Dev*. 2023;8(5):j81-107.
 11. Nurani LH, Edityaningrum CA, Irnawati I, Putri AR, Windarsih A, Guntarti A, Rohman A. Chemometrics-Assisted UV-Vis Spectrophotometry for Quality Control of Pharmaceuticals: A Review. *Indones J Chem*. 2023;23(2):542-67.
 12. Aher SS, Gawali JS, Saudagar RB. UV-Spectrophotometric Estimation of Olopatadine hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form by Zero, First and Second Order Derivative Methods. *J Drug Deliv Ther*. 2019;9(4-s):519-24. doi:10.22270/jddt.v9i4-s.3378.
 13. V RR. UV-Spectrophotometric Estimation of Olopatadine hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form by Area under Curve and Second Order Derivative Methods. *Res J Pharm Technol*. 2015;8(3):265-9. doi:10.5958/0974-360X.2015.00044.X.
 14. AOAC. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. Appendix K. 2019. p. 8-9.