

Xác định khả năng kháng khuẩn và kháng nấm của cao chiết lá Hải kim sa (*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.)

Trần Hữu Thạnh, Đinh Ngọc Phụng, Lê Tấn Phát,
Ngô Ngọc Như Ý và Bùi Thanh Phong*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Nhiễm khuẩn và nấm ngoài da là một bệnh lý phổ biến. Các loại thuốc hóa học có nhiều tác dụng phụ nên các chiết xuất từ dược liệu ngày càng được chú ý nghiên cứu. **Mục tiêu nghiên cứu:** Đề tài này được thực hiện nhằm xác định khả năng ức chế *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và ức chế nấm *Candida albicans* của các cao chiết từ *Lygodium japonicum*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** *Lygodium japonicum* được chiết bằng cồn 70% và cô đặc để thu được cao cồn toàn phần (cao TP). Một phần cao TP được hòa tan với nước, sau đó chiết phân đoạn lần lượt với các dung môi là n-hexan, chloroform, n-butanol thu được các cao chiết tương ứng là cao HE, cao CF, cao BU và dịch nước còn lại là cao nước (cao WA). Cao TP được khảo sát thành phần hóa thực vật. Cao TP và các cao phân đoạn đều được xác định hoạt tính kháng khuẩn và nấm. **Kết quả:** Cao TP của *Lygodium japonicum* có chứa chủ yếu các hợp chất carotenoid, polyphenol, flavonoid, saponin, alkaloid, coumarin, phytosterol, acid hữu cơ, tanin. Hoạt tính kháng *Pseudomonas aeruginosa* cao nhất là ở cao CF với đường kính vùng ức chế (mm) là 12.67 ± 0.58 (mm) và MIC là 156.25 ($\mu\text{g/mL}$). Hoạt tính kháng *Staphylococcus aureus* cao nhất là ở cao TP với đường kính vùng ức chế (mm) là 13.00 ± 0.00 (mm) và MIC ($\mu\text{g/mL}$) là 78.125 (mm). Hoạt tính kháng *Candida albicans* cao nhất là ở cao TP với đường kính vùng ức chế (mm) là 12.67 ± 0.58 (mm) và MIC ($\mu\text{g/mL}$) là 156.25 ($\mu\text{g/mL}$). **Kết luận:** *Lygodium japonicum* có khả năng kháng khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và kháng nấm *Candida albicans*.

Từ khóa: Hải kim sa, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, vấn đề về kháng kháng sinh đã mang tính toàn cầu và đặc biệt nổi trội ở các nước đang phát triển với gánh nặng của các bệnh nhiễm khuẩn và những chi phí bắt buộc cho việc thay thế các kháng sinh cũ bằng các kháng sinh mới, đắt tiền. Các bệnh nhiễm khuẩn đường tiêu hóa, đường hô hấp, các bệnh lây truyền qua đường tình dục và nhiễm khuẩn bệnh viện là các nguyên nhân hàng đầu có tỉ lệ mắc và tỉ lệ tử vong cao ở các nước đang phát triển [1, 2]. *S. aureus* là cầu khuẩn gram dương được tìm thấy ở đường hô hấp và da người, được xem là tác nhân gây bệnh phổ biến và nguy hiểm nhất của con người do độc tính và có

khả năng kháng kháng sinh. *S. aureus* gây ra các bệnh nhiễm trùng bề mặt như chốc lở, mụn nhọt, viêm mô tế bào, viêm nang lông, áp xe dưới da, ... có thể gây ảnh hưởng lên cơ, xương hoặc lan đến phổi và van tim [1]. *P. aeruginosa* là trực khuẩn gram âm đa kháng thuốc (MDR: multidrug resistant), gây ra các nhiễm trùng mạn tính hoặc cấp tính ở những bệnh nhân bị suy giảm hệ miễn dịch, viêm phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), xơ nang, ung thư, chấn thương, bỏng, nhiễm trùng huyết hoặc viêm phổi cần thở máy (VAP) [2].

Bên cạnh đó, nhiễm nấm đang trở thành một trong những nguyên nhân chính gây ra bệnh tật

Tác giả liên hệ: ThS. Bùi Thanh Phong
Email: phongbui0407@gmail.com

và là tác nhân gây tử vong ở những người có hệ miễn dịch suy giảm như bệnh nhân đái tháo đường, béo phì, ung thư hoặc HIV/AIDS... Sự xuất hiện của tình trạng kháng thuốc kháng nấm ở một số loài, ví dụ như nấm *Candida albicans* được xem là mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe của con người. Việc tăng đề kháng của nấm đối với một số loại thuốc đã gây khó khăn trong quá trình điều trị và làm gia tăng tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân lên hơn 50% [3].

Trước tình hình các chủng vi khuẩn, vi nấm đang biến đổi và nguy hiểm hơn thì việc tìm ra các loại thuốc kháng sinh, kháng nấm mới góp phần vào quá trình điều trị bệnh là điều vô cùng cần thiết. Đặc biệt là những loại thuốc có nguồn gốc từ thực vật do các hoạt chất được chiết xuất từ chúng thường ít hoặc không gây ra nhiều tác dụng có hại khi điều trị bệnh so với một số thuốc tổng hợp.

Hải kim sa có tên khoa học là *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. thuộc họ Schizaeaceae, cây được thu hái quanh năm, bộ phận dùng thường là toàn cây hoặc bào tử. Trong y học cổ truyền, dược liệu này thường được sử dụng để điều trị bệnh viêm ruột, tiêu chảy, viêm thận, nhiễm trùng tiểu, ... Trong dân gian người dân đã sử dụng lá Hải kim sa tươi giã nát đắp lên vùng da để điều trị viêm da [4]. Loại thảo dược này có chứa nhiều hợp chất như flavonoid, steroid, polysaccharid và axit phenolic [4]. Yadav và các cộng sự (2012) đã tiến hành nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của *Lygodium flexuosum*. Kết quả cho thấy chiết xuất phần thân và rễ của dược liệu có hiệu quả với vi khuẩn *S. aureus* [5]. Một nghiên cứu khác cho thấy dược liệu cùng họ với *Lygodium japonicum* là *Lygodium venustum* có tiềm năng trong việc kháng khuẩn và kháng nấm *Candida albicans* [6]. Do vậy, việc nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của các loài thuộc chi *Lygodium* như *Lygodium japonicum* là có cơ sở khoa học và nghiên cứu này còn mở ra hướng ứng dụng của *Lygodium japonicum* nhằm tạo ra các chế phẩm chăm sóc da, kháng khuẩn trên da.

Căn cứ vào các bài thuốc y học cổ truyền và kinh

nghiệm dân gian về các hoạt tính của *Lygodium japonicum*, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của cao chiết từ Hải kim sa (*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.). Kết quả nghiên cứu này có thể cung cấp thêm nhiều thông tin nhằm tăng khả năng ứng dụng trong việc điều trị các bệnh về vi khuẩn và vi nấm bằng dược liệu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

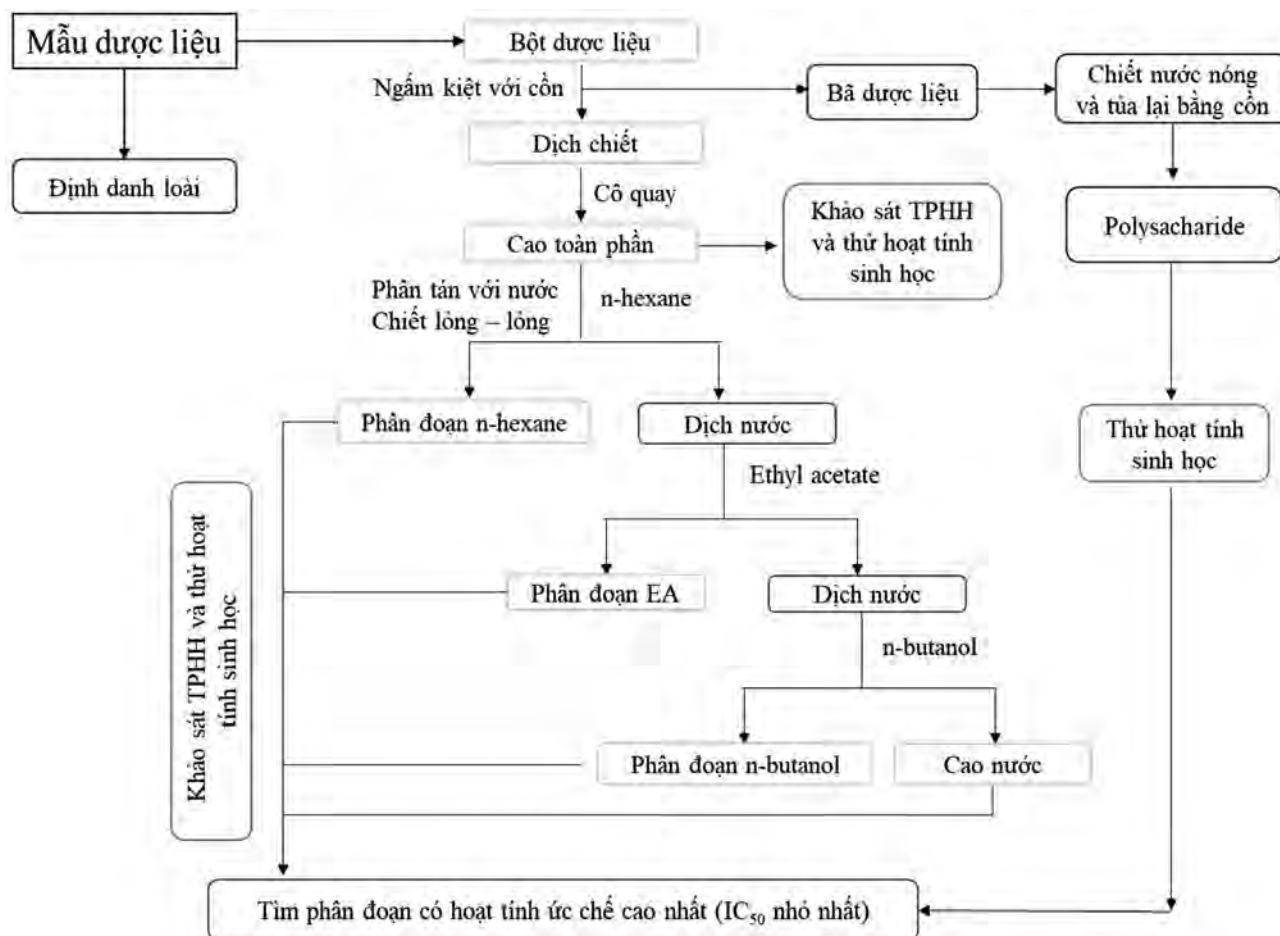
2.1. Vật liệu

- Lá Hải kim sa (*Lygodium japonicum*) thu hái ở Long An, và được định danh bởi ThS.DS. Trần Hữu Thạnh. Lá phơi khô có độ ẩm là 8%, xay nhuyễn và lọc qua rây 710 μ m để thu bột chuẩn bị chiết xuất.
- Vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC 25953, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Nấm men *Candida albicans* ATCC 90028 từ American Type Culture Collection (Hoa Kỳ).
- Ciprofloxacin, Fluconazole, DMSO từ Sigma.
- Môi trường MHA, MHB, môi trường thạch Sabouraud của Merck.
- Các dung môi ethanol, n-hexan, chloroform, n-butanol từ Fisher.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất và định tính sơ bộ thành phần hóa thực vật cao Hải kim sa

Dung môi ethanol 70% để chiết xuất dược liệu với tỉ lệ dược liệu : ethanol là 1:20 (w/v), dịch chiết được cô đặc thành cao cồn 70% (cao TP) bằng máy cô quay. Tiếp theo mẫu được chiết phân đoạn lần lượt qua các dung môi có độ phân cực khác nhau theo thứ tự tăng dần n-hexan, chloroform, n-butanol sẽ thu nhận được các dịch chiết tương ứng, các dịch chiết được cô đặc thành cao chiết là cao n-hexan (cao HE), chloroform (cao CF), n-butanol (cao BU) và dịch nước còn lại (cao WA). Cao TP sẽ được xác định thành phần hóa thực vật theo phương pháp Culei cải tiến và tất cả các cao chiết đều được sử dụng để thực hiện thí nghiệm thử các hoạt tính (Hình 1) [7]. Độ ẩm các cao TP, HE, CF, BU WA lần lượt là 15.24%, 4.93%, 8.20%, 14.53%, 18.40%.



Hình 1. Sơ đồ chiết cao

2.2.2. Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

2.2.2.1. Quy trình thực hiện phương pháp khuếch tán giếng thạch

Đổ 10mL môi trường Mueller Hinton Agar (MHA) lên đĩa petri (đường kính 90 mm) vô trùng và để đông thạch. Tiến hành chuyển dịch nuôi vi khuẩn (đạt nồng độ chuẩn hóa tương ứng với độ đục của thang McFarland 0.5) lên bề mặt của đĩa petri thạch đã đông. Dùng que đục lỗ vô trùng đục lên đĩa thạch để tạo các giếng có đường kính 6 mm. Sau đó cho 20 μ L cao chiết (nồng độ 50 mg/mL) vào và giữ ở nhiệt độ phòng trong vòng 1 giờ để cao chiết khuếch tán rồi đem đĩa petri ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau 24 giờ, tiến hành đo đường kính vòng ức chế (IZD - vùng mà vi khuẩn không mọc và bề mặt thạch vẫn nhẵn bóng) bằng cách sử dụng thước đo đường kính vòng kháng khuẩn để đo. Ciprofloxacin (10 μ g/mL) được sử dụng làm đối chứng dương cho thí nghiệm này. Chứng âm được sử dụng là DMSO 1%. Đường

kính cùng kháng khuẩn không bao gồm đường kính giếng. Lặp lại quy trình trên 3 lần để tính giá trị trung bình của IZD [8].

2.2.2.2. Quy trình thực hiện bằng phương pháp pha loãng thạch

9mL dịch thạch được đổ vào các đĩa petri vô trùng chứa 1 mL các dung dịch pha loãng khác nhau của cao chiết nhằm thu được một dãy môi trường thạch với nồng độ giảm dần một nửa (từ nồng độ ban đầu là 5 mg/mL). Dịch nuôi vi khuẩn được chuyển lên bề mặt thạch các thể tích dịch nuôi vi khuẩn 10 μ L mỗi loài vi khuẩn. Các đĩa MHA này sẽ được ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ là 37°C. Sau 24 giờ, tiến hành đánh giá kết quả bằng cách xác định giá trị MIC (nồng độ tối thiểu của các chất được nghiên cứu ức chế hoàn toàn sự phát triển của từng vi sinh vật). Ciprofloxacin được sử dụng làm mẫu đối chứng dương cho thí nghiệm này. Lặp lại quy trình trên 3 lần để tính giá trị trung bình để đánh giá chính xác kết quả.

Ở nồng độ mẫu bắt đầu có mọc khuẩn lạc thì giá trị MIC được xác định là nồng độ phía trước nó (gấp 2 lần) [8].

2.2.3. Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng nấm của cao chiết

2.2.3.1. Quy trình thực hiện phương pháp khuếch tán giếng thạch

Trải đều 100 μ L huyền dịch vi nấm (đạt nồng độ chuẩn hóa tương ứng với độ đục của thang McFarland 0.5) lên bề mặt của môi trường thạch Sabouraud có kháng sinh đã đông. Để hộp mở nắp trong tủ ẩm 3 - 5 phút cho ráo mặt. Dùng dụng cụ đục lỗ vô trùng đục lên đĩa thạch để tạo các giếng có đường kính 6 mm. Sau đó, cho 20 μ L dịch cao chiết (nồng độ 50 mg/mL) đã được pha loãng với các nồng độ khác nhau vào mỗi giếng. Chứng dương được sử dụng là Fluconazole với nồng độ 10 μ g/mL. Chứng âm được sử dụng là DMSO 1%. Để yên khoảng 15 phút cho các dịch cao chiết thử nghiệm khuếch tán vào môi trường. Các đĩa môi trường được ủ ở 30°C trong thời gian 48 giờ. Đường kính vùng kháng khuẩn không bao gồm đường kính giếng. Lặp lại quy trình trên 3 lần để tính giá trị trung bình của IDZ [9].

2.2.3.2. Quy trình thực hiện bằng phương pháp pha loãng thạch

Môi trường thử nghiệm thạch Sabouraud có kháng sinh được chuẩn bị bằng cách đổ 9 mL dịch thạch vào các đĩa Petri vô trùng chứa 1 mL tạo thành một dãy nồng độ cao chiết theo nguyên tắc giảm dần một nửa (từ nồng độ ban đầu là 5 mg/mL). Sử dụng 10 μ L huyền dịch của vi nấm (đạt nồng độ chuẩn hóa tương ứng với độ đục của thang McFarland 0.5) chấm lên bề mặt của môi trường thạch đã đông. Chứng dương được sử dụng là Fluconazole. Các đĩa môi trường được ủ ở 30°C trong thời gian 48 giờ. Thí nghiệm lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình của MIC. Ở nồng độ mẫu bắt đầu có mọc khuẩn lạc thì giá trị MIC được xác định là nồng độ phía trước nó (gấp 2 lần) [9].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa thực vật của Hải kim sa

Kết quả phân tích thành phần hóa thực vật của cao TP của *L. japonicum* cho thấy có sự có mặt của carotenoid, polyphenol, flavonoid, saponin, alkaloid, coumarin, phytosterol, acid hữu cơ, tanin là những hợp chất có hoạt tính cao (Bảng 1). Nhiều loài trong cùng chi *Lygodium* cũng chứa các nhóm hợp chất này như *Lygodium flexuosum*, *Lygodium venustum*, *Lygodium microphyllum* [10 - 12].

Bảng 1. Thành phần hóa thực vật của các hợp chất có trong cao TP của *L. japonicum*

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Kết quả
Carotenoid	Ether dầu hỏa, H ₂ SO ₄ đặc	+++
OH Phenol	Dung dịch FeCl ₃	+++
Flavonoid	Bột Mg, HCl đậm đặc	+++
Saponin	Phản ứng tạo bọt	+++
Alkaloid	Thuốc thử Dragendoff	++
Tanin	Thuốc thử gelatin muối	+++
Coumarin	NaOH 10%	+++
Phytosterol	Chloroform và H ₂ SO ₄ đậm đặc	+++
Antranoid	H ₂ SO ₄ 1N và NaOH 10%	-
Đường khử	Fehling A và Fehling B (đường khử),	+++
Chất béo	Vết mờ trên giấy	-
Anthrocyanidin	HCl 5% và NaOH 5%	-

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Kết quả
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	+++
Polysaccharid	Thuốc thử Lugol	-
Triterpenoid	Chloroform và H ₂ SO ₄ đậm đặc	-

3.2. Khả năng ức chế vi khuẩn của các cao chiết từ Hải kim sa

Khả năng ức chế hai vi khuẩn gram âm là *P. aeruginosa* và gram dương *S. aureus* của cao TP và các cao phân đoạn cho thấy hầu hết các cao chiết đều có hoạt tính kháng khuẩn trừ cao phân đoạn nước (Bảng 2 và 3). Điều này có thể do các hợp chất như carotenoid, OH Phenol, flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, coumarin, phytosterol có khả năng kháng khuẩn [10 - 12] trong thành phần của *L. japonicum* (Bảng 1).

Đồng thời, kết quả ghi nhận rằng cao TP có hoạt tính khá cao, mạnh hơn hầu hết các phân đoạn có thể là do sự tác động hỗ trợ của các nhóm hợp chất có trong thành phần của *L. japonicum*. Flavonoid, alkaloid và polyphenol là những nhóm hợp chất được xem là có khả năng kháng khuẩn mạnh, các nhóm hợp chất này có thể phân bố trong cao TP và các cao phân đoạn HE, CF, BU [13, 14] nên có thể tạo ra hoạt tính kháng khuẩn cho các cao phân đoạn này.

Bảng 2. Khả năng ức chế *P. aeruginosa* của các cao chiết từ *L. japonicum*

Mẫu nghiên cứu	Đường kính vùng ức chế (mm)				MIC (µg/mL)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
TP	12	12	12	12.00 ± 0.00	156.25
HE	13	11	12	12.00 ± 1.00	312.5
CF	13	12	13	12.67 ± 0.58	156.25
BU	11	9	9	9.67 ± 1.15	625.00
WA	0	0	0	0.00 ± 0.00	0.00
Ciprofloxacin	44	42	45	43.67 ± 1.53	0.016

Các nhóm hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế *S. aureus* cao như flavonoid, alkaloid, polyphenol, saponin trong *L. japonicum* [13, 14] đều được phân bố chủ yếu ở cao TP và các cao phân đoạn HE, CF, BU nên các cao này có hoạt tính ức chế *S. aureus*. Nghiên cứu sẽ tiếp tục nhằm thu nhận dữ liệu về thành phần hóa thực vật trong các cao phân đoạn để xác định hợp chất có khả năng ức chế *S. aureus*. Trong nghiên cứu của Subba và

cộng sự, cao ethanol của *L. japonicum* không có khả năng ức chế *S. aureus* khi thử nghiệm kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch ở nồng độ 0.8 (mg cao/giếng) [13] cho thấy hoạt tính của *L. japonicum* có thể thay đổi theo vùng sinh thái. Điều này cho thấy cần có những nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học của *L. japonicum* để có thể xác định rõ khả năng kháng khuẩn của dược liệu này.

Bảng 3. Khả năng ức chế *S. aureus* của các cao chiết từ *L. japonicum*

Mẫu nghiên cứu	Đường kính vùng ức chế (mm)				MIC (µg/mL)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
TP	13	13	13	13.00 ± 0.00	78.125
HE	11	11	11	11.00 ± 0.00	312.50

Mẫu nghiên cứu	Đường kính vùng ức chế (mm)				MIC (µg/mL)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
CF	11	12	11	11.33 ± 0.58	156.25
BU	8	9	9	8.67 ± 0.58	625.00
WA	0	0	0	0.00 ± 0.00	0.00
Ciprofloxacin	32	33	31	32.00 ± 1.00	0.25

3.3. Khả năng ức chế *Candida albicans* của các cao chiết từ Hải kim sa

Nồng độ các cao chiết trong thí nghiệm khảo sát đường kính vùng ức chế của các cao chiết là 50 mg/mL và chứng dương Fluconazol là 10 µg/mL. Nấm *C. albicans* gây nên những nhiễm trùng da, nhiễm trùng huyết và nhiễm trùng tiêu hóa trong đó nhiễm trùng da là nghiêm trọng và xảy ra thường xuyên nhất. Các hợp chất có trong *L. japonicum* có khả năng ức chế nấm *C. albicans* [10, 12, 15] nên cao toàn phần và các cao phân đoạn từ *L. japonicum* có hoạt tính

kháng nấm này.

Cao BU và WA không có hoạt tính ức chế *C. albicans* như ghi nhận có thể là do các nhóm hợp chất có thể có trong cao này không có khả năng ức chế nấm *C. albicans* (Bảng 4). Kết quả nghiên cứu còn chỉ ra rằng, cao TP có hoạt tính ức chế *C. albicans* vượt trội so với các cao phân đoạn, điều này có thể là do các hợp chất có khả năng kháng nấm hiện diện nhiều và tác dụng hỗ trợ nhau, đây là một kết quả cần được ghi nhận và có thể sẽ cần được nghiên cứu phân tích rõ hơn.

Bảng 4. Khả năng ức chế *C. albicans* của các cao chiết từ *L. japonicum*

Mẫu nghiên cứu	Đường kính vùng ức chế (mm)				MIC (µg/mL)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
TP	12	13	13	12.67 ± 0.58	156.25
HE	10	11	11	10.67 ± 0.58	312.5
CF	9	9	10	9.33 ± 0.58	312.5
BU	0	0	0	0.00 ± 0.00	0.00
WA	0	0	0	0.00 ± 0.00	0.00
Fluconazol	14	15	14	14.33 ± 0.58	0.25

Trên thực tế, *L. japonicum* là loài thực vật mọc hoang rất nhiều ở Việt Nam. Với kết quả ban đầu thu nhận được này đã cho thấy *L. japonicum* có thể là là một loại dược liệu có tiềm năng ứng dụng sản xuất các chế phẩm điều trị các bệnh nhiễm khuẩn và nấm trên da.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao TP của *L. japonicum* có hoạt tính kháng khuẩn trên cả vi khuẩn gram dương, vi khuẩn gram âm và nấm

C. albicans. Tuy nhiên, cần thêm những nghiên cứu về tối ưu hóa quy trình chiết xuất và bào chế cao chiết này thành các dạng sản phẩm phù hợp. Đồng thời, cần thêm những nghiên cứu lâm sàng để chứng minh khả năng ứng dụng cao chiết này để sản xuất các sản phẩm chăm sóc da.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC17.60.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L. F. McCaig, L. C. McDonald, S. Mandal, and D. B. Jernigan, "Staphylococcus aureus-associated skin and soft tissue infections in ambulatory care," *Emerg Infect Dis*, vol. 12, no. 11, p. 1715, 2006.
- [2] E. Rossi *et al.*, "Pseudomonas aeruginosa adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis," *Nat Rev Microbiol*, vol. 19, no. 5, pp. 331-342, 2021.
- [3] A. A. Rabaan *et al.*, "Potential strategies to control the risk of antifungal resistance in humans: A comprehensive review," *Antibiotics*, vol. 12, no. 3, p. 608, 2023.
- [4] L. Zhu *et al.*, "A new compound from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.," *Nat Prod Res*, vol. 23, no. 14, pp. 1284-1288, 2009.
- [5] E. Yadav, M. Mani, P. Chandra, N. Sachan, and A. K. Ghosh, "A review on therapeutic potential of *Lygodium flexuosum* Linn," *Pharmacogn Rev*, vol. 6, no. 12, p. 107, 2012.
- [6] M. F. B. Morais-Braga *et al.*, "Antimicrobial and modulatory activity of ethanol extract of the leaves from *Lygodium venustum* SW," *Am Fern J*, vol. 102, no. 2, pp. 154-160, 2012.
- [7] Bộ Y Tế, *Dược điển V, tập 2*. NXB Y học, 2017.
- [8] F. A. Onyegbule, I. O. Ilouno, P. M. Eze, C. C. Abba, and V. U. Chigozie, "Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities of leaf extracts of *Breynia nivos*," *Chemical Science Review and Letters*, 2014.
- [9] W. PA, "Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard," *CLSI document M27-A2*, 2002.
- [10] R. Rusman, E. Octaviani, E. Rosamah, M. Hendra, W. Fatriasari, and I. W. Kusuma, "Phytochemicals and biological activities of selected invasive medicinal plants," in *AIP Conference Proceedings*, Vol. 3095, No.1, AIP Publishing, 2024.
- [11] J. Marimuthu, N. Janakiraman, J. Chandra Saleride, A. Sivaraman, B. Shivananthini, and K. Paulraj, "Biopotency of pteridophytes: a review," *Ferns: Biotechnology, Propagation, Medicinal Uses and Environmental Regulation*, pp. 481-519, 2022.
- [12] Z. Guo-Gang, H. Ying-Cui, L. Hong-Xia, Z. Lin-Xia, and C. Li-Juan, "The Research of *Lygodium*," *Drug Discovery Research in Pharmacognosy*, p. 77, 2012.
- [13] B. Subba, A. Sharma, A. Budhathoki "Assessment of phytochemical content, antioxidant and antibacterial activities of three medicinal plants of Nepal," *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(45), 829-837, 2016
- [14] S. Kayastha, M. Shrestha, H. K. Chaudhary, K. K. Shrestha, K. Das, K., & B. H. P. Manandhar, "Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activity Of Crude Extracts From Selected Medicinal Plants," *International Journal of Medicine & Biomedical Sciences*, 1, 23-27, 2018.
- [15] A. Zida, S. Bamba, A. Yacouba, R. Ouedraogo-Traore, and R. T. Guiguemdé, "Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review," *J Mycol Med*, vol. 27, no. 1, pp. 1-19, 2017.

Determination of antibacterial and antifungal properties of *Lygodium japonicum* (Thunb) Sw. leaf extract

Tran Huu Thanh, Dinh Ngoc Phung, Le Tan Phat,
Ngo Ngoc Nhu Y and Bui Thanh Phong

ABSTRACT

*Background: Skin infections and fungal infections are common diseases. Chemical drugs have many side effects, so herbal extracts are increasingly being studied. Research objectives: This study was conducted to determine the ability of extracts from *Lygodium japonicum* to inhibit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. Research objects and methods: *Lygodium japonicum* was extracted using 70% alcohol and then concentrated to obtain the total alcohol extract (TP extract). A part*

of the TP extract was dissolved in water, then fractionated with solvents such as *n*-hexane, chloroform, and *n*-butanol to obtain the corresponding extracts HE extract, CF extract, BU extract, and the remaining aqueous solution was water extract (WA extract). TP extract was surveyed for chemical composition. TP extract and fractionated extracts were determined for antibacterial and antifungal activity. Results: TP extract of *Lygodium japonicum* mainly contains carotenoids, polyphenols, flavonoids, saponins, alkaloids, coumarins, phytosterols, organic acids, and tannins. The highest inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* activity was in CF extract with an inhibition zone diameter (mm) of 12.67 ± 0.58 (mm) and MIC ($\mu\text{g/mL}$) of 156.25 ($\mu\text{g/mL}$). The highest inhibition of *Staphylococcus aureus* activity was in TP extract with an inhibition zone diameter (mm) of 13.00 ± 0.00 (mm) and MIC ($\mu\text{g/mL}$) of 78.125 (mm). The highest inhibition of *Candida albicans* activity was in TP extract with an inhibition zone diameter (mm) of 12.67 ± 0.58 (mm) and MIC ($\mu\text{g/mL}$) of 156.25 ($\mu\text{g/mL}$). Conclusion: *Lygodium japonicum* has antibacterial properties against *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* and antifungal properties against *Candida albicans*.

Keywords: *Lygodium japonicum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

Received: 28/11/2024

Revised: 05/3/2025

Accepted for publication: 10/3/2025