



**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL BUAH PARE (*MOMORDICA CHARANTIA L.*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *ASPERGILLUS NIGER***

Muhammad Ilham Gandi¹, Ika Dyah Kurniati², Mega Pandu Arfiyanti³

^{1,2,3}Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang
muhammadilhamg.unimus@gmail.com

Keywords:

Momordica charantia,
Methanolic Extract,
Aspergillus niger,
Microdilution

ABSTRACT

Aspergillus niger is a species of fungus from the genus *Aspergillus* which is reported to be the main cause of otomycosis. Bitter melon (*Momordica charantia L.*) contains several compounds, namely phenols, flavonoids, triterpenoids, steroids, saponins, and alkaloids that have potential as antifungals. This study aims to determine the content of phytochemical compounds present in the methanol extract of bitter melon and to test the effectiveness of the methanol extract of bitter melon on the growth of *Aspergillus niger* through the MIC test. This study used an in vitro laboratory experimental research design with a post-test-only control group design method. The MIC test used the multilevel serial microdilution method which was observed visually. The extract concentrations used were 8000 µg/ml, 4000 µg/ml, 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, and 62.5 µg/ml. The fruit samples of this study was bitter melon obtained from bitter melon farmers in Bandungan District, Semarang Regency, and pure culture of *Aspergillus niger* FNCC 6018. Data analysis used descriptive analysis. The results of the phytochemical screening showed positive saponins, flavonoids, and phenolic compounds, and the MIC value was not found. It was concluded that the methanol extract of bitter melon was not effective in inhibiting the growth of *Aspergillus niger*.

PENDAHULUAN

Aspergillus niger adalah spesies jamur dari genus *Aspergillus* yang dilaporkan menjadi penyebab utama penyakit otomikosis.(Edward & Irfandy, 2012)(Ali et al., 2018) *Aspergillus niger* juga sering menyebabkan penyakit pernapasan pada manusia yaitu *Chronic Pulmonary Aspergillosis* (CPA). Penyakit aspergilosis masih menjadi masalah penting kesehatan dengan jumlah penderita diperkirakan 3 juta orang di seluruh dunia. CPA memiliki angka mortalitas jangka pendek sebesar 20-33% dan meningkat menjadi 50% untuk jangka waktu 5 tahun pada masa pengobatan.(Hayes & Novak-Frazer, 2016)

Aspergillus niger juga diketahui menjadi penyebab utama ketiga dari aspergilosis paru

invasif.(Van Der Linden et al., 2011) Penelitian di sebagian rumah sakit di DKI Jakarta melaporkan angka kejadian aspergilosis paru invasif di ruang ICU sebesar 7,7%.(Rozaliyani A, Jusuf A, Priyanti ZS, Burhan E, Handayani D, Widowati H, 2019) Beberapa penelitian terbaru melaporkan bahwa *Invasive Pulmonary Aspergillosis* (IPA) banyak ditemukan pada pasien Covid-19 dengan derajat berat. Covid-19 *Associated Invasive Pulmonary Aspergillosis* (CAPA) juga dilaporkan memiliki angka prevalensi dan mortalitas yang tinggi pada pasien Covid-19 dengan derajat berat.(Lahmer et al., 2021)(Fekkar et al., 2021)

Salah satu cara yang dipilih sebagai alternatif dari obat-obatan kimia adalah obat dari bahan alam. Obat berbahan alam dipilih

karena memiliki efek samping yang relatif kecil.(Sumayyah & Salsabila, 2017) Salah satu obat bahan alam yang bisa digunakan untuk terapi antijamur adalah tumbuhan pare (*Momordica charantia L.*). Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa buah pare memiliki kandungan beberapa senyawa yaitu fenol, flavonoid, cucurbitan-type triterpenoid, iridoid lakton, dan protein α -momorcharin. Ekstrak kloroform, ekstrak heksan, dan ekstrak etil asetat buah pare dilaporkan memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dengan nilai Konsentrasi Hambat minimal (KHM) sebesar 100 μ g/mL dengan metode mikrodilusi.(Villarreal-La Torre et al., 2020) Akan tetapi, penelitian mengenai penentuan KHM ekstrak etanol dan metanol buah pare terhadap *Aspergillus niger* menggunakan metode mikrodilusi belum pernah dilaporkan.

Pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi memiliki peran penting terhadap rendemen ekstraksi, kandungan komponen kimia, dan aktivitas biologi yang diuji. Metanol diketahui memiliki daya ekstraksi polifenol dengan berat molekul rendah yang lebih efisien dibandingkan dengan pelarut lain seperti aseton dan etanol.(Do et al., 2014) Metanol diidentifikasi sebagai pelarut yang paling efektif untuk ekstraksi karena mampu menghasilkan rendemen ekstraksi, dan kandungan fenolik yang tinggi. Oleh karena itu, metanol direkomendasikan sebagai pelarut yang optimal untuk memperoleh hasil ekstrak dengan kandungan fitokimia dan antioksidan yang tinggi.(Truong et al., 2019)

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia yang dapat dihasilkan dari ekstrak metanol buah pare yang memiliki aktivitas antijamur serta menganalisis efektivitas ekstrak metanol buah pare dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dengan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan metode *post-test-only control group design*.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di STIFAR Kota Semarang dan Fakultas Kedokteran Unimus. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan **Januari – Maret 2022**.

Populasi dan Sampel.

Populasi penelitian adalah kultur murni *Aspergillus niger* FNCC 6018 yang dihomogenkan dan disuspensikan dengan kekeruhan setara 0,4 – 5 x 10⁴ CFU/mL.(Rex et al., 2010) Buah pare yang digunakan diperoleh dari petani pare di Kecamatan Bandungan, Kabupaten Semarang.

Pengumpulan Data

Data dalam penelitian ini diperoleh dari hasil uji eksperimental meliputi uji kualitatif fitokimia dan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi serial bertingkat menggunakan *microplate 96-well* yang diamati secara visual.

Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Pare

Buah pare yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare yang matang dan tidak busuk sebanyak 5 kilogram. Buah pare dicuci dengan air mengalir, dibersihkan dari biji-bijinya, kemudian dipotong kecil-kecil. Buah pare kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Potongan buah pare kering kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk simplisia. Serbuk simplisia kemudian dimaserasi dengan 1000 ml metanol 96% selama 3x24 jam. Metanol 96% diperoleh dengan melarutkan sejumlah 960 ml metanol 100% dengan 40 ml akuades.

Selama proses ekstraksi, tabung maserasi disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari dan dilakukan pengadukan berulang sebanyak 3 kali setiap 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan corong *Buchner* atau kain kasa untuk diambil filtratnya. Filtrat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur 40-60°C hingga tersisa ekstrak kental.(Yeo et al., 2014)

Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Buah Pare

Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan metode Tes Ferri Klorida. Ekstrak metanol buah pare sebanyak 3 tetes di tambah dengan 3-4 tetes

garam besi klorida. Warna hijau hingga biru kehitaman merupakan tanda adanya kandungan fenolik di dalam larutan ekstrak.(Rivai et al., 2019)

Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen Dragendroff. Ekstrak metanol buah pare sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam dua tabung reaksi yang berbeda. Tiap tabung reaksi berisi ekstrak tersebut lalu diberi reagen Dragendroff sebanyak lima tetes. Terbentuknya sedimen atau endapan berwarna jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid di dalam larutan ekstrak.(Ergina et al., 2014) Uji alkaloid juga dapat dilakukan dengan memakai reagen Mayer. Ekstrak metanol buah pare sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam dua tabung reaksi yang berbeda. Kemudian tiap tabung reaksi yang berisi ekstrak tersebut ditambah dengan tiga tetes asam klorida pekat dan lima tetes reagen Mayer. Terbentuknya endapan berwarna keputihan menandakan bahwa ekstrak mengandung senyawa Alkaloid.(Ergina et al., 2014)

Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan menggunakan metode Froth. Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi sejumlah 2 ml. Sampel kemudian ditambahkan dengan aquades sebanyak 10 ml dan dikocok menggunakan vortex selama kurang lebih 30 detik. Bila terdapat busa yang menetap selama sekitar 30 detik maka pengujian menunjukkan hasil positif saponin di dalam ekstrak.(Marliana et al., 2005)

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan metode Uji Ferri Klorida. Ekstrak sebanyak 0,2 ml kemudian ditambah dengan FeCl_3 10% dan dikocok. Terbentuknya endapan berwarna coklat kayu menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak.(Singh et al., 2012)

Uji Terpenoid

Sejumlah 2 ml ekstrak metanol buah pare dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel kemudian ditambah dengan tiga tetes HCl pekat dan satu tetes H_2SO_4 pekat. Terbentuknya larutan berwarna merah hingga keunguan menunjukkan adanya terpenoid dalam ekstrak.(Ergina et al., 2014)

Uji Steroid

Uji steroid dilakukan dengan memasukkan 2 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi. Sampel ekstrak kemudian ditambah tiga tetes HCl pekat serta satu tetes H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna kehijauan pada larutan sampel menunjukkan adanya kandungan steroid di dalam ekstrak.(Ergina et al., 2014)

Pembuatan Suspensi *Aspergillus niger* FNCC 6018

Larutan 0.5 Mc Farland dibuat dengan menambahkan H_2SO_4 1% sejumlah 9,95 mL dengan BaCl_2 1% sejumlah 0,05 mL di dalam tabung reaksi.(Cavalieri et al., 2005) Pembuatan suspensi jamur *Aspergillus niger* FNCC 6018 dilakukan dengan mengambil satu koloni murni kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi media *Sabouroud Dextrose Broth* (SDB). Koloni tersebut kemudian dihomogenkan dengan vortex dan disesuaikan dengan standar 0.5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Suspensi *Aspergillus niger* FNCC 6018 kemudian disesuaikan kekeruhannya dengan standar 0.5 Mc Farland secara visual.

Suspensi *Aspergillus niger* FNCC 6018 kemudian diambil sebanyak 100 μL dengan mikropipet ke tabung reaksi kedua yang berisi *Sabouroud Dextrose Broth* (SDB) sebanyak 900 μL dan dihomogenkan sehingga didapatkan suspensi dengan kekeruhan $1,5 \times 10^6$ CFU/ml. Suspensi *Aspergillus niger* FNCC 6018 pada tabung reaksi kedua diambil sejumlah 100 μL dengan mikropipet ke tabung reaksi ketiga yang berisi *Sabouroud Dextrose Broth* (SDB) sebanyak 900 μL dan dihomogenkan sehingga didapatkan suspensi dengan kekeruhan $1,5 \times 10^4$ CFU/ml. (Petrikkou et al., 2001)(Goughenour et al., 2015)

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan Metode Mikrodilusi Serial Bertingkat

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi serial bertingkat. Uji ini dilakukan pada satu buah *microplate* 96-well steril. Uji KHM dilakukan dengan menyiapkan sampel perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 8000 $\mu\text{g/mL}$, 4000 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$, 62,5 $\mu\text{g/mL}$. Kelompok kontrol positif obat

menggunakan ketokonazol murni dengan konsentrasi 16 µg/mL, 8 µg/mL, 4 µg/mL, 2 µg/mL, dan 1 µg/mL. Setiap sampel kemudian dilakukan pengulangan sebanyak empat kali. Prosedur ini dilakukan dengan prosedur aseptis di dalam *laminar air flow* (LAF).

Pengolahan dan Analisis Data

Data skrining fitokimia diperoleh dengan mengamati secara visual perubahan yang terjadi pada ekstrak setelah dilakukan uji tiap senyawa fitokimia. Data Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol buah pare terhadap jamur *Aspergillus niger* FNCC 6018 diperoleh dengan mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan *Aspergillus niger* FNCC 6018 pada sumuran *microplate*.

HASIL

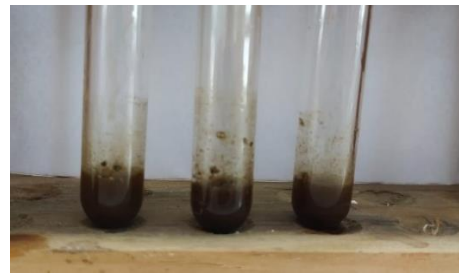
Ekstraksi metanol buah pare (*Momordica charantia*L.) dengan metode maserasi menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman sejumlah 27,45 gram. Ekstrak metanol buah pare tersebut memiliki rendemen ekstrak sebanyak 0,549 %. Uji kualitatif fitokimia menunjukkan hasil bahwa ekstrak metanol buah pare memberikan hasil yang positif pada uji saponin, flavonoid, dan fenolik, tetapi menunjukkan hasil yang negatif pada uji steroid, terpenoid, dan alkaloid.



Gambar 1. Hasil Uji Saponin



Gambar 2. Hasil Uji Flavonoid



Gambar 3. Hasil Uji Terpenoid



Gambar 4. Hasil Uji Fenolik



Gambar 5. Hasil Uji Steroid



Gambar 6. Hasil Uji Alkaloid

Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Buah Pare

Golongan Senyawa	Hasil Skrining Fitokimia
Saponini	+

Flavonoidi	+
Steroidi	-
Fenoliki	+
Terpenoidi	-
Alkaloidi	-

Hasil uji KHM menunjukkan ekstrak metanol buah pare pada semua konsentrasi masih terdapat pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* FNCC 6018 yang sempurna seperti pada kontrol negatif. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* FNCC 6018 ditunjukkan dengan adanya

hifa berwarna putih pada sumuran *microplate* 96-well. Hasil uji pada kelompok kontrol positif ketokonazol tidak ditemukan adanya hifa *Aspergillus niger* FNCC 6018 pada seluruh sumuran perlakuan. Hasil uji KHM dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 2. Hasil Uji KHM Ekstrak Metanol Buah Pare

Konsentrasi Ekstrak Buah Pare (µg/ml)	Pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i>			
	I	II	III	IV
8000	+	+	+	+
4000	+	+	+	+
2000	+	+	+	+
1000	+	+	+	+
500	+	+	+	+
250	+	+	+	+
125	+	+	+	+
62,5	+	+	+	+

Tabel 3. Hasil Uji Kelompok Kontrol Positif Ketokonazol

Konsentrasi Ekstrak Buah Pare (µg/ml)	Pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i>			
	I	II	III	IV
16	-	-	-	-
8	-	-	-	-
4	-	-	-	-
2	-	-	-	-
1	-	-	-	-

PEMBAHASAN

Ekstrak metanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dalam pengujian kualitatif fitokimia ditemukan memiliki kandungan senyawa saponin, flavonoid, dan fenolik. Hasil ini membuktikan bahwa hasil uji kualitatif fitokimia pada penelitian ini memiliki hasil yang sama sebagaimana penelitian sebelumnya.(Villarreal-La Torre et al., 2020)(Saeed et al., 2018) Senyawa steroid, terpenoid, dan alkaloid tidak ditemukan pada uji kualitatif fitokimia pada penelitian ini. Perbedaan kandungan senyawa fitokimia tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor

seperti genetik, geografis, serta faktor-faktor abiotik seperti kelembapan, angin, dan metode ekstraksi yang dipakai.(Kweka et al., 2011)

Perbedaan polaritas pelarut ekstrak juga dapat menentukan perbedaan pada jenis, komposisi, serta aktivitas antioksidan dari senyawa fitokimia.(Sri Widyawati et al., 2014) Pelarut metanol dan akuades diketahui memiliki sifat polar. Pelarut yang memiliki sifat polar hanya dapat mengikat senyawa fitokimia yang juga bersifat polar, sedangkan pelarut yang bersifat non-polar hanya akan berikatan dengan senyawa yang juga bersifat non-polar.(Mahasuari et al., 2020) Pelarut yang

bersifat semi-polar juga dapat berikatan dengan senyawa semi-polar hingga non-polar. Pelarut etil asetat diketahui memiliki sifat semi polar, sedangkan pelarut heksan diketahui bersifat non-polar.(Ariel et al., 2021) Pelarut lain yang diketahui memiliki sifat non-polar yaitu aseton, petroleum, eter, etanol, dan benzene.(Snehlata et al., 2018)

Senyawa-senyawa fitokimia yang diketahui memiliki sifat polar diantaranya yaitu fenolik, asam amino, terpenoid, glikosida, flavonoid, antosianin, saponin, tannin, xantosilin, totarol, quasinoid, lakton, fenon, flavon, dan polifenol.(Sri Widyawati et al., 2014) Senyawa-senyawa fitokimia yang bersifat non-polar diantaranya yaitu lignin, lipid, alkaloid, aglikon, steroid, dan terpenoid.(Sri Widyawati et al., 2014) Perbedaan polaritas antara pelarut ekstrak dengan senyawa fitokimia ini diduga menjadi faktor tidak ditemukannya alkaloid, steroid, dan terpenoid pada penelitian ini.

Hasil uji KHM menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah pare (*Momordica charantia* L) tidak ditemukan adanya daya hambat terhadap *Aspergillus niger*. Hal ini terjadi karena ditemukan adanya pertumbuhan hifa *Aspergillus niger* pada semua sumuran perlakuan ekstrak. Jumlah hifa yang tumbuh pada setiap sumuran perlakuan ekstrak berbeda-beda. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas zat antimikroba diantaranya yaitu status mikroba (kerentanan, resistensi, toleransi, persistensi, dan biofilm), ukuran inokulum, konsentrasi antimikroba, serta faktor inang.(Li et al., 2017) Hasil uji kelompok kontrol positif ketokonazol didapatkan hasil pada konsentrasi 1 µg/mL. Penelitian lain menyebutkan bahwa MIC₅₀ ketokonazol terhadap *Aspergillus niger* dengan metode mikrodilusi yaitu 2 µg/mL, sedangkan MIC₉₀ yaitu 4 µg/mL.(Tokarzewski et al., 2012)

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disimpulkan bahwa ekstrak metanol buah pare mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan fenolik serta tidak ditemukan nilai KHM ekstrak metanol buah pare terhadap *Aspergillus niger*. Peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan ekstraksi buah pare dengan pelarut ekstrak yang bersifat semi-polar dan non-polar sehingga diperoleh senyawa aktif lain yang bersifat non-polar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, K., Hamed, M. A., Hassan, H., Esmail, A., & Sheneef, A. (2018). Identification of fungal pathogens in otomycosis and their drug sensitivity: Our experience. *International Archives of Otorhinolaryngology*, 22, 1–2. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1055%2Fs-0038-1626702>
- Ariel, D. G., Winarsih, S., Putri, F. F., Erwan, N. E., Putri, A. M., Cahyono, A. W., Mardhiyyah, K., Fitri, L. E., & Nugraha, R. Y. B. (2021). Optimization of combination of n-hexane solution and ethyle acetate on secondary metabolite compounds profile of *Streptomyces hygroscopicus*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 31(3), 186. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2021.031.03.11>
- Cavaliere, S. J., Harbeck, R. J., McCarter, Y. S., Ortez, J. H., & D, R. I. (2005). *Manual of antimicrobial susceptibility testing* (M. B. Coyle (ed.)). American Society for Microbiology.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Edward, Y., & Irfandy, D. (2012). Otomycosis. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1(2), 101–106.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Fekkar, A., Lampros, A., Mayaux, J., Poignon, C., Demeret, S., Constantin, J. M., Marcelin, A. G., Monsel, A., Luyt, C. E., & Blaize, M. (2021). Occurrence of invasive pulmonary fungal infections in patients with severe COVID-19 admitted to the ICU. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 203(3), 307–317. <https://doi.org/10.1164/rccm.202009-3400OC>

- Goughenour, K. D., Balada-Llasat, J. M., & Rappleye, C. A. (2015). Quantitative microplate-based growth assay for determination of antifungal susceptibility of histoplasma capsulatum yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(10), 3286–3295. <https://doi.org/10.1128/JCM.00795-15>
- Hayes, G. E., & Novak-Frazer, L. (2016). Chronic pulmonary aspergillosis: Where are we? And where are we going? In *Journal of Fungi* (Vol. 2, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/jof2020018>
- Kweka, E. J., Nyindo, M., Moshia, F., & Silva, A. G. (2011). Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia raddi* against african malaria vectors. *Parasites and Vectors*, 4(1), 6–10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-129>
- Lahmer, T., Kriescher, S., Herner, A., Rothe, K., Spinner, C. D., Schneider, J., Mayer, U., Neuenhahn, M., Hoffmann, D., Geisler, F., Heim, M., Schneider, G., Schmid, R. M., Huber, W., & Rasch, S. (2021). Invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia: Results from the prospective AspCOVID-19 study. In *PLoS ONE* (Vol. 16, Issue 3 March). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238825>
- Li, J., Xie, S., Ahmed, S., Wang, F., Gu, Y., Zhang, C., Chai, X., Wu, Y., Cai, J., & Cheng, G. (2017). Antimicrobial activity and resistance: Influencing factors. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00364>
- Mahasuari, N. P. S., Paramita, N. L. P. V., & Yadnya Putra, A. . G. R. (2020). Effect of methanol concentration as a solvent on total phenolic and flavonoid content of beluntas leaf extract (*Pulchea indica* L.). *Journal of Pharmaceutical Science and Application*, 2(2), 77. <https://doi.org/10.24843/jpsa.2020.v02.i02.p05>
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Petrikkou, E., Rodríguez-Tudela, J. L., Cuenca-Estrella, M., Gómez, A., Molleja, A., & Mellado, E. (2001). Inoculum standardization for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi pathogenic for humans. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 39, Issue 4, pp. 1345–1347). <https://doi.org/10.1128/JCM.39.4.1345-1347.2001>
- Rex, J. H., Alexander, B. D., Andes, D., Arthington-Skaggs, B., Brown, S. D., & Chaturvedi, V. (2010). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved standard - Second Edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 28(16), 6.
- Rivai, H., Sari, D. P., & Azizah, Z. (2019). Analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan senyawa dari ekstrak heksan, aseton, etanol dan air dari buah pare (*Momordica charantia* L.). *March*, 1–6. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30013.00487>
- Rozaliyani A, Jusuf A, Priyanti ZS, Burhan E, Handayani D, Widowati H, et al. (2019). Infeksi jamur paru di Indonesia: Situasi saat ini dan tantangan di masa depan. *Jurnal Respirologi Indonesia*, 39, 210–213. <https://jurnalrespirologi.org/index.php/jri/article/download/69/49>
- Saeed, F., Afzaal, M., Niaz, B., Arshad, M. U., Tufail, T., Hussain, M. B., & Javed, A. (2018). Bitter melon (*Momordica charantia*): A natural healthy vegetable. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1270–1290. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1446023>
- Singh, R., Kumar, A., Giri, D. D., Bhuvaneshwari, K., & Pandey, K. D. (2012). Gas chromatography-mass spectrometry analysis and phytochemical screening of methanolic fruit extract of *momordica charantia*. *Journal of Recent Advances in Agriculture*, 1(4), 122–127.
- Snehlata, K., Sheel, R., & Kumar, B. (2018). Evaluation of phytochemicals in polar and non polar solvent extracts of leaves of *Aegle marmelos* (L.). *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry (IOSR-JBB)*, 4(5), 31–38. <https://doi.org/10.9790/264X-0405013138>

- Sri Widyawati, P., Budianta, T. D. W., Kusuma, F. A., & Wijaya, E. L. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indicia* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 850–855.
- Sumayyah, S., & Salsabila, N. (2017). Khasiat obat tradisional. *Majalah Farmasetika*, 2(5), 2003–2006.
- Tokarzewski, S., Ziółkowska, G., & Nowakiewicz, A. (2012). Susceptibility testing of *Aspergillus niger* strains isolated from poultry to antifungal drugs - A comparative study of the disk diffusion, broth microdilution (M 38-A) and etest methods. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15(1), 125–133. <https://doi.org/10.2478/v10181-011-0123-7>
- Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>
- Van Der Linden, J. W. M., Warris, A., & Verweij, P. E. (2011). *Aspergillus* species intrinsically resistant to antifungal agents. *Medical Mycology*, 49(SUPPL. 1), 82–89. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.499916>
- Villarreal-La Torre, V. E., Guarniz, W. S., Silva-Correa, C., Cruzado-Razco, L., & Siche, R. (2020). Antimicrobial activity and chemical composition of *Momordica Charantia*: A review. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 213–222. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.32>
- Yeo, Y. L., Chia, Y. Y., Lee, C. H., Sheng Sow, H., & Sum Yap, W. (2014). Effectiveness of maceration periods with different extraction solvents on in-vitro antimicrobial activity from fruit of *Momordica charantia* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(10), 16–23. <https://doi.org/10.7324/japs.2014.401004>
- Ali, K., Hamed, M. A., Hassan, H., Esmail, A., & Sheneef, A. (2018). Identification of fungal pathogens in otomycosis and their drug sensitivity: Our experience. *International Archives of Otorhinolaryngology*, 22, 1–2. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1055%2Fs-0038-1626702>
- Ariel, D. G., Winarsih, S., Putri, F. F., Erwan, N. E., Putri, A. M., Cahyono, A. W., Mardhiyyah, K., Fitri, L. E., & Nugraha, R. Y. B. (2021). Optimization of combination of n-hexane solution and ethyle acetate on secondary metabolite compounds profile of *Streptomyces hygroscopicus*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 31(3), 186. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2021.031.03.11>
- Cavaliere, S. J., Harbeck, R. J., McCarter, Y. S., Ortez, J. H., & D, R. I. (2005). *Manual of antimicrobial susceptibility testing* (M. B. Coyle (ed.)). American Society for Microbiology.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Edward, Y., & Irfandy, D. (2012). Otomycosis. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1(2), 101–106.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Fekkar, A., Lampros, A., Mayaux, J., Poignon, C., Demeret, S., Constantin, J. M., Marcelin, A. G., Monsel, A., Luyt, C. E., & Blaize, M. (2021). Occurrence of invasive pulmonary fungal infections in patients with severe COVID-19 admitted to the ICU. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 203(3), 307–317. <https://doi.org/10.1164/rccm.202009-3400OC>
- Goughenour, K. D., Balada-Llasat, J. M., & Rappleye, C. A. (2015). Quantitative microplate-based growth assay for determination of antifungal susceptibility of *histoplasma capsulatum* yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(10), 3286–

3295. <https://doi.org/10.1128/JCM.00795-15>
- Hayes, G. E., & Novak-Frazer, L. (2016). Chronic pulmonary aspergillosis: Where are we? And where are we going? In *Journal of Fungi* (Vol. 2, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/jof2020018>
- Kweka, E. J., Nyindo, M., Mosh, F., & Silva, A. G. (2011). Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia raddi* against african malaria vectors. *Parasites and Vectors*, 4(1), 6–10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-129>
- Lahmer, T., Kriescher, S., Herner, A., Rothe, K., Spinner, C. D., Schneider, J., Mayer, U., Neuenhahn, M., Hoffmann, D., Geisler, F., Heim, M., Schneider, G., Schmid, R. M., Huber, W., & Rasch, S. (2021). Invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia: Results from the prospective AspCOVID-19 study. In *PLoS ONE* (Vol. 16, Issue 3 March). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238825>
- Petrikkou, E., Rodríguez-Tudela, J. L., Cuenca-Estrella, M., Gómez, A., Molleja, A., & Mellado, E. (2001). Inoculum standardization for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi pathogenic for humans. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 39, Issue 4, pp. 1345–1347). <https://doi.org/10.1128/JCM.39.4.1345-1347.2001>
- Rex, J. H., Alexander, B. D., Andes, D., Arthington-Skaggs, B., Brown, S. D., & Chaturvedi, V. (2010). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved standard - Second Edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 28(16), 6.
- Rivai, H., Sari, D. P., & Azizah, Z. (2019). Analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan senyawa dari ekstrak heksan, aseton, etanol dan air dari buah pare (*Momordica charantia* L.). *March*, 1–6. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30013.00487>
- Rozaliyani A, Jusuf A, Priyanti ZS, Burhan E, Handayani D, Widowati H, et al. (2019). Infeksi jamur paru di Indonesia: Situasi saat ini dan tantangan di masa depan. *Jurnal Respirologi Indonesia*, 39, 210–213. <https://jurnalrespirologi.org/index.php/jri/article/download/69/49>
- Saeed, F., Afzaal, M., Niaz, B., Arshad, M. U., Tufail, T., Hussain, M. B., & Javed, A. (2018). Bitter melon (*Momordica charantia*): A natural healthy vegetable. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1270–1290. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1446023>
- Singh, R., Kumar, A., Giri, D. D., Bhuvaneshwari, K., & Pandey, K. D. (2012). Gas chromatography-mass spectrometry analysis and phytochemical screening of methanolic fruit extract of *Momordica charantia*. *Journal of Recent Advances in Agriculture*, 1(4), 122–127.
- Snehlata, K., Sheel, R., & Kumar, B. (2018). Evaluation of phytochemicals in polar and non polar solvent extracts of leaves of *Aegle marmelos* (L.). *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry (IOSR-JBB)*, 4(5), 31–38. <https://doi.org/10.9790/264X-0405013138>
- Sri Widayawati, P., Budianta, T. D. W., Kusuma, F. A., & Wijaya, E. L. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 850–855.
- Sumayyah, S., & Salsabila, N. (2017). Khasiat obat tradisional. *Majalah Farmasetika*, 2(5), 2003–2006.
- Tokarzowski, S., Ziółkowska, G., & Nowakiewicz, A. (2012). Susceptibility testing of *Aspergillus niger* strains isolated from poultry to antifungal drugs - A comparative study of the disk diffusion, broth microdilution (M 38-A) and etest methods. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15(1), 125–133. <https://doi.org/10.2478/v10181-011-0123-7>
- Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., & Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, 2019.

- <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>
- Van Der Linden, J. W. M., Warris, A., & Verweij, P. E. (2011). Aspergillus species intrinsically resistant to antifungal agents. *Medical Mycology*, 49(SUPPL. 1), 82–89. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.499916>
- Villarreal-La Torre, V. E., Guarniz, W. S., Silva-Correa, C., Cruzado-Razco, L., & Siche, R. (2020). Antimicrobial activity and chemical composition of Momordica Charantia: A review. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 213–222. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.32>
- Yeo, Y. L., Chia, Y. Y., Lee, C. H., Sheng Sow, H., & Sum Yap, W. (2014). Effectiveness of maceration periods with different extraction solvents on in-vitro antimicrobial activity from fruit of Momordica charantia L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(10), 16–23. <https://doi.org/10.7324/japs.2014.401004>