

Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan Daun Mangga Madu (*Mangifera indica* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*Agus Kristina¹, Suprianto², Debi Meilani³, Andy Febriadi⁴, Shofian Syarifuddin⁵^{1,2,3,4,5}Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam-Indonesiaagus kristina@gmail.com; *ekahasbi@gmail.com; dbimeilani@gmail.com; Andy.kcismu@gmail.com; shofianmedistra@gmail.com

Received: 21 November 2025; Revised: 27 Desember 2025; Accepted: 29 Desember 2025

DOI: <https://doi.org/10.52622/jisk.v6i3.03>**Abstract**

Background: Acne is strongly linked to the overgrowth of *Propionibacterium acnes*. Because long-term use of conventional antibacterials may contribute to resistance and irritation, plant-derived extracts are being explored as alternative or complementary options. *Orthosiphon aristatus* leaves and *Mangifera indica* L. leaves are known to contain secondary metabolites that may help suppress bacterial growth. **Objective:** This study aimed to evaluate the antibacterial effect of combined ethanol extracts of *O. aristatus* and *M. indica* leaves against *C. acnes* and to determine which formulation ratio produced the best inhibition. **Method:** Each plant material was extracted separately using ethanol, then blended into five different combination formulas (F1–F5). Antibacterial activity was assessed in vitro using the disc diffusion technique with a standardized inoculum (0.5 McFarland). The diameter of the clear zone around each disc was measured and used to categorize antibacterial strength. **Results:** Qualitative phytochemical screening confirmed that both extracts contained key metabolite groups, including alkaloids, tannins/phenolics, flavonoids, and saponins. The negative control showed no clear zone, while clindamycin (positive control) produced a strong inhibition zone of 19.2 mm. All combined formulas inhibited *C. acnes*, with inhibition zones between 8.6 mm and 11.5 mm. Formula 3 generated the widest zone (11.5 mm; strong category), whereas Formula 2 showed the smallest inhibition (8.6 mm; weak category). **Conclusion:** The ethanol extracts of *O. aristatus* and *M. indica* leaves, when combined, were able to inhibit *C. acnes*. The level of inhibition varied with the mixing ratio, and Formula 3 demonstrated the most promising antibacterial activity among the tested formulations

Keywords: combination; ratio; antibacterial; extracts; leaves; *Orthosiphon aristatus*; *Mangifera indica***PENDAHULUAN**

Jerawat (acne vulgaris) merupakan penyakit inflamasi kronik pada unit pilosebacea yang dipengaruhi oleh interaksi kompleks antara hiperproduksi sebum, hiperkeratinisasi folikel, disbiosis mikrobiota kulit, serta aktivasi inflamasi lokal. Dalam patogenesisnya, *Propionibacterium acnes* berperan penting melalui kolonisasi folikel, pembentukan biofilm, dan aktivasi respons imun bawaan yang mendorong pelepasan mediator proinflamasi sehingga memperberat lesi inflamasi [1]. Kompleksitas ini membuat jerawat tidak cukup dipandang sebagai “infeksi biasa”, melainkan kondisi inflamasi yang membutuhkan strategi intervensi efektif, aman untuk pemakaian berulang, dan berorientasi multi-target.

Terapi standar jerawat mencakup benzoil peroksida dan retinoid topikal, sedangkan antibiotik topikal/sistemik (misalnya klindamisin dan makrolida) diberikan pada indikasi tertentu. Namun, tren peningkatan resistensi *C. acnes* terhadap klindamisin/makrolida menjadi tantangan klinis karena dapat menurunkan respons terapi, meningkatkan risiko kekambuhan, dan mendorong penggunaan terapi kombinasi yang lebih agresif [2]–[4]. Selain itu, determinan genetik terkait resistensi juga telah dilaporkan pada strain tertentu, yang menunjukkan bahwa tekanan seleksi antimikroba dapat berdampak nyata pada efektivitas terapi [4]. Kondisi ini menguatkan urgensi pengembangan kandidat antimikroba alternatif yang lebih rasional, termasuk agen berbasis bahan alam yang diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri sekaligus memberi keuntungan tambahan melalui efek antioksidan/antiinflamasi.

Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan tanaman obat yang dilaporkan kaya senyawa fenolik dan flavonoid, termasuk *rosmarinic acid*, sinensetin, dan eupatorin, yang dikaitkan dengan aktivitas antioksidan serta potensi antimikroba/antiinflamasi [5], [6]. Sementara itu, daun mangga (*Mangifera indica* L.), termasuk varietas mangga madu, dilaporkan mengandung mangiferin dan polifenol lain dengan aktivitas antibakteri dan antiinflamasi, termasuk bukti in vitro pada ekstrak daun mangga [7]–[9]. Profil fitokimia tersebut, kombinasi kedua ekstrak berpotensi memberikan efek yang lebih luas dibanding ekstrak tunggal, karena memungkinkan kerja multi-target—misalnya peningkatan permeabilitas membran, penghambatan enzim/protein kunci, serta modulasi stres oksidatif yang berhubungan dengan inflamasi [8]–[10].

Meski masing-masing tanaman telah banyak diteliti, sebagian besar studi masih menempatkan ekstrak sebagai intervensi tunggal atau membahas fitokimia tanpa menguji optimasi rasio kombinasi sebagai variabel utama. Padahal, pada sistem kombinasi bahan alam, perubahan proporsi ekstrak dapat mengubah dominasi mekanisme kerja dan berdampak pada besar kecilnya daya hambat. Di sisi lain, isu resistensi *C. acnes* terhadap antibiotik topikal memperkuat kebutuhan kandidat alternatif yang berpotensi bekerja melalui multi-target dan mengurangi ketergantungan pada antibiotik konvensional [2]–[4]. Karena itu, pemetaan performa beberapa rasio kombinasi ekstrak terhadap *C. acnes* masih relevan untuk menjembatani temuan fitokimia menuju pengembangan kandidat anti-jerawat yang lebih aplikatif.

Kebaruan penelitian ini terletak pada evaluasi terstruktur beberapa rasio kombinasi ekstrak etanol daun kumis kucing dan daun mangga madu terhadap *C. acnes* menggunakan metode difusi cakram sebagai skrining awal, dengan tujuan mengidentifikasi formula paling optimal [1], [8]–[10]. Pendekatan ini tidak hanya menilai keberadaan aktivitas antibakteri, tetapi juga menempatkan rasio kombinasi sebagai faktor penentu efektivitas, sehingga hasilnya lebih fungsional sebagai dasar pengembangan lanjutan (misalnya uji MIC/MBC, indeks sinergi FICI, standardisasi marker seperti mangiferin atau rosmarinic acid, dan perancangan sediaan topikal).

METODE PENELITIAN

Desain penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium in vitro untuk menilai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.) terhadap *Propionibacterium acnes* menggunakan metode difusi cakram. Prosedur difusi cakram mengacu pada prinsip dan praktik standar uji difusi cakram untuk penilaian daya hambat antimikroba [11]–[13].

Bahan dan alat

Bahan utama meliputi daun kumis kucing dan daun mangga madu, etanol 96%, akuades steril, media kultur (Mueller–Hinton agar/MHA atau media agar yang sesuai untuk uji difusi), larutan NaCl 0,9% untuk penyiapan suspensi bakteri, paper disc steril, serta kontrol positif antibiotik dan kontrol negatif. Alat utama mencakup timbangan analitik, blender, bejana maserasi, penyaring, rotary evaporator/water bath, inkubator 37°C, laminar air flow, dan jangka sorong/penggaris zona hambat.

Pengambilan dan preparasi bahan tanaman

Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.) dipilih yang masih segar, tidak berjamur, dan bebas kotoran, kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan hingga air permukaan hilang sebagai tahap pra-perlakuan sebelum ekstraksi [14]. Daun selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang di tempat teduh sampai kadar air menurun dan teksturnya rapuh, karena metode serta kondisi pengeringan dapat memengaruhi kualitas bahan kering dan retensi/stabilitas senyawa bioaktif [15], [16]. Setelah kering, simplisia disortasi ulang lalu diserbukkan hingga halus untuk memperkecil ukuran partikel sehingga luas permukaan meningkat dan kontak dengan pelarut saat ekstraksi menjadi lebih optimal [14], [17].

Ekstraksi dan pembuatan larutan uji

Serbuk simplisia daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.) diekstraksi terpisah dengan maserasi menggunakan etanol 96% di wadah tertutup sampai seluruh serbuk terendam, lalu dibiarkan sambil sesekali diaduk. Filtrat dipisahkan lewat penyaringan; ampas dapat dimaserasi ulang dan seluruh filtrat digabungkan [18]. Filtrat kemudian dipekatkan memakai rotary evaporator pada kondisi terkontrol hingga menjadi ekstrak kental, lalu disimpan rapat sampai uji antibakteri, karena standar preparasi–ekstraksi membantu menjaga konsistensi dan meminimalkan degradasi senyawa bioaktif [14], [18]. Penyerbukan (ukuran partikel lebih halus) ikut mendukung efisiensi ekstraksi karena memperbesar luas permukaan kontak bahan–pelarut [17].

Untuk pembuatan larutan uji, ekstrak kental masing-masing tanaman ditimbang, kemudian dilarutkan dalam DMSO 5% hingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi tertentu. Larutan stok selanjutnya dibuat larutan seri pengenceran. Pemilihan DMSO rendah/etanol sebagai pelarut uji lazim dilakukan karena membantu melarutkan ekstrak yang kompleks, sekaligus tetap memungkinkan interpretasi zona hambat dengan kontrol pelarut [19]–[21].

Larutan uji kombinasi dibuat dengan mencampurkan larutan ekstrak daun kumis kucing dan daun mangga madu pada perbandingan tertentu sehingga konsentrasi akhir sesuai kelompok perlakuan. Selama pengujian, disiapkan kontrol negatif dan positif untuk memastikan perubahan zona hambat benar-benar berasal dari aktivitas kombinasi [20], [21].

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dipakai buat ngecek secara kualitatif golongan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.) sebelum uji antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* [22], [23]. Tiap ekstrak diuji terpisah lewat reaksi warna/endapan: alkaloid (Mayer/Dragendorff), flavonoid (alkalin atau Mg–HCl), fenolik/tanin (FeCl₃), saponin (uji busa), serta terpenoid/steroid (Liebermann–Burchard) [22]–[24]. Hasilnya dicatat positif/negatif + ciri perubahan, lalu dirangkum dalam tabel untuk bantu mengaitkan kandungan senyawa dengan aktivitas antibakteri [22], [23].

Uji mikroorganisme dan standardisasi inokulum

Mikroorganisme uji pada penelitian ini adalah *Propionibacterium acnes* [25]. Kultur diremajakan pada media yang sesuai (BHI/blood agar), kemudian diinkubasi pada 37 °C dalam kondisi anaerob hingga diperoleh koloni segar untuk pengujian [25], [26]. Standardisasi inokulum dilakukan dengan mengambil koloni murni dari biakan segar, lalu disuspensikan ke dalam NaCl fisiologis steril atau media cair dan dihomogenkan [26], [27]. Kekeruhan suspensi kemudian disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland agar jumlah bakteri yang digunakan seragam pada setiap perlakuan [3][28]. Bila diperlukan untuk metode uji tertentu, suspensi tersebut dapat diencerkan lagi hingga mencapai konsentrasi kerja sebelum digunakan pada uji antibakteri ekstrak tunggal maupun kombinasi [26].

Variasi formula kombinasi ekstrak

Kombinasi ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.) dibuat dalam beberapa rasio untuk menilai pengaruh proporsi campuran terhadap aktivitas antibakteri. Konsentrasi total dijaga tetap, sementara komposisi tiap ekstrak divariasikan. Rancangan formula disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rancangan Formula

No	Formula	Ekstrak Daun (g/mL)	
		Kumis Kucing	Mangga Madu
1	F1	2.0	0.0
2	F2	1.6	0.4
3	F3	1.0	1.0
4	F4	0.5	1.5
5	F5	0.0	2.0

Uji antibakteri metode difusi cakram

Permukaan media agar diinokulasi menggunakan swab steril yang dicelupkan ke suspensi bakteri 0,5 McFarland dan disapukan merata untuk membentuk “lawn culture”. Paper disc steril (6 mm) kemudian diimpregnasi dengan larutan uji (volume tetap, mis. 10–20 µL/disk) dan diletakkan di atas permukaan agar. Cawan diinkubasi pada 37°C selama 24–48 jam. Karena *C. acnes* bersifat anaerob/aerotoleran, inkubasi dapat dilakukan pada kondisi anaerob (misalnya anaerobic jar) sesuai ketersediaan fasilitas dan karakter strain [11]–[13], [29].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk memetakan secara kualitatif kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol 96% daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.). Informasi ini dipakai sebagai pijakan saat menafsirkan potensi antibakteri dan peran masing-masing ekstrak dalam kombinasi. Ringkasan hasilnya ditampilkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Kumis Kucing dan Daun Mangga Madu

Golongan Senyawa	Daun Kumis Kucing	Daun Mangga Madu
Alkaloid	(+) Endapan kekuningan	(+) Endapan oranye
Tanin	(+) Warna hijau kehitaman	(+) Warna biru kehitaman
Flavonoid	(+) Warna hitam	(+) Merah muda hingga merah
Saponin	(+) Terbentuk busa	(+) Terbentuk buih

Keterangan: (+): Mengandung golongan senyawa kimia; (-): Tidak mengandung golongan senyawa kimia

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun kumis kucing dan daun mangga madu sama-sama terdeteksi mengandung alkaloid, tanin/fenolik, flavonoid, dan saponin (reaksi warna/endapan sesuai uji). Temuan ini relevan karena etanol termasuk pelarut yang umum digunakan untuk menarik metabolit polar–semi polar (terutama fenolik/flavonoid) yang sering terkait dengan bioaktivitas antibakteri. Penelitian dan tinjauan terbaru juga menegaskan bahwa komposisi fitokimia dan pilihan pelarut sangat memengaruhi profil senyawa yang terekstraksi dan potensi aktivitas biologinya [30].

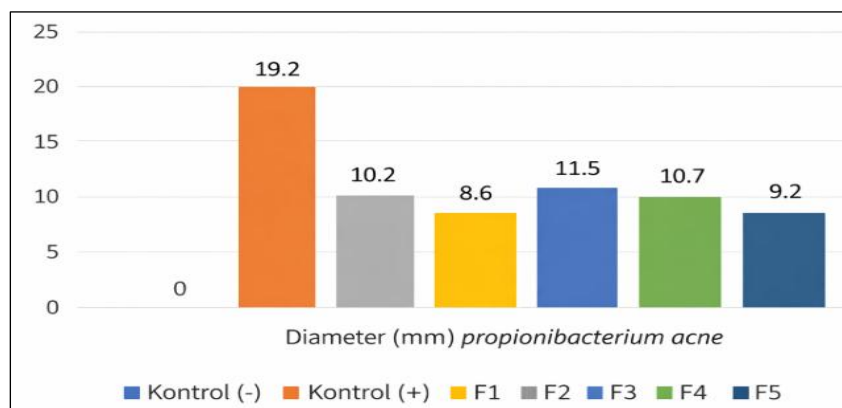
Pada daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*), keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid memang sering dilaporkan sebagai komponen dominan, termasuk kelompok fenolat tertentu yang dapat berkontribusi pada aktivitas antimikroba [9], [31]. Pada daun mangga (*Mangifera indica*), fraksi/ekstrak daun juga dilaporkan memiliki peran dalam strategi anti-acne, termasuk target terhadap *Cutibacterium acnes* (nama baru dari *Propionibacterium acnes*) melalui mekanisme yang relevan dengan patogenesis jerawat [32]. Secara umum, golongan metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid dapat bekerja melalui multi-target (misalnya mengganggu membran sel, menginaktivasi protein/enzim, dan efek lain yang melemahkan viabilitas bakteri), sehingga hasil skrining ini masuk akal dijadikan dasar untuk mengaitkan kandungan senyawa dengan uji antibakteri berikutnya [33].

Aktivitas Antibakteri ekstrak kombinasi

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk melihat kemampuan kombinasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dan daun mangga madu (*Mangifera indica* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Daya hambat dinilai dari diameter zona hambat pada metode difusi, dengan kontrol negatif dan kontrol positif sebagai pembanding. Ringkasan hasil pengukuran disajikan pada **Tabel 3**, sedangkan perbandingan visualnya ditampilkan pada **Gambar 1**.

Tabel 3. Diameter zona hambat kombinasi ekstrak

No	Perlakuan	Diameter (mm)	Kekuatan
1	Kontrol (-)	-	Non zona hambat
2	Kontrol (+)	19,2	Kuat
3	Formula 1	10,2	Sedang
4	Formula 2	8,6	Lemah
5	Formula 3	11,5	Kuat
6	Formula 4	10,7	Sedang
7	Formula 5	9,2	Sedang

**Gambar 1.** Zona hambat kombinasi ekstrak

Data diameter zona hambat memperlihatkan bahwa kontrol negatif (aquadest) tidak membentuk zona hambat, sehingga dapat dipastikan tidak ada efek antibakteri dari pelarut/kontrol tersebut. Sebaliknya, kontrol positif klindamisin 150 mg menghasilkan zona hambat 19,2 mm (kuat), menegaskan bahwa bakteri uji responsif terhadap antibiotik pembanding dan metode difusi yang digunakan berjalan dengan baik [34].

Seluruh formula kombinasi ekstrak menunjukkan zona hambat dengan rentang 8,6–11,5 mm, artinya kombinasi ekstrak memiliki aktivitas menghambat *P. acnes* meskipun masih berada di bawah kontrol antibiotik. Formula dengan aktivitas terbaik adalah Formula 3 (11,5 mm; kuat), disusul Formula 4 (10,7 mm; sedang) dan Formula 1 (10,2 mm; sedang). Formula dengan aktivitas terendah adalah Formula 2 (8,6 mm; lemah), sedangkan Formula 5 berada pada kategori sedang (9,2 mm).

Pola ini mengarah pada interpretasi bahwa *rasio kombinasi memengaruhi efektivitas*, dan komposisi “seimbang” pada Formula 3 (berdasarkan rancangan formula) kemungkinan memberikan tumpang tindih mekanisme yang lebih optimal antar-metabolit (misalnya fenolik/flavonoid dari kedua tanaman + kontribusi alkaloid/saponin). Literatur juga mendukung bahwa senyawa metabolit sekunder dapat menghasilkan efek antibakteri melalui beberapa jalur sekaligus dan, pada kombinasi tertentu, efeknya dapat meningkat karena target yang lebih luas (multi-site action) [5]. Selain itu, ekstrak daun *M. indica* dilaporkan relevan pada konteks acne melalui target yang berhubungan dengan *C. acnes* (termasuk aspek virulensi/aktivitas terkait) sehingga masuk akal bila kontribusinya ikut memodulasi daya hambat saat dikombinasikan [4]. Variasi daya hambat antar formula juga sejalan dengan prinsip bahwa perbedaan komposisi fitokimia dan konsentrasi efektif senyawa aktif akan mengubah kekuatan aktivitas antibakteri yang teramati pada metode difusi [33], [34].

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak etanol daun kumis kucing dan daun mangga madu mampu menghambat *Propionibacterium acnes*, dan efektivitasnya dipengaruhi rasio campuran. Formula 3 memberi zona hambat terbesar (paling efektif), sedangkan Formula 2 paling rendah, namun seluruh formula masih di bawah kontrol klindamisin.

REFERENCES

- [1] I. Cavallo *et al.*, “Skin Dysbiosis and Cutibacterium acnes Biofilm in Inflammatory Acne Lesions of Adolescents,” *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, p. 21104, 2022.
- [2] A. L. Zaenglein *et al.*, “Guidelines of Care for The Management of Acne vulgaris,” *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 74, no. 5, pp. 945–973, 2016.
- [3] M. Beig, O. Shirazi, E. Ebrahimi, A. Z. Banadkouki, N. Golab, and M. Sholeh, “Prevalence of Antibiotic-Resistant Cutibacterium acnes (formerly Propionibacterium acnes) Isolates, A Systematic Review and Meta-Analysis,” *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, vol. 39, pp. 82–91, 2024.
- [4] J. Koizumi, K. Nakase, and H. Nakaminami, “Identification of a Transferable Linear Plasmid Carrying The Macrolide-Clindamycin Resistance Gene Erm (X) in a Cutibacterium acnes Isolate from a Patient with Acne vulgaris in Japan,” *Microbiol. Resour. Announc.*, vol. 11, no. 5, pp. e00094-22, 2022.
- [5] N. A. Abd Aziz, R. Hasham, M. R. Sarmidi, S. H. Suhaimi, and M. K. H. Idris, “A Review on Extraction Techniques and Therapeutic Value of Polar Bioactives from Asian Medicinal Herbs: Case Study on Orthosiphon aristatus, Eurycoma longifolia and Andrographis paniculata,” *Saudi Pharm. J.*, vol. 29, no. 2, pp. 143–165, 2021.
- [6] S. E. M. Saberi and L. S. Chua, “Evaluation of Potential Anti-Inflammatory Activities in Crude, Clean, and Fractionated Extracts of Rosmarinic acid and Eupatorin from Orthosiphon aristatus (Blume) Miq,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 65, p. 103537, 2025.
- [7] H. T. Nguyen, A. Miyamoto, H. T. Hoang, T. T. T. Vu, P. Pothinuch, and H. T. T. Nguyen, “Effects of Maturation on Antibacterial Properties of Vietnamese Mango (Mangifera indica) Leaves,” *Molecules*, vol. 29, no. 7, p. 1443, 2024.
- [8] L. De Rossi, G. Rocchetti, L. Lucini, and A. Rebecchi, “Antimicrobial Potential of Polyphenols: Mechanisms of Action and Microbial Responses—A Narrative Review,” *Antioxidants*, vol. 14, no. 2, p. 200, 2025.
- [9] S. P. Mohd Bohari, L. S. Chua, N. Adrus, Z. Rahmat, and H. A. Abdullah Al-Moalemi, “Biochemical Characterization of Orthosiphon Aristatus and Evaluation of Pharmacological Activities,” *J. Herbs. Spices Med. Plants*, vol. 27, no. 3, pp. 305–321, 2021.
- [10] C. Sanjai, S. L. Gaonkar, and S. S. Hakkimane, “Harnessing Nature’s Boolbox: Naturally Derived Bioactive Compounds in Nanotechnology Enhanced Formulations,” *ACS omega*, vol. 9, no. 43, pp. 43302–43318, 2024.
- [11] D. M. Webber, M. A. Wallace, and C.-A. D. Burnham, “Stop Waiting for Tomorrow: Disk Diffusion Performed on Early Growth Is an Accurate Method for Antimicrobial Susceptibility Testing with Reduced Turnaround Time,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 60, no. 5, pp. e03007-20, 2022.
- [12] B. L. Zimmer, *CLSI M02: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024.
- [13] J. H. Jorgensen and J. D. Turnidge, “Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods,” *Man. Clin. Microbiol.*, pp. 1253–1273, 2015.
- [14] A. Krakowska-Sieprawska, A. Kielbasa, K. Rafińska, M. Ligor, and B. Buszewski, “Modern Methods of Pre-treatment of Plant Material for The Extraction of Bioactive Compounds,” *Molecules*, vol. 27, no. 3, p. 730, 2022.
- [15] M. A. Z. Benjamin, S. Y. Ng, F. H. Saikim, and N. A. Rusdi, “The Effects of Drying Techniques on Phytochemical Contents and Biological Activities on Selected Bamboo Leaves,” *Molecules*, vol. 27, no. 19, p. 6458, 2022.
- [16] S. Nakra, S. Tripathy, and P. P. Srivastav, “Drying as a Preservation Strategy for Medicinal Plants: Physicochemical and Functional Outcomes for Food and Human Health,” *Phytomedicine Plus*, vol. 5, no. 2, p. 100762, 2025.
- [17] N. Alsaud and M. Farid, “Insight into the Influence of Grinding on the Extraction Efficiency of Selected Bioactive Compounds from Various Plant Leaves,” *Appl. Sci.*, vol. 10, no. 18, p. 6362, 2020.
- [18] C. Bitwell, S. Sen Indra, C. Luke, and M. K. Kakoma, “A Review of Modern and Conventional Extraction Techniques and Their Applications for Extracting Phytochemicals from Plants,” *Sci. African*, vol. 19, p. e01585, 2023.

- [19] J. G. Negasa, I. Teshome, E. J. Sarba, and B. S. Daro, "Phytochemical Screening and in Vitro Antibacterial Activity of Echinops kebericho Mesfin Tuber Extracts: Experimental Studies," *PeerJ*, vol. 12, p. e18554, 2024.
- [20] M. Kozłowska *et al.*, "Antioxidant and Antibacterial Activity of Extracts from Selected Plant Material," *Appl. Sci.*, vol. 12, no. 19, p. 9871, 2022.
- [21] R. Gonzalez-Pastor *et al.*, "Current Landscape of Methods to Evaluate Antimicrobial Activity of Natural Extracts," *Molecules*, vol. 28, no. 3, p. 1068, 2023.
- [22] E. Nortjie, M. Basitere, D. Moyo, and P. Nyamukamba, "Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review," *Plants*, vol. 11, no. 15, p. 2011, 2022.
- [23] K. Godlewska, P. Pacyga, A. Szumny, A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, and I. Michalak, "Methods for Rapid Screening of Biologically Active Compounds Present in Plant-Based Extracts," *Molecules*, vol. 27, no. 20, p. 7094, 2022.
- [24] W. L. Sapunyo, J. M. Mbaria, L. W. Kanja, M. J. Omolo, and J. M. Onyancha, "Phytochemical Screening, Toxic Effects, and Antimicrobial Activity Studies of *Digitaria abyssinica* (Hochst. ex A.Rich.) Stapf (Poaceae) Rhizome Extracts against Selected Uropathogenic Microorganisms," *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*, vol. 2023, no. 1, p. 4552095, 2023.
- [25] K. Fischer *et al.*, "Cutibacterium acnes Infection Induces Type I Interferon Synthesis Through the cGAS-STING Pathway," *Front. Immunol.*, vol. 11, p. 571334, 2020.
- [26] L. An *et al.*, "Study on Antibacterial Activity and Mechanism of Improved Dian Dao San Against *Cutibacterium acnes* (C. acnes)," *Infect. Drug Resist.*, pp. 4965–4975, 2023.
- [27] M. A. Salam, M. Y. Al-Amin, J. S. Pawar, N. Akhter, and I. B. Lucy, "Conventional Methods and Future Trends in Antimicrobial Susceptibility Testing," *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 30, no. 3, p. 103582, 2023.
- [28] P. P. Mahesh, J. Kolape, H. Sultana, and G. Neelakanta, "McFarland Standards-Based Spectrophotometry Method for Calculating Approximate Multiplicity of Infection for an Obligate Intracellular Bacterium *Anaplasma phagocytophilum*," *Microorganisms*, vol. 13, no. 3, p. 662, 2025.
- [29] D. A. K. Mulangsri, M. C. Nisa, D. N. Sugihartanti, and A. U. Hidayah, "Antibacterial Activity of Ethyl Acetate Extract of Mango Bud (*Mangifera indica* L. var. Arum Manis) Against Multidrug-Resistant Bacteria," *Pharmakon J. Farm. Indones.*, pp. 126–132, 2024.
- [30] N. Zouine, N. El Ghachtouli, S. El Abed, and S. I. Koraichi, "A Comprehensive Review on Medicinal Plant Extracts as Antibacterial Agents: Factors, Mechanism Insights and Future Prospects," *Sci. African*, vol. 26, p. e02395, 2024.
- [31] N. N. Tung, T. T. H. Hanh, N. X. Cuong, N. T. Cuong, and T. H. Quang, "Antimicrobial Phenolic Metabolites from The Aerial Parts of *Orthosiphon aristatus*," *Phytochem. Lett.*, vol. 52, pp. 49–53, 2022.
- [32] M. De Tollenaere *et al.*, "Action of *Mangifera indica* Leaf Extract on Acne-Prone Skin through Sebum Harmonization and Targeting *C. acnes*," *Molecules*, vol. 27, no. 15, p. 4769, 2022.
- [33] N. Jubair, M. Rajagopal, S. Chinnappan, N. B. Abdullah, and A. Fatima, "Review on the Antibacterial Mechanism of Plant-Derived Compounds against Multidrug-Resistant Bacteria (MDR)," *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*, vol. 2021, no. 1, p. 3663315, 2021.
- [34] E. Matuschek, S. Copsey-Mawer, S. Petersson, J. Åhman, T. E. Morris, and G. Kahlmeter, "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Disc Diffusion Susceptibility Testing Method for Frequently Isolated Anaerobic Bacteria," *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 29, no. 6, pp. 795–e1, 2023.