

THỬ NGHIỆM CHIẾT XUẤT VÀ KHẢO SÁT MỘT SỐ ĐẶC TÍNH DƯỢC HỌC TỪ DỊCH CHIẾT LÁ SIM VÀ LÁ QUẾ

Vũ Mạnh Khiêm, Nguyễn Vạn Tín, Trần Thị Quỳnh Lan
Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu thử nghiệm quy trình chiết xuất và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết lá sim và lá quế. Kết quả nghiên cứu cho thấy thành phần hoạt chất trong dịch chiết được phân tách rõ ràng bằng phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC). Phương pháp này cũng cho thấy có sự hiện diện của rhodomyrtone trong dịch chiết lá sim và cinnamaldehyde trong dịch chiết lá quế. Dịch chiết lá sim có hoạt tính kháng khuẩn đối với *Staphylococcus aureus* (13,1 mm) nhưng không có hiệu quả đối với *Salmonella typhimurium*. Dịch chiết lá quế lại không có hoạt tính kháng khuẩn trên cả *S. aureus* và *S. typhimurium*. Ở độ pha loãng 1/2, dịch chiết thô lá sim cho khả năng ức chế hoàn toàn vi khuẩn *S. aureus*. Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết lá sim có thể là một giải pháp thay thế cho kháng sinh trong việc điều trị *S. aureus*. Tuy nhiên vẫn cần thêm các thử nghiệm lâm sàng để đánh giá khả năng ứng dụng chất chiết lá sim trong điều trị các bệnh do *S. aureus*.

Từ khóa: TLC, dịch chiết, lá sim, lá quế, kháng khuẩn, MIC.

***In vitro* antibacterial and pharmacological characteristics of *Rhodomyrtus tomentosa* and *Cinnamomun zeylanicum* leaf extract**

Vu Manh Khiem, Nguyen Van Tin, Tran Thi Quynh Lan

SUMMARY

This study was conducted with the goal of investigating the extraction method, antibacterial and antioxidant activity of *Rhodomyrtus tomentosa* and *Cinnamomun zeylanicum* leaf extracts. The studied results showed that the active ingredients in the extract were clearly separated by thin-layer chromatography (TLC) and the presence of rhodomyrtone in *R. tomentosa* leaf extract and cinnamaldehyde in *C. zeylanicum* leaf extract. *R. tomentosa* leaf extract presented antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (13.1 mm) but it was not effective against *Salmonella typhimurium*. *C. zeylanicum* leaf extract did not show antibacterial activity on both *S. aureus* and *S. typhimurium*. At a dilution concentration of 1/2 of the *R. tomentosa* crude extract could completely inhibit *S. aureus*. The studied results showed that *R. tomentosa* and *C. zeylanicum* leaf extracts could replace antibiotics to treat disease caused by *S. aureus*. But *in vivo* investigation for using *C. zeylanicum* leaf extracts in disease treatment is needed to make a more accurate assessment.

Keywords: TLC, plant extract, *Rhodomyrtus tomentosa*, *Cinnamomum zeylanicum*, antimicrobial, MIC.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hạn chế sử dụng thuốc và kháng sinh đồng thời phát triển các liệu pháp thay thế có nguồn gốc từ thiên nhiên trong phòng và trị bệnh cho

vật nuôi là xu hướng chung của ngành chăn nuôi thú y trên thế giới (Singh và ctv, 2008). Việt Nam là một nước có hệ thực vật phong phú, rất nhiều cây cỏ từ lâu đã được nghiên cứu

để sử dụng điều trị một số bệnh và hỗ trợ chức năng cho người bệnh. Từ những ứng dụng trong nhân y, ngày càng có nhiều loại thảo dược cũng đã và đang được nghiên cứu sử dụng trong thú y. Sử dụng các chiết xuất thảo dược trong chăn nuôi giúp làm giảm sự phát triển của vi khuẩn đa kháng thuốc và tồn dư kháng sinh từ đó tạo ra sản phẩm có nguồn gốc động vật (thịt, trứng, sữa...) an toàn cho người tiêu dùng. Ngoài ra, việc sử dụng các chế phẩm nguồn gốc tự nhiên có thể hạn chế những tác dụng không mong muốn mà các loại thuốc tổng hợp gây ra trên vật nuôi.

Cây sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) và cây quế (*Cinnamomun zeylanicum*) từ lâu đã được sử dụng trong Đông y. Trong nhân y, lá sim được dùng để điều trị tiêu chảy, giảm đau, cầm máu vết thương hay một số bệnh về đường tiết niệu (Mordmuang và ctv, 2015). Trong khi đó, lá quế có tác dụng cho những trường hợp đầy hơi, khó tiêu, buồn nôn, đau bụng, tiêu chảy và co thắt đường tiêu hóa, rối loạn đường tiêu hóa,... (Mazimba và ctv, 2015). Chiết xuất lá sim và lá quế đều được báo cáo có hoạt tính tốt trong kháng khuẩn, kháng viêm, kháng nấm và kháng oxy hoá,... (Wang và ctv, 2009; Das Manosi và ctv, 2013).

Từ thực tế muốn phát triển các biện pháp an toàn trong phòng và điều trị bệnh cho vật nuôi, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “*Thử nghiệm chiết xuất và khảo sát một số đặc tính dược học từ dịch chiết lá sim và lá quế*”.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Chuẩn bị lá dược liệu

Lá sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) và lá quế (*Cinnamomun zeylanicum*) được thu hái từ tỉnh Phú Yên. Nguyên liệu sau đó được rửa sạch dưới vòi nước, sấy ở 60 °C trong 48 giờ, sau đó nghiền nhỏ thành bột.

2.2. Chiết xuất hoạt chất từ cây dược liệu

Dùng 50g mẫu nguyên liệu đã được chuẩn bị ngâm trong 200ml dung môi ethanol (VN-Chemsol Co., Việt Nam) (Saising và ctv, 2011)

trong thời gian 48 giờ. Lượng dịch chiết thô thu được được lọc bằng giấy lọc, sau đó đem ly tâm (5000 vòng/15 phút), lấy phần nổi và tiếp tục cho bay hơi ethanol ở 60°C trong 30 phút (Mubarack và ctv, 2011). Phần dịch nổi được lọc qua màng lọc vi khuẩn 0,2 µm và bảo quản ở -20 °C.

2.3. Phân tách thành phần hoạt chất từ chiết xuất bằng phương pháp TLC

2.3.1. Phương pháp thực hiện

Dịch chiết tươi của lá sim và lá quế được phun lên bản mỏng aluminium backed silica gel 60 F254 (Merck, Đức) (Eloff, 2011) trên hệ thống máy sắc ký bản mỏng bán tự động (Camag, Thụy Sĩ), thể tích phun 5 µl/vệt, tốc độ phun 250ml/giây, độ rộng vệt phun 8mm (Hướng dẫn sử dụng Camag, Thụy Sĩ). Bản mỏng sau khi được phun mẫu được để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, sau đó được đặt trong bình hai đáy kích thước 20 x 10 cm chứa dung môi khai triển. Khả năng phân tách hoạt chất được đánh giá trên hệ dung môi khai triển dùng ngâm bản mỏng: toluen : ethylacetate (93:7). (Wagner và ctv, 2011).

2.3.2. Đọc kết quả TLC

Kết quả phân tách hoạt chất trên sắc ký đồ được quan sát bằng buồng soi UV (Camag, Thụy Sĩ) với bước sóng 256 nm (Eloff, 2011).

2.4. Xác định sự hiện diện của rhodomyrtone trong dịch chiết lá sim và cinnamaldehyde trong dịch chiết lá quế

2.4.1. Chọn hoạt chất chính có hoạt tính dược lực trong dịch chiết lá sim và lá quế

Rhodomyrtone trong dịch chiết lá sim được sử dụng thực nghiệm trong nhiều nghiên cứu khác nhau cho thấy có tác dụng giảm sự xâm lấn và bám dính của *S. aureus* trong mô dưới da của bầu vú bò, đây là đặc tính quan trọng trong điều trị bệnh viêm vú trên bò sữa ở thể lâm sàng và cận lâm sàng (Mordmuang và ctv, 2015). Trong khi đó, hoạt chất cinnamaldehyde trong lá quế cũng đã được chứng minh có khả năng kháng lại nhiều mầm bệnh truyền lây qua đường thực

phẩm (Mazimba và ctv, 2015).

2.4.2. Phương pháp xác định sự hiện diện của hoạt chất có hoạt tính dược lực

- Đối với dịch chiết lá sim: Sự hiện diện của hoạt chất rhodomertone được xác định dựa vào việc so sánh hệ số di chuyển Rf của vết sắc ký tương ứng với mẫu chiết xuất lá sim và hệ số di chuyển Rf của chất chuẩn đối chứng - rhodomertone (rh) (SMB00114, tinh khiết $\geq 95\%$, Sigma, Mỹ).

- Đối với dịch chiết lá quế: Sự hiện diện của hoạt chất cinnamaldehyde được xác định dựa vào việc so sánh hệ số di chuyển Rf của vết sắc ký tương ứng và mẫu chiết xuất lá quế với hệ số di chuyển Rf của cinnamaldehyde theo nghiên cứu đã được công bố (Wagner và ctv, 2011).

2.4.3. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết lá sim và lá quế

Các chủng vi khuẩn gốc (được phân lập và định danh trong các nghiên cứu trước đây và được bảo quản -70°C tại phòng thí nghiệm Bộ môn Khoa học sinh học thú y, ĐH. Nông Lâm, TP.HCM) cấy lên thạch máu (37°C trong 24 giờ). Chọn khuẩn lạc đặc trưng, cấy chuyển qua môi trường NB (Nutrient Broth) và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Pha loãng chuẩn nồng độ huyền dịch vi khuẩn ($1 - 3 \times 10^8$ vk/ml). Quét thật đều tăm bông lên đĩa môi trường Mueller-Hinton agar (MHA). Chuẩn bị các đĩa giấy tẩm dịch chiết thảo dược: các đĩa giấy vô trùng (Công ty Nam Khoa) được tẩm $20 \mu\text{l}$ dịch chiết mỗi loại thảo dược và để khô ở nhiệt độ phòng.

Dùng kẹp vô trùng gấp đĩa giấy tẩm dịch chiết thảo dược và đĩa giấy tẩm amoxicillin + clavulanic acid (Công ty Nam Khoa) dùng làm đối chứng đặt lên bề mặt môi trường MHA đã được cấy vi khuẩn. Sau đó đặt các đĩa cấy trong tủ ấm ở 37°C trong 24 giờ. Đọc kết quả bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn.

2.4.4. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Chuẩn huyền dịch vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ở bước sóng 600nm (OD=600) (tương đương 10^5 vi khuẩn/ml).

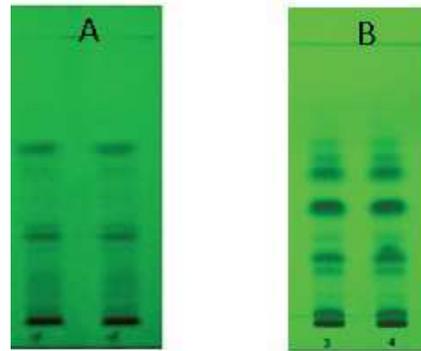
Dịch chiết thô được pha loãng ở 3 mức nồng độ: không pha loãng (nồng độ 100%), pha loãng 1/2 (nồng độ 50%) và 1/4 (nồng độ 25%).

Kháng sinh ceftiofur, amoxicillin và amoxicillin + clavulanic acid dùng làm đối chứng được hòa tan và pha loãng ở các mức 200 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 12,5 $\mu\text{g/ml}$, 6,25 $\mu\text{g/ml}$, 3,125 $\mu\text{g/ml}$ và 1,5625 $\mu\text{g/ml}$ (Saising và ctv, 2011).

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu của dịch chiết lá sim sử dụng microplate 96 giếng, đáy bằng theo phương pháp được mô tả bởi Sultanbawa và ctv (2009).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

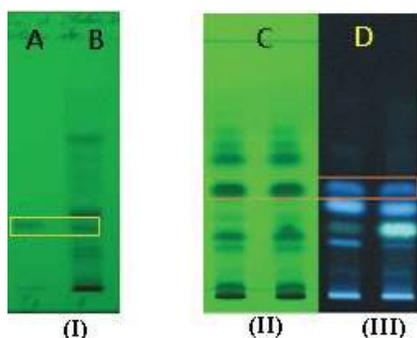
3.1. Phân tách thành phần dịch chiết từ lá sim và lá quế bằng TLC



Hình 1. Kết quả phân tách thành phần hoạt chất trong dịch chiết lá sim (A) và lá quế (B) quan sát dưới tia UV ($\lambda=254 \text{ nm}$)

Kết quả phân tách trên bản mỏng của dịch chiết thô lá sim và lá quế (hình1) cho thấy: số lượng vết sắc ký phân tách được từ mẫu dịch chiết lá sim là 8 vết và lá quế là 12 vết. Như vậy số vết sắc ký phân tách từ dịch chiết lá quế nhiều hơn dịch chiết lá sim. Hơn nữa, các vết xuất hiện trong sắc ký đồ của mẫu lá quế đậm và rõ nét hơn dịch chiết lá sim. Điều này cho thấy dịch chiết thô lá quế chứa nhiều thành phần hoạt chất hơn so với dịch chiết thô lá sim.

3.2. Xác định sự hiện diện của rhodomyrtone và cinnamaldehyde



Hình 2. Kết quả phân tách thành phần hoạt chất có hoạt tính được lọc từ lá sim và lá quế

A: chất chuẩn rhodomyrtone, B: dịch chiết lá sim, C: dịch chiết lá quế quan sát dưới tia UV ($\lambda=254\text{ nm}$), D: dịch chiết lá quế theo Wagner và ctv (2011).

Kết quả ở hình 2 cho thấy có thể phát hiện sự hiện diện của rhodomyrtone và cinnamaldehyde trong dịch chiết của lá sim và lá quế bằng kỹ thuật TLC. Đối với dịch chiết lá sim, sự hiện diện của rhodomyrtone được khẳng định qua vết sắc ký trên bản mỏng với chất chuẩn rhodomyrtone. Đối với dịch chiết lá quế, việc xác định cinnamaldehyde dựa vào hệ số di chuyển $R_f (= 0,40)$ và sắc ký đồ của Wagner và ctv (2011).

Kết quả phân tách thành phần hoạt chất và sự hiện diện 2 hoạt chất có hoạt tính được lọc rhodomyrtone và cinnamaldehyde trong dịch chiết lá sim và lá quế cho thấy khả năng ứng dụng phương pháp TLC trong phát hiện những hoạt chất có giá trị trong dược học.

3.3. Xác định khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá sim và lá quế

Bảng 1. Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn (mm) của dịch chiết lá sim và lá quế đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Salmonella typhimurium*

Dịch chiết (20 μ l)	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhimurium</i>
Lá sim	13,1 \pm 0,8	0
Lá quế	0	0
Amoxicillin + clavulanic acid	33	13

Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên thạch cho thấy vòng kháng khuẩn của dịch chiết lá sim đối với chủng vi khuẩn *S. aureus* trung bình ở mức 13,1 \pm 0,8 mm so với vòng kháng khuẩn đối chứng của amoxicillin + clavulanic acid ở mức 33 mm (bảng 1). Theo Mordmuang và ctv (2014), đĩa giấy chứa 2,5 mg cao thô dịch chiết lá sim cho kết quả vòng vô khuẩn từ 8,7 – 15,5 mm đối với *S. aureus* trong nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn.

Tuy nhiên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá sim chưa được quan sát thấy khi thử nghiệm với vi khuẩn *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*). Trong nghiên cứu của Kusuma

và ctv (2016), dịch chiết lá sim cho vùng ức chế vi khuẩn *S. typhi* có đường kính khoảng 15 mm. Tuy nhiên vẫn chưa có nhiều thử nghiệm rõ hơn về hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết lá sim đối với vi khuẩn *S. typhimurium*. Trong khi dịch chiết lá sim có hiệu quả kháng vi khuẩn *S. aureus* thì ngược lại dịch chiết lá quế không cho thấy khả năng ức chế cả vi khuẩn *S. aureus* và *S. typhimurium*. Điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Mazimba và ctv (2015). Mặt khác, nghiên cứu của Joshi và ctv (2009) cũng cho thấy rằng dịch chiết lá quế không có tác dụng trên *S. typhi*, nhưng có tác dụng tốt trên *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*,...

3.4. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dịch chiết lá sim đối với *S. aureus*

Dựa vào hoạt tính kháng khuẩn của dịch

chiết lá sim đối với *S. aureus*, nghiên cứu tiếp tục xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dịch chiết lá sim đối với *S. aureus* (bảng 2).

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch chiết lá sim đối với *Staphylococcus aureus*

Dịch chiết / Đối chứng	MIC (theo độ pha loãng)		
	Thời gian (giờ)		
	18	24	48
Lá sim	1/2	1/2	1/2
Amoxicillin (đối chứng)	1/16	1/16	1/16
Amoxicillin + clavulanic acid (đối chứng)	1/32	1/32	1/32
Ceftiofur (đối chứng)	1/32	1/32	1/32

Chú thích: Nồng độ ban đầu của các kháng sinh là 200 µg/ml.

Dịch chiết thô lá sim ở nồng độ không pha loãng và ở độ pha loãng 1/2 cho khả năng ức chế hoàn toàn vi khuẩn *S. aureus* theo phương pháp của Sultanbawa và ctv (2009). Việc sử dụng dịch chiết thô có những ưu điểm như quy trình chiết xuất đơn giản và nhanh, có thể sử dụng được ngay sau khi chiết xuất. Do đó, trong nghiên cứu này chỉ xác định khả năng ức chế vi khuẩn dựa vào độ pha loãng dịch chiết thô từ lá sim.

Theo nghiên cứu của Saising và ctv (2008), nồng độ ức chế tối thiểu của dịch chiết lá sim dao động từ 512 µg/ml đối với vi khuẩn *S. aureus* phân lập từ thực địa; còn đối với chủng vi khuẩn *S. aureus* ATCC 25923 giá trị này là 32 µg/ml (Saising và ctv, 2011). Trong khi đó theo Mordmuang và ctv (2015), giá trị MIC của dịch chiết lá sim đối với chủng *S. aureus* phân lập từ bò bị viêm vú ở Canada là 16 µg/ml.

Dựa vào bảng 2, kết quả MIC của kháng sinh ceftiofur và amoxicillin + clavulanic acid đối với *S. aureus* thấp hơn so với kháng sinh amoxicillin (6,25 so với 12,5) ở cả 3 thời điểm khảo sát. Điều này cho thấy vi khuẩn *S. aureus* nhạy cảm với kháng sinh ceftiofur và amoxicillin + clavulanic acid hơn kháng sinh amoxicillin.

Với giá trị MIC là 6,25 µg/ml, ceftiofur có

tính trung gian với chủng vi khuẩn *S. aureus* sử dụng trong nghiên cứu (CLSI, 2007). Theo Cortinhas và ctv (2013), ceftiofur cho kết quả MIC chỉ bằng 2 µg/ml trên vi khuẩn *S. aureus*, kết quả này thấp hơn nhiều so với giá trị 6,25 µg/ml trong nghiên cứu này. Mặt khác, kết quả đọc sau 48 giờ ủ cho thấy, MIC của ceftiofur là 12,5 µg/ml.

Theo Rubin và ctv (2011), MIC của amoxicillin + clavulanic acid đối với vi khuẩn *S. aureus* ở mức lớn hơn 8 µg/ml. Điều này cho thấy vi khuẩn *S. aureus* ngày càng trở nên đề kháng với kháng sinh amoxicillin + clavulanic acid cũng như đối với kháng sinh nói chung.

Theo bảng 2, dịch chiết thô lá sim ở độ pha loãng 1/2 cho khả năng kháng khuẩn tương đương với các kháng sinh ở nồng độ 100 µg/ml và dịch chiết thô lá sim ở độ pha loãng 1/4 cũng cho kết quả kháng khuẩn gần bằng với amoxicillin ở nồng độ 6,25 µg/ml.

Nghiên cứu mới nhất của Mordmuang và ctv (2019) được tiến hành thử nghiệm tiêm dịch chiết lá sim lên tuyến vú quần thể chuột bị công cường độc với *S. aureus*. Kết quả của nghiên cứu cho thấy dịch chiết lá sim với nồng độ 300 µg/ml tiêm vào tuyến vú giúp làm giảm nồng độ vi khuẩn trong tuyến vú.

S. aureus là vi khuẩn gây bệnh quan trọng trong thú y, gây hình thành những ổ abscess, sưng đau và tẩy đỏ, thường kèm theo chảy mủ ... (Roger và ctv, 2009). Đặc biệt quan trọng hơn, *S. aureus* là tác nhân chính gây bệnh viêm vú trên bò – bệnh gây tổn thất kinh tế lớn nhất trong chăn nuôi bò sữa trên thế giới. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy dịch chiết thô lá sim có hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với vi khuẩn *S. aureus*. Chính vì thế, sử dụng dịch chiết lá sim có thể là một giải pháp thay thế kháng sinh trong điều trị các bệnh do *S. aureus* gây ra. Muốn như vậy, cần có những nghiên cứu tiếp theo trên vật nuôi để thử nghiệm hiệu quả kháng khuẩn của dịch chiết lá sim.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng phân tách tốt thành phần hoạt chất có trong chiết xuất lá sim và lá quế bằng phương pháp TLC. Ngoài ra, nghiên cứu cũng đã xác định được sự hiện diện của hoạt chất có hoạt tính dược lực trong thành phần dịch chiết là rhodomertone trong dịch chiết lá sim và cinnamaldehyde trong dịch chiết lá quế dựa vào chất chuẩn và hệ số di chuyển Rf. Dịch chiết lá sim cho khả năng ức chế tốt vi khuẩn *S. aureus*, nhưng lại không có hiệu quả trên *S. typhimurium*. Trong khi đó dịch chiết lá quế lại không có hoạt tính kháng khuẩn đối với *S. aureus* và *S. typhimurium*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Eloff, J. N., Ntloedibe, D. T., & Van Brummelen, R., 2011. A simplified but effective method for the quality control of medicinal plants by planar chromatography. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(5S).
- Mazimba, O., Wale, K., Tebogo, E., Tebogo, E., & Kwape Shetonde, O. J. J. M. P. S., 2015. *Cinnamomum verum*: Ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Plants Studies* 3(3): 28-32.
- Mordmuang, A., Shankar, S., & Voravuthikunchai, S., 2015. Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract on staphylococcal adhesion and invasion in bovine udder epidermal tissue model. *Nutrients*, 7 (10), 8503-8517.
- Mordmuang, A., & Voravuthikunchai, S. P., 2015. *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaf extract: An alternative approach for the treatment of staphylococcal bovine mastitis. *Research in veterinary science*, 102, 242-246.
- Mubarack, H. M., Doss, A., Dhanabalan, R., & Venkataswamy, R., 2011. Activity of some selected medicinal plant extracts against bovine mastitis pathogens. *J. Anim. Vet. Adv.*, 10(6), 738-741.
- Rubin, J. E., Ball, K. R., & Chirino-Trejo, M., 2011. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from various animals. *The Canadian Veterinary Journal*, 52(2), 153.
- Saising, J., Ongsakul, M., & Voravuthikunchai, S. P., 2011. *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. ethanol extract and rhodomertone: a potential strategy for the treatment of biofilm-forming staphylococci. *Journal of medical microbiology*, 60 (12), 1793-1800.
- Singh, M., Singh, N., Khare, P. B., & Rawat, A. K. S., 2008. Antimicrobial activity of some important *Adiantum* species used traditionally in indigenous systems of medicine. *Journal of ethno-pharmacology*, 115 (2), 327-329.
- Sinulingga, S. E., Hasibuan, P. A. Z., & Suryanto, D., 2018. Antibacterial activity of Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) leaf extract and fractions. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 11(3), 163-165.
- Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., & Chetty, C. M., 2010. Antioxidant properties of *Ficus* species - A review. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 2(4), 2174-2182.
- Sultanbawa, Y., Cusack, A., Currie, M., & Davis, C., 2009. An innovative microplate assay to facilitate the detection of antimicrobial activity in plant extracts. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 17 (4), 519-534.

Ngày nhận 8-1-2020

Ngày phản biện 5-5-2020

Ngày đăng 1-7-2020