

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis riset yang dipakai yakni true-eksperimental laboratorium guna melihat “bagaimana aktivitas ekstrak bunga telang bisa menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus sp.* serta pada konsentrasi berapakah ekstrak bunga telang dalam menghambat jamur *Aspergillus sp.*”.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Pelaksanaan studi di laboratorium Bakteriologi prodi Teknologi
Laboratorium Medis

2. Waktu Penelitian

Pelaksanaan studi pada bulan Februari-Mei 2026

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (Independent Variable)

Konsentrasinya ekstrak bunga telang untuk menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus sp.* dalam berbagai konsentrasinya 20%, 40%, 60%, 80%, serta 100%

2. Variabel Terikat (Dependent Variable)

Zona hambat atau Pertumbuhan jamur terhadap pemberian ekstraknya bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus sp.*

D. Sampel dan Teknik Pengulangan

1. Sampel

Sampel studi ini yakni bunga telang yang tumbuh di Oesapa, Nusa Tenggara Timur.

2. Teknik Pengulangan

Dalam penetapan jumlah sampel menurut (Annisah et al. 2018), maka peneliti memakai rumusnya Federer yakni di mana :

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

t : jumlahnya perlakuan

n : banyaknya pengulangan

Diketahui jumlah perlakuannya diberikan (t) = 5, maka minimal pengulangan yang diperlukan:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n = 4,75$$

Jadi, banyaknya pengulangan yang perlu dilakukan 5 maka dipakai 5 pengulangan. Artinya setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

E. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Defenisi Operasional	Satuan Ukur	Skala Data
1.	Ekstrak Bunga telang	Bunga telang sudah melalui proses pencucian, pengeringan, diblender, dimaserasi dengan etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak bunga telang (<i>Clitoria ternatea L</i>)	Gram	Rasio
2.	<i>Aspergillus Sp.</i>	Jamur yang telah melalui Penyetaraan Suspensi dengan Standard McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml)	CFU/ml	Rasio
3.	Konsentrasi ekstrak bunga telang	Kadar ekstraknya bunga telang (<i>Clitoria ternatea L</i>) yang telah diencerkan dengan DMSO yaitu 20%,40%,60%,80%,100 % untuk menghambat pertumbuhan jamur <i>Aspergillus sp</i>	%	Rasio
4.	Zona hambat	Ekstrak bunga telang membentuk zona bening yang mengindikasikan aktivitas antijamur, sebagaimana diukur dengan teknik difusi, yang dalam penelitian ini disebut sebagai zona penghambatan.	Mm	Rasio

F. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat

Batang pengaduk, cawan petri, ose steril, labu ukur, pipet ukur, beaker glass, *incubator*, *autoclave*, *oven*, blender, kertas coklat, kapas, benang, cakram *blank disk*, *cotton swab* steril, kertas label, pingset, bunsen, aluminium foil, toples kaca, korek api, sendok tanduk, penggaris/jangka sorong, *waterbath*, *evaporator*, cawan penguap, blue tip, corong kaca, kertas saring *whatman*, *hot plate*, naraca analitik, tabung reaksi, alat pelindung diri (APD).

b. Bahan

Bunga telang, etanol 70%, aquadest steril, media *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)*, biakan murni jamur *Aspergillus sp.* reagen DMSO 5%, NaCl 0,9%, kotoconazol.

2. Sterilisasi Alat

Sesudah semua perlengkapan dan alat yang diperlukan terkumpul, setiap peralatan dicuci dengan hati-hati, dikeringkan, dibungkus dengan kain, lalu dimasukkan ke dalam inkubator untuk membunuh bakteri atau virus selama 10 hingga 20 menit.

3. Preparasi Sampel

Mengumpulkan dan membersihkan bunga telang merupakan langkah pertama dalam mempersiapkannya untuk dicuci dengan air mengalir. Langkah selanjutnya adalah mengeringkan bunga-bunga tersebut di

bawah sinar matahari selama tiga hari, sambil membalikkannya di tengah proses agar kering secara merata. Setelah kering, bunga-bunga tersebut dihaluskan hingga menjadi bubuk halus (Nadia et al. 2022).

4. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Ekstrak bunga telang diperoleh melalui metode maserasi. Sebanyak 100 gram serbuk simplisia bunga telang dimasukkan ke dalam toples kaca, lalu direndam dengan 1.000 ml etanol 70%, ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama tiga hari sambil sesekali diaduk. Setelah perendaman, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtrat pertama dan sisa residunya. Residu tersebut kemudian direndam kembali dengan 500 ml etanol 70%, ditutup rapat, dan didiamkan selama dua hari sambil sesekali diaduk. Setelah itu, disaring kembali untuk memperoleh filtrat kedua dan residu kedua. Kedua filtrat yang dihasilkan digabung dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental bunga telang. Ekstrak kental ini kemudian dipanaskan dalam waterbath sampai seluruh pelarut etanol menguap sepenuhnya. Ekstrak akhir disimpan dalam wadah kaca tertutup hingga siap digunakan untuk pengujian (Nafis et al. 2023).

5. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Bunga Telang

Pembuatannya konsentrasi dilaksanakan berlandaskan rumus pengenceran, yakni:

Rumus pengenceran:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan:

V1 =Volume sebelum pengenceran

V2 =Volume sesudah pengenceran

M1 =Konsentrasinya sebelum pengenceran

M2 =Konsentrasinya sesudah pengenceran

Tabel 3.2 Konsentrasi ekstrak bunga telang

Konsentrasi	Volume Ekstrak	Volume Pelarut
20% dalam 10 ml	2 ml	8 ml
40% dalam 10 ml	4 ml	6 ml
60% dalam 10 ml	6 ml	4 ml
80% dalam 10 ml	8 ml	2 ml
100% dalam 10 ml	10 ml	0 ml

6. Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)*

Pembuatan media SDA dilakukan dengan mengacu pada modul praktikum media yang telah dimodifikasi. Serbuk SDA ditimbang sebanyak 5,0 g menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest sebanyak 250 mL. Campuran tersebut dipanaskan sambil diaduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen dan media larut secara sempurna. Setelah itu, erlenmeyer diangkat dan didinginkan sementara hingga bersuhu suam-suam kuku, lalu ditutup menggunakan kapas atau plastik penutup sebelum disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dengan total proses sterilisasi berlangsung sekitar 45–60 menit.

Setelah suhu media mencapai sekitar 45°C–50°C, antibiotik amoksisilin ditambahkan ke dalam media, kemudian campuran dihomogenkan kembali. Media selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 15–20 mL pada masing-masing cawan, lalu diratakan secara perlahan dengan gerakan membentuk pola angka delapan. Media dibiarkan hingga memadat dan siap digunakan untuk tahap pengujian selanjutnya (Liani 2017).

7. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Bunga Telang Terhadap Jamur *Aspergillus sp.*

Pengujian daya hambat ekstrak bunga telang ungu (*Clitoria ternatea L.*) pada jamur *Aspergillus sp.* dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Konsentrasi ekstrak yang digunakan meliputi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Pada pengujian ini, ketokonazol digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO dipakai sebagai kontrol negatif. Suspensi jamur *Aspergillus sp.* terlebih dahulu distandarisasi tingkat kekeruhannya hingga setara dengan 0,5 McFarland agar jumlah inokulum memenuhi standar uji sensitivitas. Selanjutnya, suspensi jamur yang telah distandarisasi diinokulasikan secara merata pada permukaan media SDA. Cakram uji steril kemudian direndam selama 1–2 menit ke dalam masing-masing konsentrasi ekstrak bunga telang ungu, lalu ditempatkan pada permukaan media SDA yang telah diinokulasi jamur *Aspergillus sp.* secara aseptik di dalam “laminar air flow”. Media yang telah diberi cakram diinkubasi dalam inkubator pada

suhu 27°C selama 2×24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, pertumbuhan jamur diamati, kemudian diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk di sekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong. Selanjutnya penggolongan besaran zona hambat muncul pada kategorinya “Davis Stout, yaitu ≥ 20 mm = sangat kuat, 10 – 20 mm = kuat, 5 – 10 mm = sedang dan ≤ 5 mm = lemah” (Raja Simarmata et al. 2024).

G. Analisis Hasil

Pengujian aktivitas antijamur ekstraknya etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) pada jamur *Aspergillus sp.* dilaksanakan menggunakan metodologi difusi cakram. Aktivitas antijamur ditentukan dengan mengamati pembentukan zona bening (zona hambat) sekitaran cakram yang mengandung ekstrak, lalu dibanding dengan kontrolnya positif berupa antibiotik/antijamur standar serta kontrolnya negatif. Diameter zona penghambatan diukur dalam milimeter (mm) menggunakan penggaris vernier atau penggaris biasa. Untuk setiap konsentrasi ekstrak, kami melakukan percobaan berulang kali, lalu menjumlahkan diameter zona penghambatan tersebut. Untuk mendapatkan nilai rata-rata, kami membagi jumlah tersebut dengan jumlah pengulangan.