

## Formulasi dan Bioaktivitas Tetes Mata dari Ekstrak Air Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) untuk Iritasi Mata

Michelle Audrey Teguh, Vania Uly Andyra, Irvine Eugenius Ignatio, Sedy Junedi\*

Fakultas Teknobiologi, Universitas  
Atma Jaya Yogyakarta, Jalan Babarsari  
No. 44, Depok, Sleman, DIY

\*e-mail korespondensi:  
[sedy.junedi@uajy.ac.id](mailto:sedy.junedi@uajy.ac.id)

**Abstrak.** Iritasi mata merupakan penyakit mata yang banyak terjadi sebagai dampak sinar biru gawai dan polusi udara yang disertai bakteri. Penggunaan tetes mata antibakteri dan antiinflamasi dari bahan sintetik diketahui memberikan efek samping jika digunakan dalam waktu lama. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) secara empiris digunakan untuk membersihkan mata teriritasi, dimana ekstrakya memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Metabolit yang dimungkinkan berperan adalah antosianin dan flavonoid jenis lain. Melalui penelitian ini, ekstrak air bunga telang akan diformulasi menjadi produk tetes mata, kemudian dilakukan uji fisikokimia, fitokimia, antiinflamasi dan antibakteri. Ekstrak air bunga telang disiapkan dengan metode maserasi, kemudian dilakukan formulasi tetes mata dengan konsentrasi ekstrak 0,025% b/v, 0,05% b/v dan 0,1% b/v. Ketiga formula tersebut dilakukan uji fisikokimia meliputi pH, osmolaritas dan kejernihan, sedangkan uji fitokimia meliputi penetapan kandungan flavonoid dan antosianin. Selain itu, dilakukan uji antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein, serta uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Formula tetes mata ekstrak air bunga telang 0,1% b/v memenuhi syarat fisikokimia meliputi pH, osmolaritas dan kejernihan. Dari hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa dalam 1 L formula 0,1% b/v mengandung flavonoid 126,78 mg QE dan antosianin 3,89 mg CE. Antiinflamasi tetes mata lebih tinggi dibanding kontrol positif dengan  $IC_{50}$  7,976 bpj. Sedangkan, uji antibakteri formula 0,1% b/v (1.000 ppm) tidak memiliki aktivitas antibakteri, namun jika dinaikan menjadi 50.000 ppm menunjukkan aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak air bunga telang dapat digunakan sebagai tetes mata untuk menurunkan reaksi inflamasi secara umum akibat sinar biru maupun iritan lainnya.

**Kata kunci:** antibakteri, antiinflamasi, bunga telang, fisikokimia, fitokimia, tetes mata

**Abstract.** Eye irritation is a common ocular disease caused by blue light from gadgets and bacteria in air pollution. Long-term use of synthetic eye drops for treating antibacterial and antiinflammation may induce side effects. *Clitoria ternatea* flowers are empirically used to wash irritated eyes. The extract is known to have antiinflammation and antibacterial activity possibly because of anthocyanins and other types of flavonoids. By this research, the aqueous extract of *Clitoria ternatea* flower is formulated as eye drops, then tested for physicochemical, phytochemical, antiinflammation and antibacterial properties. *Clitoria ternatea* aqueous extract was prepared by maceration and formulated as eye drops with 0.025% w/v, 0.05% w/v and 0.1% w/v extract. All formulas were tested for physicochemical properties including pH, osmolarity and clarity, while phytochemical properties were flavonoid and anthocyanin content. Furthermore, antiinflammation activity was tested by inhibition of protein denaturation method, while antibacterial activity was tested against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

*Eye drops with 0.1% extract fulfilled physicochemical test including pH, osmolarity and clarity. Phytochemical test showed that 1 liter of 0.1% w/v eye drops contains 126.78 mg of flavonoids and 3.89 mg of anthocyanins. Eye drops showed higher antiinflammation activity than positive control with  $IC_{50}$  7.976 ppm. Meanwhile, 0.1% w/v (1,000 ppm) eye drops did not have antibacterial activity. However, increasing extract concentration to 50,000 ppm mg showed antibacterial activity. In conclusion, *Clitoria ternatea* flower aqueous extract can be used as eye drops to decrease common inflammation reaction due to blue light and other irritants.*

**Keywords:** antibacterial, antiinflammation, *Clitoria ternatea* flower, physicochemical, phytochemical, eye drops

## PENDAHULUAN

Pandemi COVID-19 karena SARS-CoV-2 menyebabkan pemerintah memberlakukan aktivitas *work from home* yang secara tidak langsung meningkatkan penggunaan gawai seperti *smartphone* dan laptop sebanyak 76% di Indonesia. Meskipun gawai memiliki berbagai manfaat, gawai juga dapat membahayakan kesehatan mata akibat sinar biru yang terpancar dari media. Sinar biru dengan panjang gelombang 380-500 nm dapat menembus interior mata yang menginduksi reaksi oksidatif dan apoptosis pada kornea, lensa dan retina yang kemudian memicu peradangan atau inflamasi. Peradangan mata yang lebih sering dikenal sebagai iritasi mata ini menyebabkan mata terasa kering, berpasir, panas, gatal dan merah (Amalia, 2019; Dampati, Veronica, & Chrismayanti, 2020).

Selain sinar biru, iritasi mata juga disebabkan oleh bakteri, debu, dan gas di udara. Sebanyak 80% dari 250 juta penduduk Indonesia tinggal di wilayah dengan tingkat polusi udara melebihi pedoman WHO (Greenstone & Fan, 2019; Mandel, Idarraga, Kumar, & Galor, 2020). Oleh karena itu, iritasi mata akibat polutan udara menjadi salah satu masalah yang tidak terhindarkan. Konjungtivitis adalah penyakit mata dengan prevalensi tertinggi di Indonesia yang diakibatkan oleh bakteri

(Ramadhanisa, 2014). Bakteri yang menyebabkan iritasi mata adalah bakteri Gram positif, yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif, yaitu *Escherichia coli* (Lalowang, Porotu'o, & Rares, 2014). Selain antioksidan dan antiinflamasi, antibakteri juga menjadi material yang penting untuk mengatasi peradangan mata akibat dari polutan udara.

Ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol bunga telang juga telah dibuktikan melalui berkurangnya peradangan pada mencit yang diinduksi karagenan. Metabolit pada bunga telang yang dimungkinkan bertanggung jawab untuk aktivitas antiinflamasi dan antibakteri di atas adalah antosianin (Marpaung, 2020; Manivannan, 2019). Bunga telang secara turun temurun telah digunakan untuk mencuci mata dan meredakan mata merah (Purba, 2020; Nurrosyidah, Riya, & Ma'ruf, 2020). Penggunaan bahan alam sebagai antiinflamasi dan antibakteri pada tetes mata memiliki kelebihan salah satunya yaitu mempunyai efek samping lebih kecil daripada bahan sintetik jika digunakan dalam jangka panjang. Selain itu, efikasi dari bahan herbal untuk mengobati penyakit

okuler sekarang mulai banyak dikembangkan (Gupta, Singhvi, & Agarwal, 2012; Nambothiri, Rajappan, & Nambothiri, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan ekstrak air bunga telang sebagai antiinflamasi dan antibakteri pada produk tetes mata untuk mengatasi gejala iritasi mata karena sinar biru dan polutan udara. Formula tetes mata yang mengandung ekstrak air bunga telang dianalisis aktivitas antiinflamasi dan antibakteri terhadap bakteri gram positif dan negatif secara *in vitro*, serta jumlah kandungan fitokimia flavonoid dan antosianin di dalamnya. Adanya formulasi tetes mata dari ekstrak air bunga telang diharapkan dapat menjadi alternatif produk tetes mata bahan alam yang efektif untuk digunakan sehari-hari. Penelitian ini bertujuan untuk membuat produk tetes mata herbal pertama di Indonesia yang mengandung bahan alam asli Indonesia, dalam rangka meningkatkan bioprospeksi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

#### BAHAN DAN METODE BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), akuades, natrium klorida (NaCl), monosodium fosfat (MERCK), disodium fosfat (MERCK), *deionized water* (ONELAB Waterone™), kuersetin (SIGMA), etanol 70%, etanol 96%, AlCl<sub>3</sub> 10% (MERCK), natrium asetat (MERCK), kalium klorida (MERCK), *Bovine Serum Albumine* (BSA) (SIGMA), natrium diklofenak, tris buffer (SIGMA), *nutrient agar* (OXOID CM0003), *nutrient broth* (OXOID CM0001), tetes mata Cendo Xitrol®, tetes mata Insto® Dry Eyes, bakteri *Escherichia coli* FNCC 0091 dan *Staphylococcus aureus* FNCC 0047. Oven Venticell (MMM Medcenter), *Rotary evaporator* RV06-ML (Ika®Werke), blender (Kirin), spektrofotometer UV-Vis

Genesys (Thermoscientific®), pH meter ST10 (OHAUS®), *Biological Safety Cabinet* 1300 Series A2 (Thermoscientific®), *Moisture Analyzer* MB120 (OHAUS®), mesh 30, *millipore filter* (MERCK) dan inkubator (MEMMERT).

#### METODE

##### Ekstraksi

Bunga telang yang dipanen pada bulan Mei 2021 dilakukan pengeringan di udara bebas terlindung dari sinar matahari langsung selama 3 hari, lalu dilanjutkan pengeringan dengan oven pada suhu 50°C selama 30 menit. Bunga telang yang telah kering dilakukan pengecilan ukuran dengan blender dan diayak dengan mesh 30. Sebelum dilakukan ekstraksi, kadar air pada bunga kering diukur untuk memastikan pengeringan telah efektif. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi berdasarkan Iamsaard, et al. (2014) dengan modifikasi, yaitu 200 g bunga telang dipanaskan dengan 3,4 L akuades pada suhu 90-95°C selama 30 menit, disaring dengan kertas saring, lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70-85°C dan dilanjutkan dengan *freeze drying* hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering disimpan di suhu -20°C sampai digunakan untuk formulasi.

##### Formulasi Tetes Mata

Formulasi tetes mata bunga telang (Tabel 1) dibuat berdasarkan Kim, et al. (2020) dengan modifikasi dan variasi konsentrasi ekstrak air bunga telang yaitu 0,1% b/v, 0,05% b/v, 0,025% b/v. Ekstrak air bunga telang dicampur homogen dengan NaCl (0,4% b/v) dan buffer fosfat. Formula dilakukan penyesuaian pH sesuai standar, yaitu 6,9-7,3, lalu disterilisasi dengan *millipore filter* ukuran 0.22 µm di dalam *Biological Safety Cabinet* steril.

Tabel 1. Formulasi tetes mata ekstrak bunga telang

Bahan	Formula I	Formula II	Formula III
Ekstrak bunga telang	0,1%b/v	0,05%b/v	0,025%b/v
NaCl	0,4% b/v	0,4% b/v	0,4% b/v
0,0667 M Monosodium fosfat	8 mL	8 mL	8 mL
0,1334 M Disodium fosfat	10 mL	10 mL	10 mL
Deionized water	ad 45 mL	ad 45 mL	ad 45 mL

### Uji Fisikokimia

Uji Fisikokimia tetes mata meliputi uji pH, osmolaritas dan kejernihan. Pengujian pH dilakukan menggunakan pHmeter yang sudah dikalibrasi pada pH asam, netral dan basa. Uji kejernihan dilakukan dengan pengamatan langsung oleh 3 orang menggunakan latar belakang putih dan hitam di bawah cahaya lampu untuk mendeteksi partikulat putih dan hitam/berwarna. Uji osmolaritas dengan *vapour pressure osmometer* dilakukan dengan mengirimkan sampel dan tetes mata komersial Insto<sup>®</sup> dry eyes ke Laboratorium Pengujian Obat, Makanan dan Kosmetik Universitas Islam Indonesia.

### Uji Antiinflamasi

Uji antiinflamasi dilakukan dengan metode penghambatan denaturasi protein berupa *Bovine Serum Albumine* (BSA) sesuai Farida, Rahmat, & Amanda (2018) BSA 0,2%b/v disiapkan dalam Tris buffer saline pH 6,3, Natrium diklofenak dalam akuades digunakan sebagai kontrol positif, BSA 0,2%b/v sebagai kontrol negatif dan akuades sebagai larutan blanko. Tetes mata ekstrak bunga telang digunakan sebagai sampel. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan menyiapkan 500 µL larutan sampel/ kontrol positif berbagai variasi konsentrasi, kemudian masing-

masing larutan dicampur dengan 4,5 mL BSA 0,2%b/v (dalam Tris buffer saline pH 6,3). Setiap larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ± 25°C lalu dipanaskan selama 5 menit pada suhu 80-82°C dalam *water bath* kemudian didinginkan selama 25 menit pada suhu ruang. Dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm, dan dihitung persentase penghambatan denaturasi protein dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi kontrol negatif}}$$

### Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dan dilakukan perhitungan zona hambat berdasarkan Magani et al. (2020) dengan modifikasi. Kontrol positif adalah produk komersial Cendo Xitrol<sup>®</sup>, sedangkan kontrol negatif adalah tetes mata tanpa ekstrak air bunga telang. Cawan petri berisi media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 10 mL dibiarkan mengeras di LAF, lalu medium *Nutrient Broth* (NB) yang berisi bakteri masing-masing *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dituang dan diratakan di atas masing-masing medium agar menggunakan drigalski. Setelah itu,

dilakukan pembuatan sumuran 5 mm secara steril di medium agar yang sudah berisi bakteri. Pada sumuran ditambahkan 200 µL tetes mata ekstrak bunga telang (0,05% b/v dan 0,1% b/v), ekstrak air bunga telang 50.000 bpj dan 100.000 bpj, serta kontrol positif dan kontrol negatif. Setelah perlakuan, dilakukan inkubasi selama 6 jam pada suhu 37°C. Area di sekitar sumuran yang tidak ada bakteri menunjukkan zona hambat sampel/kontrol positif terhadap pertumbuhan bakteri.

$$D = \frac{d1 + d2}{2}$$

Keterangan

D = diameter zona hambat antibakteri  
d1 = diameter vertikal zona bening  
d2 = diameter horizontal zona bening

#### Uji Kadar Flavonoid Total

Uji kadar flavonoid total dilakukan berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2017) dengan modifikasi. Larutan baku standar kuersetin dilarutkan dalam etanol 96% dan dibuat seri pengenceran 12,5, 25, 50, 100 dan 200 bpj. Larutan uji berupa ekstrak bunga telang dan tetes mata ekstrak bunga telang dengan konsentrasi 1000 bpj. Larutan baku standar dan larutan uji diambil sebanyak 0,5 mL, dicampurkan dengan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M dan 4,3 mL akuades, lalu diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Kurva kalibrasi dibuat dan persentase kadar flavonoid total dalam ekstrak (mg kuersetin/g ekstrak) dihitung berdasarkan kurva baku menggunakan rumus berikut.

$$TFC = \frac{C \times V \times F}{W} \times 100$$

Keterangan:

TFC = Total Flavonoid Content (mg kuersetin/g ekstrak)

C = Kadar pada larutan uji berdasarkan kurva baku kuersetin  
V = Volume larutan uji sebelum pengenceran  
F = Faktor pengenceran larutan uji  
W = Bobot bahan uji (ekstrak)

#### Uji Kandungan Antosianin Total

Uji kandungan antosianin total dilakukan dengan *pH Differential Method* berdasarkan Juniarka et al. (2011) dan Jaafar et al. (2020). Ekstrak bunga telang dan tetes mata ekstrak bunga telang dengan konsentrasi 1000 bpj sebanyak 0,5 mL dicampur pada 2 larutan buffer yang berbeda. Larutan buffer yang pertama adalah 4,5 mL 0,25 M buffer KCl pH 1,0, sedangkan larutan buffer yang kedua adalah 4,5 mL 0,4 M buffer natrium asetat pH 4,5. Larutan blanko berupa akuades sebanyak 5 mL. Absorbansi larutan uji diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan berdasarkan persamaan berikut.

$$A = [(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 1,0}} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 4,5}}]$$

Berdasarkan absorbansi di atas, dilakukan perhitungan total monomerik antosianin (mg/L) sebagai sianidin-3-glikosida dengan rumus berikut.

$$\text{MAP} = \frac{(A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000)}{(\epsilon \times b)}$$

Keterangan:

MAP : Monomeric Anthocyanin Pigment (mg/L)

A : Absorbansi larutan

MW : Berat molekul sianidin-3-glikosida (448,8 g/mol)

DF : Faktor pengenceran

ε : Absortivitas molar sianidin-3-glikosida (26900)

b : tebal kuvet (1 cm)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Simplisia bunga telang yang sudah dikeringkan mengandung kadar air 8,41% b/b sesuai dengan standar baku mutu simplisia sebagai bahan baku ekstrak yaitu kurang dari 10% (Utami et al., 2020). Pengurangan kadar air pada simplisia bertujuan untuk mengurangi kerusakan metabolit dan mengurangi pertumbuhan bakteri atau jamur ketika penyimpanan simplisia (Dharma et al., 2020).

Pada penelitian ini pelarut akuades lebih dipilih dibanding pelarut organik seperti etanol dengan pertimbangan untuk mencegah kemungkinan adanya *trace* etanol pada formula produk tetes mata. Ekstrak air yang diperoleh dari maserasi diupayakan menggunakan *freeze dryer* untuk mengurangi degradasi metabolit sekunder seperti antosianin yang tidak stabil pada suhu 100°C. Dari hasil maserasi tersebut diperoleh rendemen 30,56% b/b. Ekstrak yang dihasilkan dari metode *freeze drying* diharapkan lebih stabil karena memiliki kandungan pelarut rendah, sehingga produk dengan bahan baku ekstrak akan memiliki waktu simpan yang lama (Reubun et al., 2020).

### Formulasi

Ketiga formula tetes mata ekstrak air bunga telang, yaitu formula I (0,1% b/v),

formula II (0,05% b/v) dan formula III (0,025% b/v) menunjukkan pH 7,1 (Tabel 2) yang memenuhi rentang pH air mata normal yaitu 6,5-7,6 (Abelson et al., 1981). Selain itu, tidak ditemukan partikel putih dan hitam/berwarna pada uji kejernihan secara *visible*. Berdasarkan uji osmolaritas, diperoleh nilai rata-rata tekanan osmotik formula I sebesar  $286 \pm 67,9$  mOsm/kg. Nilai osmolaritas tersebut memenuhi rentang osmolaritas air mata normal yaitu 260-340 mOsm/kg (Benelli et al., 2020). Mata kering diketahui memiliki osmolaritas air mata yang lebih tinggi dari normal sehingga dapat merusak sel epitel yang kemudian menyebabkan inflamasi, apoptosis, bahkan hilangnya penglihatan. Untuk menurunkan hiperosmolaritas pada penderita mata kering tersebut, osmolaritas beberapa produk tetes mata untuk mata kering dibuat normal atau sedikit lebih rendah dari air mata normal (Comez et al., 2013). Pada penelitian ini kontrol positif produk komersial *Insto Dry Eyes*® menunjukkan nilai rata-rata osmolaritas sedikit di bawah standar yaitu  $251,5 \pm 19,1$  mOsm/kg, dimana hal ini sesuai dengan strategi penurunan hiperosmolaritas pada penderita mata kering. Berdasarkan ketiga uji fisikokimia di atas, formula I memenuhi syarat uji fisikokimia pH, kejernihan dan osmolaritas tetes mata.

Tabel 2. Hasil uji fisikokimia tetes mata ekstrak air bunga telang

Uji	Standar	Formula I	Formula II	Formula III	Produk komersial
pH	6,5-7,6	7,1	7,1	7,1	-
Kejernihan	Partikel putih	0	0	0	0
	Partikel hitam/berwarna	0	0	0	0

Osmolaritas	260-340 mOsm/kg	286 ± 67,9	243 ± 76,4	186 ± 1,4	251,5 ± 19,1
-------------	-----------------	------------	------------	-----------	--------------

### Uji Antiinflamasi

Metode penghambatan denaturasi albumin secara *in vitro* digunakan untuk skrining aktivitas antiinflamasi sebelum dilakukan uji antiinflamasi secara *in vivo*. Pada metode ini, denaturasi protein albumin bertindak sebagai antigen yang memicu reaksi imun ketika terjadi inflamasi, dan juga menjadi penyebab inflamasi. Ketika penghambatan denaturasi albumin lebih dari 20%, maka dapat dikatakan senyawa penghambat tersebut memiliki aktivitas antiinflamasi. Pengujian denaturasi albumin adalah metode yang layak dan sederhana untuk menguji potensi obat antiinflamasi. Oleh karena itu, pengujian antiinflamasi tetes mata ekstrak air bunga telang menggunakan metode denaturasi albumin (Laksmiawati & Tiffani, 2019; Abidin et al., 2019).

Berdasarkan hasil uji antiinflamasi, tetes mata ekstrak air bunga telang memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 7,976 bpj (Tabel 3) lebih kecil dari kontrol positif natrium diklofenak dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 11,673 (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa tetes mata ekstrak air bunga telang mampu menghambat denaturasi protein lebih efektif dibanding kontrol positif karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang lebih rendah. Mengingat konsentrasi ekstrak air bunga telang di dalam formula lebih dari 7,976 bpj maka dapat disimpulkan bahwa ketiga formula tetes mata memiliki aktivitas antiinflamasi karena kemampuan menghambat inflamasi lebih dari 20%.

Tabel 3. Hasil uji antiinflamasi tetes mata ekstrak air bunga telang

Konsentrasi (bpj)	% inhibisi 1	% inhibisi 2	% inhibisi 3	Rata-rata % inhibisi	SD % inhibisi	IC <sub>50</sub> (bpj)
50	97,62	96,50	97,50	97,20	0,62	7,976
25	94,62	94,62	93,99	94,41	0,36	(nilai r = 0.971)
12,5	77,60	71,59	78,97	76,05	3,93	
6,25	39,05	39,67	33,79	37,51	3,23	

Tabel 4. Hasil uji antiinflamasi natrium diklofenak sebagai kontrol positif

Konsentrasi (bpj)	% inhibisi 1	% inhibisi 2	% inhibisi 3	Rata-rata % inhibisi	SD % inhibisi	IC <sub>50</sub> (bpj)
100	66,70	69,85	70,61	69,05	2,07	(nilai r = 0.972)
50	57,16	67,08	57,61	60,46	5,73	
25	51,53	65,65	46,37	54,52	9,98	
12,5	49,71	58,97	45,42	51,37	6,92	
6,25	43,51	48,38	44,85	45,58	2,51	

### Uji Antibakteri

Produk tetes mata komersial (Cendo Xitrol®) mengandung neomycin sulfat dan polymixin B sulfat yang masing-masing

sebagai antibakteri gram positif dan negatif. Pada penelitian ini kontrol positif sejumlah 200 µL menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kuat yang ditunjukkan

dengan diameter zona hambat >20 mm (Tabel 5). Sebaliknya, produk tetes mata ekstrak air bunga telang 0.05%b/v (500 bpj) dan 0,1%b/v (1.000 bpj) dengan volume 200 µL tidak menunjukkan zona hambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* (Tabel 5). Pada volume yang sama, ekstrak air bunga telang dengan konsentrasi 50.000 bpj menunjukkan zona hambat lemah terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi yaitu 100.000 bpj memberikan zona hambat sedang terhadap

*E. coli* dan zona hambat lemah terhadap *S. aureus*. Berdasarkan hasil uji antibakteri tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak air bunga telang memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi  $\geq 50.000$  bpj, sehingga tetes mata ekstrak air bunga telang 0,1% b/v (1.000 bpj) tidak memiliki aktivitas antibakteri jika digunakan dengan volume beberapa tetes, dimana 1 tetes setara dengan 50 µL.

Tabel 5. Hasil uji antibakteri tetes mata ekstrak air bunga telang

Sampel	Diameter zona hambat (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
Kontrol positif (produk komersial)	30	14	20	20	24	20
	Rata-rata = 21,33			Rata-rata: 21,33		
Formula I (0,1 %/ 1.000 bpj)	0	0	0	0	0	0
	Rata-rata = 0			Rata-rata = 0		
Formula II (0,05 %/ 500 bpj)	0	0	0	0	0	0
	Rata-rata = 0			Rata-rata = 0		
Ekstrak bunga telang 50.000 bpj	1	1	3	1	1	2
	Rata-rata = 1,67			Rata-rata = 1,33		
Ekstrak bunga telang 100.000 bpj	4	6	5	4	3	5
	Rata-rata = 5			Rata-rata = 4		

Keterangan :

<5 mm = lemah

5-10 mm = sedang

11-20 mm = kuat

### Uji Kandungan Flavonoid

Berdasarkan persamaan kurva baku standar kuersetin yang diperoleh yaitu  $y = 0,0073x + 0,0549$  ( $r = 0,999$ ), dapat diketahui bahwa ekstrak air bunga telang dengan konsentrasi 1.000 bpj mengandung total flavonoid (TFC)  $126,78 \pm 2,99$  mg kuersetin (QE)/ gram ekstrak (Tabel 6). TFC yang dianalisis langsung dari produk tetes mata ekstrak air bunga telang tidak dapat dilakukan mengingat kandungan elektrolit pada produk mengganggu reaksi dengan  $AlCl_3$ . Nilai TFC ekstrak air bunga

telang yang diperoleh dari penelitian ini lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan oleh Muttalib et al. (2017) yaitu 16.19 mg QE/g ekstrak air, dan sedikit lebih rendah dari penelitian Jaafar et al. (2020) yaitu  $187,05 \pm 3,18$  mg QE/gram ekstrak etanol. Lama waktu ekstraksi dengan pelarut air dan panas yang dilakukan oleh Muttalib et al. (2017) dua puluh menit lebih cepat dibandingkan ekstraksi pada penelitian ini. Sedangkan ekstraksi yang dilakukan oleh Jaafar et al. (2020) menggunakan etanol 37% dengan temperatur 45°C selama 90 menit, sesuai dengan hasil optimasi



ekstraksi berdasarkan data uji aktivitas antioksidan. Dari perbandingan TFC ini dapat diketahui bahwa ekstrak air dari

penelitian ini mendekati nilai TFC hasil optimasi ekstraksi dengan etanol dari penelitian sebelumnya.

Tabel 6. Hasil uji kuantitatif flavonoid dan antosianin ekstrak dan tetes mata bunga telang

Sampel	Total Flavonoid (mg QE/g ekstrak)	Total Pigmen Antosianin Monomer (mg/g ekstrak)
Ekstrak 1.000 bpj (0,1% b/v)	126,78 ± 2,99	3,14 ± 0,35
Tetes mata ekstrak 1.000 bpj (0,1% b/v)	n.a.	3,89 ± 0,39

Keterangan : n.a. = tidak dapat dilakukan

### Uji Kandungan Antosianin

Analisis total kandungan antosianin dapat dilakukan dengan menentukan antosianin bentuk polimer atau monomer. Antosianin bentuk monomer memiliki struktur yang lebih bebas dibandingkan polimer sehingga diketahui memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan bentuk polimernya (Muttalib et al., 2017). Mengingat adanya kaitan antara antioksidan dan inflamasi maka dilakukan analisis jumlah antosianin monomer pada ekstrak air dan tetes mata ekstrak air bunga telang. Ekstrak air bunga telang 1000 bpj mengandung antosianin monomer sejumlah 3,14 ± 0,35 mg sianidin-3-glikosida (CE)/g ekstrak, dan pada tetes mata ekstrak air bunga telang 1000 bpj sejumlah 3,89 ± 0,39 mg CE/g ekstrak (Tabel 6). Total antosianin pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan data dari Muttalib et al. (2017) yaitu 1,10 mg CE/g ekstrak air dan Chayaratanasin et al. (2015) yaitu 1,46 mg CE/g ekstrak air. Adanya perbedaan total kandungan monomer antosianin dari beberapa ekstrak air ini dipengaruhi oleh lokasi pengambilan sampel, suhu dan lama waktu ekstraksi. Antosianin dapat diekstrak semakin banyak pada suhu yang tinggi, namun akan terdegradasi pada suhu di atas 100°C (Jaafar et al., 2020).

### PEMBAHASAN

Terjadinya kontak yang berlebihan antara sinar biru (380-500 nm) dan interior mata dapat menginduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada retina dan kornea. Efek yang sinergis antara sinar biru dan fotosensitizer N-retinylidene-N-retinylethanolamine (A2E) pada *retinal pigment epithelium cells* (sel RPE) meningkatkan produksi ROS dan menyebabkan aktivasi reaksi inflamasi, kerusakan DNA dan penghambatan fungsi mitokondria dan lisosom pada RPE (Ouyang et al., 2020). Akumulasi ROS pada sel RPE mengaktifasi reseptor C-C *chemokine* yang menyebabkan sekresi dari mediator inflamasi seperti interleukin I (IL-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), caspase-1, dan monocyte adhesion factor (MCP-1) (Narimatsu, et al., 2015). ROS pada kornea juga dapat mengaktifasi *inflammasome* NLRP3, yang diikuti dengan sekresi IL-1 dan IL-6 (Yamaguchi, 2018). Reaksi inflamasi pada kornea berkaitan dengan munculnya gejala mata kering. Keluarnya faktor-faktor inflamasi mengurangi sekresi air mata dan mucin, menurunkan stabilitas lapisan air mata, meningkatkan evaporasi air mata dan pada akhirnya menyebabkan hiperosmosis pada permukaan bola mata (Ouyang et al., 2020). *Staphylococcus aureus* yang ada pada

polutan udara juga berperan mengaktivasi inflamasi melalui interaksi antara lipoprotein pada dinding sel bakteri dengan Toll-like receptor 2 pada sel epitel kornea (Li et al., 2008). Pada *Escherichia coli* reaksi inflamasi dipicu oleh lipopolisakarida yang ada pada membran selnya (Ranjith, et al., 2017).

Denaturasi albumin sebagai model antigen pemicu reaksi inflamasi dapat dihambat >20% oleh tetes mata ekstrak air bunga telang 0,1%b/v, 0,05%b/v dan 0,025% b/v, dimana diketahui bahwa IC<sub>50</sub> produk tetes mata adalah 7,976 bpj. Hal ini menunjukkan bahwa tetes mata ekstrak air bunga telang dapat mengurangi reaksi inflamasi umum pada mata akibat ROS. Dibandingkan aktivitas antiinflamasinya, aktivitas antibakteri ekstrak air bunga telang pada produk tetes mata relatif rendah karena diperlukan konsentrasi cukup tinggi yaitu 50.000 bpj ekstrak air bunga telang agar dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan analisis kandungan flavonoid diketahui bahwa ekstrak air bunga telang memiliki kandungan total flavonoid 126,78± 2,99 mg QE/ gram ekstrak. Nilai ini mendekati jumlah TFC pada ekstrak etanol 37% penelitian yang dilakukan oleh Jaafar et al. (2020), dimana ekstrak etanolik tsb memiliki aktivitas antioksidan maksimal. Aktivitas antioksidan dibawa oleh flavonoid dan senyawa gugus fenolik lainnya. Antosianin yang membawa warna pada bunga telang merupakan golongan flavonoid yang juga berfungsi sebagai antioksidan (Muttalib et al., 2014). Diketahui bahwa kandungan antosianin monomer pada produk tetes mata ekstrak air bunga telang adalah 3,89± 0,39 mg CE/g ekstrak. Jumlah tersebut lebih besar dibanding ekstrak air bunga telang dari beberapa penelitian sebelumnya. Kandungan flavonoid dan antosianin pada ekstrak air bunga telang produk tetes mata menunjukkan bahwa produk ini memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menurunkan reaksi inflamasi mengingat

salah satu pemicu inflamasi adalah akumulasi ROS.

Selain reaksi langsung dengan ROS, flavonol seperti glikosida kuersetin pada ekstrak bunga telang menurunkan inflamasi melalui penghambatan aktivitas COX-2. Sedangkan antosianin jenis ternatin yang banyak ditemukan di bunga telang yang diketahui dapat menghambat translokasi NF-κB ke nukleus dan ekspresi protein iNOS. Penghambatan aktivitas COX-2, NF-κB dan ekspresi protein iNOS pada akhirnya akan mencegah pembentukan mediator-mediator inflamasi (Nair et al., 2015).

Melalui pembuktian aktivitas antiinflamasi tetes mata ekstrak air bunga telang secara *in vitro*, serta analisis kandungan flavonoid dan antosianin, dapat diketahui bahwa produk tetes mata memiliki kemampuan untuk meredakan iritasi mata secara umum. Formula tetes mata ekstrak air bunga telang yang direkomendasikan pada penelitian ini adalah 0,1% b/v berdasarkan pada hasil uji fisikokimia dan bioaktivitas.

## SIMPULAN

Formula tetes mata ekstrak air bunga telang 0,1%b/v memenuhi syarat fisikokimia yang meliputi pH, osmolaritas dan kejernihan. Uji bioaktivitas secara *in vitro* menunjukkan bahwa tetes mata ekstrak air bunga telang 0,1%b/v memiliki aktivitas antiinflamasi namun tidak ada aktivitas antibakteri. Aktivitas tersebut berasal dari kandungan flavonoid sebesar 126,78± 2,99 mg QE/ gram ekstrak dan antosianin monomer sebesar 3,89± 0,39 mg CE/g ekstrak. Tetes mata ekstrak air bunga telang 0,1%b/v memiliki prospek untuk meredakan iritasi secara umum pada mata yang disebabkan oleh sinar biru maupun iritan lainnya. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vivo* dari tetes mata ekstrak air bunga telang dengan model mata teriritasi sinar biru. Selain itu juga perlu dilakukan uji fisikokimia produk tetes mata yang lebih detail seperti

viskositas dan sterilitas sebelum masuk ke uji *in vivo*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah mendukung pembiayaan penelitian dalam bentuk Program Pekan Kreativitas Mahasiswa 2021. Selain itu, kami juga mengucapkan terima kasih untuk Laboratorium Teknobio-Industri, Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang mendukung jalannya penelitian, Laboratorium Advanced Pharmaceutical Science (APS), Universitas Gadjah Mada yang telah mendukung proses *freeze drying* atau liofilisasi ekstrak, dan Laboratorium Pengujian Obat, Makanan, dan Kosmetik (LPOMK) Universitas Islam Indonesia yang telah mendukung pengujian osmolaritas.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abelson, M. B., Udell, I. J., & Weston, J. W. (1981). Normal Human Tear pH by Direct Measurement. *Arch. Ophthalmol.*, 99(2), 301.
- Abidin, Z., Putri, U., & Widiastuti, H. (2019). Potensi antiinflamasi fraksi etil asetat ranting patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan uji penghambatan denaturasi protein. *Ad-Dawaa J. Pharm. Sci.*, 2(2), 49-54.
- Amalia, H. (2019). Efek sinar biru pada kornea, lensa dan retina. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 2(1), 1-2.
- Benelli, U., Nardi, M., Posarelli, C., & Albert, T. G. (2020). Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Cont. Lens Anterior Eye*, 33(2), 61-67.
- Chayatanasin, P., Barbieri, M., Suanpairintr, N., & Adisakwattana, S. (2015). Inhibitory effect of *Clitoria ternatea* flower petal extract on fructose-induced protein glycation and oxidation-dependent damages to albumin in vitro. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(27), 5-23.
- Comez, A. T., Tufan, H. A., Kocabiyik, O., & Gencer, B. (2013). Effects of Lubricating Agents with Different Osmolalities on Tear Osmolarity and Other Tear Function Tests in Patients with Dry Eye. *informa*, 38(11), 1095-1103.
- Dampati, P. S., Veronica, E., & Chrismayanti, N. K. (2020). Pengaruh penggunaan smartphone dan laptop terhadap muskuloskeletal penduduk indonesia pada pandemi covid-19. *Gema Kesehatan*, 12(2), 57-67.
- Dharma, M., Nocianitri, K., & Yusrasrini, N. (2020). Pengaruh metode pengeringan simplisia terhadap kapasitas antioksidan wedang uwuh. *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 9(1), 88-95.
- Farida, Y., Rahmat, D., & Amanda, A. (2018). Uji aktivitas antiinflamasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia nanopartikel ekstrak etanol rimpang temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) dengan metode Penghambatan Denaturasi Protein.*, 16(2), 225-230.
- Greenstone, M., & Fan, Q. C. (2019). *Kualitas Udara Indonesia yang Memburuk dan Dampaknya terhadap Harapan Hidup*. Chicago: Energy Policy Institute At The University of Chicago.
- Gupta, S., Singhvi, I., & Agarwal, A. (2012). Herbal eye drop for the management of ophthalmic disorder. *Int. J. Chem. Sci.*, 10(2), 1893-1896.
- Iamsaard, S., Burawat, J., Kanla, P., Arun, S., Sukhorum, W., Sripanidkulchai, B., . . . Kondo, H. (2014). Antioxidant activity and protective

- effect of *Clitoria ternatea* flower extract on testicular damage induced by ketoconazole in rats. *Journal of Zhejiang University-Science B.*, 15(6), 548-555.
- Jaafar, N., Salleh, M., & Ramli, M. (2020). Optimum extraction condition of *Clitoria ternatea* flower on antioxidant activities, total phenolic, total flavonoid and total anthocyanin contents. *Tropical Life Science Research*, 3(12), 1-17.
- Juniarka, I., Lukitaningsih, E., & Noegrohati, S. (2011). Analisis aktivitas antioksidan dan kandungan antosianin total ekstrak dan liposom kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 115-123.
- Kementrian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (2 ed.). Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, S.-J. P., Huh, H. W., Na, Y.-G., Kim, M., Han, M., Lee, H., . . . Cho, C.-W. (2020). *Achyranthis radix* extract-loaded eye drop formulation development and novel evaluation method for dry eye treatment. *Pharmaceutics*, 12(165), 1-15.
- Laksmiawati, D., & Tiffani, C. (2019). Aktivitas penghambatan denaturasi albumin dan efek anti-inflamasi campuran ekstrak herba meniran, daun kelor, daun salam. *Majalah Farmasetika*, 4(1), 233-239.
- Lalowang, M., Porotu'o, J., & Rares, F. (2014). Pola bakteri aerob penyebab konjungtivitis pada penderita rawat jalan di balai kesehatan mata masyarakat Kota Manado. *e-Biomedik*, 2(1), 1-8.
- Li, Q., Kumar, A., Gui, J.-F., & X Yu, F.-S. (2008). *Staphylococcus aureus* lipoproteins trigger human corneal epithelial innate response through toll-like receptor-2. *Microbial Pathogenesis*, 44(5), 426-434.
- Magani, A., Tallei, T., & Kolondam, B. (2020). Uji antibakteri nanopartikel kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7-12.
- Mandel, J. T., Idarraga, M., Kumar, N., & Galor, A. (2020). Impact of air pollution and weather on dry eye. *Journal of Clinical Medicine*, 9(11), 1-24.
- Manivannan, R. (2019). Isolation and characterizations of new alkaloid 3-deoxy-3,11-epoxy cephalotaxine from *Clitoria ternatea*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4), 458-462.
- Marpaung, A. (2020). Tinjauan manfaat bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) bagi kesehatan manusia. *Journal of Functional Food and Nutraceutical*, 1(2), 47-69.
- Muttalib, S., Abdullah, N., & Manshoor, N. (2014). Anthocyanin content in relation to the antioxidant activity and colour properties of *Garcinia mangostana* peel, *Syzygium cumini* and *Clitoria ternatea* extracts. *International Food Research Journal*, 21(6), 2369-2375.
- Muttalib, S., Abdullah, N., & Manshoor, N. (2017). Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. *Journal of Functional Foods*, 38, 232-241.
- Nair, V., Bang, W., Schreckinger, E., Andarwulan, N., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Protective Role of Ternatin Anthocyanins and Quercetin Glycosides from Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* Leguminosae) Blue Flower Petals against Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammation in Macrophage Cells. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 63, 6355-6365.
- Namboothiri, D. G., Rajappan, A., & Namboothiri, P. P. (2015). Antiinflammatory, antiosidant and antimicrobial activity of a new herbal eye drop. *International journal of research in aryvreda and pharmacy*, 6(2), 256-260.
- Narimatsu, T., Negishi, K., Miyake, S., Hirasawa, M., Osada, H., Kurihara, T., . . . Ozawa, Y. (2015). Blue light-induced inflammatory marker expression in the retinal pigment epithelium-choroid of mice and the protective effect of a yellow intraocular lens material in vivo. *Experimental Eye Research*, 132, 48-51.
- Nurrosyidah, I., Riya, M., & Ma'ruf, A. (2020). Studi etnobotani tumbuhan obat berbasis pengetahuan lokal di Desa Seloliman Kecamatan Trawas Kabupaten Mojokerto Jawa Timur. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 169-185.
- Ouyang, X., Yang, J., Hong, Z., Xie, Y., & Wang, G. (2020). Mechanisms of blue light-induced eye hazard and protective measures: a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110577.
- Purba, E. (2020). Kembang telang (*Clitoria ternatea* L.): pemanfaatan dan bioaktivitas. *Jurnal Edu Mat Sains*, 4(2), 111-124.
- Ramadhanisa, A. (2014). Conjunctivitis bacterial treatment in Kota Karang village. *J. Medula Unila*, 3(2), 1-7.
- Ranjith, K., Arunasri, K., Reddy, G., Adicherla, H., Sharma, S., & Shivaji, S. (2017). Global gene expression in *Escherichia coli*, isolated from the diseased ocular surface of the human eye with a potential to form biofilm. *Gut. Pathog.*, 9(15), 15.
- Reubun, Y. T., Kumala, S., Setyahadi, S., & Simanjan, P. (2020, Juli). Pengeringan Beku Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica*). *Sainstech farma*, 13(2), 113-117.
- Utami, Y., Sisang, S., & Burhan, A. (2020). Pengukuran parameter simplisia dan ekstrak etanol daun patikala (*Etlingera eliator* (Jack) R. M. Sm) asal kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 24(1), 5-10.
- Yamaguchi, T. (2018). Inflammatory reponse in dry eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59, 192-199.