

**Aktivitas Antibakteri Kokristal Sefiksim-Nikotinamida Menggunakan
Agar Diffusion dan *Broth Dilution Test***

**Antibacterial Activity of Cocrystals of Cefixime with Nicotinamide Using
Agar Diffusion and *Broth Dilution Test***

Abulkhair Abdullah*, Muhammad Subhan A. Sibadu, Mutmainnah

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Khairun, Ternate, Indonesia

*Email Korespondensi: abulkhairabdullah@unkhair.ac.id

Abstrak

Sefiksim telah berhasil dibuat dalam bentuk kokristal dengan nikotinamida (koformer). Kokristal SEF-NIK dibuat dengan perbandingan mol 1:1 menggunakan metode *liquid-assisted grinding*. Kokristal dikarakterisasi menggunakan DSC, FTIR, SEM, dan PXRD. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa terbentuk kokristal antara sefiksim dan nikotinamida. Hasil uji kelarutan, laju disolusi, dan permeabilitas kokristal SEF-NIK menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan sefiksim murni. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, kokristal SEF-NIK dilanjutkan ke tahap uji farmakodinamik yakni uji aktivitas antibakteri secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari teknik kokristalisasi terhadap aktivitas antibakteri sefiksim. Pengujian dilakukan menggunakan dua metode yakni *Agar Diffusion Method* (difusi agar) dan *Broth Dilution Method* (dilusi cair). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kokristalisasi sefiksim dengan nikotinamida tidak menghambat efektivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli*, akan tetapi efektivitasnya lebih baik dibandingkan sefiksim murni. Pada metode difusi agar, zona hambat sefiksim terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 6,2 mm sedangkan kokristal SEF-NIK lebih besar yakni 8,6 mm. Pada metode dilusi cair, hasil pengukuran OD bakteri *Escherichia coli* hari kelima pada sefiksim sebesar 1,330 sedangkan pada kokristal SEF-NIK sebesar 1,064.

Kata Kunci: sefiksim, liquid-assisted grinding, aktivitas antibakteri

Abstract

Cefixime has been formulated in cocrystal form with nicotinamide (coformer). SEF-NIK cocrystals were prepared at a mole ratio of 1:1 using a liquid-assisted grinding method. The cocrystals were characterized using DSC, FTIR, SEM, and PXRD. The characterization results showed that cocrystals were formed between cefixime and nicotinamide. The results of the solubility test, dissolution rate and

permeability of the SEF-NIK cocrystal showed a significant increase compared to pure cefixime. Based on these results, the SEF-NIK cocrystal was continued for pharmacodynamic studies with in vitro antibacterial activity studies. This study aims to determine the effect of cocrystallization techniques on the antibacterial activity of cefixime. The test was carried out using two methods, namely the Agar Diffusion Test and the Broth Dilution Test. The results showed that cocrystallization of cefixime with nicotinamide did not inhibit its effectiveness against *Escherichia coli* bacteria, but its effectiveness was better than pure cefixime. In the agar diffusion method, the inhibition zones of cefixime and SEF-NIK cocrystals against *Escherichia coli* bacteria were 6.2 mm and 8.6 mm, respectively. On the fifth day of the broth dilution test method, the OD values of *Escherichia coli* bacteria in the cefixime and SEF-NIK cocrystals were 1.330 and 1.064, respectively.

Keywords: cefixime, liquid-assisted grinding, antibacterial activity

Received: 12 September 2023

Accepted: 30 October 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i6.2069>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Abdullah, A., Sibadu, M. S. A., Mutmainnah, M., 2023. Aktivitas Antibakteri Kokristal Sefiksime-Nikotinamida Menggunakan *Agar Diffusion* dan *Broth Dilution Test*. *J. Sains Kes.*, 5(6). 886-892.
DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i6.2069>

1 Pendahuluan

Sefiksime ($C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$) merupakan obat yang termasuk ke dalam golongan sefalosporin generasi ketiga yang diberikan secara oral pada terapi pengobatan infeksi rentan termasuk gonore, otitis media, faringitis, infeksi saluran pernafasan bawah, dan infeksi saluran kemih. Sefiksime termasuk ke dalam golongan *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas IV dengan kelarutan dan permeabilitas yang rendah. Sefiksime memiliki kelarutan dalam air sebesar 55,11 mg/L sedangkan nilai log P -nya -0,4 [1]. Laju disolusi sefiksime murni sangatlah rendah. Selama 120 menit hanya sekitar 32,45 % obat yang terdisolusi dalam dasar fosfat pH 6,8 [2].

Beberapa teknik telah dikembangkan untuk sediaan formulasi bahan aktif dengan kelarutan rendah dalam air, salah satunya

dengan modifikasi kristal. Salah satu metode dari modifikasi kristal ialah dengan kokristal [3]. Kokristal secara luas didefinisikan sebagai bahan kristal yang terdiri dari setidaknya dua komponen yang berbeda. Kokristal merupakan material kristal yang terbentuk dari sebuah *active pharmaceutical ingredient* (API) dan molekul nontoksik (*cocrystal former*/koformer) dalam rasio stoikiometrik [3,4].

Kokristalisasi sefiksime-nikotinamida (SEF-NIK) dengan rasio molar 1:1 menggunakan metode *Liquid-Assisted Grinding* (LAG) dapat meningkatkan kelarutan, laju disolusi, dan permeabilitas sefiksime dibandingkan dengan sefiksime tunggal (murni) [5]. Parameter-parameter tersebut dapat dikembangkan untuk meningkatkan bioavailabilitas sefiksime dikarenakan sediaan dengan penggunaan oral sering mengalami degradasi pra sistemik [6-8].

Jika bioavailabilitas obat dapat dinaikkan, dapat diasumsikan bahwa efektifitas dari obat tersebut juga akan lebih baik daripada sebelumnya.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan nikotinamida sebagai koformer dalam kokristalisasi dapat meningkatkan efek terapeutik dari API yang digunakan. Aktivitas antioksidan dan antihemolitik kuersetin dan hesperetin [9,10] serta aktivitas antiartritis diacerein [11] dapat ditingkatkan menggunakan teknik kokristalisasi bersama nikotinamida. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa kokristalisasi dapat meningkatkan efek terapeutik dari obat antimikroba. Aktivitas antibakteri siprofloksasin [12] dan sulfatiazol [13] dapat ditingkatkan menggunakan teknik kokristalisasi.

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti akan melanjutkan penelitian yang telah dilakukan. Kokristal SEF-NIK dilanjutkan ke studi farmakodinamik yakni uji aktivitas antimikroba secara *in vitro* menggunakan *Agar Diffusion Test* dan *Broth Dilution Test*.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat

Penelitian ini menggunakan alat autoklaf (GEA, YX-24LDJ, China), *digital vortex mixers* (Thermo Scientific, USA), inkubator (Memmert, Germany), *laminar air flow* (Keymia, KYM-LAF1500V, Indonesia), oven (Memmert, Germany), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific, Genesys 150, USA), dan *stirring hotplates* (Thermo Scientific, Cimarec+, USA).

2.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan akuades, asam sulfat, bakteri *Escherichia coli* (ATCC 25922TM), barium klorida, etanol, media *mueller-hinton agar* (Oxoid), media *nutrient broth* (Merck), nikotinamida (Ferron Par Pharmaceuticals), dan sefiksime (Dexa Medica).

2.3 Pembuatan Kokristal SEF-NIK

Pembuatan kokristal menggunakan metode *Liquid-Assisted Grinding* (LAG). Kokristal dibuat dengan mencampurkan sefiksime dan nikotinamida dengan perbandingan mol 1:1 ke dalam lumpang dengan cara digerus selama ± 15 menit dengan penambahan etanol sedikit demi sedikit.

Kokristal dikeringkan pada suhu ruangan sekurang-kurangnya selama 1 hari sebelum dilakukan pengujian [5].

2.4 Pembuatan Media Mueller-Hinton Agar

Sebanyak 38 g media *Mueller-Hinton Agar* ditambahkan ke dalam 1 L akuades sambil dipanaskan hingga homogen. Larutan media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit [14].

2.5 Pembuatan Media Nutrient Broth

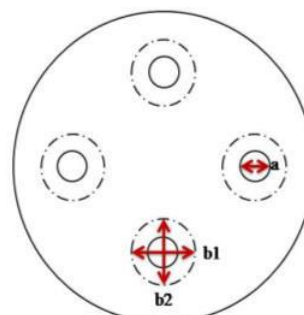
Sebanyak 8 g media *Nutrient Broth* ditambahkan ke dalam 1 L akuades sambil dipanaskan hingga homogen. Larutan media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit [15].

2.6 Agar Diffusion Method

Media agar diinokulasi dengan sejumlah inokulum bakteri lalu dituang ke cawan petri. Setelah memadat, dibuat lubang dengan diameter 6-8 mm secara aseptik dengan *cork borer* atau tip. Sebanyak 20-100 mL sampel dimasukkan ke dalam sumuran. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu ± 37 °C. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat dari sampel menggunakan jangka sorong [16]. Diameter zona hambat dihitung menggunakan rumus persamaan 1 [17] dari hasil pengukuran seperti pada Gambar 1.

$$\text{Zona hambat (mm)} = \frac{(b1 - a) + (b2 - a)}{2}$$

(Persamaan 1)



Gambar 1 Cara pengukuran diameter zona hambat

2.7 Broth Dilution Method

Media cari diinokulasi dengan sejumlah inokulum bakteri ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 0,5 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. *Optical density* diukur selama 5 hari berturut-turut menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengamatan dilakukan dengan cara membuat kurva pertumbuhan bakteri dengan meregresikan waktu pengamatan (sumbu x) dengan *optical density* (sumbu y) [18,19].

3 Hasil dan Pembahasan

Sefiksime dan nikotinamida telah dikarakterisasi menggunakan *differential scanning calorimetry* (DSC), *fourier transform infra-red* (FTIR), dan *powder x-ray diffraction* (PXRD) [5]. Berdasarkan hasil analisa menggunakan DSC, terjadi penurunan titik leleh sefiksime dari 200,92 °C menjadi 178,96 °C. Titik leleh nikotinamida 131,77 °C. Titik leleh kokristal SEF-NIK berada di antara titik leleh sefiksime dan nikotinamida. Titik leleh suatu senyawa dapat diubah melalui pembentukan kokristal [20]. Titik leleh kokristal berada di antara titik leleh bahan aktif dan koformer atau lebih rendah dari keduanya. Terdapat korelasi antara titik leleh suatu senyawa dengan kelarutan [8]. Meningkatnya titik leleh suatu senyawa maka kelarutannya menjadi rendah.

Interaksi antara asam karboksilat pada sefiksime dan amida pada nikotinamida dianalisis menggunakan FTIR berupa spektrum yang merepresentasikan setiap gugus fungsi pada senyawa tersebut. Interaksi ditunjukkan dengan adanya perubahan intensitas spektrum spesifik dari masing-masing gugus fungsi yang berperan dalam hidrogen [21]. Gugus fungsi spesifik sefiksime muncul pada panjang gelombang 3.139,04 (O-H *stretching*); 1.768,09 (C=O *stretching*); 1.223,60 (C-O *stretching*); 929,08 (O-H *out-of-plane*). Gugus fungsi spesifik nikotinamida muncul pada panjang gelombang 3.351,75 dan 3.151,14 (N-H *stretching*); 1.672,56 (C=O *stretching*); 1.613,92 (N-H *bending*); 700,34 (N-H *out-of-plane*). Gugus fungsi spesifik kokristal SEF-NIK muncul pada panjang gelombang 1.768,43 (C=O *stretching*); 1.223,95 (C-O *stretching*); 929,10 (O-H *out-of-plane*). Kokristal SEF-NIK menunjukkan spektra yang berbeda dibandingkan dengan sefiksime dilihat dari perubahan intensitas puncak pada

gugus O-H dan C=O dari sefiksime. Terjadi juga pergeseran gugus fungsi C=O *stretching* dari 1.768,09 menjadi 1.768,43 dan C-O *stretching* dari 1.223,60 menjadi 1.223,95. Pergeseran spektrum ini terjadi karena interaksi antarmolekul antara sefiksime dan nikotinamida melalui ikatan hidrogen.

Kristalinitas suatu senyawa dapat ditentukan dengan menggunakan PXRD untuk membedakan senyawa tersebut berbentuk kristal atau amorf dengan adanya puncak difraksi. Munculnya puncak difraksi menunjukkan bahwa senyawa tersebut berbentuk kristal, sedangkan amorf akan membentuk puncak difraksi [22]. Puncak difraksi mewakili setiap kisi kristal dalam suatu senyawa. Hasil uji XRD menunjukkan pola spesifik sefiksime pada 2θ 5,751°; 8,859°; 14,969°; 19,512°; 22,152°; dan 27,274°. Pola XRD nikotinamida berada pada 2θ 14,744°; 25,349°; 25,721°; dan 27,218°. Pola XRD kokristal SEF-NIK berada pada 2θ 5,772°; 8,879°; 14,690°; 14,986°; 19,508°; 22,135°; 25,233°; 25,176°; dan 27,189°. Pola XRD kokristal SEF-NIK menunjukkan pola yang berbeda dengan sefiksime pada 2θ 27,274° dan nikotinamida pada 2θ 27,218°. Keduanya digabungkan menjadi satu puncak pada 2θ 27,189°. Metode LAG digambarkan sebagai katalisis pelarut, di mana sejumlah kecil pelarut berguna sebagai pelumas dalam difusi molekul. Sementara itu, penambahan sedikit pelarut dapat mempercepat proses kokristalisasi [23].

Sefiksime merupakan antibiotik spektrum luas dari golongan sefalosporin yang memiliki keunggulan lebih besar dibandingkan sefalosporin lain yang digunakan secara oral. Stabilitasnya luar biasa terhadap β -laktamase dan cakupannya luas terhadap bakteri gram negatif. Sefiksime memiliki sedikit aktivitas melawan bakteri stafilocokus dan bakteri pneumokokus [24,25]. Aktivitas antibakteri kokristal Sefiksime-Nikotinamida (SEF-NIK) dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Aktivitas antibakteri kokristal SEF-NIK dibandingkan dengan kontrol negatif (pelarut) dan kontrol positif (sefiksime).

3.1 Agar Diffusion Test

Metode yang digunakan pada uji difusi adalah metode sumuran/lubang. Media pertumbuhan yang digunakan dalam metode ini

adalah *Mueller-Hinton Agar* [26]. Setiap sampel dilakukan pengujian dua kali (duplo). Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona hambat (zona bening) di sekitar lubang yang berisi sampel. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Diameter tiap sampel masing-masing diukur sebanyak dua kali dengan sisi yang berbeda lalu dirata-ratakan. Hasil uji difusi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat sampel terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode *Agar Diffusion Test*

Sampel	Zona Hambat (mm)
Kontrol negatif	-
Sefiksim	6,2
Kokristal SEF-NIK	8,6

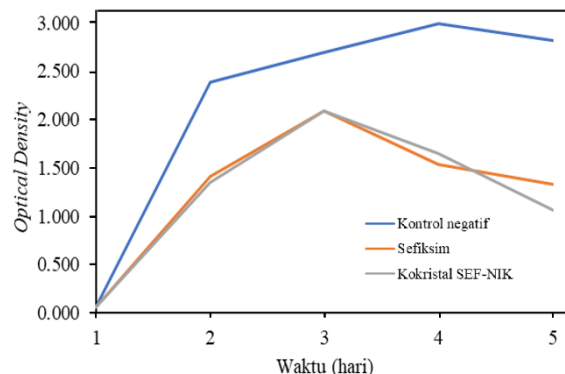
Berdasarkan Tabel 1, kokristal SEF-NIK memiliki zona hambat (8,6 mm) yang lebih besar dibandingkan dengan sefiksim (6,2 mm). Artinya, aktivitas antibakteri kokristal SEF-NIK terhadap bakteri *Escherichia coli* lebih besar dibandingkan aktivitas antibakteri dari sefiksim. Hal ini menunjukkan bahwa kokristalisasi sefiksim dengan nikotinamida tidak menghambat efektivitasnya sebagai antibakteri dan bahkan aktifitas antibakterinya lebih baik daripada sefiksim.

3.2 Broth Dilution Test

Media pertumbuhan yang digunakan adalah *Nutrient Broth*. Setiap sampel dilakukan pengujian dua kali (duplo). Aktivitas antibakteri dari sampel dinilai berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri yang diamati selama 5 hari berturut-turut (Gambar 1). Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan cara meregresikan waktu pengamatan (sumbu x) dengan *optical density* (OD) dari bakteri (sumbu y). Nilai OD diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

Tabel 2 Hasil pengukuran *optical density* bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Hari ke-				
	0	1	2	3	4
Kontrol negatif	0,058	2,386	2,691	2,995	2,813
Sefiksim	0,058	1,411	2,085	1,536	1,330
Kokristal SEF-NIK	0,060	1,348	2,091	1,644	1,064



Gambar 1 Kurva pertumbuhan *Escherichia coli* terhadap sampel dengan metode *Broth Dilution Test*

Berdasarkan Gambar 1, bakteri *Escherichia coli* pada kontrol negatif baru mengalami *death phase* (fase kematian) pada hari keempat sedangkan bakteri *Escherichia coli* pada sampel sefiksim dan kokristal SEF-NIK telah masuk ke *death phase* pada hari ketiga. Ini membuktikan bahwa sefiksim maupun kokristal SEF-NIK sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*. Nilai OD hari kelima bakteri *Escherichia coli* pada sefiksim sebesar 1,330 sedangkan kokristal SEF-NIK sebesar 1,064 (Tabel 2). Ini menunjukkan bahwa jumlah kematian sel bakteri *Escherichia coli* pada kokristal SEF-NIK lebih besar daripada sefiksim. Sama halnya pada metode difusi, kokristalisasi sefiksim dengan nikotinamida tidak menghambat efektivitasnya sebagai antibakteri tetapi aktifitas antibakterinya lebih baik daripada sefiksim.

Sefiksim menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel merupakan bagian dari struktur bakteri yang membantunya bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Tanpa dinding sel, bakteri rentan terhadap lingkungan sehingga bisa menyebabkan kematian pada bakteri. Sefiksim juga melawan patogen dengan mengikat *penicillin-binding proteins* (PBPs) yang ada di dinding sel bakteri [25,27]. Antibiotik β -laktam merupakan agen bakterisida yang paling banyak digunakan karena dapat menghambat biosintesis dinding sel dengan mengikat PBPs. PBPs merupakan enzim yang tersebar di bagian luar sitoplasma yang terdapat pada bakteri gram positif dan gram negatif [28].

4 Kesimpulan

Kokristalisasi sefiksim dengan nikotinamida tidak menghambat efektivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli*, akan tetapi efektivitasnya lebih baik dibandingkan sefiksim murni. Pada metode *agar diffusion test*, zona hambat sefiksim terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 6,2 mm sedangkan kokristal SEF-NIK lebih besar yakni 8,6 mm. Pada metode *broth dilution test*, hasil pengukuran OD bakteri *Escherichia coli* hari kelima pada sefiksim sebesar 1,330 sedangkan pada kokristal SEF-NIK sebesar 1,064. Semakin kecil nilai OD, semakin banyak koloni bakteri yang mati.

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami ucapkan kepada LPPM Universitas Khairun yang telah mendanai penelitian ini dalam rangka PKUPT Tingkat Fakultas tahun 2023.

5.2 Penyandang Dana

LPPM Universitas Khairun.

5.3 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.4 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] Abdullah, A., Mutmainnah, Sangkal, A., & Ismail, R. (2022). UV-Vis Spectrophotometric Method Validation of Cefixime in Phosphate Buffer. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 144–147. <https://doi.org/10.31764/lf.v3i2.7657>
- [2] Arora, S. C., Sharma, P. K., Irchhaiya, R., Khatkar, A., Singh, N., & Gagoria, J. (2010). Development, Characterization, and Solubility Study of Solid Dispersion of Cefixime Trihydrate by Solvent Evaporation Method. *International Journal of Drug Development and Research*, 2(2), 230–424. <https://doi.org/10.4103/0110-5558.72427>
- [3] Kawabata, Y., Wada, K., Nakatani, M., Yamada, S., & Onoue, S. (2011). Formulation Design for Poorly Water-Soluble Drugs Based on Biopharmaceutics Classification System: Basic Approaches and Practical Applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 420, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.08.032>
- [4] Korotkova, E. I., & Kratochvíl, B. (2014). Pharmaceutical Cocrystals. *Procedia Chemistry*, 10, 473–476.
- [5] Abdullah, A., Mutmainnah, & Wikantyasning, E. R. (2022). Cocrystals of Cefixime with Nicotinamide: Improved Solubility, Dissolution, and Permeability. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 33(3), 394–400. <https://doi.org/10.22146/ijp.2530>
- [6] Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2012). Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharmaceutics*.
- [7] Shaikh, M. I., Derle, N. D., & Bhamber, R. (2012). Permeability Enhancement Techniques for Poorly Permeable Drugs: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 34–39.
- [8] Qiao, N., Li, M., Schlindwein, W., Malek, N., Davies, A., & Trappitt, G. (2011). Pharmaceutical Cocrystals: An Overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 419, 1–11.
- [9] Vasisht, K., Chadha, K., Karan, M., Bhalla, Y., Jena, A. K., & Chadha, R. (2016). Enhancing Biopharmaceutical Parameters of Bioflavonoid Quercetin by Cocrystallization. *CrystEngComm*, 18(8), 1403–1415. <https://doi.org/10.1039/c5ce01899d>
- [10] Vasisht, K., Chadha, K., Karan, M., Bhalla, Y., Chadha, R., Khullar, S., & Mandal, S. (2017). Cocrystals of Hesperitin: Structural, Pharmacokinetic, and Pharmacodynamic Evaluation. *Crystal Growth & Design*, 17(5), 2386–2405. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.6b01769>
- [11] Tomar, S., Chakraborti, S., Jindal, A., Grewal, M. K., & Chadha, R. (2020). Cocrystals of Diacerein: Towards the Development of Improved Biopharmaceutical Parameters. *International Journal of Pharmaceutics*, 574. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118942>
- [12] Shemchuk, O., D'Agostino, S., Fiore, C., Sambri, V., Zannoli, S., Grepioni, F., & Braga, D. (2020). Natural Antimicrobials Meet a Synthetic Antibiotic: Carvacrol-thymol and Ciprofloxacin Cocrystals as A Promising Solid-State Route to Activity Enhancement. *Crystal Growth and Design*, 20(10), 6796–6803. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.0c00900>
- [13] Wang, L. Y., Bu, F. Z., Li, Y. T., Wu, Z. Y., & Yan, C. W. (2020). A Sulfathiazole-Amantadine Hydrochloride Cocrystal: The First Codrug Simultaneously Comprising Antiviral and Antibacterial Components. *Crystal Growth and Design*, 20(5), 3236–3246. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.0c00075>

- [14] Oxoid. (n.d.). *Mueller Hinton Agar*. Retrieved September 5, 2023, from http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0337&c=UK&lang=EN
- [15] Merck. (n.d.). *Nutrient Broth*. Retrieved September 5, 2023, from https://www.merckmillipore.com/ID/id/product/Nutrient-broth,MDA_CHEM-105443?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.bing.com%2F#anchor_TI
- [16] Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- [17] Azizah, A. N., Ichwanuddin, & Marfu'ah, N. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 4(2), 15–23. <https://doi.org/10.21111/pharmasipha.v4i2.4158>
- [18] Buch, T., & Rollová, B. M. (2019). Bacterial Growth Curve by OD600 and SoloVPE. In *Biofactory Competence Centre*.
- [19] Matlock, B. C. (2019). Differences in Bacterial Optical Density Measurements Between UV-Visible Spectrophotometers. In *Technical Note* (Issue 52236).
- [20] Schultheiss, N., & Newman, A. (2009). Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Crystal Growth and Design*, 9(6), 2950–2967.
- [21] Kumar, S., & Nanda, A. (2017). Pharmaceutical Cocrystals: An Overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(6), 858–871. <https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000302>
- [22] Bunaciu, A. A., Udristioiu, elena gabriela, & Aboul-Enein, H. Y. (2015). X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45, 289–299.
- [23] Brittain, H. G. (2012). Cocrystal Systems of Pharmaceutical Interest: 2010. *Crystal Growth & Design*, 12, 1046–1054.
- [24] Muhammad, A., Nurulita, N. A., & Budiman, A. (2017). Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Pasien Rawat Inap di RSUD Prof. dr. Margono Soekarjo Purwokerto. *Pharmacy*, 14(2), 247–263. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v14i2.1684>
- [25] Shahbaz, K. (2017). Cephalosporins: Pharmacology and Chemistry. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, 4(6), 234–238.
- [26] LaPierre, L., Cornejo, J., Asun, A., Vergara, C., & Varela, D. (2020). *Laboratory Guide: Methodologies for Antimicrobial Susceptibility Testing*. APEC Secretariat.
- [27] Stafylis, C., Keith, K., Mehta, S., Tellalian, D., Burian, P., Millner, C., & Klausner, J. D. (2021). Clinical Efficacy of Cefixime for the Treatment of Early Syphilis. *Clinical Infectious Diseases*, 73(5), 907–910. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab187>
- [28] Sarkar, P., Yarlagadda, V., Ghosh, C., & Haldar, J. (2017). A Review on Cell Wall Synthesis Inhibitors with An Emphasis on Glycopeptide Antibiotics. *Medicinal Chemistry Communication*, 8(3), 516–533. <https://doi.org/10.1039/c6md00585c>