

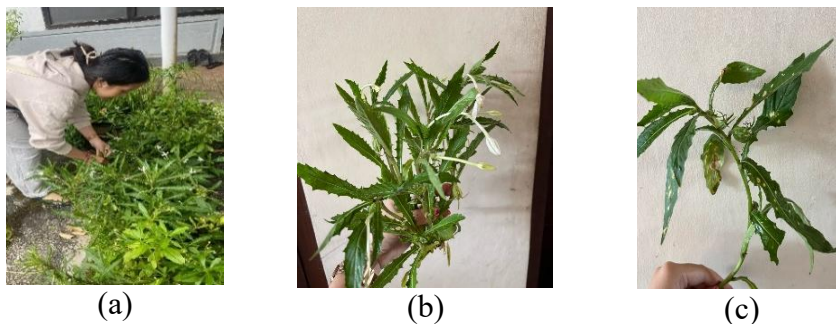
## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Karakteristik objek penelitian**

Objek pada penelitian ini adalah daun kitolod. Daun kitolod yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kitolod yang diambil di daerah Kintamani, Desa Sekaan, Kabupaten Bangli. Daun kitolod yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun kitolod yang memasuki kriteria sampel yang telah ditetapkan, yaitu daun kitolod yang tidak memiliki bercak kuning dan tidak berlubang ataupun robek, serta daun yang tumbuh pada baris ketiga dan keempat dari pucuknya. Daun kitolod yang sudah memenuhi kriteria penelitian akan dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil, potongan daun kitolod nantinya akan ditimbang sebanyak 100 gram untuk dilarutkan dengan aquades 100 ml yang kemudian akan direbus ataupun diperas. Hasil rebusan dan perasan akan disaring menggunakan kertas saring terlebih dahulu sebelum digunakan untuk penelitian.



Gambar 5. (a) Pengambilan Daun Kitolod; (b) Daun Kitolod yang Memenuhi Kriteria; (c) Daun Kitolod Yang Tidak Memenuhi Kriteria.

##### **2. Identifikasi senyawa metabolit sekunder**

Rebusan dan perasan daun kitolod yang telah disaring akan dianalisis fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang

dimiliki. Uji dilakukan secara kualitatif melalui skrining fitokimia dan dilanjutkan secara kuantitatif untuk melihat kadar senyawa yang dimiliki dengan metode spektrofotometer UV-Vis. Data hasil uji skrining fitokimia dan uji fitokimia kuantitatif dengan metode spektrofotometer dari rebusan dan perasan daun kitolod tertera pada tabel 4.

Tabel 4  
Hasil Skrining Fitokimia

| No. | Senyawa Metabolit Sekunder | Hasil     |           | Keterangan                                               |
|-----|----------------------------|-----------|-----------|----------------------------------------------------------|
|     |                            | Rebusan   | Perasan   |                                                          |
| 1   | Alkaloid                   | +/Positif | +/Positif | Terdapat endapan coklat kemerahan                        |
| 2   | Flavonoid                  | +/Positif | +/Positif | Terdapat perubahan orange                                |
| 3   | Steroid                    | -/Negatif | -/Negatif | Tidak Terdapat perubahan warna ungu, biru atau kehijauan |
| 4   | Tanin                      | +/Positif | +/Positif | Terdapat perubahan warna hijau kehitaman                 |
| 5   | Fenol                      | +/Positif | +/Positif | Terdapat perubahan biru kehitaman                        |
| 6   | Saponin                    | +/Positif | +/Positif | Terdapat Busa                                            |
| 7   | Terpenoid                  | +/Positif | +/Positif | Terdapat perubahan warna coklat                          |

Tabel 5  
Hasil Fitokimia Kuantitatif

| No. | Senyawa Metabolit Sekunder | Hasil               |                    |
|-----|----------------------------|---------------------|--------------------|
|     |                            | Rebusan             | Perasan            |
| 1   | Kadar Total Flavonoid      | 8.297 mg QE/100g    | 5.324 mg QE/100g   |
| 2   | Kadar Total Tanin          | 135.870 mg TAE/100g | 65.365 mg TAE/100g |
| 3   | Kadar Total Fenol          | 751.28 mg GAE/100g  | 525.30 mg GAE/100g |

Berdasarkan tabel 4 dan 5 rebusan daun kitolod dan perasan daun kitolod memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang sama yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, saponin, dan terpenoid. Namun pada uji kuantitatif kadar flavonoid, tanin, dan fenol rebusan daun kitolod lebih besar dari pada perasan daun kitolod.

### 3. Uji aktivitas antibakteri

Rebusan dan perasan daun kitolod dibuatkan konsentrasi masing-masing 50%, 65%, 80%, dan 95%. Masing-masing konsentrasi yang dibuat nantinya akan dilihat kemampuan-Nya dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan melihat ada atau tidaknya zona daya hambat yang terbentuk. Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan pengulangan sebanyak 6 kali pada setiap konsentrasi. zona daya hambat yang terbentuk dapat dilihat pada gambar di lampiran 8.

Zona daya hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong secara horizontal dan vertikal sehingga didapatkan ukuran zona daya hambat pada masing-masing konsentrasi dan pengulangan seperti pada tabel 6.

Tabel 6  
Hasil Zona Daya Hambat

| No. | Kode Sampel | Hasil Zona Daya Hambat (mm) |       |       |       |       |       | Rerata $\pm$ SD  | Interpretasi |
|-----|-------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|--------------|
|     |             | I                           | II    | III   | IV    | V     | VI    |                  |              |
| 1   | R 50%       | 6,03                        | 2,58  | 4,75  | 6,31  | 5,53  | 5,84  | 4,79 $\pm$ 1,39  | Resisten     |
| 2   | R 65%       | 7,80                        | 5,75  | 6,02  | 6,76  | 7,64  | 7,39  | 6,54 $\pm$ 0,73  | Resisten     |
| 3   | R 80%       | 10,62                       | 9,21  | 9,59  | 8,98  | 9,35  | 9,26  | 9,28 $\pm$ 0,22  | Intermediet  |
| 4   | R 95%       | 12,59                       | 11,25 | 10,46 | 12,38 | 10,74 | 11,75 | 10,82 $\pm$ 0,33 | Intermediet  |
| 5   | P 50%       | 3,80                        | 3,28  | 3,80  | 3,62  | 4,32  | 4,8   | 3,96 $\pm$ 0,54  | Resisten     |
| 6   | P 65%       | 4,18                        | 3,76  | 6,51  | 5,40  | 5,26  | 6,13  | 5,41 $\pm$ 0,95  | Resisten     |
| 7   | P 80%       | 6,54                        | 6,40  | 6,82  | 4,58  | 6,26  | 6,48  | 6,10 $\pm$ 0,79  | Resisten     |
| 8   | P 95%       | 7,28                        | 8,38  | 7,36  | 8,71  | 8,69  | 8,14  | 8,26 $\pm$ 0,50  | Intermediet  |
| 9   | K (+)       | 19,2                        | 21,32 | 20,77 | 20,32 | 21,28 | 19,56 | 21,12 $\pm$ 0,25 | Sensitif     |
| 10  | K (-)       | 0                           | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0 $\pm$ 0        | -            |

Keterangan: R = Rebusan, P = Perasan, K = Kontrol; Resisten < 8 mm, Intermediet 9-12 mm, Sensitif > 13 mm

Berdasarkan tabel 6 zona daya hambat yang terbentuk dari rebusan daun kitolod dan perasan daun kitolod sangat bervariasi, yang dimana rebusan daun kitolod memiliki zona daya hambat berkisar dari 4,79 mm hingga 10,82 mm sedangkan untuk perasan daun kitolod memiliki zona daya hambat berkisar dari 3,96 mm hingga 8,26 mm. Jika dibandingkan zona daya hambat rebusan daun kitolod lebih besar daripada perasan daun kitolod. Adapun kontrol positif (amoxicilin 10 mcg) sebagai kontrol kerja pada penelitian ini memiliki zona daya hambat yang masuk kategori sensitif yaitu dengan rata-rata ukuran zona daya hambat yang terbentuk sebesar 21,12 mm.

## B. Hasil Analisa Data

Hasil zona daya hambat rebusan daun kitolod dan perasan daun kitolod yang telah diukur kemudian dianalisis menggunakan uji statistik dengan aplikasi *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Data awalnya diuji normalitas terlebih dahulu, pada penelitian ini jumlah data sebanyak 48 sampel sehingga uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro-Wilk. Data normalitas dengan uji Shapiro-Wilk dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7  
Hasil Uji *Shapiro-Wilk*

| Jenis Data       | Uji <i>Shapiro-Wilk</i> |    |       |
|------------------|-------------------------|----|-------|
|                  | Statistic               | df | Sig.  |
| Zona Daya Hambat | 0.958                   | 48 | 0.081 |

Dari tabel 7 dapat dilihat hasil uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil sig (*P-value*)  $\geq 0,05$ . Yang dimana pada keseluruhan data zona daya hambat didapatkan nilai sig sebesar 0,081. Pada uji normalitas data interpretasi dapat ditentukan dengan melihat nilai sig, yang dimana apabila nilai

$\text{sig} \geq 0,05$  data terdistribusi normal dan  $\text{sig} \leq 0,05$  data terdistribusi tidak normal. Hasil nilai sig pada tabel 7  $\geq 0,05$  sehingga data berdistribusi normal, untuk itu uji dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas yaitu uji *Levene's*. Hasil uji dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8  
Hasil Uji *Levene's*

| F     | df1 | df2 | Sig.  |
|-------|-----|-----|-------|
| 1.122 | 7   | 40  | 0.369 |

Dilihat dari tabel 8 hasil uji homogenitas dengan uji *Levene's* didapat nilai sig sebesar 0.369. Pada uji *Levene's* jika nilai  $\text{Asymp.sig} \geq 0,05$  maka data tergolong homogen sehingga uji dapat dilanjutkan dengan uji *two way ANOVA* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan pada tiap konsentrasi antara rebusan dan perasan daun kitolod dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Tabel 9  
Hasil Uji *Two Way ANOVA*

| Faktor Pengaruh      | F      | Sig.  |
|----------------------|--------|-------|
| Konsentrasi          | 79.551 | 0.000 |
| Metode               | 90.335 | 0.000 |
| Konsentrasi x Metode | 4.861  | 0.006 |

Hasil uji ANOVA pada tabel 9 didapatkan nilai sig pada pengaruh konsentrasi adalah sebesar 0,000 adapun pada pengaruh metode nilai sig sebesar 0,000 dan pada pengaruh dari interaksi dari konsentrasi dan metode didapatkan nilai sig sebesar 0,006. Ketiga nilai  $\text{sig} \leq 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan signifikan pada zona daya hambat pada metode rebusan dan perasan daun kitolod dengan konsentrasi 50%, 65%, 80% dan 95%. Untuk melihat perbedaan secara signifikan antara kelompok uji dapat dilakukan uji *Post-Hoc*. Untuk uji *Post-Hoc* yang lengkap dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 10  
Hasil Uji *Post-Hoc* yang memiliki nilai  $\text{sig} \geq 0,05$

| Konsentrasi (I) | Konsentrasi (J) | Mean Difference (I-J) | Sig.  |
|-----------------|-----------------|-----------------------|-------|
| R 50%           | P 65%           | -0.0333               | 0.948 |
|                 | P 80%           | -1.0067               | 0.055 |
| R 65%           | P 80%           | 0.7133                | 0.169 |
| P 65%           | P 80%           | -0.9733               | 0.063 |

Keterangan: R = Rebusan, P = Perasan, I = Kelompok 1, J = Kelompok 2, (-) Nilai rata-rata kelompok I lebih kecil dari kelompok J

Hasil uji *Post-Hoc Least Significant Deference (LSD)* dilihat dari lampiran 7 perbedaan signifikan terdapat pada hampir seluruh sampel, namun ada beberapa yang tidak terdapat perbedaan signifikan (Tabel 10) yaitu pada rebusan 50% dengan Perasan 65% dan 80%, Pada rebusan 50% dengan perasan 65% selisih rerata diantara keduanya adalah -0,0333 atau 0,03 mm, sedangkan pada rebusan 50% dengan perasan 80% selisih rerata diantara keduanya -1,0067 atau 1,01 mm. yang dimana selisih diantara kedua kelompok konsentrasi sangat kecil sehingga perbedaan tidak signifikan, hal ini juga dikuatkan dengan nilai sig kedua kelompok konsentrasi  $\geq 0,05$  yaitu 0,948 dan 0,055. Selain itu pada rebusan 65% dengan perasan 80% juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan, yang dimana selisih rerata keduanya hanya sebesar 0.7133 atau 0,71 mm dengan nilai  $\text{sig} \geq 0,05$  yaitu 0,169. Dan pada perasan 65% dan perasan 80% dengan selisih -0.9733 atau 0,97 mm dan nilai sig 0,063. Adapun hasil uji *Post Hoc LSD* dapat dilihat lebih lengkap pada lampiran 7.

## **C. Pembahasan**

### **1. Kandungan fitokimia secara kualitatif serta kadar flavonoid, kadar fenol, dan kadar tanin pada daun kitolod sebagai antibakteri**

Pada uji skrining fitokimia rebusan dan perasan daun kitolod teridentifikasi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, saponin, dan terpenoid. Namun pada uji fitokimia kuantitatif antara rebusan dan perasan daun kitolod kandungan kadar senyawa rebusan lebih besar dari perasan daun kitolod (Tabel 4 dan 5). Kedua metode ini menggunakan jenis pelarut yang sama yaitu aquades, namun suhu yang digunakan berbeda, hal ini dapat menjadi salah satu faktor hasil kadar flavonoid, tanin, dan fenol sampel daun kitolod yang direbus lebih besar dari pada sampel daun kitolod yang diperas. Dimana pada metode rebusan diperlukan menggunakan suhu 100° C sedangkan pada metode perasan suhu yang digunakan adalah suhu ruang berkisar antara 21° C - 25° C.

Pada beberapa senyawa metabolit sekunder suhu dan pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi kandungan senyawa yang dimiliki oleh bahan alam itu sendiri. Senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, saponin, terpenoid dapat mengalami peningkatan sebagai bentuk respon adaptif terhadap stress oksidatif, namun pada suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan senyawa mengalami degradasi yang menyebabkan penurunan senyawa yang terkandung pada bahan alam. Senyawa metabolit sekunder rata-rata mengalami degradasi pada suhu 190° C - 220° C (Koželj and Prosen, 2021). Selain itu hasil perasan daun kitolod lebih pekat dari pada rebusan sehingga zat-zat pengganggu seperti getah atau resin pada daun dapat mengganggu hasil uji biologis dan kimia (Sanjaya dkk., 2021).

Pemilihan jenis pelarut juga akan berpengaruh pada kandungan senyawa metabolik yang terdapat pada suatu sampel bahan alam, aquades atau air suling adalah salah satu pelarut yang bersifat netral dan tidak reaktif sehingga mampu mengurangi resiko degradasi senyawa yang sensitif, selain itu aquades juga termasuk ke pelarut yang bersifat memiliki polaritas yang tinggi sehingga aquades mampu melarutkan senyawa yang bersifat polar seperti fenol, flavonoid, tanin, dan saponin (Rusli dkk., 2024).

Kandungan senyawa metabolit yang dimiliki oleh daun kitolod berdasarkan tabel 4 memiliki prinsip yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid pada bahan alam yang kebanyakan ditemukan memiliki sifat bakterisida (bahan yang mampu membunuh bakteri) daripada bakteriostatik (kondisi dimana pertumbuhan dan perkembangan bakteri berhenti). Secara umum mekanisme kerja alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan mengganggu komponen pembentuk peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk sempurna dan menyebabkan kematian sel bakteri (Thawabteh *et al.*, 2019). Untuk saponin terkenal karena sifat amfipatiknya, yang berarti mereka memiliki bagian yang larut dalam air dan bagian yang larut dalam lemak. Hal ini memungkinkan saponin untuk berinteraksi dengan membran sel, membuatnya lebih permeabel, yang dapat menyebabkan kerusakan pada struktur membran sel bakteri. Saponin dapat menyebabkan lisis sel bakteri dengan membentuk kompleks dengan lipoprotein di dalam membran sel bakteri, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian bakteri (Dong *et al.*, 2020). Dan Terpenoid dapat bekerja pada membran sel, menghasilkan perbedaan konsentrasi ATP di dalam dan luar sel, yang menyebabkan gangguan pada membran sel,



sehingga melakukan aktivitas antibakteri (Huang *et al.*, 2022). Dilihat dari tabel 5 kadar flavonoid pada rebusan daun kitolod adalah 8.297 mg QE/100g sedangkan pada perasan daun kitolod adalah 5.324 mg QE/100gm. Flavonoid memiliki mekanisme yang beragam sebagai antibakteri mulai dari menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, hingga menghambat metabolisme energi dari bakteri itu sendiri (Shamsudin *et al.*, 2022). Untuk kadar tanin pada rebusan daun kitolod adalah 135.870 mg TAE/100g, sedangkan pada perasan daun kitolod adalah 65.365 mg TAE/100g. Tanin memiliki kandungan asam titanat yang dapat menyerang bakteri patogen dan tanin juga akan melarutkan lapisan lemak pada dinding sel bakteri yang mampu mengakibatkan cairan didalam sel bocor sehingga bakteri akan mati ataupun hancur (Abd *et al.*, 2020). Sedangkan untuk kadar fenol pada rebusan daun kitolod adalah 751.28 mg GAE/100g dan pada perasan daun kitolod adalah 525.30 mg GAE/100g. Fenol adalah senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan spektrum yang cukup luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, dengan konsentrasi fenol yang tinggi mampu menembus dinding sel bakteri dan juga mendenaturasi protein sehingga menyebabkan proses metabolisme bakteri terganggu (Hidayatullah and Mourisa, 2023).

## **2. Zona daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus Grup A (S. pyogenes)* pada kontrol positif dan kontrol negatif sebagai kontrol kerja**

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik amoxicillin 10 mcg, amoxicillin bersifat sedikit larut air yang artinya kelarutan-Nya akan rendah dalam aquades dan amoxicillin memiliki sifat stabil pada pH asam sehingga pada pH yang basa larutan akan mudah mengalami hidrolisis dan degradasi, oleh karena

itu untuk melarutkan amoxicillin pada penelitian ini menggunakan larutan asam HCl 0,1 N untuk menjaga stabilitas larutan dan meningkatkan kelarutan pada larutan (Lewis, 2025). Kontrol positif pada penelitian ini berperan sebagai kontrol kerja untuk memastikan media dan bakteri yang digunakan memiliki kualitas yang baik, dilihat pada tabel 6 zona daya hambat yang terbentuk pada kontrol positif dengan 6 kali pengulangan memiliki rerata 21,12333 mm dengan kategori sensitif, nilai aktivitas antibakteri yang tinggi pada kontrol positif menunjukkan bakteri yang digunakan masih aktif dan responsif, serta media, perlakuan, dan teknik inokulasi berjalan dengan benar sehingga hasil aktivitas antibakteri pada perlakuan sampel akan menunjukkan hasil aktivitas antibakteri yang sebenarnya. Adapun kontrol negatif pada penelitian ini yaitu menggunakan aquades, kontrol negatif diharapkan tidak membentuk zona daya hambat hal ini dikarenakan kontrol negatif ditujukan sebagai kontrol pelarut yang akan membuktikan bahwa pelarut yang digunakan memang tidak memiliki kemampuan menghambat bakteri sehingga zona daya hambat yang terbentuk pada perlakuan sampel tidak dipengaruhi oleh pelarutnya. Dilihat dari tabel 6 kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona daya hambat pada 6 kali pengulangan.

### **3. Analisis zona daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus Grup A* (*S. pyogenes*) pada rebusan daun kitolod dan pada perasan daun kitolod**

Zona daya hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri di keempat perlakuan antara sampel rebusan daun kitolod dan perasan daun kitolod yang jika dilihat dari tabel 6 hasil zona daya hambat yang terbentuk juga cukup bervariasi, dimana rebusan maupun perasan daun kitolod pada setiap konsentrasi memiliki ukuran zona daya hambat yang berbeda. Rerata zona daya

hambat yang terbentuk pada konsentrasi 50% untuk sampel rebusan daun kitolod adalah 4,79 mm sedangkan rerata untuk sampel perasan daun kitolod adalah 3,96 mm, keduanya tergolong kategori resisten. Rerata zona daya hambat konsentrasi 65% pada sampel rebusan daun kitolod adalah 6,54 mm dan pada sampel perasan daun kitolod 5,41 mm, keduanya tergolong kategori resisten. Rerata zona daya hambat konsentrasi 80% pada sampel rebusan daun kitolod adalah 9,28 mm dengan kategori intermediet sedangkan pada sampel perasan daun kitolod adalah 6,10 mm dengan kategori resisten. Rerata zona daya hambat konsentrasi 95% pada sampel rebusan daun kitolod adalah 10,82 mm sedangkan pada sampel perasan daun kitolod adalah 8,26 mm, keduanya tergolong dalam kategori intermediet. Jika kedua zona daya hambat yang terbentuk antara sampel rebusan dan perasan daun kitolod dibandingkan, sampel rebusan memiliki hasil zona daya hambat yang lebih besar. Hal ini sesuai dengan hasil uji fitokimia kuantitatif yang dimana kadar flavonoid, kadar tanin, dan kadar fenol sampel rebusan daun kitolod lebih tinggi dari pada sampel perasan daun kitolod. Hal ini dikarenakan stress oksidatif akibat suhu panas yang dirasakan oleh daun kitolod sehingga terjadi peningkatan senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk respon adaptif (Mahardani and Yuanita, 2021).

Pada penelitian sebelumnya yaitu penelitian yang dilakukan oleh (Nuswantoro and Kartini, 2023) yang berjudul "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*" dengan konsentrasi 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, dan 90% didapatkan hasil zona daya hambat pada tiap konsentrasi masuk dalam kategori sensitif, dilihat dari hasil zona daya hambat antara

penelitian sebelumnya dengan penelitian ini hasil zona daya hambat pada penelitian sebelumnya lebih besar dari pada hasil zona daya hambat pada penelitian ini. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu dari segi pengolahan sampel yang dimana pada penelitian ini hanya menggunakan metode pengolahan yang sederhana yaitu dengan cara direbus dan diperas, sedangkan pada penelitian sebelumnya pengolahan sampel menggunakan cara yang lebih modern yaitu dengan metode ekstraksi dengan pelarut etanol. Hasil ekstraksi dengan pelarut etanol cenderung lebih pekat yang diakibatkan oleh proses ekstraksi dikonsentrasikan melalui penguapan pelarut dan pelarut etanol menunjukkan aktivitas biologis yang lebih tinggi dari pada pelarut aquades sehingga hasil ekstrak etanol dapat menampung senyawa metabolit dalam jumlah yang lebih tinggi (Marksa *et al.*, 2021). Selain itu faktor media dan bakteri yang digunakan juga dapat mempengaruhi hasil zona daya hambat yang terbentuk, namun pada penelitian sebelumnya tidak disebutkan number ATCC yang digunakan, sedangkan pada penelitian ini bakteri uji yang digunakan adalah kultur bakteri murni *Streptococcus grup A* atau *Streptococcus pyogenes* ATCC-19615. Untuk media yang digunakan pada penelitian sebelumnya adalah media MHA tanpa ditambah darah domba sebanyak 5%, sedangkan pada penelitian ini media yang digunakan adalah media MHA yang ditambahkan darah domba sebanyak 5%. Media MHA yang ditambahkan darah domba sebanyak 5% sudah direkomendasikan oleh CLSI untuk pengujian aktivitas antibakteri pada jenis bakteri *Streptococcus* beta-hemolitik, hal ini dikarenakan bakteri jenis ini memerlukan darah sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya (Glenn *et al.*, 2020.).

Hasil zona daya hambat yang terbentuk pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diakibatkan oleh sampel rebusan dan perasan daun kitolod dengan varian konsentrasi 50%, 65%, 80% dan 95% telah dianalisis dengan bantuan aplikasi *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Berdasarkan dari lampiran 7 (D) pada hasil akhir analisis yaitu dengan uji *Post-Hoc Least Significant Deference (LSD)* terdapat perbedaan signifikan zona daya hambat antara rebusan daun kitolod dan perasan daun kitolod dengan varian konsentrasi 50%, 65%, 80%, dan 95%. Perbedaan signifikan zona daya hambat terjadi pada beberapa perlakuan, hal ini dibuktikan dengan nilai  $\text{sig} \leq 0,05$ .