

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi sampel tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada yang menyatakan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar *Andrographis paniculata (Burm f.) Nees* yang ditunjukkan pada Lampiran 1.

2. Pembuatan Ekstrak

Herba Sambiloto yang akan dianalisis berasal dari Desa Mayungan, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Herba Sambiloto disortir, dicuci bersih dan dikeringkan. Simplisia yang telah dikeringkan kemudian dilakukan dihaluskan untuk meningkatkan luas permukaan kontak pada saat penyarian.

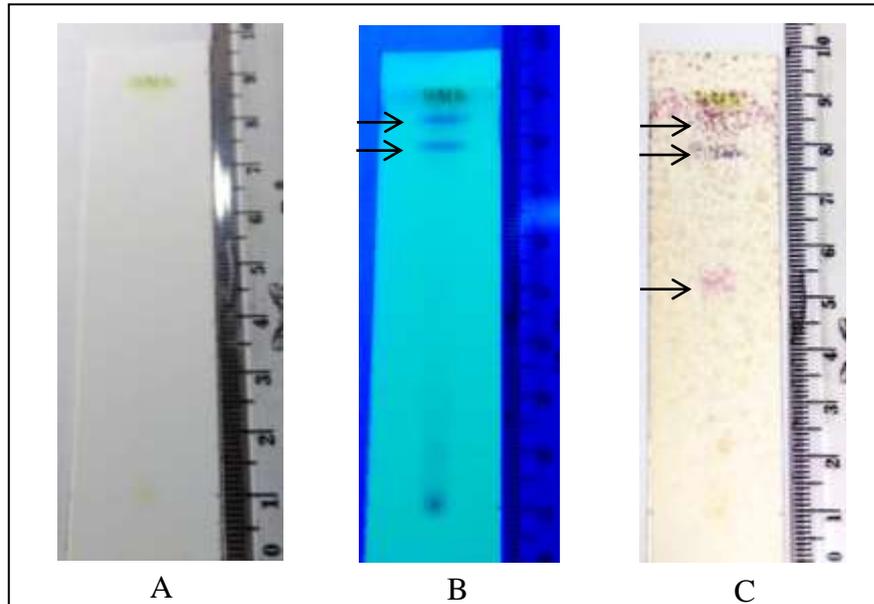
Maserat hasil penyarian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60⁰C. Dari proses ekstraksi didapatkan ekstrak kental herba sambiloto berwarna hijau pekat sebanyak 67,5 gram. Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata (Burm f.) Nees*) dapat dilihat pada Tabel 2. Perhitungan % rendemen ekstrak pada Lampiran 2.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol herba sambiloto.

Karakteristik ekstrak	Ekstrak etanol herba sambiloto
a. Organoleptik	
• Konsistensi	Ekstrak kental
• Warna	Hijau pekat
• Bau	Khas
• Rasa	Pahit
b. Rendemen	6,75%

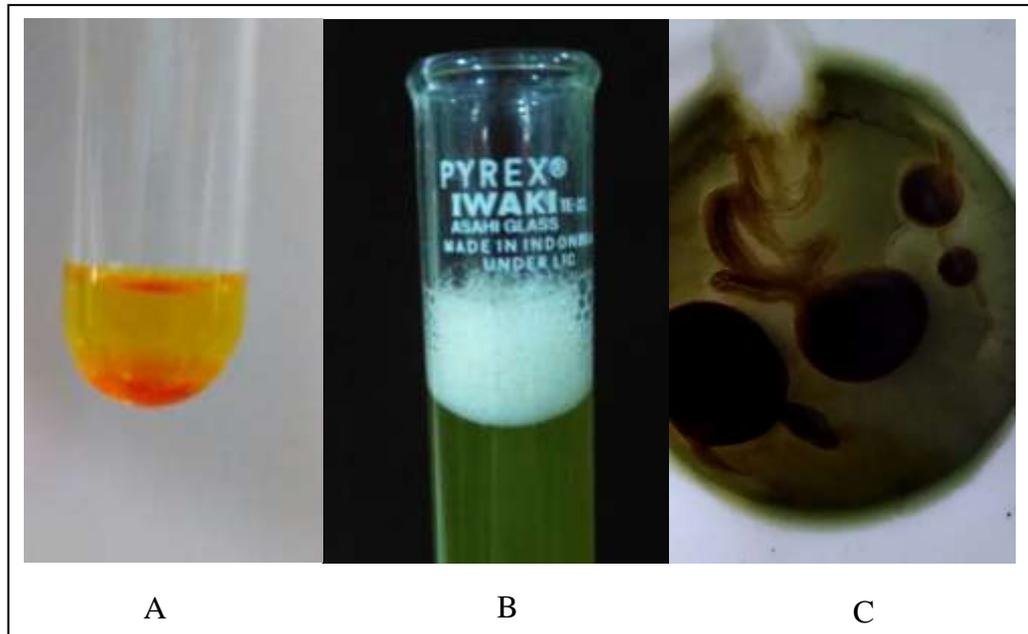
3. Uji Fitokimia

Analisis kandungan kimia yang terkandung dalam herba *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif. Analisis kandungan *andrographolide* menggunakan metode kromatografi lapis tipis. KLT terhadap (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel G₆₀F₂₅₄ dan fase gerak kloroform : etanol : aquades dengan perbandingan (4 : 2 : 2) v/v. Penotolan ekstrak etanol herba *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees menggunakan pipa kapiler. Bercak yang dihasilkan pada KLT dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV 254, dan disemprot menggunakan pereaksi anisaldehyd, dipanaskan pada suhu 110⁰C sampai bercak muncul. Hasil KLT ekstrak *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees setelah dielusi dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 1. Kromatogram lapis tipis ekstrak etanol 95% *Androdraphis paniculata* (Burm f.) Nees dengan fase diam silika gel G₆₀F₂₅₄ dan fase gerak kloroform : etanol : aquades (4 : 2 : 2 v/v). Keterangan: A. Spot yang muncul setelah dielusi B. Spot yang muncul dibawah sinar UV 254 nm (Rf 79 dan Rf 85) C. Spot yang muncul setelah disemprot pereaksi semprot vanilin sulfat (Rf 54, Rf 79, Rf 85).

Analisis kandungan yang terdapat di dalam ekstrak *Androdraphis paniculata* (Burm f.) Nees dengan menggunakan pereaksi untuk golongan Alkaloid, Saponin, Steroid dan Terpenoid. Penapisan Fitokimia adalah metode analisis untuk menentukan jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan dengan mereaksikan senyawa dengan pereaksi tertentu. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Gambar 7 dan Tabel 3.



Gambar 2. Penapisan fitokimia ekstrak etanol 95% *Androdraphis paniculata* (Burm f.) Nees. Keterangan: A. Uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff B. Uji Saponin dengan uji Forth C. Uji Terpenoid dengan Lieberman Burchard.

Tabel 2. Hasil analisis penapisan fitokimia ekstrak etanol 95% *Androdraphis paniculata* (Burm f.) Nees.

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	(+)	Terbentuk endapan berwarna jingga
Saponin	Aquades	(+)	Terbentuk busa stabil
Terpenoid	Asam asetat anhidrat	(+)	Terbentuk bulatan kecoklatan/violet

4. Uji Aktifitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Androdraphis paniculata* (Burm f.) Nees dilakukan menggunakan metode difusi. Pengujian dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak yaitu 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali pada masing-masing bakteri

Escherichia coli dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar hasil uji aktivitas antibakteri pada Lampiran 3.

Tabel 3. Diameter zona hambat ekstrak etanol 95% *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)							
	<i>Escherichia Coli</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>			
EEHS	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata
12,5%	0	0	0	0	6	5	6,3	5,76
25%	0	0	0	0	10,3	8,6	8,3	9,06
50%	0	0	0	0	12	15,3	17	14,76
75%	6	7	6	6,3	12,6	16,6	19,3	16,16
100%	7	8	8	7,6	14,3	17,3	20,6	17,4
Kontrol(+)	28,3	28,3	29,6	28,7	27	28,6	28,6	28,06
Kontrol(-)	0	0	0	0	0	0	0	0

5. Analisis Data

Pengujian statistik hasil daya hambat ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) terlebih dahulu dilakukan uji normalitas sebagai syarat untuk menggunakan uji hipotesis selanjutnya. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel pada penelitian ini kurang dari 50 sampel. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$) pada kedua bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa data memiliki distribusi data yang tidak normal.

Analisis data dilanjutkan dengan analisis non parametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji pada bakteri *Escherichia coli* didapatkan nilai signifikansi kontrol positif sebesar 0,005 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan antara kontrol positif dengan konsentrasi uji, dari hasil uji juga didapatkan nilai signifikansi masing-masing konsentrasi uji sebesar 0,008 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat

perbedaan signifikan antara masing-masing konsentrasi uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil uji pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai signifikansi kontrol positif sebesar 0,01 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif dengan konsentrasi uji, dari hasil uji juga didapatkan nilai signifikansi masing-masing konsentrasi uji sebesar 0,023 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara masing-masing konsentrasi uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Pembahasan

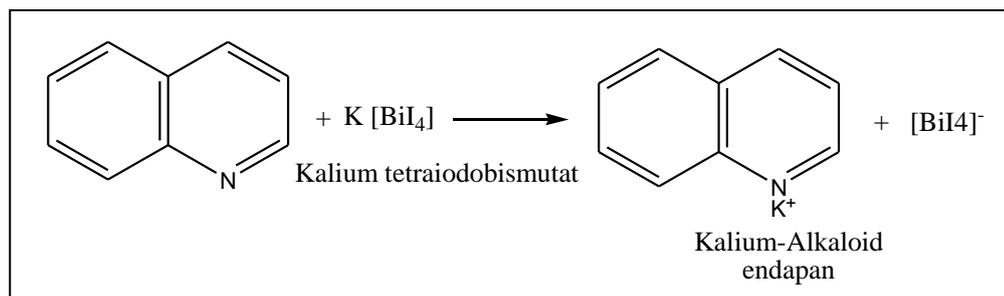
Determinasi tanaman herba sambiloto dilakukan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan. Uji determinasi tanaman dimaksudkan untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan sampel yang akan dilakukan penelitian. Hasil determinasi membuktikan bahwa sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees dari Suku *Acanthaceae* yang terlampir pada Lampiran 1.

Proses ekstraksi herba sambiloto menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% tanpa pemanasan, tujuannya agar senyawa-senyawa yang sensitif dengan suhu tidak terdekomposisi. Pada saat maserasi berlangsung pelarut berdifusi ke dalam sampel dan melarutkan senyawa yang mempunyai kepolaran mirip dengan pelarut. Pemilihan pelarut etanol 95% merupakan pelarut universal (dapat melarutkan hampir sebagian besar komponen senyawa yang terkandung dalam bahan alam) (Palleros, 1993). Penghalusan sampel bertujuan untuk meningkatkan proses ekstraksi. Remaserasi dilakukan untuk

memaksimalkan jumlah senyawa dalam simplisia yang dapat tersari (Ncube *et al*, 2008). Selama proses maserasi dilakukan pengadukan berkala. Proses maserasi yang disertai pengadukan berkala akan menghindari memadatnya serbuk, jika memadat maka pelarut akan sulit mengambil senyawa-senyawa aktifnya. Selain itu pengadukan dapat menyempurnakan kontak antara pelarut dan sampel. Cairan penyari akan menembus dinding sel yang mengandung zat aktif, zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang ada diluar sel, maka larutan dengan dengan konsentrasi yang tinggi akan didesak keluar. Peristiwa ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi larutan. Setelah proses maserasi dan remaserasi, dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara residu dan maserat. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak kental etanol sambiloto (*Andographis paniculata (Burm f.) Nees*) berwarna hijau pekat sebanyak 67,5 gram dengan rendemen 6,75% (b/b). Perhitungan % rendemen ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 2.

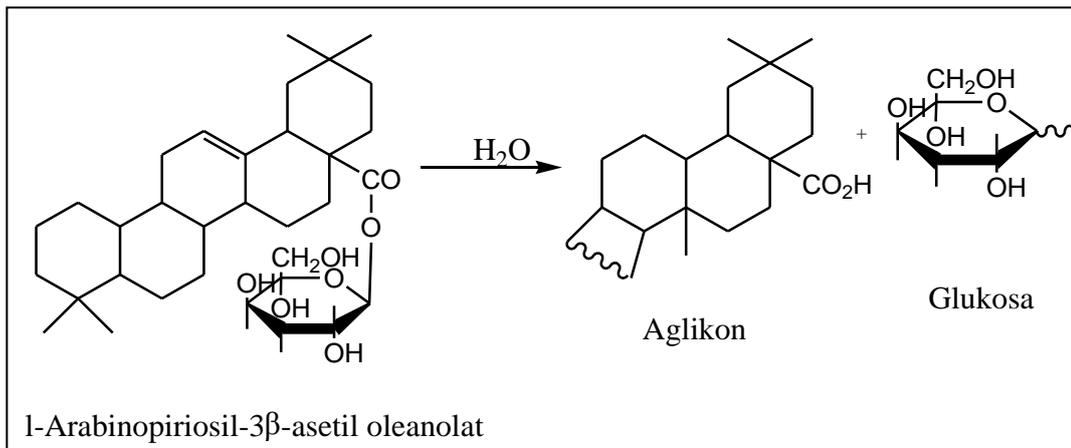
Identifikasi fitokimia memberi gambaran golongan senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak (Kristiani *et al.*, 2008). Uji alkaloid ekstrak dilakukan dengan 2 pereaksi yaitu *Dragendorff* dan *Mayer*. Hasil uji dinyatakan apabila ekstrak direaksikan dengan pereaksi *Dragendorff* ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga, sedangkan apabila direaksikan dengan pereaksi *Mayer* akan membentuk endapan berwarna kuning. Setelah di uji pereaksi *Dragendorff* dan pereaksi *Mayer* ekstrak herba sambiloto (*Andographis paniculata (Burm f.) Nees*) menghasilkan endapan berwarna jingga yang menunjukkan bahwa ekstrak

terdapat kandungan alkaloid. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendorff*, nitrogen (N) digunakan untuk mengikat ikatan kovalen dengan K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi perkiraan uji *Dragendorff* ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 3. Reaksi uji *Dragendorff* (Sumber: Miroslave, 1971)

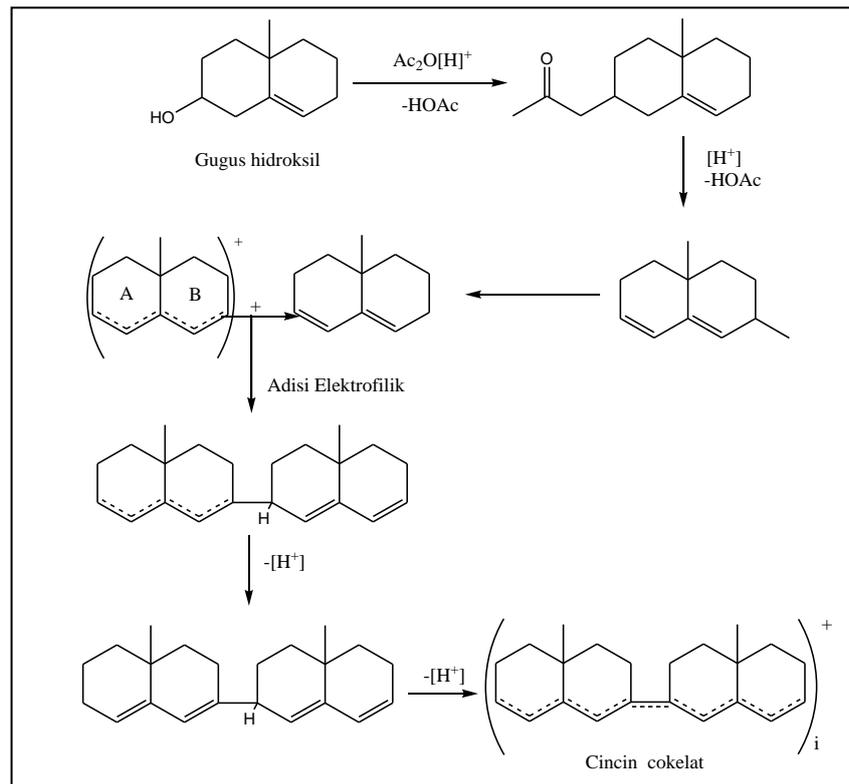
Uji Saponin ekstrak dilakukan menggunakan uji *Forth*. Saponin yang terbentuk diduga merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula/glikon dan non gula/aglikon. Pengujian saponin dengan uji *Forth* akan menghasilkan busa/buih yang bisa bertahan selama 5 menit maka ekstrak positif mengandung saponin (Rusdi, 1990). Timbulnya busa pada uji *Forth* diduga merupakan glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Merliana, *et al.*, 2005). Reaksi perkiraan uji saponin dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 4. Reaksi perkiraan uji saponin (Sumber: Santos, *et al.*, 1978)

Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan menggunakan metode *Lieberman-Burchard* (Harbone, 1987). Pada pengujian steroid dan terpenoid, analisis senyawa didasarkan pada kemampuan senyawa membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat (Ciulei, 1984). Hasil yang diperoleh menunjukkan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan yang menunjukkan kandungan triterpenoid dan tidak membentuk cincin berwarna biru kehijauan sehingga negatif mengandung steroid. Perubahan warna seperti disebutkan diatas dikarenakan terjadi oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip reaksi dalam mekanisme reaksi uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrat. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karboktin. Serangan karboktin menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti

dengan pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin coklat (Siadi, 2012). Reaksi perkiraan uji terpenoid dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 5. Reaksi perkiraan uji terpenoid (Sumber: Saidi, 2012).

Identifikasi senyawa *Andrographolide* dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode analisis yang bertujuan untuk memisahkan suatu campuran senyawa secara cepat dan sederhana. Analisis kromatografi lapis tipis ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel $\text{G}_{60}\text{F}_{254}$ dan fase gerak kloroform : etanol : aquades (4 : 2 : 2 v/v) (Halim, 2004).

Plat KLT disemprot dengan pereaksi vanilin sulfat dan dipanaskan 110°C selama 10 menit sampai muncul bercak warna. Pereaksi vanilin sulfat digunakan untuk deteksi senyawa terpenoid. (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna bercak menjadi ungu atau biru dibawah sinar tampak. Mekanisme aksi vanilin sulfat mengabstraksi atom H pada ikatan C-C senyawa organik sehingga membentuk ikatan rangkap dua (C=C). Ikatan rangkap yang terkonjugasi akan menjadi lebih panjang dan dapat menyerap sinar panjang gelombang visibel.

Sebelum dilakukan penyemprotan dengan vanilin sulfat, terdapat 2 bercak (hRf 79, 85) pada plat KLT dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan fluoresensi kuning kehijauan. Setelah penyemprotan dengan pereaksi vanilin sulfat, terdapat 3 bercak (hRf 54, 79, 85). Pada hRf 54 bercak berwarna ungu, hRf 79 berwarna ungu, dan hRf 85 berwarna merah muda (Gambar 6.)

Menurut Halim (2004), bercak *andrographolidee* yang muncul pada hRf 28 berwarna ungu merupakan *neoandrographolid* (C₂₆H₄₀O₈) yang bersifat paling polar dari *andrographolide* lainnya, hRf 54 berwarna ungu merupakan *andrographolide* (C₂₀H₃₀O₅) kandungan utama dari *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees, hRf 72 berwarna biru merupakan *14-deoxyandrographolide* (C₂₀H₃₀O₄) dan hRf 80 ungu merupakan *11,12-didehydro-14-deoxyandrographolide* (C₂₀H₂₈O₄) yang bersifat non polar dari kandungan *andrographolide* lainnya. Berdasarkan hasil penyemprotan hRf 54 berwarna ungu kemungkinan adalah *andrographolide* (C₂₀H₃₀O₅), hRf 79 kemungkinan *11,12-didehydro-14-deoxyandrographolide* (C₂₀H₂₈O₄). Bercak lainnya yaitu pada

hRf 85 berwarna merah muda merupakan bercak paling non polar, namun diperkirakan bukan senyawa *andrographolide*.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) mengandung senyawa alkaloid, saponin terpenoid dan *andrographolide*. Senyawa kimia dari tumbuhan adalah hasil dari metabolit sekunder yang berupa alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, tanis dan saponin. Senyawa ini salah satunya berfungsi sebagai antibiotik (Prapanza & Marianto, 2003).

Kandungan *andrographolide* memiliki daya antibakteri dan dapat mengaktifkan sel limfosit B untuk memproduksi antibodi. Komplek antigen–antibodi ini yang dapat memicu kehadiran makrofag untuk memfagositosis dan mencerna mikroorganisme (Prapanza & Marianto, 2003). *Andrographolidee* mempunyai struktur seperti cincin yang merupakan senyawa terpenoid. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Cowan, 1999).

Alkaloid juga terdapat dalam ekstrak etanol herba sambiloto. Alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Robinson, 1995). Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkalator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou, *et al.*, 2005).

Kandungan lain yang terdapat dalam herba sambiloto adalah saponin. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu menyebabkan kebocoran protein

dan enzim dari dalam sel (Alseison, 2003). Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Harborne, 1987).

Aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat lebih efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa (Jawetz, *et al.*, 2005). Masing-masing senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut belum bisa dipastikan karena belum ada kejelasan berapa kadar masing-masing senyawa yang terkandung dalam ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees).

Uji antibakteri ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) menggunakan metode difusi dengan teknik cakram kertas dan bakteri yang digunakan yaitu bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan gram positif *Staphylococcus aureus*. Uji antibakteri bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) yang ditunjukkan dalam *Diameter Zone Inhibition* (DZI) dari suatu antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba

sambiloto (*Andographis paniculata* (Burm f.) Nees) dilakukan pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%.

Metode difusi dipilih karena pada metode ini dapat teramati dengan jelas, sehingga dapat memudahkan dalam pengamatan bakteri uji. DZI ditandai dengan adanya daerah bening disekitar cakram kertas. Sedangkan warna keruh pada media agar menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Kontrol positif dan kontrol negatif merupakan pembanding pada penelitian aktivitas antibakteri. Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding sampel yang digunakan, tujuannya untuk mengetahui efek yang sama terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui pelarut sebagai pengencer yang digunakan memiliki efek antibakteri. Siprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini. Siprofloksasin adalah antibiotik spektrum luas atau memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif yang pada penelitian ini menggunakan bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*. Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan florokuinolon yang paling umum digunakan (Mohanasundaram & Shantha, 2000). Mekanisme kerja siprofloksasin adalah menghambat DNA girase/topoisomerase II dan topoisomerase IV yang terdapat dalam bakteri (Mitchell, 2008). Kontrol negatif pada penelitian ini adalah dimetil sulfoksida (DMSO), pemilihan pelarut DMSO dikarenakan DMSO tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri (Handayani, 2010) dan (Pramularsih, 2001) telah membuktikan bahwa DMSO tidak aktif sebagai antibakteri.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) didapatkan hasil KHM untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 75% dengan DZI rata-rata sebesar $\pm 6,3$ mm dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 12,5% dengan DZI rata-rata $\pm 5,76$ mm. Selain KHM dari pengujian didapatkan hasil DZI ekstrak etanol herba sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tertinggi sebesar $\pm 7,6$ mm dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* tertinggi sebesar $\pm 17,4$ mm. Hasil pengujian aktivitas antibakteri diketahui bahwa DZI rata-rata siprofloksasin untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* sebesar $\pm 28,7$ mm dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar $\pm 28,06$ mm. Menurut Tabel 1. Ekstrak etanol herba sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dikatakan lemah karena kurang dari 15 mm dan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dikatakan sedang karena masuk dalam rentang 16-20 mm. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) lebih baik menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

Menurut standar yang dimuat di *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), antibiotik Siprofloksasin dikatakan sensitif apabila memiliki DZI lebih dari 21 mm. Berdasarkan penelitian antibiotik siprofloksasin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar $\pm 28,7$ mm dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar $\pm 28,06$ mm. Dari hasil penelitian yang dilakukan,

siprofloksasin yang digunakan masih dikategorikan sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian ini menggunakan uji analisis data *Kruskal Wallis*, uji ini dipilih karena lebih dari 2 kelompok sampel yang diujikan tidak memenuhi asumsi normalitas data. Analisis data *Kruskal Wallis* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok uji. Dari hasil analisis yang dilakukan (Lampiran 4) bisa dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dengan kontrol positif siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*, serta terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing konsentrasi ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak meningkat maka kadar bahan aktif antibakterinya semakin besar sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam menghambat maupun membunuh mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba (Schlegel & Schmidt, 1994).