

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) TERHADAP *Propionibacterium acnes*

I Putu Gede Adi Purwa Hita¹, Putu Yudhistira Budhi Setiawan², I Gusti Septiari³, I Gusti Ngurah Agung Windra Wartana Putra⁴

^{1,2,3,4}) Universitas Bali Internasional, Jl. Seroja Denpasar - Bali 80114

e-mail: ¹) adipurwah.1@gmail.com

²) yudhistirabudhi@gmail.com

³) igustiseptiari@gmail.com

⁴) agungwindra@gmail.com

ABSTRAK

Acnes vulgaris merupakan salah satu penyakit kulit yang dapat mengurangi rasa percaya diri pada masa remaja dan dewasa. Penyakit ini dapat disebabkan oleh infeksi bakteri *Propionibacterium acnes* dan pengobatan penyakit ini menggunakan antibiotika banyak menimbulkan resistensi. Salah satu alternatif yang dapat dikembangkan untuk mengatasinya adalah penggunaan bahan obat herbal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Metode maserasi digunakan dalam pembuatan ekstrak dan dilakukan uji kandungan senyawa aktif secara kualitatif. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *disc diffusion*. Teridentifikasi secara kualitatif kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin. Ekstrak etanol 96% daun sambiloto dengan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100% b/v memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ditandai dengan adanya diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi, dimana kategori aktivitas antibakteri yang kuat didapatkan pada sampel konsentrasi 75 dengan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu $11,26 \pm 0,44$ mm. Terdapat perbedaan bermakna pada analisis statistik *One-Way ANOVA* pada hasil diameter zona hambat antara kelompok kontrol dengan ekstrak dengan nilai $p < 0,05$.

Kata kunci: *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees, antibakteri, *disc diffusion*, ekstrak etanol 96%, *Propionibacterium acnes*

ABSTRACT

Acnes vulgaris is a skin disease that can reduce self-confidence in adolescence and adulthood. This disease can be caused by infection with *Propionibacterium acnes* bacteria and treatment of this disease using antibiotics causes a lot of resistances. One alternative that can be developed to overcome this problem is the use of herbal medicines. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of 96% ethanol extract sambiloto leaf (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) in inhibiting the growth of *Propionibacterium acnes* bacteria. The maceration method was used in the preparation of extracts and a qualitative test of active compounds was carried out. The antibacterial activity test was carried out using the *disc diffusion* method. Qualitatively identified in

the extract contains several active compounds like alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenoids and saponins. 96% ethanol extract of sambiloto leaf with concentrations of 25, 50, 75, and 100% w/v had antibacterial activity against Propionibacterium acnes indicated by the diameter of the inhibition zone at each concentration, where the category of strong antibacterial activity was found in samples with concentrations of 75 and 100% w/v with the diameter of the inhibition zone formed respectively 11.26 ± 0.44 mm and 16.52 ± 1.33 mm. There was a significant difference in the One-Way ANOVA statistical analysis on the results of the inhibition zone between the control group and the extract with p value < 0.05 .

Keywords: *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees, antibacterial, disc diffusion, 96% ethanol extract, *Propionibacterium acnes*

PENDAHULUAN

Jerawat (*Acnes vulgaris*) merupakan salah satu penyakit kulit yang sering terjadi terutama pada masa remaja dan dewasa muda dimana dapat mengurangi rasa percaya diri akibat berkurangnya keindahan pada wajah (Susanto dan Made, 2013). Faktor yang dapat menyebabkan timbulnya jerawat antara lain faktor genetik, endokrin, psikis, musim, stres, makanan, keaktifan kelenjar sebacea, infeksi bakteri, kosmetika, dan infeksi bakteri *Propionibacterium acnes* (Al-Hoqail, 2003; Chomnawang *et al.*, 2007).

Propionibacterium acnes merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dan merupakan flora normal kulit yang ikut berperan dalam pembentukan jerawat (Harahap, 2002). Pada tahun 2007 resistensi antibiotik terhadap *Propionibacterium acnes* semakin meningkat, mulai dari eritromisin, klindamisin, kontrimoksazol, dan tetrasiklin (Tan *et al.*, 2007). Oleh karena itu, diperlukan terapi alternatif lain yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan tanaman herbal yang memiliki kandungan sebagai antibakteri.

Salah satu tanaman herbal di Indonesia adalah tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) yang memiliki kandungan senyawa aktif yaitu andrografolida (diterpenlakton), flavonoid, asam quinik, steroid, alkaloid, saponin, tannin, dan senyawa lainnya. Selain itu, daun sambiloto juga mengandung saponin, alkaloid, dan tannin (Li *et al.*, 2019; Mussard *et al.*, 2020,;

Hossain *et al.*, 2021). Sambiloto memiliki banyak aktivitas farmakologi berdasarkan banyaknya jenis kandungan senyawa aktif yang terkandung, yaitu sebagai antibakteri, antivirus, antibiofilm, antijamur, antimalarial, antiinflamasi, antiagregasi platelet, antidiabetes, dan memiliki peran dalam peningkatan sistem imun (Hossain *et al.*, 2021; Rajanna *et al.*, 2021). Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti kandungan senyawa yang terdapat pada daun sambiloto dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) terhadap *Propionibacterium acnes*.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Simplisia daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees), aquadestilata, bakteri *Propionibacterium acnes*, kapas, alumunium foil, media *Muller Hinton Agar* (MHA), etanol 96 %, aquadest steril, larutan Mc Farland, NaCl 0,85% dan klindamisin gel.

Alat

Alat maserasi, alat-alat gelas (Pyrex), rotary evaporator (IKA), corong Buchner (Merk), timbangan analitik (Acic AD- 2100H), pinset, autoklaf (GEA), kertas saring, kapas, mikro pipet, inkubator, oven, lampu spritus, dan jarum ose.

Penyiapan Estrak

Persiapan sampel simplisia daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) yang diperoleh dari Desa Pejeng, kabupaten Gianyar. Simplisia yang telah dilakukan sortasi basah dan dilakukan pengeringan menggunakan oven kemudian diblender hingga dihasilkan serbuk halus. Serbuk simplisia sebanyak 500 gram ditimbang dan diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman bahan) dengan 5 liter etanol 96 % selama 5 hari. Filtrat dari proses maserasi pertama kemudian dikumpulkan dan kemudian dilakukan maserasi kembali terhadap simplisia hasil saringan. Filtrat dari proses keseluruhan proses maserasi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental (Hita *et al.*, 2021).

Evaluasi ekstrak

1. Uji persentase rendemen: hasil ekstraksi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut $\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak uji}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$.
2. Uji organoleptis: ambil sampel lalu lakukan pengamatan terhadap bentuk, aroma, rasa dan warna dari Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees).
3. Uji kadar air: uji kadar air dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 sampai 2 g pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen (%). Syarat kadar air yang baik adalah kurang dari 10% (Hita *et al.*, 2021; DepKes RI, 2008). Perhitungan kadar air = $\frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$ (DepKes RI, 2000);.

Skrining Senyawa Aktif

1. Uji Senyawa Alkaloid : ekstrak daun sambiloto sebanyak 10 mg ditambahkan 5mL ammonia 25%, lalu ditambahkan 20mL kloroform. Jika terbentuk warna orange dengan pereaksi dragendroff atau terbentuk endapan putih dengan penambahan pereaksi mayer berarti ekstrak mengandung alkaloid (Hita *et al.*, 2021; Kristanti *et al.*, 2008).
2. Uji Flavonoid : sebanyak 10 mg ekstrak daun sambiloto ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4mL amil alkohol dan 4mL alkohol kemudian campuran dikocok. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga. (Hita *et al.*, 2021; Kristanti *et al.*, 2008).
3. Uji Saponin: Saponin dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil akan terus terlihat selama 5 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin (Hita *et al.*, 2021; Kristanti *et al.*, 2008).
4. Uji Tanin: 2 gram ekstrak daun sambiloto dilarutkan dengan air lalu direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin (Hita *et al.*, 2021; Kristanti *et al.*, 2008).

5. Uji Triterpenoid: sampel yang sudah halus dicampurkan dengan 1 ml aquades dicampur dengan 2 ml kloroform dan 3 ml asam sulfat. Terbentuknya warna merah kecoklatan pada antar permukaan menunjukkan adanya triterpenoid. (Hita *et al.*, 2021; Kristanti *et al.*, 2008).

Uji Aktivitas Antibakteri

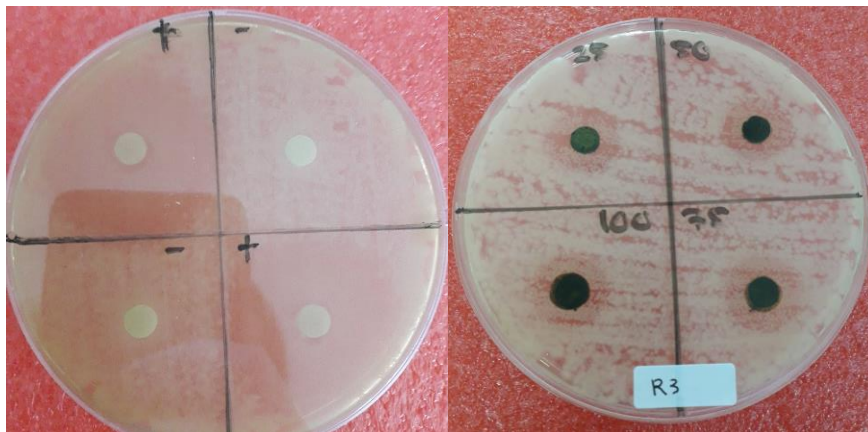
Bakteri *Propionibacterium acnes* diinokulasi pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan mengusapkan suspensi bakteri standar kekeruhan 0,5 McFarland menggunakan lidi kapas steril. kertas cakram diteteskan larutan uji (25%, 50%, 75% dan 100%) dan larutan kontrol (positif dan negatif) sebanyak 20 μ L dan didiamkan selama $\pm$ 15 menit. Kertas cakram diletakkan dan beri sedikit tekanan pada media dengan jarak kertas cakram antara satu dengan lainnya sebesar 3 cm dan dari tepi media sebesar 2 cm. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dalam kondisi anaerob. Aktivitas antibakteri diamati berdasarkan diameter daerah hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekeliling kertas cakram (Hita *et al.*, 2020). Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Dengan pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali.

Analisis Data

Data dari hasil pengujian konsentrasi ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) dibandingkan dengan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dianalisa secara statistik menggunakan metode *One Way Anova* pada program SPSS dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95 % atau $\alpha = 0,05$. Sebelum dianalisis dengan uji ANOVA dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Jika data tersebar normal dan variansinya sama ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significantly Different*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda signifikan. Hasil uji *One-way ANOVA* dan LSD dikatakan signifikan apabila didapatkan nilai $R < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% (Sopiyudin, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi dilakukan di LIPI-UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bedugul pada Bulan Maret Tahun 2020. Berdasarkan data determinasi, bahan tanaman sambiloto dalam penelitian ini memiliki nama spesies *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi pada daun sambiloto menggunakan etanol sebagai pelarut didapatkan nilai persen rendemen adalah 6 %b/v. Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi, efektifitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel, metode ekstraksi dan lama waktu ekstraksi. Semakin banyak rendemen yang dihasilkan maka semakin banyak kemungkinan zat aktif yang diinginkan tersari dalam pelarut yang digunakan. Secara organoleptis ekstrak daun sambiloto memiliki bentuk ekstrak kental, warna hijau kehitaman, bau khas daun sambiloto dan rasa pahit. Hasil uji kadar air ekstrak etanol 96% daun sambiloto adalah sebesar $3,269 \pm 0,541\%$. Nilai kadar air ini sesuai dengan persyaratan ekstrak kental yang baik yaitu tidak melewati 10% (Hita *et al.*, 2020).



Gambar 1. Diameter zona hambat pada sampel kontrol dan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees)

Tabel 1. Hasil Skrining Senyawa Aktif

Parameter	Pereaksi	Sampel Ekstrak Etanol Daun Sambiloto	Perubahan yang terjadi
Alkaloid	Mayer	+	Terbentuk endapan berwarna putih
Flavonoid	Dragendrof	+	Terbentuk warna orange
	HCl pekat	+	Terbentuk warna merah kekuningan
	Kloroform + asam sulfat	+	Terbentuk warna ungu kemerahan
Terpenoid	Aquadest	+	Terbentuk busa yang stabil
Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Warna hitam kehijauan

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat

Perlakuan	R1 (mm)	R2 (mm)	R3 (mm)	R4 (mm)	Mean $\pm$ SD (mm)	Kekuatan aktivitas antibakteri
Kontrol +	23,43	25,26	24,1	25,25	24,51 $\pm$ 0.90	Sangat kuat
Kontrol -	0	0	0	0	0 $\pm$ 0	-
25%	5,95	7,21	7,98	8,25	7,34 $\pm$ 1.03	Sedang
50%	10,01	9,18	7,94	8,46	8,89 $\pm$ 0.89	Sedang
75%	10,80	11,06	11,36	11,84	11,26 $\pm$ 0.44	Kuat
100%	15,19	15,63	17,25	18,01	16,52 $\pm$ 1.33	Kuat

Keterangan : R1: Replikasi 1; R2 : Replikasi 2; R3 : Replikasi 3; R4 : Replikasi 4

Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun sambiloto secara kualitatif mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid dan saponin (Tabel 1.). Pada pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol 96% daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827, hasil menunjukkan terdapat zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disk* Gambar 1. Hasil pengukuram dapat dilihat pada Table 2.

Berdasarkan hasil analisis statistika menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan *Levenne test*, menunjukkan data memiliki distribusi normal dan sebaran yang homogen dengan nilai $p > 0,05$. Analisis selanjutnya adalah uji *One Way ANOVA*, didapatkan nilai signifikansi sebesar $0,000 < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata kelima data konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25% dan kontrol positif tersebut memiliki perbedaan signifikan secara keseluruhan. Dari hasil uji *Post Hoc Test* dengan LSD dapat disimpulkan bahwa antar masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$.

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi bertujuan untuk mengetahui kepekaan suatu mikroorganisme terhadap zat antibakteri tertentu yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar *paper disk* (Hita *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini digunakan dua kontrol untuk membandingkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun sambiloto, yaitu gel klindamisin (Clinium 1%) sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Klindamisin digunakan sebagai kontrol positif karena mempunyai aktivitas sebagai bakteristatik dan bakterisidal tergantung pada konsentrasi obat, tempat infeksi dan organisme penyebab infeksi. Berdasarkan spektrumnya klindamisin termasuk golongan antibiotik berspektrum sempit atau mempunyai aktivitas sempit yang bekerja hanya terhadap bakteri gram positif (Pratiwi, 2008). Aquadest digunakan sebagai kontrol negatif karena tidak mempunyai aktifitas antibakteri (Indarto *et al.*, 2019). Konsentrasi sampel ekstrak daun sambiloto 25 dan 50 %b/v memiliki aktivitas antibakteri sedang, sedangkan untuk konsentrasi 75 dan 100 %b/v memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Respon hambat pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan menjadi 4 kategori yaitu, sangat kuat jika menghasilkan diameter zona hambat ≥ 20 mm, aktivitas kuat jika menghasilkan diameter zona hambat 10-20 mm, aktivitas sedang jika memiliki diameter zona hambat 5-10 mm dan aktivitas lemah jika menghasilkan diameter zona hambat ≤ 5 mm (Jannata *et al.*, 2014). Hal ini terjadi karena semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak maka kandungan senyawa yang bersifat antibakteri semakin banyak sehingga daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar (Nugroho *et al.*, 2016).

Penghambatan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* oleh ekstrak etanol 96% daun sambiloto diduga karena kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun sambiloto yaitu flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan alkaloid. Andrografolida adalah senyawa golongan terpenoid yang paling potensial dan banyak terkandung di dalam sambiloto (Hossain *et al.*, 2021). Senyawa ini memiliki banyak sekali aktivitas dalam berdasarkan penelitian-penelitian terbaru, diantaranya memiliki potensi yang sangat bagus dalam menghambat bakteri gram positif dan negatif (Banerjee *et al.*, 2017; Mishra *et al.*, 2009). Sahalan *et al.* pada 2007 menambahkan bahwa ekstrak daun sambiloto menghasilkan potensi yang lebih besar dalam menghambat bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dimana kategori aktivitas antibakteri yang kuat didapatkan pada sampel konsentrasi 75 dan 100 %b/v dengan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu $11,26 \pm 0,44$ mm dan $16,52 \pm 1,33$ mm. Terdapat perbedaan bermakna pada analisis statistik *One-Way ANOVA* pada hasil diameter zona hambat antara kelompok kontrol dengan ekstrak dengan nilai $p < 0,05$.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Hoqail, I. A. 2003. Knowledge, Beliefs and Perception of Youth Toward Acne Vulgaris. *Saudi Med J* 24 (7): 765-768
- Banerjee, M., Moulick, S., Bhattacharya, K.K., Parai, D., Chattopadhyay, S., and Mukherjee, S.K. 2017. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing, virulence and biofilm formation by extracts of *Andrographis paniculata*. *Microb. Pathog* 113: 85-93
- Chomnawang, M. T., Suvimol, S., Veena, S.N., and Wandee, G. 2007. Effect of *Garcinia mangostana* on Inflammation Caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia* 78 (6): 401-408
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan

- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan
- Harahap, M. 2002. *Ilmu Penyakit Kulit*. Jakarta: Hipokrates
- Hita, I.P.G.A.P., Arimbawa, P.E., and Suryaningsih, N.P.A., 2021. Characterization and Screening Active Phytochemical Compounds of 70% Ethanol Extract of Mahogany Seed (*Swietenia mahagoni* Jacq.), *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences* 4 (1): 1-8
- Hita, I.P.G.A.P., Arimbawa, P.E., Windydaca, D.B.P., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan* 9 (2): 49-54
- Hossain, S., Urbi, Z., Karuniawati, H., Mohiuddin, R.B., Moh, Q.A., Allzag, A.M.M., Ming, L.C., Pagano, E., and Capasso, R. 2021. *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: An Updated Review of Phytochemistry, Antimicrobial Pharmacology, and Clinical Safety and Efficacy. *Life* 11: 348
- Indarto, Narulita, W., Anggoro, B. S., dan Novitasari, A. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Tadris Biologi* 10 (1) : 67-78
- Jannata, Rabbani, H., Achmad, G., dan Tantin, E. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 2 (1): 23-28
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press
- Li, X., Yuan, K., Zhu, Q., Lu, Q., Jiang, H., Zhu, M., Huang, G., and Xu, A. 2019. Andrographolide Ameliorates Rheumatoid Arthritis by Regulating the Apoptosis-NETosis Balance of Neutrophils. *Int. J. Mol. Sci* 20: 5035
- Mishra, U.S., Mishra, A., Kumari, R., Murthy, P.N., and Naik, B.S. 2009. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of *Andrographis paniculata*. *Indian J. Pharm. Sci* 71: 436-438
- Mussard, E., Jousselin, S., Cesaro, A., Legrain, B., Lespessailles, E., Esteve, E., Berteina-Raboin, S., and Toumi, H. 2020. *Andrographis paniculata* and Its Bioactive Diterpenoids Against Inflammation and Oxidative Stress in Keratinocytes. *Antioxidants* 9: 530

- Nugroho, A., Rahardianingtyas, E., Putro, D., dan Wianto, R. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Terhadap Daya Bunuh Bakteri *Leptospira Sp.* *Media litbangkes* 26 (2): 77-84
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: EGC
- Rajanna, M., Bharathi, B., Shivakumar, B.R., Deepak, M., Prashanth, D.,
- Prabakaran, D., Vijayabhaskar, T., and Arun, B. 2021. Immunomodulatory effects of *Andrographis paniculata* extract in healthy adults e An open-label study. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 12: 529-534
- Sahalan, A.Z., Sulaiman, N., Mohammed, N., Ambia, K.M., and Lian, H.H. 2007. Antibacterial activity of *Andrographis paniculata* and *Euphorbia hirta* methanol extracts. *J. Sains Kesihat. Malays.* 5: 1-8
- Sopiyudin, D. 2011. *Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika
- Susanto, R.C. dan Ari, G.A.M.M. 2013. *Penyakit Kulit Dan Kelamin*. Yogyakarta : Nuha Medika
- Tan, H.H., A.W.H. Tan., T. Barkham., X. Y. Yan., M. Zhu. 2007. Community Based Study of Acne Vulgaris in Adolescents in Singapore. *British Journal of Dermatology* 157 (3): 547-551