

KOMBINASI *Momordica charantia* DENGAN KLINDAMISIN ATAU AMOKSISILIN PADA PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

Muhamad Hudaya Setio Utari, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Obat Herbal Terstandar (OHT) buah pare (*Momordica charantia*) merupakan salah satu produk obat herbal yang diklaim bermanfaat sebagai terapi antidiabetes, namun juga memiliki potensi antibakteri yakni sebagai adjuvan antibiotik. Terapi kombinasi herbal dan antibiotik dapat menimbulkan interaksi farmakokinetik seperti sinergis, aditif, potensiasi, *not-distinguishable*, dan antagonis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri pada kombinasi produk OHT *M. charantia* dengan klindamisin dan amoksisilin pada koloni *Staphylococcus aureus*.

Metode: Penelitian dilakukan secara *in vitro* yang mengkombinasikan herbal dengan antibiotik terhadap koloni *S. aureus*. Produk OHT *M. charantia* dilarutkan dengan metanol berdasarkan lima variasi dosis: 200.000, 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm. Kemudian melakukan uji kombinasi dengan klindamisin 2 µg atau amoksisilin 25 µg pada koloni *S. aureus* menurut metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST). Analisis data menggunakan uji *One-Way Anova* yang dilanjutkan dengan *post-test Least Significant Difference* (LSD) untuk uji OHT *M. charantia* dengan klindamisin dan uji *Kruskal-Wallis* dengan *post-test Mann-Whitney* untuk uji OHT *M. charantia* dengan amoksisilin berdasarkan tingkat signifikansi $P < 0,05$.

Hasil: Diameter ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan amoksisilin 25 µg berinteraksi aditif pada dosis 200.000, 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm adalah $51,07 \pm 1,97$; $51,57 \pm 1,44$; $50,33 \pm 1,17$; $50,47 \pm 2,20$ dan $50,80 \pm 0,80$ mm pada koloni *S. aureus*. Sedangkan diameter ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan klindamisin 2 µg berinteraksi aditif pada dosis 200.000, 100.000, 50.000 dan 25.000 ppm adalah $40,85 \pm 1,20$; $41,57 \pm 2,00$; $37,93 \pm 2,48$ dan $38,73 \pm 1,64$ mm namun berinteraksi *not distinguishable* pada dosis 12.500 ppm $35,07 \pm 1,01$ mm pada koloni *S. aureus*.

Kesimpulan: Kombinasi OHT *M. charantia* baik dengan amoksisilin 25 µg maupun dengan klindamisin 2 µg berpotensi meningkatkan aktivitas antibiotik dalam menghambat koloni *S. aureus*.

Kata Kunci: *Momordica charantia*, Adjuvan Antibiotik, Kombinasi Herbal dan Antibiotik

*Penulis Korespondensi:

Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., PhD

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, +62-341-578920

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

COMBINATION OF *Momordica charantia* WITH CLINDAMYCIN OR AMOXICILLIN TOWARD *Staphylococcus aureus* GROWTH

Muhamad Hudaya Setio Utari, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introductions: Obat Herbal Terstandar (OHT) bitter melon' fruit (*Momordica charantia*) is one type of herbal medicinal product that can be used as an antidiabetic and potentially have an antibacterial activity as an adjuvant antibiotic. However, herbal therapy as an antibiotic adjuvant will potentially cause pharmacokinetic interactions that is synergistic, additive, potentiation, not distinguishable, and antagonistic. This study aims to obtain knowledge of antibacterial potential in the combination of *M. charantia* OHT product with clindamycin and amoxicillin toward *Staphylococcus aureus* colonies.

Methods: The research was conducted by 'In Vitro' which combined herbal medicine and antibiotic toward *S. aureus* colonies. *M. charantia* OHT product was dissolved with methanol-based on five dosage variations: 200.000, 100.000, 50.000, 25.000, and 12.500 ppm and tested combined with clindamycin 2 µg and amoxicillin 25 µg toward *S. aureus* colonies according to the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method. The obtained data is analyzed by *One-Way Anova* with *Least Significant Difference* (LSD) post-test for *M. charantia* OHT with clindamycin and *Kruskal-Wallis* with *Mann-Whitney* post-test *M. charantia* OHT with amoxicillin based on significance $P < 0,05$.

Result: ZOI diameter of *M. charantia* OHT combination with amoxicillin 25 µg is additively interacted in dose 200.000, 100.000, 50.000, 25.000, and 12.500 ppm was $51,07 \pm 1,97$; $51,57 \pm 1,44$; $50,33 \pm 1,17$; $50,47 \pm 2,20$; and $50,80 \pm 0,80$ mm toward *S. aureus* colonies. While ZOI diameter of *M. charantia* OHT combination with clindamycin 2 µg is additively interacted in dose 200.000, 100.000, 50.000, and 25.000 ppm was $40,85 \pm 1,20$; $41,57 \pm 2,00$; $37,93 \pm 2,48$; and $38,73 \pm 1,64$ mm, yet it had not-distinguishable interaction in dose 12.500 ppm $35,07 \pm 1,01$ mm toward *S. aureus* colonies.

Conclusion: Combinations of *M. charantia* OHT product with amoxicillin 25 µg as well as with clindamycin 2 µg may increase the antibiotic activity toward *S. aureus* colonies.

Keyword: *Momordica charantia*, Antibiotic Adjuvant, Herb and Antibiotic Combination.

*Corresponding Author:

Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., PhD

Faculty of Medicine, University of Islam Malang, +62-341-578920

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Pemanfaatan bahan alam berupa obat herbal telah menjadi suatu tren yang sedang berkembang dimasyarakat. Hal ini sesuai dengan hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2010 dan 2018 dimana dalam kurun waktu tersebut penggunaan obat herbal terus meningkat yaitu sebesar 17,4% pada 2010 dan 24,6% pada 2018^{1,2}. Salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan adalah pare (*Momordica charantia*) yang memiliki beberapa kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan protein yang bermanfaat sebagai antidiabetes^{3,4,5}. Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit kronis tidak menular yang termasuk ke dalam kelompok penyakit metabolik⁶.

Dalam perkembangannya DM yang telah berlangsung lama/kronis memiliki keterkaitan dengan berbagai penyakit infeksi, salah satunya infeksi kaki diabetik yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dengan prevalensi sekitar 26,2-46,3%⁷. Kejadian ini dapat ditangani melalui pemberian amoksisilin dan klindamisin yang merupakan pilihan terapi pada infeksi kaki diabetik⁸. Penggunaan antibiotik pada terapi infeksi dapat dikombinasikan dengan herbal sebagai adjuvan antibiotik guna meningkatkan sensitifitas antibakteri pada antibiotik tersebut^{9,10}. Selain bermanfaat sebagai antidiabetes, *M. charantia* juga memiliki aktivitas antibakteri yang berpotensi untuk dapat dikombinasikan dengan antibiotik karena memiliki beberapa senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri^{11,12,13}.

Namun, penggunaan kombinasi tersebut dapat menimbulkan interaksi farmakokinetik. Hal ini sejalan dengan penelitian Subroto (2006) yang menyatakan bahwa sebanyak 63% tanaman obat herbal Indonesia dapat menyebabkan interaksi farmakokinetik dengan obat konvensional apabila diminum secara bersamaan¹⁴. Selain itu, pada penelitian yang telah dilakukan oleh Patahanone *et al.*, (2018) terkait kombinasi ekstrak *M. charantia* dengan antibiotik tetrasiklin terhadap *S. aureus* dimana hasilnya menunjukkan interaksi antagonis antara keduanya¹⁵.

Berbagai penelitian terkait penggunaan herbal dan antibiotik secara bersamaan telah banyak dilakukan, tetapi hanya terbatas pada penggunaan ekstrak sebagai bahan penelitiannya. Selain itu, penelitian lain yang menggunakan produk obat herbal seperti Obat Herbal Terstandar (OHT) yang telah beredar dipasaran sebagai fokus penelitiannya masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji potensi antibakteri pada produk OHT *M. charantia* dengan antibiotik amoksisilin dan klindamisin terhadap *S. aureus* berdasarkan ketentuan *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST)¹⁶.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in vitro* yang dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam

Malang (LPRK FK UNISMA) pada bulan Juni-Juli 2021.

Sampel Penelitian

Bakteri *S. aureus* dengan kode VT003221 didapat dari LPRK FK UNISMA. OHT *M. charantia* dengan merk dagang Bilon diproduksi oleh PT Industri Jamu Borobudur, Semarang. Cakram antibiotik amoksisilin 25 µg dan klindamisin 2 µg diproduksi oleh Oxoid Ltd, Basingstoke, Inggris Raya.

Karakterisasi Senyawa Aktif Dengan Fitokimia Kualitatif

Uji fitokimia dilakukan di laboratorium UPT *Materia Medica* Batu (BMM) No. 074/168/102.7-D/2021. Uji ini meliputi uji kandungan senyawa aktif flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid dan protein terhadap produk OHT *M. charantia* dengan mengirimkan sediaan sebanyak 2 g dalam bentuk serbuk.

Eksplorasi Pelarut OHT *M. charantia*

Sediaan OHT *M. charantia* dalam bentuk kapsul dikeluarkan isinya sehingga didapatkan sediaan serbuk. Sediaan serbuk tersebut kemudian ditimbang dan dilakukan uji optimasi eksplorasi pelarut dengan 3 pelarut, yaitu metanol, aquades dan etanol dengan perbandingan sediaan serbuk dibanding pelarut adalah 1:10 kemudian diaduk setiap 30 menit selama 2 jam. Setelah diaduk, larutan disaring dengan kertas saring kemudian dievaporasi di dalam oven selama 2-3 jam dengan suhu 50°C. Hasil proses evaporasi kemudian ditimbang dengan mengurangi berat endapan yang dikurangi berat kertas saring agar diketahui berat bersih dari endapan yang terbentuk. Dua pelarut dengan berat endapan paling sedikit akan digunakan dalam uji eksplorasi dosis.

Peremajaan Bakteri

Stok bakteri *S. aureus* yang didapat dari LPRK FK UNISMA dilakukan proses peremajaan bakteri kembali sebelum penelitian dilakukan. Stok bakteri tersebut diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA) dan kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, bakteri disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 4-8°C dan diperbaharui setiap 2 minggu.

Eksplorasi Dosis Larutan dan Penentuan Dosis Larutan OHT *M. charantia*

Eksplorasi dosis larutan OHT *M. charantia* dilakukan dengan uji ZOI berdasarkan metode *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test*¹⁷. Bakteri yang telah diremajakan distandarisasi dengan standar *McFarland* 0,5¹⁷. Bakteri kemudian diinokulasikan ke media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah disiapkan pada cawan petri. Selanjutnya OHT *M. charantia* dilarutkan dengan beberapa variasi dosis yaitu 100.000, 50.000, 25.000, 12.500, 6.250, 3.125 dan 0 ppm sebagai variabel kontrol. Cakram kosong yang telah disiapkan direndam ke dalam variasi dosis tersebut selama 10 menit kemudian dikeluarkan untuk selanjutnya dipasang ke cawan petri berisi MHA yang telah diinokulasi dengan bakteri. Selanjutnya dilakukan

proses inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu diameter zona bening dapat diukur dengan penggaris atau jangka sorong.

Dosis terendah dengan zona bening yang paling besar akan digunakan sebagai dosis hambat minimum. Setelah didapatkan dosis hambat minimum, maka rentangan pengujian dosis dapat ditentukan. Rentang dosis ini berupa rentangan dari dosis hambat minimum yang ditambahkan dua dosis tambahan pada ambang atas dan dua dosis ambang bawah.

Penentuan ZOI dan Interpretasi AZDAST

Bakteri yang telah diremajakan distandarisasi dengan standar *McFarland* 0,5. Kemudian, Media MHA dibuat dengan dua botol, botol pertama sebagai 'lem' perekat sebanyak 100 ml, sedangkan botol kedua untuk pembuatan media pada uji zona inhibisi sebanyak 1 (satu) liter. Keduanya kemudian diautoklaf dengan suhu 121°C selama 90 menit. Uji AZDAST dilakukan dengan terlebih dahulu menanamkan cakram antibiotik dan cakram OHT *M. charantia* di dasar cawan petri dengan cara dicelupkan ke dalam media MHA 'lem' berbentuk semisolid yang dijaga suhu mediumnya pada suhu 50°C menggunakan hotplate. Setelah semua cakram terpasang di dasar cawan petri, media MHA dituang hingga setengah ketinggian cawan petri ($\pm$ 20-25 mL) kemudian bakteri yang telah sesuai dengan standar *McFarland* 0,5 diinokulasi ke dalam media MHA. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu diameter zona hambat dapat diukur dengan penggaris atau jangka sorong.

Daya hambat ditentukan dengan satuan diameter zona bening disekitaran cakram. Interpretasi uji kombinasi yang dilakukan antara antibiotik dengan herbal diukur berdasarkan ketentuan dari metode dan interpretasi AZDAST untuk mengetahui efek interaksi kombinasi keduanya sesuai dosis yang telah ditentukan. Interpretasi hasil dapat dilihat pada tabel Interpretasi AZDAST¹⁶.

Tabel 1. Interpretasi hasil berdasarkan metode AZDAST

Kombinasi Yang Didapatkan	Interpretasi Uji
Apabila H-AB lebih besar dari H dan AB dan lebih kecil atau lebih besar dari H-H dan/atau AB-AB	Sinergis
Apabila salah satu dari H atau AB sama dengan 0 dan H-AB lebih besar dari H dan AB dan lebih kecil atau lebih besar dari H-H dan/atau AB-AB	Potensiasi
Apabila H-AB lebih kecil dari H atau AB (atau bisa lebih kecil pada salah satunya)	Antagonis
Apabila H-AB sama dengan H-H dan/atau AB-AB (mana yang lebih besar dari H dan AB)	Aditif
Apabila H-AB sama dengan salah satu dari H atau AB (sama dengan yang lebih besar dari H atau AB)	Not distinguishable

Keterangan: H= Herbal, AB= Antibiotik, H-AB=Herbal-Antibiotik.

Analisa Data Statistika

Perhitungan rata-rata dan standar deviasi didapat dengan menghitung hasil interaksi daya hambat kombinasi berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk aplikasi *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 25. Analisa data statistik yang digunakan ditentukan berdasarkan uji normalitas dan homogenitas. Apabila sebaran data normal dengan variansi yang homogen maka data diuji dengan metode *One-Way Anova* dilanjutkan *post-test Least Significant Difference* (LSD) berdasarkan tingkat signifikansi $P < 0,05$. Namun, apabila sebaran data yang didapat tidak normal dan variansi yang juga tidak homogen maka uji diganti dengan metode *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *post-test Mann-Whitney*¹⁸.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Uji Karakterisasi Senyawa Aktif Dengan Fitokimia Kualitatif

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam OHT *M. charantia*. Hasil pengujian kandungan senyawa aktif terhadap OHT *M. charantia* yang telah dilakukan di Laboratorium BMM tercantum dalam tabel 2.

Tabel 2. Kandungan senyawa aktif OHT *M. charantia*

No.	Identifikasi senyawa	Parameter	Hasil
1	Flavonoid	Jingga, merah bata, merah muda, merah tua	+
2	Alkaloid		
	<i>Meyer</i>	Endapan putih	-
	<i>Dragendorff</i>	Endapan jingga	+
	<i>Bouchardat</i>	Endapan coklat	+
3	Terpenoid		
	Steroid	Hijau kebiruan	-
	Triterpenoid	Orange, jingga kecoklatan	+
4	Saponin	Busa permanen	-
5	Protein	Bening keunguan	-

Keterangan: OHT= Obat Herbal Terstandar, (+)= positif, (-)=negatif.

Sebagaimana dapat dilihat pada tabel 2 yang menunjukkan data hasil uji fitokimia kualitatif terhadap OHT *M. charantia*. Berdasarkan hasil tersebut OHT *M. charantia* mengandung senyawa aktif triterpenoid, alkaloid dan flavonoid. Namun, tabel tersebut juga menunjukkan bahwa OHT *M. charantia* tidak mengandung senyawa aktif saponin, protein dan steroid.

Hasil Uji Eksplorasi Pelarut OHT *M. charantia*

Uji eksplorasi pelarut pada OHT *M. charantia* dilakukan untuk mengetahui pelarut mana yang dapat melarutkan OHT *M. charantia* dengan baik. Uji ini menggunakan tiga jenis pelarut, yaitu metanol, etanol dan aquades. Hasil uji eksplorasi pelarut OHT *M. charantia* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji eksplorasi pelarut OHT *M. charantia* pada pelarut metanol, etanol dan aquades

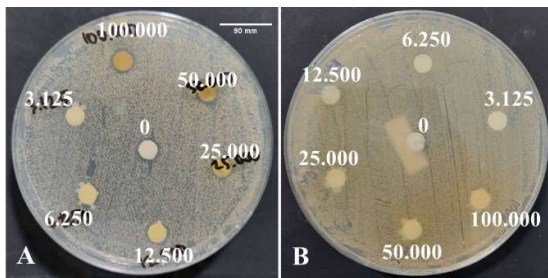
Keterangan	Metanol	Etanol	Aquades
Total larutan sebelum penyaringan (ml)	27,5	27,5	27,5
Berat kertas sebelum penyaringan (g)	1,54	1,47	1,57
Berat kertas setelah penyaringan (g)	3,83	4,02	3,78
Endapan yang terbentuk (g)	2,29	2,55	2,21

Keterangan: ml= mililiter, g= gram.

Data pada tabel 3 menunjukkan hasil uji eksplorasi pelarut pada tiga pelarut, yaitu metanol, etanol dan aquades. Interpretasi hasil dilakukan dengan melihat kadar endapan yang terbentuk pada setiap pelarutnya. Tabel 3 menunjukkan bahwa aquades dapat melarutkan OHT *M. charantia* dengan baik karena memiliki kadar endapan yang paling sedikit diantara dua pelarut lainnya yaitu sebanyak 3,78 g. Kadar endapan pada metanol sebanyak 3,83 g dan etanol yang memiliki kadar endapan paling banyak yaitu 4,02 g. Berdasarkan hasil tersebut, digunakan dua pelarut dengan kadar endap paling sedikit yaitu aquades dan metanol untuk dilakukan uji eksplorasi variasi dosis pada tahap berikutnya.

Hasil Eksplorasi Variasi Dosis OHT *M. charantia* Terhadap *S. aureus* dan Penentuan Dosis OHT *M. charantia*.

Eksplorasi variasi dosis OHT *M. charantia* dilakukan menggunakan dua pelarut yaitu metanol dan aquades yang didapatkan pada hasil uji eksplorasi pelarut. Hasil pengukuran ZOI pada eksplorasi variasi dosis terhadap *S. aureus* dengan dua pelarut yaitu metanol dan aquades dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 4.



Gambar 1. Hasil ZOI eksplorasi dosis OHT *M. charantia* terhadap *S. aureus*. A. ZOI OHT *M. charantia* dengan pelarut metanol, B. ZOI OHT *M. charantia* dengan pelarut aquades.

Tabel 4. Rata-rata tiga kali pengulangan hasil pengukuran ZOI OHT *M. charantia* dengan pelarut metanol dan aquades terhadap *S. aureus*.

Dosis Herbal (ppm)	Pelarut	
	Metanol	Aquades
	Rata-rata±SD (mm)	
100.000	10,33 ± 0,58	0
50.000	10,33 ± 1,15	0
25.000	8,67 ± 0,58	0
12.500	8,33 ± 0,58	0
6.250	0	0
3.125	0	0
0	0	0

Keterangan: SD= standar deviasi, mm= milimeter, ppm= parts per milion.

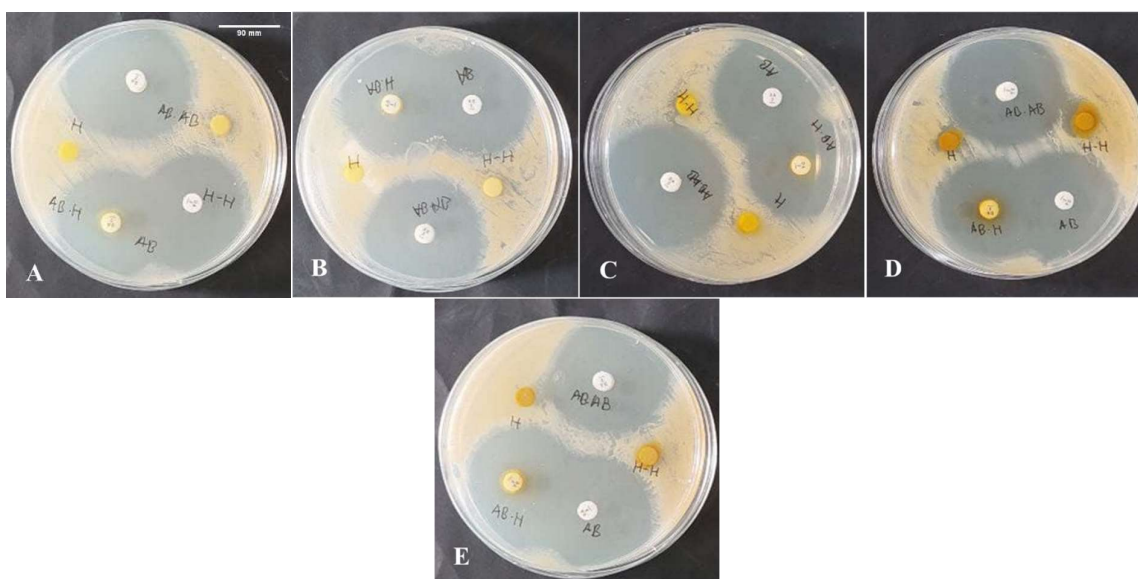
Tabel diatas menunjukkan data hasil dari pengukuran ZOI pada OHT *M. charantia* yang terlihat pada dosis 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm dengan pelarut metanol terhadap *S. aureus*. Sedangkan, pada pelarut aquades tidak didapatkan adanya ZOI sama sekali. Penentuan dosis yang akan digunakan ditentukan dengan melihat dosis terendah dengan ZOI terbesar, maka dosis 50.000 ppm dengan pelarut metanol digunakan sebagai dosis uji. Kemudian dibuat rentangan dosis yaitu 12.500, 25.000, 50.000, 100.000 dan 200.000 ppm. Dosis tersebut akan digunakan sebagai dosis tetap pada uji kombinasi antibiotik dan herbal berdasarkan pada metode AZDAST.

Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi OHT *M. charantia* dengan Klindamisin terhadap *S. aureus*

Hasil pengukuran ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan klindamisin terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada **gambar 2** dan **tabel 5**.

Analisis dengan uji *One-Way Anova* pada data ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antara dosis perlakuan pada semua dosis uji. Pengujian kemudian dilanjutkan dengan uji *post-test* LSD untuk membandingkan antara kelompok perlakuan pada setiap dosisnya dengan tingkat signifikansi $P < 0,05$ dan diinterpretasi sesuai dengan metode AZDAST. Tabel 5 menunjukkan hasil uji interaksi kombinasi antara variasi dosis pada OHT *M. charantia* dengan antibiotik klindamisin terhadap *S. aureus* yang memiliki efek interaksi aditif dan *not-distinguishable*.

Pada OHT *M. charantia* dosis 200.000, 100.000 dan 50.000 ppm didapatkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) antara H-AB dengan AB dan AB-AB dan signifikan ($P < 0,05$) antara H-AB dengan H dan H-H serta pada dosis 25.000 ppm didapatkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) antara H-AB dengan AB dan berbeda signifikan ($P > 0,05$) antara H-AB dengan H, H-H dan AB-AB. Keempat dosis tersebut bermakna aditif dalam interpretasi AZDAST. Sedangkan pada dosis 12.500 ppm didapatkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) antara H-AB dengan AB-AB dan signifikan ($P < 0,05$) antara H-AB dengan H, H-H dan AB sehingga bermakna *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan berdasarkan interpretasi AZDAST.



Gambar 2. Hasil uji pengukuran ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan klindamisin terhadap *S. aureus*, A. Dosis 12.500 ppm, B. Dosis 25.000 ppm, C. Dosis 50.000 ppm, D. Dosis 100.000, E. Dosis 200.000 ppm.

Tabel 5. Rata-rata tiga kali pengulangan hasil pengukuran ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan klindamisin terhadap *S. aureus*.

Dosis Herbal (ppm)	Sampel	Rata Rata (mm) $\pm$ SD	Jenis Interaksi
200.000	H	11,73 $\pm$ 0,38*	Aditif
	H-H	14,73 $\pm$ 1,10*	
	H-AB	40,85 $\pm$ 1,20	
	AB-AB	39,73 $\pm$ 1,01**	
	AB	37,27 $\pm$ 2,37**	
100.000	H	12,27 $\pm$ 1,31*	aditif
	H-H	9,97 $\pm$ 2,82*	
	H-AB	41,57 $\pm$ 2,00	
	AB-AB	39,53 $\pm$ 0,91**	
	AB	38,90 $\pm$ 1,87**	
50.000	H	9,83 $\pm$ 0,95*	Aditif
	H-H	10,83 $\pm$ 3,01*	
	H-AB	37,93 $\pm$ 2,48	
	AB-AB	39,77 $\pm$ 2,61**	
	AB	36,10 $\pm$ 3,32**	
25.000	H	0,00 $\pm$ 0,00*	Aditif
	H-H	10,23 $\pm$ 0,97*	
	H-AB	38,73 $\pm$ 1,64	
	AB-AB	39,63 $\pm$ 1,46**	
	AB	34,67 $\pm$ 0,42*	
12.500	H	0,00 $\pm$ 0,00*	Not Distinguishable
	H-H	11,20 $\pm$ 2,62*	
	H-AB	35,07 $\pm$ 1,01	
	AB-AB	41,60 $\pm$ 2,25*	
	AB	36,23 $\pm$ 1,96**	

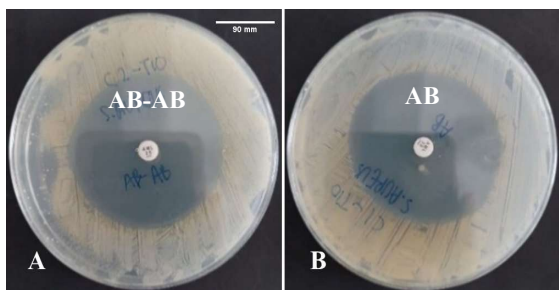
Keterangan: SD= standar deviasi, mm= milimeter, ppm= *part per milion*, H= herbal, AB= antibiotik, H-H= herbal-herbal, AB-AB= anbiotik-antibiotik, H-AB= herbal-antibiotik, * = signifikan terhadap H-AB, **= tidak signifikan terhadap H-AB.

Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi OHT *M. charantia* dengan Amoksisilin terhadap *S. aureus*.

Hasil pengukuran ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan amoksisilin terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada **gambar 3** dan **tabel 6**.

Analisis dengan uji *Kruskal-Wallis* pada data ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antara dosis perlakuan pada seluruh dosis uji. Pengujian kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk membandingkan antara kelompok perlakuan pada setiap dosisnya dengan tingkat signifikansi $P < 0,05$ dan diinterpretasi sesuai dengan metode AZDAST. Tabel 6 menunjukkan data hasil interaksi aditif pada semua variasi dosis uji kombinasi antara OHT *M. charantia* dengan antibiotik amoksisilin terhadap *S. aureus*. Pada OHT *M. charantia* dosis 200.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm didapatkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) antara H-AB dengan AB-AB dan AB serta signifikan ($P < 0,05$) antara H-AB dengan H dan H-H. Sedangkan pada dosis 100.000 ppm didapatkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) antara H-AB dengan AB-AB serta signifikan ($P < 0,05$) antara H-AB dengan H, H-H dan AB.

Selain itu, pada uji ini dilakukan pengulangan terhadap uji antibiotik amoksisilin karena ZOI yang didapatkan pada uji kombinasi terlalu luas sehingga menyulitkan proses pengukuran. Tujuan dilakukan pengulangan pada uji ini adalah untuk memastikan nilai ZOI pada antibiotik amoksisilin terhadap *S. aureus* sehingga data dapat diinterpretasi. Data yang didapat pada pengulangan ini akan digunakan sebagai data tetap pada hasil uji amoksisilin. ZOI yang didapatkan pada uji amoksisilin dapat dilihat pada gambar 4 dan tabel 7.



Gambar 4. Hasil uji pengukuran ZOI pada pengulangan amoksisilin terhadap *S. aureus*, A. AB-AB, B. AB.

Tabel 7. Hasil uji pengukuran ZOI pada pengulangan amoksisilin terhadap *S. aureus*.

Antibiotik	Sampel	Rata-Rata (mm) $\pm$ SD
Amoksisilin	AB-AB	49,80 $\pm$ 0,72
	AB	48,83 $\pm$ 1,04

Keterangan: AB= antibiotik, AB-AB= antibiotik-antibiotik, mm= milimeter, SD= standar deviasi.

PEMBAHASAN

Kandungan Senyawa Aktif Pada OHT *M. charantia*

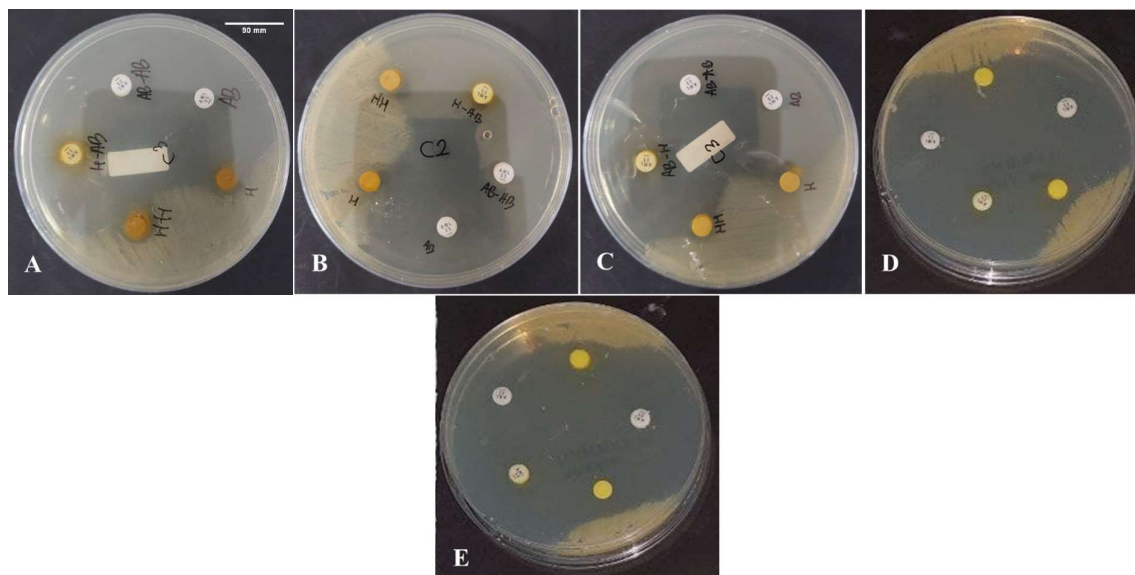
Hasil uji fitokimia kualitatif yang telah dilakukan dapat dikatakan bahwa OHT *M. charantia* mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Hasil yang didapat pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, namun pada penelitian ini senyawa aktif yang didapat lebih sedikit dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ritu *et al.*, (2012) dimana senyawa aktif yang terkandung pada buah pare yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, glikosida dan karbohidrat¹⁹.

Perbedaan senyawa aktif yang didapat juga diduga karena perbedaan jenis produk yang digunakan, dimana pada penelitian ini bahan yang digunakan merupakan produk OHT yang sudah dikemas dalam kemasan kapsul sedangkan pada penelitian Ritu *et al.*, (2012) bahan yang digunakan berupa ekstrak kasar dari buah pare yang dilakukan proses ekstraksi sendiri²⁰. Hal ini kemungkinan dapat mempengaruhi terhadap hasil senyawa aktif yang didapat. Berdasarkan penelitian ini senyawa aktif yang memiliki peran pada produk OHT *M. charantia* terhadap aktivitas antibakteri adalah flavonoid, alkaloid dan triterpenoid.

Eksplorasi Pelarut OHT *M. charantia* dan Eksplorasi Variasi Dosis OHT *M. charantia*.

Hasil uji eksplorasi pelarut terhadap tiga jenis pelarut, didapatkan dua jenis pelarut yang memiliki kemampuan melarutkan OHT *M. charantia* dengan baik, yaitu metanol dan aquades. Namun, Berdasarkan hasil uji ZOI, diketahui hanya OHT *M. charantia* dengan pelarut metanol yang memiliki ZOI pada beberapa variasi dosis yaitu, 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm. Maka metanol akan digunakan sebagai pelarut pada OHT *M. charantia* pada uji kombinasi herbal dan antibiotik sesuai dengan metode AZDAST.

Kemampuan suatu herbal dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme bergantung pada konsentrasi dosis serta pelarut yang juga berperan dalam proses pengambilan senyawa metabolit dari suatu herbal. Metanol merupakan pelarut yang memiliki struktur molekul CH_3OH , yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil ($-\text{OH}$) dan bersifat non-polar karena memiliki gugus metil ($-\text{CH}_3$)²⁰. Kedua gugus tersebut memberikan kecenderungan metanol untuk menarik senyawa metabolit yang bersifat polar maupun nonpolar²¹. Selain itu, dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Rakholiya *et al.*, (2014) yang membandingkan aktivitas antibakteri pada ekstrak *M. charantia* dengan pelarut metanol dan pelarut aquades menjelaskan bahwa ekstrak *M. charantia* dengan pelarut metanol lebih baik dalam menghambat bakteri dibandingkan ekstrak *M. charantia* dengan pelarut aquades²².



Gambar 3. Hasil uji pengukuran ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan amoksisilin terhadap *S. aureus*, A. Dosis 12.500 ppm, B. Dosis 25.000 ppm, C. Dosis 50.000 ppm, D. Dosis 100.000, E. Dosis 200.000 ppm.

Tabel 6. Rata-rata tiga kali pengulangan hasil pengukuran ZOI kombinasi OHT *M. charantia* dengan amoksisilin terhadap *S. aureus*.

Dosis Hebral (ppm)	Sampel	Rata-Rata (mm) $\pm$ SD	Jenis Interaksi
200.000	H	8,33 $\pm$ 7,23*	Aditif
	H-H	14,20 $\pm$ 0,20*	
	H-AB	51,07 $\pm$ 1,97	
	AB-AB	49,80 $\pm$ 0,72**	
	AB	48,83 $\pm$ 1,04**	
100.000	H	11,20 $\pm$ 1,74*	Aditif
	H-H	11,87 $\pm$ 1,30*	
	H-AB	51,57 $\pm$ 1,44	
	AB-AB	49,80 $\pm$ 0,72**	
	AB	48,83 $\pm$ 1,04*	
50.000	H	0,00 $\pm$ 0,00*	Aditif
	H-H	9,73 $\pm$ 0,23*	
	H-AB	50,33 $\pm$ 1,17	
	AB-AB	49,80 $\pm$ 0,72**	
	AB	48,83 $\pm$ 1,04**	
25.000	H	0,00 $\pm$ 0,00*	Aditif
	H-H	0,00 $\pm$ 0,00*	
	H-AB	50,47 $\pm$ 2,20	
	AB-AB	49,80 $\pm$ 0,72**	
	AB	48,83 $\pm$ 1,04**	
12.500	H	0,00 $\pm$ 0,00*	Aditif
	H-H	0,00 $\pm$ 0,00*	
	H-AB	50,80 $\pm$ 0,80	
	AB-AB	49,80 $\pm$ 0,72**	
	AB	48,83 $\pm$ 1,04**	

Keterangan: SD= standar deviasi, mm= milimeter, ppm= *parts per milion*, H= herbal, AB= antibiotik, H-H= herbal-herbal, AB-AB= antibiotik-antibiotik, H-AB= herbal-antibiotik, * = signifikan terhadap H-AB, ** = tidak signifikan terhadap H-AB.

Efek antibakteri pada OHT *M. charantia* dengan pelarut metanol terlihat pada dosis 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm. Zona hambat yang terbentuk pada dosis tersebut memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Zahan *et al.*, (2020) dimana zona hambat yang didapatkan lebih besar meskipun menggunakan pelarut yang sama bahkan dengan penggunaan dosis yang lebih kecil daripada penelitian ini, yaitu pada 1.000, 100, 10 dan 1 ppm (15, 12, 10 dan 7 mm)²³. Hal ini diduga karena adanya perbedaan letak geografis, perubahan iklim, serta tingkat kesuburan tanah yang juga diduga dapat mempengaruhi variasi senyawa aktif dari suatu tanaman dan aktivitas farmakologi yang dihasilkan, sehingga dapat mempengaruhi zona hambat yang terbentuk^{24,25}.

Berdasarkan hasil uji, Dosis 50.000 ppm merupakan dosis minimum yang memiliki nilai ZOI terbesar, maka dosis tersebut kemudian dibuat rentangan dengan mengambil kelipatan dua pada ambang atas dan kelipatan dua pada ambang bawah, sehingga didapatkan dosis uji yaitu 200.000, 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm untuk digunakan dalam uji interaksi kombinasi herbal dan antibiotik pada metode AZDAST.

Pengaruh Kombinasi OHT *M. charantia* dengan Klindamisin Terhadap *S. aureus*

OHT *M. charantia* dosis 12.500 ppm memiliki efek interaksi *not-distinguishable* atau tidak dapat dibedakan saat dikombinasikan dengan klindamisin 2 µg terhadap *S. aureus*. Efek kombinasi tersebut saat dibandingkan dengan penggunaan tunggal pada dosis yang sama tidak memiliki perbedaan signifikan dan tidak diketahui aktivitas antibakterinya berasal dari OHT *M. charantia* atau klindamisin. Namun, pada sampel perlakuan uji tunggal OHT *M. charantia* dosis 12.500 ppm dan klindamisin, zona hambat hanya terbentuk pada klindamisin saja sedangkan pada OHT *M. charantia* tidak didapatkan adanya zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri hanya berasal dari antibiotik klindamisin. Selain itu, kemampuan daya hambat antibakteri juga dipengaruhi oleh tingginya dosis yang digunakan, dimana semakin tinggi dosis maka hasil yang didapatkan menjadi semakin efektif. Sehingga kombinasi pada dosis ini tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri klindamisin karena diduga dosisnya terlalu rendah²⁶.

Pada dosis OHT *M. charantia* lainnya, yaitu 200.000, 100.000, 50.000 dan 25.000 ppm jenis interaksi yang terjadi adalah aditif saat dikombinasikan dengan klindamisin 2 µg terhadap *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa OHT *M. charantia* memiliki interaksi yang cukup baik saat dikombinasikan dengan antibiotik klindamisin meskipun belum mencapai interaksi sinergisnya. Selain itu, hasil ini juga diduga karena keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* namun memiliki mekanisme kerja yang berbeda sehingga menimbulkan interaksi yang positif²⁷. Klindamisin berperan dalam menghambat pembentukan ikatan peptida sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 50S pada enzim *Peptidyl Transfearase* (PTC) dan mengganggu posisi dari ujung tRNA yang di-

aminoasilasi di PTC. Bagian pengikatan antibiotik target PTC akan tumpang tindih dengan bagian A tRNA dan mencegah pemanjangan rantai baru yang menyebabkan penurunan *peptidyl*-tRNA sehingga menghentikan proses translasi²⁸.

OHT *M. charantia* mengandung senyawa alkaloid yang dapat bereaksi dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel bakteri dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) bakteri. Reaksi ini akan menyebabkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino yang kemudian menimbulkan perubahan pada keseimbangan genetik sehingga mengakibatkan kerusakan terhadap sel bakteri. Kerusakan tersebut mengakibatkan sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme yang menyebabkan bakteri mengalami lisis. Dengan demikian, bakteri menjadi inaktif bahkan dapat menyebabkan kematian dari bakteri tersebut¹¹.

Pengaruh Kombinasi OHT *M. charantia* dengan Amoksisilin Terhadap *S. aureus*

Hasil uji terhadap lima variasi dosis OHT *M. charantia* diketahui bahwa pada semua variasi dosis yaitu 200.000, 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm memiliki jenis interaksi aditif saat dikombinasikan dengan antibiotik amoksisilin 25 µg terhadap *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi antara keduanya dapat meningkatkan efek antibakteri dari antibiotik amoksisilin. Selain itu, hasil ini juga diduga karena keduanya sama-sama memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus* dengan mekanisme kerja yang berbeda sehingga keduanya saling berinteraksi secara positif²⁶.

Amoksisilin bekerja dengan merusak pembentukan peptidoglikan dinding sel bakteri yang merupakan struktur tebal pembentuk dinding sel bakteri yang tersusun atas rantai glikan dari subunit disakarida n-asetilglukosamin dan asam n-asetilmuramik. Selain itu, amoksisilin juga dapat mengikat *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang menghambat proses transpeptidasi dan menyebabkan inaktivasi enzim, mencegah pembentukan ikatan silang dua rantai peptidoglikan linier dan menghambat pembentukan dinding sel bakteri yang diperlukan dalam proses pembelahan sel. Aktivitas ini mengakibatkan hilangnya viabilitas sel dan menyebabkan autolisis pada sel bakteri tersebut^{29,30}.

Senyawa aktif Triterpenoid pada OHT *M. charantia* akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan polimer kuat sehingga merusak porin. Kerusakan tersebut akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya terhambat bahkan mati¹². Sedangkan senyawa flavonoid pada OHT *M. charantia* berperan dalam merusak dinding sel bakteri melalui gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dapat merusak dinding sel tersebut¹¹.

Kombinasi antara herbal dengan antibiotik secara teoritis dapat menyebabkan efek interaksi yang aditif maupun sinergis apabila mekanisme kerja dari kedua senyawa bioaktif tersebut bekerja pada target yang sama

namun dengan mekanisme kerja yang berbeda. Pada penelitian ini, hal tersebut diamati melalui interaksi OHT *M. charantia* dengan antibiotik klindamisin maupun dengan antibiotik amoksisilin. Hal ini juga dapat dilihat dari hasil interaksi yang didapat pada penelitian ini yaitu aditif pada sebagian besar variasi dosis uji, sehingga penggunaan kombinasi pada keduanya dapat menjadi alternatif sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. OHT *M. charantia* memiliki senyawa flavonoid, alkaloid dan triterpenoid.
2. OHT *M. charantia* dengan pelarut metanol memiliki daya hambat antibakteri terhadap *S. aureus*.
3. Pemberian OHT *M. charantia* pada semua dosis uji (200.000, 100.000, 50.000, 25.000 dan 12.500 ppm) dengan antibiotik amoksisilin 25 µg memiliki daya hambat dan bersifat aditif terhadap *S. aureus*.
4. Pemberian OHT *M. charantia* dengan dosis 200.000, 100.000, 50.000 dan 25.000 ppm dengan antibiotik klindamisin 2 µg memiliki daya hambat antibakteri dan bersifat aditif terhadap *S. aureus*.
5. Pemberian OHT *M. charantia* dosis 12.500 ppm dengan antibiotik klindamisin 2 µg memiliki interaksi *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan terhadap *S. aureus*.

SARAN

Berdasarkan penelitian ini, maka saran peneliti guna perbaikan penelitian lanjutan adalah:

1. Melakukan uji fitokimia kuantitatif dengan uji LCMS atau HPLC pada OHT *M. charantia* untuk mengetahui jumlah kadar dari kandungan senyawa aktif sebagai uji lanjutan dari fitokimia kualitatif.
2. Melakukan uji perbandingan kemampuan daya hambat antibakteri antara ekstrak kasar herbal dengan herbal dalam bentuk produk seperti Jamu, OHT dan Fitofarmaka berdasarkan basis herbal yang sama guna menilai secara detail terkait kemampuan antibakteri pada masing-masing jenis.
3. Melakukan studi penelitian survei terhadap penggunaan produk obat herbal (Jamu, OHT dan Fitofarmaka) bersamaan dengan antibiotik pada masyarakat sebagai penunjang data penelitian terhadap penggunaan herbal di Indonesia.
4. Melakukan studi penelitian lanjutan dengan penggunaan bakteri klinis pada model bakteri klinis infeksi pada penyakit kronis terutama DM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada IOM FK UNISMA dan tim kelompok penelitian yang telah

berkontribusi dalam penelitian ini serta kepada dr. Hj. Erna Sulistyowati, M.Kes., PhD sebagai *peer reviewer*.

REFERENSI

- [1] Kemenkes RI. **hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2010**. 2010. *Kementrian Kesehatan RI*, 1–431.
- [2] Kemenkes RI. Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. 2018. *Kementrian Kesehatan RI*, 53(9), 1689–1699.
- [3] Mutiara, E. V., & Wildan, A. **Ekstraksi Flavonoid Dari Daun Pare (*Momordica Charantia* L.) Berbantu Gelombang Mikro Sebagai Penurun Kadar Glukosa Secara in Vitro**. 2014. *Metana*, 10(01), 1–11.
- [4] Ahmad, N., Hasan, N., Ahmad, Z., Zishan, M., & Zohrameena, S. **Momordica Charantia: for Traditional Uses and Pharmacological Actions**. 2016. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 6(2), 40–44.
- [5] Bahagia, W., Kurniawaty, E., & Mustafa, S. **Potensi ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) sebagai penurun kadar glukosa darah : manfaat di balik rasa pahit**. 2018 *Medical Journal of Lampung University*, 7(10), 177–181.
- [6] Kharroubi, A. T. **Diabetes mellitus: The epidemic of the century**. 2015. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 850.
- [7] Kwon, K. T., & Armstrong, D. G. **Microbiology and antimicrobial therapy for diabetic foot infections**. 2018. *Infection and Chemotherapy*, 50(1), 11–20.
- [8] Hutagalung, M. B. Z., Eljatin, D. S., Awalita, Sarie, V. P., Sianturi, G. D. A., & Santika, G. F. **Diabetic Foot Infection (Infeksi Kaki Diabetik): Diagnosis dan Tatalaksana**. 2019. *Continuing Medical Education*, 46(6), 414–418.
- [9] Gerard D. Wright. **Opportunities For Natural Products in 21st Century Antibiotic Discovery**. 2017. M.G. DeGroote School of Medicine, McMaster University, 1280 Main Street West, Hamilton, ON L8N 4K1, Canada
- [10] Faizah, N., Sulistyowati, E., & Hakim, R. **Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun *Syzygium polyanthum* dengan Kotrimoksazol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara In Vitro**. 2021. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 9(1), 1–9.
- [11] Rachmawati N, N. **Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica*) Pada Media *Pembenihan Difusi***. 2015. Nita Rachmawati*, *Nursyamsi***. 2(1).
- [12] Rini, Supriatno, & Rahmatan, H. **Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L.) Dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia coli***. 2017. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, 2(1), 1–12.

- [13] Gupta, M., Sharma, S., Gautam, A. K., & Bhadauria, R. **Momordica charantia** linn. (Karela): Nature's silent healer. 2011. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 11(1), 32–37.
- [14] Subroto, & Ahkam, M. **Ramuan herbal untuk diabetes melitus** (1 ed., Vol. 1). 2006. Jakarta: Penebar Swadaya
- [15] Patathananone, S., Lareenu, N., & Siripat, P. **The combination effect of tetracycline with bitter gourd (Momordica charantia) fruit extract and gallic acid on antimicrobial against pathogens**. 2018. 17(1), 11–22.
- [16] Ziaei-Daroumkalaei, N., Ameri, M., Zahraei-Salehi, T., Ziaei-Daroumkalaei, O., Mohajer-Tabrizi, T., & Bornaei, L. **AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection**. 2016. *MethodsX*, 3(232), 43–52.
- [17] Hudzicki J. **Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information**. *Am Soc Microbiol*. 2009;(December 2009):1-13.
- [18] Dahlan, M. S. **Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, Multivariat** (6 ed., Vol. 1). 2014. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- [19] Singh, R., Kumar, A., Giri, D. D., Bhuvaneshwari, K., & Pandey, K. D. **Gas Chromatography- Mass Spectrometry Analysis and Phytochemical Screening of Methanolic Fruit Extract of Momordica charantia**. 2012. *Journal of Recent Advances in Agriculture*, 1(4), 122–127
- [20] Ramdani, D., majuki, marjuki, & Chuzaemi, S. **Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (Morinda citrifolia L.) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas in-vitro**. 2017. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 27(2), 54–62.
- [21] Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., Warditiani, N. K. **Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle**. 2012. *Jurnal Farmasi Udayana*, 344(4), 1–7.
- [22] Rakholiya K, Vaghela P, Rathod T, Chanda S. **Comparative study of hydroalcoholic extracts of momordica charantia L. against foodborne pathogens**. *Indian J Pharm Sci*. 2014;76(2):148–56.
- [23] Zahan, S., Mowla, T.-E.-, Uddin, S. M. N., Hossain, M. K., Mannan, A. B., Rahman, M., Chen, U., Mazumder, T., Uddin, A. H. M. M., Arefin, S., & Hussain, M. S. **Evaluation of phytochemical and pharmacological properties of seeds of Momordica charantia**. 2020. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10(5), 448–459
- [24] Irmayanti, P.Y., Arisanti, C.I.S., Wijayanti, N. P. A. **Uji Pendahuluan Serbuk Simplisia Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis**. 2012. 47–52.
- [25] Agustina, S., Wiraningtyas, A., & Bima, K. **Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima**. 2016. *Cakra Kimia*, 4(1), 71–76
- [26] Tafesse G, Mekonnen Y, Makonnen E, Majinda RRT, Bojase-Moleta G, Yeboah SO. **Antibacterial activity of crude extracts and pure compounds isolated from Vernonia galamensis leaves**. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018. Vol. 12 (11), pp. 136–141
- [27] Esimone, C. O., Iroha, I. R., Ibezim, E. C., Okeh, C. O., & Okpana, E. M. **In vitro evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against staphylococcus aureus**. 2006. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1082–1086.
- [28] Wilson, D. N. **Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance**. 2014. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 35–48.
- [29] Akhavan BJ, Khanna NR, Vijhani P. **Amoxicillin**. [Updated 2020 Aug 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-.
- [30] Pandey N, Cascella M. **Beta Lactam Antibiotics**. 2021 Jan 16. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 31424895.