# BAB IIIMETODE PENELITIAN

## **Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium. Metode yang digunakan untuk mengekstraksi kandungan kimia dalam batang bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) adalah dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui efek pada fraksi batang kayu bajakah (*Spathoobus littoralis* Hassk).

## **Lokasi dan Jadwal Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara (UMN) Al-Washliyah Medan. Rencana penelitian pada bulan Januari–Mei 2023.

## **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu bajakah yang dikeringkan menjadi simplisia. Bahan kimia yang digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total diantaranya adalah etanol 96%, asam asetat anhidrida, asam nitrat, asam sulfat, amil alkohol, besi (III) klorida, bismut (III) nitrat, iodium, kalium iodida, serbuk magnesium, raksa (II) klorida, alfa-nafthol, timbal (II) asetat, toluene, kloroform, N-heksana, aquadest, asam klorida, kuersetin, aluminium klorida, natrium asetat, kuersetin.

Bahan kimia yang digunakan untuk uji antibakteri adalah akuades steril (Otsuka), NaCl fisiologis (Widatra). Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*. Media bakteri yang digunakan untuk peremajaan adalah biakan murni adalah Nuttrient Agar (Merck). Media bakteri yang digunakan pada metode difusi (cakram) adalah Mueller Hinton Agar (MHA) (Himedia). Zat pembanding anti bakteri yang digunakan sebagai kontrol positif pada percobaan ini adalah kloramfenikol 30μg.

## **Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Sartonius CP224S), blander, oven (Memmert), serangkaian *rotary evaporator* (Heidolph), seperangkat alat gelas, spatula logam, kapas, tisu, botol berwarna gelap,pinset, rak tabung reaksi, jarum ose, *hot plate,* bunsen, *microtip*, *microtube,* vortex (Labnet), alumunium foil (Klin-pak), kertas saring, *waterbath*, autoklaf (ALP), *micropipet* (SOCOREX ASBA S.A), *swab*, jangka sorong, *la minar air flow* (Airtech) dan inkubator (Gallenkamp).

## **Pengumpulan dan Pengolahan Sampel**

### Pengambilan Sampel

Sampel kayu bajakah yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Kota Pontianak Provinsi Kalimantan Barat.

### Determinasi Tumbuhan Kayu Bajakah

Determinasi tumbuhan dilakukan oleh Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara terhadap kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk)yang diteliti.

### Pengolahan Sampel

Sampel kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk)yang telah kering dipotong dan diblender sampai menjadi serbuk semplisia lalu dimasukkan di dalam plastik untuk mencegah lembab dan pengotor lainnya sebelum diekstrak.

## **Pemeriksaan Karakteristik**

### Pemeriksaan Makroskopik Kayu Bajakah

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan mengamati bentuk, ukuran, warna dari kayu bajakah.

### Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia

Pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia dilakukan dengan cara serbuk simplisia diletakkan di atas kaca objek yang telah ditetesi dengan akuadest lalu ditutup dengan penutup kaca, kemudian diamati menggunakan mikroskop dan mencatat gambar fragmen-fragmen nya.

### Penetapan Kadar Air

* + 1. Penjenuhan toluen

Sebanyak 200 ml toluen dimasukkan ke dalam labu destilasi, lalu ditambahkan 2 ml air suling kemudian alat dipasang dan didestilasi selama 2 jam. Destilasi dihentikan dan dibiarkan dingin selama 30 menit, kemudian volume air dalam tabung penerima dibaca dengan ketelitian 0,05 ml.

* + 1. Penetapan kadar air simplisia

Labu berisi toluen dimasukkan 5 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama lalu dipanaskan selama 15 menit. Setelah toluen mulai mendidih kecepatan toluen diatur 2 tetes per detik hingga sebagian besar air terdestilasi kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes per detik. Setelah semua air terdestilasi bagian dalam pendingin dibilas dengan toluen. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. Selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air di hitung dalam persen (Depkes RI, 1995).

$$\% Kadar air simplisia = \frac{Volume akhir - Volume awal}{Berat simplisia}× 100\%$$

### Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam air suling sampai 100 ml) dalam labu bersumbat sambil di kocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring 20 ml dipipet dan diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan (MMI, 1978), dihitung dengan rumus:

$$\% Kadar sari larut air = \frac{Berat cawan isi - Berat cawan kosong}{Berat simplisia}×5× 100\%$$

### Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia, dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 96%, menggunakan labu tersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam, lalu disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol, 20 ml filtrat didipet lalu diuapkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari larut dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan (MMI, 1978), dengan rumus:

$$\% Kadar sari larut etanol = \frac{Berat cawan isi - Berat cawan kosong}{Berat simplisia}× 5 × 100\%$$

### Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia dimasukkan dalam kurs porselin yang telah dipijar dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, ditara, kemudian kurs dipijarkan perlahan lahan sampai arang habis. Pemijaran dilakukan pada suhu 600°C sampai bobot tetap (MMI, 1978). Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\% Kadar abu total = \frac{Berat krus isi - Berat krus kosong}{Berat simplisia}× 100\%$$

### Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam

Sebanyak 2 gram abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total ditambahkan dengan 25 ml. asam klorida encer dan dididihkan selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring babas abu, kemudian dicuci dengan air panas. Residu dan kertas saring dipijarkan pada suhu 600 °C sampai bobot tetap, kemudian didinginkan dan ditimbang kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang sudah dikeringkan (MMI, 1978), dihitung dengan rumus:

$$\% Kadar abu tidak larut asam = \frac{Berat krus isi - Berat krus kosong}{Berat simplisia}× 100\%$$

## **Pembuatan Ekstrak Etanol Kayu Bajakah Seacara Maserasi**

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan menggunakan simplisia kayu bajakah (*Spatholobus littoralis*Hassk) yang telah diserbukkan 500 gram dan pelarut etanol 96%, 70% dan 50% sebanyak 5000 mL. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dimaserasi dengan 75 bagian (3750 mL) cairan penyari etanol lalu ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari sambil diaduk sesekali. Setelah 5 hari campuran disertai dengan ampasnya diperas saring, kemudian di cuci dengan etanol sehingga diperoleh 100 bagian (5000 mL) ditutup, dibiarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari kemudian disaring. Maserat lalu dipekatkan dengan rotary evaporator dan diperoleh ekstrak kental (Ditjen POM, 1979).

## **Pembuatan Larutan Pereaksi**

### Pereaksi asam klorida 2 N (Ditjen POM, 1979)

Sebanyak 17 ml asam klorida pekat dilarutkan dalam air suling hingga volume 100 ml.

### Pereaksi asam sulfat (Ditjen POM, 1979)

Sebanyak 5,4 ml asam sulfat pekat kemudian diencerkan dengan air suling hingga 100 ml

### Pereaksi Bouchardat (Ditjen POM, 1979)

Sebanyak 4 gram Kalium Iodida ditimbang kemudian dilarutkan dalam air suling, ditambahkan iodium sebanyak 2 gram dan dicukupkan dengan air suling hingga 100 ml.

### Pereaksi Dragendorff (Ditjen POM, 1979)

Sebanyak 8 gram bismut (III) nitrat dilarutkan dalam asam nitrat 20 ml. Kemudian dicampur dengan larutan kalium iodida sebanyak 27,2 gram dalam 50 ml air suling. Campuran didiamkan sampai memisah sempurna, larutan jernih diambil dan diencerkan dengan air secukupnya hingga 100 ml.

### Pereaksi Mayer (Ditjen POM, 1979)

Sebanyak 1,35 gram raksa (II) klorida dilarutkan dengan 60 mL air suling. Kemudian pada wadah lain sebanyak 5 gram Kalium Iodida dilarutkan dalam 10 ml air lalu campurkan keduanya ditambahkan air suling 100 ml.

### Pereaksi Molisch (Ditjen POM, 1979)

Sebanyak 3 gram alfa-naftol ditimbang kemudian dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N hingga volume 100 ml.

### Larutan Pereaksi Besi (III) Klorida 1%

Besi (III) klorida ditimbang sebanyak 1 gram dialakukan dalam air suling sehingga diperoleh 100 ml (Depkse RI, 1995).

### Larutan Pereaksi Liebermann-Bourchard

Campurkan secara perlahan 5 ml asam asetat anhidrat dengan 5 ml asam sulfat pekat tambahkan etanol hingga 50 ml (Depkes RI, 1995)

## **Skrining Fitokimia**

Pemeriksaan skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol kayu bajakah untuk mengetahui golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, steroid/triterpenoid dan tanin.

### Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak dan serbuk kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) masing-masing ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian ditambahkan 1 ml HCL 2 N dan 9 ml aquadest, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

1. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
2. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat sampai hitam.
3. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendroff, reaksi positif di tandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga.

Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan sedikitnya 2 reaksi dari 3 percobaan di atas (Depkes RI, 1995)

### Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak dan serbuk kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) masing-masing ditimbang sebanyak 10 g kemudian ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok, dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terhjadi warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

### Pemeriksaan Tanin

Ekstrak dan serbuk kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) ditimbang 0,5 g sampel disaring dengan 10 ml aquadest, lalu filtratnya diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna. Diambil 2 ml larutan lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

### Pemeriksaan Saponin

Ekstrak dan serbuk kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) masing-masing ditimbang sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan aquadest panas sebanyak 10 ml, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, timbul busa yang menetap tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2 N, bila buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin.

### Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Ekstrak dan serbuk kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) masing-masing ditimbang sebanyak 1 g sampel di maserasi dengan 20 ml *n*-heksana selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Timbul warna ungu merah menunjukkan adanya triterpenoid atau warna biru kehijauan menunjukkan adanya steroid.

### Pemeriksaan Glikosida

Ekstrak dan serbuk kayu bajakah masing-masing ditimbang sebanyak 3 g kemudian tambahkan 21 ml etanol 96% dan 9 ml aquadest ditambah dengan 10 ml HCL 2N. Direfluks selama 30 menit, dengan suhu 150˚C didinginkan dan disaring. Diambil 20 mL filtrat ditambahkan 25 ml aquadest dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, lalu diamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat dengan 20 ml campuran 12 ml kloroform dan 8 ml isopropanol, kemudian diuapkan di atas beaker glas berisi air dengan suhu 50˚C, tambahkan 2 ml methanol. Kemudian diambil 5 tetes larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diuapkan di penangas air. Kemudian tambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi molish. Kemudian secara perlahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, jika terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida (Depkes, 1989)

## **Penetapan Kadar Flavonoid Total**

### Pembuatan Larutan Kuersetin

Ditimbang 25 mg kuersetin, dilarutkan dalam labu ukur 25 ml ditambah metanol sampai tanda batas ke dalam Larutan Induk Baku (C= 1000 μg/ml) LIB I. Lalu dipipet 5 ml dari LIB I dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas (C= 100 μg/ml) LIB II.

### Pembuatan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Dipipet 0,4 ml dari larutan induk baku II (LIB II) dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan 0,1 ml AlCl3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan ditambahkan 2,8 ml aquadest, lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 400-800 nm.

### Penentuan *Operating Time* dan panjang gelombang maksimum

Dipipet 0,4 ml dari larutan induk buku II (LIB II) masukkan ke dalam labu ukur 10 ml , di tambahkan 0,1 ml AICI3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M. dan tambahkan 2,8 ml, aquadest, lalu ditambahkan metanol sampai tanda batas, lalu diukur operating time kuersetin selama 30 menit pada panjang gelombang 400-500 nm.

### Pengukuran Kurva Kalibrasi Kuersetin

Ditimbang 25 mg kuersetin, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas (C= 1000 μg/ml) (LIB I). Kemudian dipipet 5 ml dari larutan induk baku I ke dalam labu ukur 50 ml dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas (C= 100 μg/ml) (LIB II). Kemudian dibuat seri kadar lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml masing-masing dipipet 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml dari LIB II dengan konsentrasi 2 μg/ml, 3 μg/ml, 4 μg/ml, 5 μg/ml dan 6 μg/ml lalu ditambahkan metanol sampai tanda batas. Dipipet sebanyak 1 ml dari masing-masing labu ukur dengan berbagai konsentrasi tersebut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan ditambahkan 2,8 ml aquadest, ditambahkan etanol sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama 6-9 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 400-800 nm.

### Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol Kayu Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk)

Ekstrak etanol kayu bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) dengan konsentrasi 96%, 70% dan 50% masing-masing ditimbang sebanyak 25 mg masukan ke dalam labu terukur 25 ml ditambah metanol sampai tanda batas (C- 1000 pg/ml), lalu dipiper 1 mL dimasukan ke dalam labu terukur 10 ml. Kemudian ditambahkan dengan 1,5 ml metanol, 0,1 mL alumunium klorida 10% 0,1 ml natrium asetat 1 M, ditambahkan 2,8 ml. aquades, lalu dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama operating time. ukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm.

## **Sterilisasi Alat**

Alat yang disterilisasi yaitu alat-alat kaca, disterilkan di oven pada suhu 1500C selama 2 jam, terlebih dahulu dibungkus menggunakan kertas fertamen.

## **Media**

### Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Komposisi:

NA 20 gram/L

Pepton from meat 5,0 gram

Meat Extract 3,0 gram

Agar-agar 12,0 gram

Aquades 1L

Ditimbang serbuk NA sebanyak 8 gram. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 400 ml, lalu dipanaskan hingga mendidih. Ditutup mulut erlenmeyer dengan kapas dan kasa serta aluminium foil, lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit. Dibiarkan temperaturnya turun ± 450C. media NA siap digunakan (Shindi AR *et al*., 2021)

### Pembuatan Mannitol Salt Agar (MSA)

Komposisi:

Pepton 10 gram

Manitol 10 gram

Sodium clorida 75 gram

Phenol red 0,0025 gram

Agar 15 gram

Beef extract 1,0 gram

Aquadest 1000 ml

Sebanyak 5,55 gram MSA dilarutkan dalam 50 ml aquadest lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu dipanaskan di atas hot plate sampai mendidih sesekali diaduk dengan ditutup lubang erlenmeyer dengan sumbat kapas, lalu media disterilkan di autoklaf dengan suhu 1210C selama 15 menit (Tutur MR, *et al.,* 2019)

### Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Komposisi:

Beef extract 2,0 gram

Acid hydrolysate of casein 17,5 gram

Starch 1,5 gram

Agar 17 gram

Aquadest 1000 ml

 Media MHA ditimbang sebanyak 38 gram dilarutkan ke dalam labu erlenmeyer dengan aquadest hingga mencapai volume 100 ml, kemudian dipanaskan hingga mendidih di hot plate. Selanjutnya di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing sekitar 25 ml (Hidayah, 2014)

## **Pembiakan Bakteri**

### Peremajaan Bakteri

Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dari stok kultur dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanam pada Media Salt Agar (MSA) dengan cara penggoresan dan di inkubasi pada suhu 370C selama 18–24 jam. Diamati koloni yang tumbuh berwarna kuning keemasan menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya diinokulasi ke media NA agar dengan cara mengambil sebanyak satu mata ose secara aseptis lalu diinokulasikan dengan menggores pada medium agar miring. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 370C. koloni yang tumbuh digunakan sebagai bakteri uji pada pengujian daya hambat (Munira *et al*., 2019).

### Pembuatan Suspensi Standar Mc.Farland

Suspensi standar yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan suspensi sama dengan 10oCFU/ml.

Komposisi:

Larutan Asam Sulfat 1% 9,95 ml

Larutan Barium Klorida 1% 0,05 ml

Cara pembuatan:

Kedua larutan dicampurkan ke dalam labu takar 10 ml steril, dikocok sampai homogen dan ditutup. Apabila kekeruhan hasil suspense bakteri sama dengan kekeruhan suspensi standar berarti konsentrasi 10oCFU/ml (Rosmania dan Fitri, 2020)

### Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* dari hasil inokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% steril, kemudian di homogenkan dengan vortex hingga diperoleh kekeruhan suspensi bakteri yang sama dengan kekeruhan standar Mc. Farland, ini berarti konsentrasi bakteri adalah 10oCFU/ml. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan memipet 0,1 ml biakan bakteri (10oCFU/ml) dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9,9 ml kemudian homogenkan dengan vortex, maka diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10oCFU/ml (Panjaitan,2017).

### Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan cara,dituangkan sebanyak 20 ml media MHA (*Mueller Hinton Agar*) ke cawan petri kemudian digoyang dan dibiarkan sampai memadat kemudian suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* di swab dengan menggunakan swab steril secara merata pada media MHA. Ekstrak bajakah sebanyak 1 gram dilarutkan dengan DMSO sebanyak 10 ml. Kertas cakram direndam dengan ekstrak etanol kayu bajakah yang telah di larutkan dengan DMSO, kontrol positif (Chloramphenicol) dan kontrol negatif (DMSO) kemudian diletakkan di atas media dengan menggunakan pinset steril, percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37oC dalam incubator, setelah itu diukur zona hambat (bening).(Latu, et al., 2022)

## **Analisis Data**

Data yang di peroleh hasil pengukuran diameter zona hambat ektrak kayu bajakah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan media MHA. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah hasil metabolit sekunder yang didapat dari uji saponin, uji alkaloid, uji flavonoid, uji triterpenoid, uji minyak atsiri dan uji tanin kemudian dianalisis menggunakan pendekatan teoritis dan deskriptif.