
UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN GAMAL (*Gliricidia sepium*) TERHADAP BAKTERI *METHICILLIN RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 3351

I Gede Gita Sastrawan¹, Ni Nengah Dwi Fatmawati², Ni Nyoman Sri Budayanti², Agus
Eka Darwinata²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas
Udayana

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Koresponding author: I Gede Gita Sastrawan

e-mail: gitasastrawan@student.unud.ac.id

ABSTRAK

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik golongan β -lactam. Mortalitas pada pasien kritis yang terinfeksi MRSA 50% lebih tinggi dibandingkan dengan yang terinfeksi *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus*. Dalam mengatasi kasus resistensi antibiotik, diperlukan penemuan obat baru. Beberapa tumbuhan memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri, salah satunya adalah daun gamal (*Gliricidia sepium*). Penelitian ini bertujuan untuk menguji daya hambat ekstrak etanol 96% daun gamal terhadap bakteri MRSA ATCC 3351 dengan metode *disk-diffusion*. Kelompok konsentrasi ekstrak daun gamal yang digunakan adalah 20%, 40%, 60%, 80% dengan kontrol positif *Vancomycin* 30 μ g dan kontrol negatif etanol 96%. Hasil uji fitokimia kualitatif menunjukkan daun gamal mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, fenol, terpenoid dan alkaloid. Kelompok konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60% dan 80% secara berurutan menghasilkan diameter hambat sebesar 7,5 mm, 8 mm, 11 mm, 12 mm. Terdapat perbedaan bermakna daya hambat yang dihasilkan pada seluruh kelompok perlakuan, tetapi pada kelompok konsentrasi 20% dengan 40% tidak memiliki perbedaan daya hambat yang bermakna. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) memiliki daya hambat terhadap MRSA ATCC 3351.

Kata kunci : Daun Gamal, Daya Hambat Bakteri, *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is *Staphylococcus aureus* that resistant to β -lactam antibiotic class. The mortality of critical patients infected with MRSA is 50% higher than those infected with *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus*. In dealing with cases of bacterial resistance to the antibiotic, forcing new antibiotic to be discovered. Some plants have bioactive compounds that show potential antibacterial effects. Gamal leaves (*Gliricidia sepium*) is one of the plants that showed the potential effect in antibacterial that needed. This research was aimed to test the inhibitory effect of Gamal leaves ethanol 96% extract against the MRSA ATCC 3351 used the disk diffusion method. Gamal leaf extract concentration groups used were 20%, 40%, 60%, 80% with *Vancomycin* 30 μ g as a positive control, and 96% ethanol as a negative control. The qualitative phytochemical test of Gamal leaves contained saponins, phenols, terpenoids, and alkaloids. The extract concentration groups of 20%, 40%, 60%, and 80% produced inhibitory diameters of 7.5 mm, 8 mm, 11 mm, and 12 mm, respectively. There were significant differences in all groups of 96% ethanol extract concentration. However, the

concentration group of 20% and 40% had no significant difference among them. Therefore, it can be concluded that 96% ethanol extract of Gamal leaves (*Gliricidia sepium*) has an inhibitory effect on MRSA ATCC 3351.

Keywords : Gamal Leaves, Bacterial Inhibitory Effect, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) merupakan flora normal pada tubuh manusia yang dapat ditemukan di hidung, kulit, tenggorokan dan mulut. *S.aureus* merupakan bakteri gram positif penyebab utama infeksi nosokomial dan memberikan dampak serius pada peredaran darah, kulit, jaringan lunak serta saluran pernapasan bagian bawah. Infeksi yang sering ditimbulkan adalah infeksi pada kulit berupa impetigo, karbunkel, folikulitis. *S.aureus* juga dapat menyebabkan endokarditis dan osteomyelitis.¹

S.aureus memiliki strain resisten terhadap golongan antibiotik β -lactam yang disebut MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*).¹ MRSA menjadi patogen *multidrug resistant* utama sebagai penyebab infeksi nosokomial di Eropa. Terdapat 132.000 kasus MRSA di Jerman dan 18-20% setiap kultur *S.aureus* adalah strain MRSA.² Di Indonesia, dari 1.502 pasien bedah yang terdapat di tiga rumah sakit pendidikan (Semarang, Malang dan Denpasar), terdapat 366 orang pasien terinfeksi *S.aureus* dan 4,3% diantaranya terinfeksi strain MRSA.³ Infeksi MRSA menimbulkan beberapa masalah baik berupa angka mortalitas maupun lama waktu perawatan serta biaya perawatan yang meningkat. Dari segi mortalitas, dengan adanya resistensi *Methicillin* pada pasien kritis yang terinfeksi *S.aureus* memiliki angka mortalitas yang lebih tinggi hampir 50% daripada yang tidak resisten terhadap *Methicillin*.⁴ Penelitian di Mineapolis menunjukkan bahwa biaya perawatan rata-rata pasien MRSA sebesar \$34.657 dengan rata-rata lama perawatan 15 hari. Hal tersebut justru lebih banyak jika dibandingkan dengan perawatan pasien bakteremia *Methicillin sensitive S.aureus* yang mana biaya perawatan rata-rata \$15.923 selama 5 hari.⁵

Antibiotik *Vancomycin* merupakan terapi baku emas (*gold standard*) untuk kasus MRSA. Pemberian terapi yang tidak rasional dapat memicu terjadinya resistensi *Vancomycin* pada *S.aureus*. Dalam mengatasi hal tersebut, penemuan antibiotik baru yang mampu menghambat infeksi MRSA sangat diperlukan.⁶ Bahan penemuan antibiotik baru dapat berasal dari senyawa sintetik ataupun ekstraksi bahan alam. Salah satu bagian tanaman yang menjadi bahan penelitian aktivitas antibakterinya adalah daun gamal (*Gliricidia sepium*). Tanaman gamal memiliki beberapa kegunaan di bidang pertanian dan perkebunan diantaranya adalah meningkatkan kadar nitrogen dan bahan organik tanah, mengurangi laju erosi, meningkatkan penyerapan air

tanah, sebagai tanaman pagar, serta sumber pakan ternak. Dalam bidang penelitian, daun gamal sudah diteliti dan teridentifikasi memiliki beberapa fungsi diantaranya dapat dimanfaatkan sebagai insektisida, antibakteri, anti-inflamasi dan antioksidan.⁷ Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menguji daya hambat ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) terhadap bakteri MRSA ATCC 3351.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian adalah *true experimental post-test only*. Kelompok perlakuan (P) meliputi konsentrasi ekstrak etanol 96% daun gamal sebesar 20%, 40%, 60%, 80% sedangkan kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (K+) *Vancomycin* 30 μ g dan kontrol negatif (K-) etanol 96%. Uji daya hambat bakteri menggunakan metode *disk-diffusion*. Bakteri MRSA ATCC 3351 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK Unud. Berdasarkan rumus *Federer*, pengulangan pada masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol adalah sebanyak empat kali.

Daun gamal yang digunakan berasal dari wilayah Banjar Kangin, Desa Ungasan, Kuta Selatan, Badung, Bali. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, dilakukan uji determinasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa daun gamal yang digunakan merupakan spesies *Gliricidia sepium*. Uji determinasi dilaksanakan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Eka Karya Bedugul, Kabupaten Tabanan, Provinsi Bali. Proses ekstraksi dan uji fitokimia dilaksanakan di Laboratorium Farmakokognisi Program Studi Farmasi, FMIPA Unud (Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana). Metode yang digunakan adalah ekstraksi maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut. Uji fitokimia kualitatif dilakukan untuk menguji kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan fenol dalam *crude extract* etanol 96% daun gamal.

Prosedur uji daya hambat dimulai dengan mengencerkan *crude extract* etanol 96% daun gamal menjadi konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%. *Disk* kosong direndam selama 15 menit pada masing-masing kelompok perlakuan dan *disk* kontrol negatif direndam pada etanol 96%. Kontrol positif menggunakan *disk Vancomycin* 30 μ g. Kemudian bakteri MRSA ATCC 3351 dikultur di media MHA (*Muller Hinton Agar*) dengan kekeruhan standar 0,5 *McFarland*. Dilanjutkan dengan penempelan *disk* pada media MHA dan

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk berupa zona bening disekitar disk. Diameter zona hambat kemudian diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Diameter zona hambat yang terbentuk kemudian diinterpretasikan berdasarkan klasifikasi *Greenwood* (<10 mm tidak memiliki daya hambat, 10-15 mm lemah, 16-20 mm sedang, >20 mm kuat).⁸ Analisis data menggunakan aplikasi *SPSS v23* dengan melakukan Uji *Kruskal-Wallis* dan *Uji Mann Whitney* (kemaknaan $p < 0,05$).

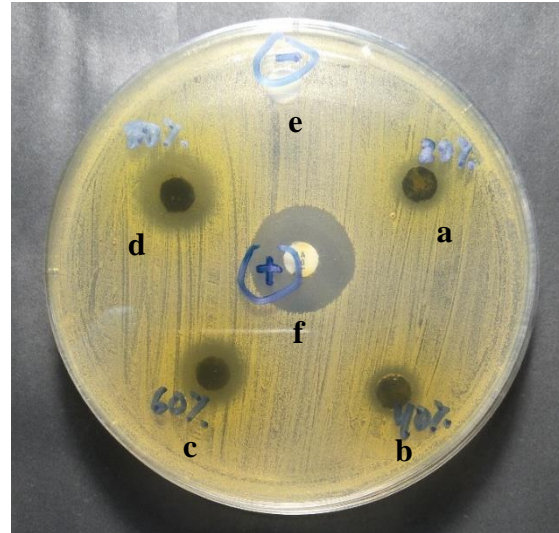
HASIL

Hasil uji determinasi menunjukkan bahwa daun gamal yang digunakan merupakan spesies *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. Hasil uji fitokimia terhadap *crude extract* etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) mengandung senyawa saponin, fenol, terpenoid dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan tanin negatif (tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 96% daun gamal

Senyawa metabolit sekunder	Hasil
Saponin	+
Fenol	+
Terpenoid	+
Alkaloid	+
Flavonoid	-
Tanin	-

Seluruh kelompok perlakuan mampu menghasilkan zona hambat terhadap bakteri MRSA ATCC 3351 dengan rentang 7,5-12 mm (Gambar 1). Berdasarkan klasifikasi *Greenwood*, konsentrasi 60% dan 80% ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) menghasilkan daya hambat yang lemah. Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa daya hambat yang dihasilkan oleh seluruh kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna ($p=0,0001$). Uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa kelompok konsentrasi ekstrak 20% dengan 40% menghasilkan diameter zona hambat yang tidak berbeda ($p=0,343$) (tabel 2).



Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri MRSA ATCC 3351 (a : konsentrasi 20%; b : konsentrasi 40%; c : konsentrasi 60%; d : konsentrasi 80%; e : kontrol negatif; f : kontrol positif)

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok konsentrasi ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) mampu menghambat bakteri MRSA ATCC 3351. Pada beberapa penelitian, ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) juga dilaporkan memiliki kemampuan daya hambat terhadap bakteri gram positif lainnya. Penelitian Nazli dkk dan Akharaiyi dkk menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gamal memiliki daya hambat sebesar 15 mm dan 14,5 dengan metode difusi sumuran. Penelitian tersebut tidak menyebutkan besar konsentrasi ekstrak yang digunakan.^{9,10} Hasil serupa juga ditemukan pada penelitian Artaningsih dkk yang menggunakan bakteri uji *Streptococcus mutans*. Ekstrak etanol daun gamal konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70% dan 80% mampu menghasilkan diameter zona hambat secara berurutan sebesar 11,3 mm, 12,3 mm, 13,4 mm, 15,9 mm, 19,2 mm.¹¹

Pada bakteri gram negatif, ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) juga dilaporkan memiliki efek daya hambat. Pada penelitian Noerbaeti dkk, ekstrak etanol daun gamal pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60% menghasilkan zona hambat secara berurutan sebesar 6,5 mm, 7 mm, 7 mm, 7,5 mm pada bakteri *Vibrio sp* dan 5,5 mm, 5,5 mm, 5,5 mm, 7,5 mm pada bakteri *Flexibacter maritimus*.¹²

Perbedaan diameter zona hambat bakteri yang terbentuk dari ekstrak daun gamal (*Gliricidia sepium*) dalam berbagai penelitian diatas dapat disebabkan karena perbedaan spesies bakteri yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan bakteri MRSA ATCC 3351 yang merupakan *strain* resisten dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian Artaningsih dkk menggunakan bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri MRSA ATCC 3351 dan *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif, sedangkan pada penelitian Noerbaeti dkk menggunakan bakteri *Vibrio sp* dan *Flexibacter maritimus* merupakan bakteri gram negatif. Struktur bakteri gram positif berbeda dengan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Lapisan tersebut tersusun atas *disaccharide-peptide* dan ikatan glikosida membentuk *glycan strands*. Ketebalan peptidoglikan pada bakteri gram positif mencapai 30-100 nm. Terdapat polimer anionik yang membentang melewati peptidoglikan yang disebut asam teikoat. Asam teikoat tersusun dari *glycerolphosphate*, *glucosyl phosphate*, *ribitol phosphate*. Asam teikoat melekat pada membran sel bakteri dan peptidoglikan. Fungsi asam teikoat adalah untuk menjaga *homeostasis* kation. Lapisan bakteri gram negatif terdiri dari membran dalam, peptidoglikan dan membran luar. Membran luar tersusun dari *lipid bilayer* dan glikolipid *lipopolysaccharide* (LPS). Bakteri gram positif tidak memiliki struktur tersebut. Perbedaan struktur antara bakteri gram positif dengan gram negatif berpengaruh pada sifat kepolaran bakteri. Bakteri gram negatif yang dilapisi *lipid bilayer* bersifat lebih tidak polar dibandingkan dengan bakteri gram positif, sehingga senyawa dengan pembawa sifat polar akan lebih susah menembus bakteri gram negatif. Hal tersebut kemungkinan menjadi penyebab hasil diameter zona

hambat pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif.¹³

Efek antibakteri yang dimiliki ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) terhadap bakteri MRSA ATCC 3351 kemungkinan disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun gamal. Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda.

Saponin mengandung steroid atau *triterpenoid aglycone* dengan satu atau lebih ikatan gula. Struktur kimia tersebut menentukan aktivitas senyawa saponin sebagai *natural nonionic detergents*. Saponin merupakan senyawa dengan sifat "soap-like" di air yang mampu menghasilkan busa ketika dikocok. Senyawa ini memiliki sifat antibakteri dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran sel dan mengubah morfologi bakteri. Hal tersebut menyebabkan ketidakstabilan struktur bakteri dan mempengaruhi metabolisme bakteri. Akibatnya pertumbuhan bakteri terganggu, enzim metabolisme berkurang, dan mengarah pada kematian sel bakteri.¹⁴

Fenol atau polifenol merupakan senyawa kimia yang disintesis dari *phenylalanine* melalui *phenylalanine ammonia lyase* (PAL). Senyawa ini berperan penting dalam pertahanan tumbuhan terhadap patogen.¹⁵ Fenol dapat menyebabkan hiperpolarisasi membran sitoplasma, mengurangi integritas antara membran, meningkatkan ketidakstabilan membran melalui interaksi dengan membran *lipid* dan protein. Akibatnya terjadi disfungsi membran dan menyebabkan kematian sel bakteri.¹⁶ Aktivitas senyawa fenol juga diketahui dapat mengikat enzim *dihydrofolate reductase* (DHFR) bakteri, mengikat *ATP binding site of gyrase B* dan mengikat DNA bakteri yang menginduksi enzim topoisomerase IV yang menyebabkan stasis pada pertumbuhan bakteri.¹⁷

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) terhadap bakteri MRSA ATCC 3351

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)				Median (min-maks) (mm)	Interpretasi daya hambat Greenwood	p
	I	II	III	IV			
Konsentrasi 20%	7	8	7	8	7,5 ^a (7-8)	Tidak memiliki daya hambat	0,0001
Konsentrasi 40%	8	8	8	8	8 ^a	Tidak memiliki daya hambat	
Konsentrasi 60%	11	11	10	11	11 ^b (10-11)	Daya hambat lemah	
Konsentrasi 80%	12	13	12	12	12 ^c (12-13)	Daya hambat lemah	
Kontrol positif	18	18	18	19	18 ^d (18-19)	Daya hambat sedang	
Kontrol negatif	0	0	0	0	0 ^e	Tidak memiliki daya hambat	

Keterangan : Superskrip huruf yang berbeda (a,b,c,d,e) pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna (p<0,05)

Terpenoid merupakan turunan dari senyawa *terpene*. Terpenoid memiliki sifat antibakteri melalui penghambatan *oxygen uptake* dan *oxidative*

phosphorylation yang berpengaruh terhadap ketahanan hidup mikroorganisme. Terpenoid menyebabkan *uncoupling of oxidative phosphorylation* pada bakteri sehingga terjadi perubahan mekanisme tingkat seluler

dan mengganggu pertumbuhan bakteri. Selain hal tersebut, terpenoid memiliki sifat lipofilik yang dapat berinteraksi dengan *lipophilic tails* pada *intermembrane* bakteri dan menyebabkan lisis bakteri. Terpenoid memiliki sifat bakteriostatik yang lebih dominan daripada bakterisidal.^{18,19}

Alkaloid memiliki sifat antibakteri dengan cara menghambat aktivitas dihidrofolat reduktase yang menyebabkan terjadinya gangguan sintesis asam nukleat.²⁰ Alkaloid juga memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein FtsZ. Protein FtsZ memiliki peranan penting dalam pembelahan sel bakteri. Akibat afinitas alkaloid yang tinggi terhadap protein FtsZ menyebabkan terjadinya penghambatan pada protein FtsZ yang berakibat pada terganggunya pembelahan sel bakteri.²¹

SIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun gamal (*Gliricidia sepium*) memiliki daya hambat terhadap bakteri MRSA ATCC 3351.

SARAN

Pada penelitian ini tidak dapat menentukan kadar kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol 96% daun gamal secara kuantitatif. Diharapkan untuk penelitian selanjutnya dapat melakukan uji fitokimia secara kuantitatif dan melakukan ekstraksi terhadap senyawa aktif yang terkandung pada daun gamal menggunakan metode fraksinasi sehingga dapat menentukan senyawa yang paling berpengaruh terhadap potensi antibakteri yang dimiliki ekstrak etanol 96% daun gamal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Plata K, Adriana E, Węgrzyn G. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *actabp*. 2009;56:597-612.
2. Köck R, Mellmann A, Schaumburg F, Friedrich AW, Kipp F, Becker K. The Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany. *Dtsch Arztebl*. 2011;108(45):761-767.
3. Santosaningsih D, Santoso S, Budayanti NS, Kuntaman K, Lestari ES, Farida H, et al. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* harboring the *mecA* or Panton-Valentine leukocidin genes in hospitals in Java and Bali, Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2014;90(4):728-34.
4. Hanberger H, Walther S, Leone M, Barie PS, Rello J, Lipman J, et al. Increased mortality associated with Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in the Intensive Care Unit: results from the EPIC II study. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011;38:331-335.
5. Filice GA, Nyman JA, Lexau C, Lees CH, Bockstedt LA, Sabetti KC, et al. Excess costs and utilization associated with methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:365-373.
6. Rodvold K, Coneghy WM. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Therapy: Past, Present, and Future. *Clinical Infectious Diseases*. 2014;58(S1):S20-7.
7. Elevitch CR, Francis JK. *Gliricidia sepium* (*gliricidia*). *Permanent Agriculture Resource (PAR)*. 2006;2(1):1-18.
8. Greenwood D. Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemotherapy. *Mc Graw Hill Company, USA*. 1995.
9. Nazli R, Akhter M, Ambreen S, Solangi A.H, Sultana N. Insecticidal, Nematicidal and Antibacterial Activities of *Gliricidia sepium*. *Pak. J. Bot*. 2008;40(6):2625-2629.
10. Akharaiyi F.C, Boboye B, Adetuyi F.C. Antibacterial, Phytochemical and Antioxidant Activities of the Leaf Extracts of *Gliricidia sepium* and *Spathodea campanulata*. *World Appl. Sci. J*. 2012;16(4):523-530.
11. Artaningsih NLB, Habibah N, Mastra N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gamal (*Gliricidia sepium*) pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara *In-Vitro*. *Jurnal Kesehatan*. 2018; 9(3):336-345.
12. Noerbaeti E, Pattah H, Nuraini W. Potensi Ekstrak Daun Gamal *Gliricidia sepium* sebagai Antibakteri *Vibrio sp.* dan *Flexibacter maritimus*. *Jurnal Teknologi Budidaya Laut*. 2016;6:43-49.
13. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2:1-16.
14. Arabski M, Aneta WC, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W. Effects of Saponins against Clinical *E.coli* Strains and Eukaryotic Cell Line. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011:1-6.
15. Godstime C, Felix E, Augustina J, Christopher E. Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens – A Review. *J Pharm Chem Biol Sci*. 2014;2(2):77-85.
16. Wu Y, Bai J, Zhong K, Huang Y, Qi H, Jiang Y, Gao H. Antibacterial Activity and Membrane-Disruptive Mechanism of 3-p-trans-Coumaroyl-2-hydroxyquinic Acid, a Novel Phenolic Compound from Pine Needles of *Cedrus deodara*, against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2016;21:1-12.
17. Jayaraman P, Sakharkar KM, Lim CS, Tang TH, Sakharkar KR. Activity and interactions of antibiotic and phytochemical combinations against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Int. J. Biol. Sci*. 2010;6(6):556-568.
18. Mahizan AN, Yang SK, Moo CL, Song AAL, Chong CM, Chong CW, Abushelaibi A, Lim SHE,

- Lai KS. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogen. *Molecules*. 2019;24:1-21.
19. Zengin H, Baysal AH. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. *Molecules*. 2014;19:17773-17798.
20. Othman L, Sleiman A, Abdel-Massih RM. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Front. Microbiol*. 2019;10(911):1-28.
21. Boberek JM, Stach J, Good L. Genetic Evidence for Inhibition of Bacterial Division Protein FtsZ by Berberine. *PLoS ONE*. 2010;5(10):1-9.