

DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.047

HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA MỘT SỐ CAO CHIẾT THẢO DƯỢC KHÁNG VI KHUẨN GÂY BỆNH Ở TÔM NUÔI

Hồng Mộng Huyền^{1*}, Võ Tấn Huy² và Trần Thị Tuyết Hoa¹

¹Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

²Học viên ngành Nuôi trồng Thủy sản K23, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Hồng Mộng Huyền (email: hmhuyen@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 28/06/2018

Ngày duyệt đăng: 30/07/2018

Title:

Antimicrobial activity of herbal extracts against shrimp pathogenic bacteria

Từ khóa:

Chất chiết thảo dược, hoạt tính kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC), *Vibrio*

Keywords:

Antimicrobial activity, herbal extracts, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), *Vibrio*

ABSTRACT

This study was carried out to determine the antimicrobial activity of seven herbal extracts (*Ricinus communis* L., *Hedyotis corymbosa* L., *Vernonia amygdalina* del., *Moringa oleifera*, *Callisia fragrans*, *Acanthus ilicifolius* L. and *Wedelia calendulacea* (L) Less) which were collected in the Mekong Delta. Antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) of the seven herbal extracts were screened for two common shrimp pathogens (*Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus*). The results showed that (i) seven herbal extracts have different antimicrobial activity; the extract of *R. communis* showed the highest diameter of the inhibition zone from 17 - 18 mm, followed by the extracts of *V. amygdalina* del., *M. oleifera*, *A. ilicifolius* L. and *W. calendulacea* (L) Less. with the inhibition zone range of 10 - 11 mm. Similarly, the smallest inhibition zone was recorded for the extracts of *H. corymbosa* L. and *C. fragrans*) at 7 and 8 mm, respectively; (ii) The results suggested that were also found to be effective at the extract of *R. communis* L for against *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, with MIC and MBC values were 1.25 mg ml⁻¹ and 2.5 mg ml⁻¹; 2.5 mg ml⁻¹ và 5.0 mg ml⁻¹, respectively.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của bảy loại chất chiết thảo dược (thầu dầu, lười rần, mật gấu, chùm ngây, lược vàng, ô rô và sài đất) với nguyên liệu được thu ở vùng Đồng bằng Sông Cửu Long. Hoạt tính kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của bảy loại cao chiết thảo dược được sàng lọc trên hai chủng vi khuẩn thường gây bệnh cho tôm nuôi (*Vibrio harveyi* và *Vibrio parahaemolyticus*). Kết quả ghi nhận: Bảy loại cao chiết có hoạt tính kháng khuẩn khác nhau, trong đó cao chiết thầu dầu (*Ricinus communis* L.) cho hiệu quả cao nhất với đường kính vòng vô khuẩn 17 - 18 mm, kế đến là cao chiết mật gấu (*Vernonia amygdalina* del.), chùm ngây (*Moringa oleifera*), ô rô (*Acanthus ilicifolius* L.) và sài đất (*Wedelia calendulacea* (L) Less.) với đường kính vòng vô khuẩn ở mức trung bình từ 10 - 11 mm. Ngược lại, đường kính vòng vô khuẩn thấp nhất trên cả hai chủng vi khuẩn thu được từ dịch chiết cây lười rần (*Hedyotis corymbosa* L.) và lược vàng (*Callisia fragrans*) với vòng kháng khuẩn tương ứng là 7 mm và 8 mm; Kết quả cũng được xác định hiệu quả ở cao chiết thầu dầu đối với *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, tương ứng với giá trị MIC và MBC là 1,25 mg/ml và 2,5 mg/ml; 2,5 mg/ml và 5,0 mg/ml.

Trích dẫn: Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy và Trần Thị Tuyết Hoa, 2018. Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh ở tôm nuôi. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 143-150.

1 GIỚI THIỆU

Nghề nuôi tôm hiện nay đang được đầu tư và định hướng phát triển mang tính bền vững, thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, việc thâm canh hóa nâng cao năng suất kết hợp với điều kiện biến đổi khí hậu tại vùng nuôi đã làm gia tăng tình hình dịch bệnh ở hầu hết các mô hình nuôi tôm thương phẩm. Do vậy, việc tìm ra các giải pháp giúp tăng cường hệ miễn dịch tôm, giúp phòng bệnh cho tôm nuôi là điều cần thiết (Pholdaeng and Pongsamart, 2010)

Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã xác định hiệu quả của việc sử dụng chiết xuất thảo dược giúp tôm, cá tăng trưởng tốt, tăng cường hệ miễn dịch và ức chế vi khuẩn gây bệnh (Citarasu, 2010; Saptiani *et al.*, 2013; Reverter *et al.*, 2014, Syahidah *et al.*, 2015). Nhiều loại thảo dược đã được xác định có hoạt tính sinh học cao cũng như có khả năng kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm, ký sinh trùng, kích thích tăng trưởng, kích thích tuyến sinh dục thành thực, chống stress, tăng cường miễn dịch (Citarasu, 2010). Một nghiên cứu về thảo dược ở Trung Quốc cho thấy cao chiết từ năm loại thảo dược (*Stellaria aquatica*, *Impatiens Biflora*, *Oenothera biennis*, *Artemisia vulgaris* và *Lonicera japonica*) có khả năng chống lại 13 loại vi khuẩn gây bệnh cá, đặc biệt là vi khuẩn *Aeromonas salmonicida* và *Edwardsiella ictaluri* (Shangliang *et al.*, 1990). Cây quế đã được xác định có hoạt tính kháng khuẩn chống lại vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh trên cá rô phi (Ahmad *et al.*, 2011). Ở Ấn Độ, chiết xuất *Rosmarinus officinalis* được dùng trị bệnh cho cá rô phi (*Oreochromis sp.*) bị nhiễm *Streptococcus* (Abutbul *et al.*, 2004), hay chiết xuất hạnh nhân được dùng trị ký sinh trùng và vi khuẩn *A. hydrophila* (Chitmanat *et al.*, 2003). Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu sử dụng thảo dược trên tôm. Năm 2010, Guo *et al.*, đã sàng lọc nhiều loại thảo dược nhằm chống lại vi khuẩn *Vibrio harveyi* gây bệnh trên tôm thẻ chân trắng, trong đó có 26 loại thảo dược được khảo sát, kết quả cho thấy khi kết hợp nhiều loại thảo dược cho hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với dùng đơn. Ở Việt Nam, tác dụng diệt khuẩn của cao chiết lá sim và hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) đã được xác định đối với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính với kết quả đường kính vòng vô khuẩn đạt được là 17,67 mm đối với chủng *V. parahaemolyticus* KC13.14.2, 18 mm với chủng *V. parahaemolyticus* KC12.02.0 và 19,3 mm với chủng *Vibrio sp.* KC13.17.5 (Đặng Thị Lụa và *ctv.*, 2015). Cao chiết methanol cây cỏ mực cũng được thử nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn với 12 chủng vi khuẩn *Vibrio spp.* được phân lập từ 30 mẫu ruột tôm sú, thu từ sáu ao nuôi khác nhau. Thử nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cỏ mực được thực hiện ở các nồng độ 8, 16, 32, 64

và 128 µg/mL. Hiệu quả kháng khuẩn ghi nhận ở 10/12 chủng vi khuẩn phân lập, trong đó nồng độ 8 µg/mL cho đường kính vòng kháng khuẩn đạt 30,3 mm đối với chủng G5, chủng được xác định có tỉ lệ tương đồng 99% với *V. parahaemolyticus* (Đái Thị Xuân Trang và *ctv.*, 2015).

Bên cạnh đó, thảo dược với nhiều ưu điểm như rẻ, dễ chuẩn bị, hiệu quả phòng bệnh cao do dễ hấp thu, ít tác dụng phụ trong quá trình điều trị bệnh và không ảnh hưởng đến môi trường cũng như không nguy hiểm đến đối tượng nuôi (Ngo Van Hai, 2015). Tuy nhiên, ở Việt Nam, thông tin khoa học về việc sử dụng chiết xuất thảo dược ức chế vi khuẩn, đặc biệt là vi khuẩn gây bệnh trên tôm nuôi vẫn còn hạn chế. Trên cơ sở đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát tiềm năng thảo dược vùng Đồng bằng sông Cửu Long trong nghề nuôi thủy sản nói chung và nghề nuôi tôm nói riêng. Kết quả nghiên cứu nhằm đóng góp thông tin khoa học cho việc định hướng về khả năng ứng dụng thảo dược vào qui trình nuôi tôm, nhằm hạn chế việc sử dụng thuốc và hóa chất trong nuôi thủy sản.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguồn thảo dược

Nghiên cứu được thực hiện trên bảy loại thảo dược ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long bao gồm: lá thầu dầu *Ricinus communis* L., cây lưỡi răn *Hedyotis corymbosa* L., lá mật gấu *Vernonia amygdalina* del., lá chùm ngây *Moringa oleifera* lá lược vàng *Callisia fragrans*, cây ô rô *Acanthus ilicifolius* L. và cây sài đất *Wedelia calendulacea* (L) Less.

Cây thảo dược được rửa sạch, sấy khô ở 60°C và nghiền thành bột. Bột thảo dược ngâm với methanol có tỉ lệ 1:10 trong 3 ngày. Sau đó dịch chiết được lọc qua giấy lọc Whatman No. 1 và cô quay chân không ở 48°C để loại bỏ dung môi. Hiệu suất chiết xuất: được xác định là % hiệu suất chiết xuất thảo dược và được xác định bằng công thức (Turker *et al.*, 2009):

$$\text{Hiệu suất (\%)} = \frac{[\text{khối lượng chất chiết xuất (g)}]}{[\text{khối lượng mẫu bột khô (g)}]} * 100$$

2.2 Nguồn vi khuẩn

Vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio harveyi* sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất thảo dược được chọn từ bộ sưu tập của Bộ môn Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

Vi khuẩn được phục hồi trên môi trường Nutrient agar bổ sung 1,5% NaCl (NA-1,5% NaCl) sau đó tái định danh lại bằng phương pháp PCR. (i)

Qui trình PCR phát hiện vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với thành phần hóa chất tham gia phản ứng và điều kiện chu kỳ nhiệt được thực hiện theo phương pháp của Sritunyalucksana *et al.* (2014). (ii) Qui trình PCR phát hiện *V. harveyi* với thành phần hóa chất tham gia phản ứng và điều kiện chu kỳ nhiệt được thực hiện theo phương pháp của Trần Thị Tuyết Hoa (2014).

2.3 Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn

Vi khuẩn (*V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*) được nuôi trong môi trường Nutrient broth có bổ sung 1,5% NaCl (NB-1,5% NaCl) và ủ ở 28°C trong 24 giờ, sau đó điều chỉnh mật số vi khuẩn bằng với McFarland 0.5. Vi khuẩn được trải trên môi trường NA-1,5% NaCl. Đặt các đĩa giấy đã được tẩm cao chiết xuất thảo dược lên đĩa môi trường có vi khuẩn, sau đó ủ ở 28°C trong 24 giờ. Sử dụng cefotaxime (30 µg) và methanol làm đối chứng. Mỗi loại thảo dược và loài vi khuẩn được lặp lại 3 lần. Khả năng kháng khuẩn của các loại thảo dược được xác định bằng cách đo đường kính của vùng ức chế tăng trưởng của vi khuẩn (Oometta-aree *et al.*, 2006).

2.4 Nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration - MIC)

Chọn cao chiết xuất thảo dược có hoạt tính kháng khuẩn nhạy để thực hiện khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu (MIC). Vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* được nuôi trong môi trường NB-1,5% NaCl. Điều chỉnh mật số vi khuẩn bằng với McFarland 0.5, sau đó pha loãng dung dịch vi khuẩn 100 lần. Mỗi chiết xuất thảo dược được pha loãng

bằng methanol với tỉ lệ 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16,... và cho vào môi trường lỏng NB-1,5% NaCl có chứa vi khuẩn và ủ ở 28°C trong 24 giờ. Mỗi loại thảo dược kết hợp với vi khuẩn được lặp lại 2 lần. MIC của chiết xuất thảo dược được xác định là nồng độ thấp nhất của chiết xuất trong môi trường lỏng không có vi khuẩn phát triển (Oometta-aree *et al.*, 2006).

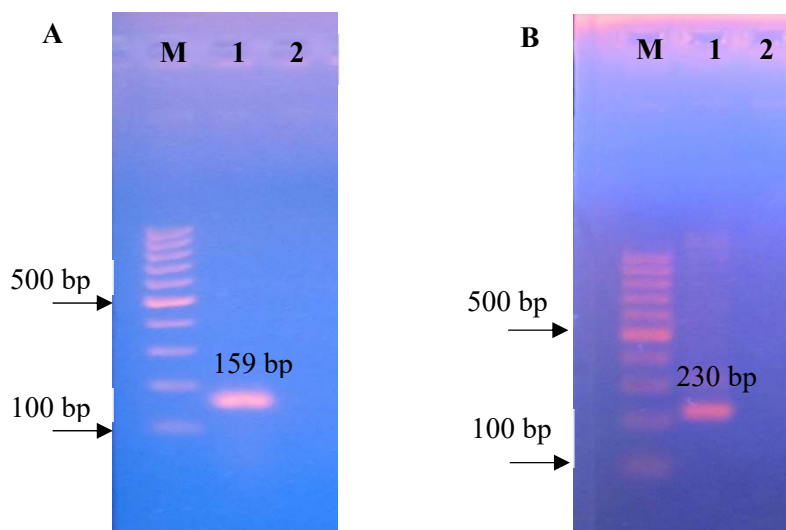
2.5 Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (minimum bactericidal concentration -MBC)

Trong thử nghiệm MIC, các độ pha loãng thảo dược ức chế sự phát triển của vi khuẩn được sử dụng để kiểm tra nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) bằng phương pháp đếm trên đĩa thạch TCBS. Mỗi loại thảo dược kết hợp với vi khuẩn được lặp lại 3 lần. MBC của chiết xuất thảo dược được xác định là nồng độ thấp nhất của chiết xuất trong môi trường lỏng không có vi khuẩn phát triển (Oometta-aree *et al.*, 2006).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược đối với vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*

Chủng vi khuẩn *V. harveyi* gây bệnh phát sáng và chủng *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm được phục hồi và định danh lại bằng phương pháp PCR. Kết quả điện di sản phẩm PCR với vạch sáng có trọng lượng phân tử 159 bp tương ứng với chủng *V. harveyi* (Hình 1A) và vạch sáng có trọng lượng phân tử 230 bp tương ứng với chủng *V. parahaemolyticus* (Hình 1B). Do đó, hai chủng vi khuẩn này được sử dụng cho thí nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của bảy loại cao chiết thảo dược.



Hình 1: Kết quả điện di sản phẩm PCR đối với 2 chủng vi khuẩn *Vibrio*

(A) Vi khuẩn *V. harveyi*: giếng M: thang ADN 100 bp, giếng 1: chủng *V. harveyi*, giếng 2: đối chứng âm.

(B) Vi khuẩn *V. parahaemolyticus*: giếng M: thang ADN 100 bp, giếng 1: chủng *V. harveyi*, giếng 2: đối chứng âm.

Cao chiết thảo dược được thu hồi thông qua hệ thống cô quay chân không. Hiệu suất chiết xuất được xác định dựa vào khối lượng cao chiết thu được sau khi loại bỏ hoàn toàn dung môi methanol.

Kết quả ghi nhận hiệu suất chiết xuất thu được cao nhất đối với mật gấu (24,8%), kế đến là thầu dầu (23,5%), chùm ngây (15,3%), lược vàng (10,8%) và cuối cùng là lưỡi rắn (8,2%) (Bảng 1).

Bảng 1: Hiệu suất chiết xuất của cao chiết thảo dược

Thảo dược	Tên khoa học	Khối lượng thảo dược bột khô (g)	Khối lượng thảo dược chiết xuất (g)	Hiệu suất (%)
Thầu dầu	<i>R. communis</i> L.	100	23,5	23,5
Lưỡi rắn	<i>H. corymbosa</i> L.	100	8,2	8,2
Mật gấu	<i>V. amygdalina</i> del.	100	24,8	24,8
Chùm ngây	<i>M. oleifera</i>	100	15,3	15,3
Lược vàng	<i>C. fragrans</i>	100	10,8	10,8
Ô rô	<i>A. ilicifolius</i> L.	-	-	-
Sài đất	<i>W. calendulacea</i> (L) Less	-	-	-

Ghi chú: -: Không xác định

Như vậy, những loại thảo dược khác nhau cho kết quả khối lượng cao chiết thảo dược và hiệu suất chiết xuất khác nhau. Turker *et al.* (2009) cho rằng với từng loại dung môi khác nhau thì có hiệu suất chiết xuất khác nhau và hoạt chất thu được cũng khác nhau. Đặc biệt, đối với hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược thì việc sử dụng dung môi cồn (methanol, ethanol) sẽ cho hiệu quả cao hơn so với chiết xuất bằng nước (Turker *et al.*, 2009), hay hexane, ethyl axetat (Rosell and Srivastava, 1987; Febles *et al.*, 1995). Cụ thể, kết quả báo cáo của Turker *et al.* (2009) cho thấy, cao chiết thảo dược được chiết xuất bằng ethanol, methanol sẽ có hiệu quả kháng khuẩn cao hơn nước, ở cả vi khuẩn Gram âm, Gram dương; đồng thời nhóm tác giả cũng cho

rằng các cao chiết này rất có tiềm năng trong việc kiểm soát dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản. Methanol là dung môi phân cực cao, có khả năng hòa tan được những hợp chất tự nhiên có trong thảo dược (El-Mahmood and Doughari, 2008). Bên cạnh đó, trong tự nhiên những hợp chất này ở thực vật có khả năng bảo vệ chúng khỏi vi sinh vật gây bệnh (Cowan, 1999).

Bây loại cao chiết thảo dược được sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn với hai chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. gây bệnh trên tôm nuôi. Kết quả xác định hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết thảo dược đối với vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* được trình bày qua Bảng 2.

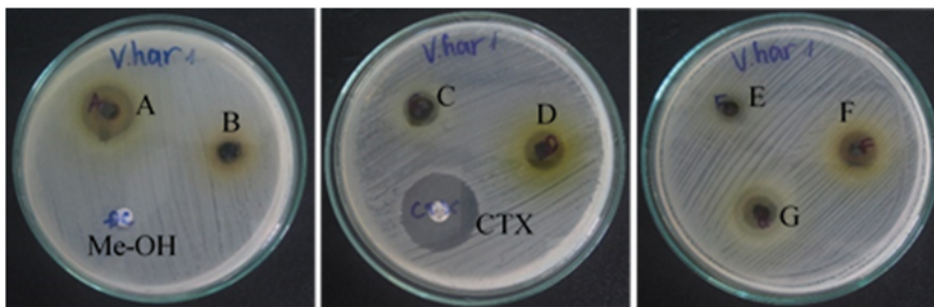
Bảng 2: Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết thảo dược đối với vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm

Cao chiết	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	
	<i>V. harveyi</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
Thầu dầu (40 mg)	18,0±1,4	17,5±0,7
Lưỡi rắn (40 mg)	7,0±0,0	7,0±0,0
Mật gấu (40 mg)	11,0±0,0	9,5±0,7
Chùm ngây (40 mg)	11,0±0,0	9,0±0,0
Lược vàng (40 mg)	8,0±0,0	7,5±0,7
Ô rô (40 mg)	10,5±0,7	9,0±1,4
Sài đất (40 mg)	10,0±0,0	8,0±1,4
Cefotaxime (CTX-30 µg)	22,5±2,1	26,0±1,4
Methanol (Đối chứng)	0,0±0,0	0,0±0,0

Kháng: ≤ 9mm; Trung bình: ≥ 10 – 13mm; Nhạy: ≥ 14mm (Lorian, 1995); Kháng sinh cefotaxime (CTX): 30 µg

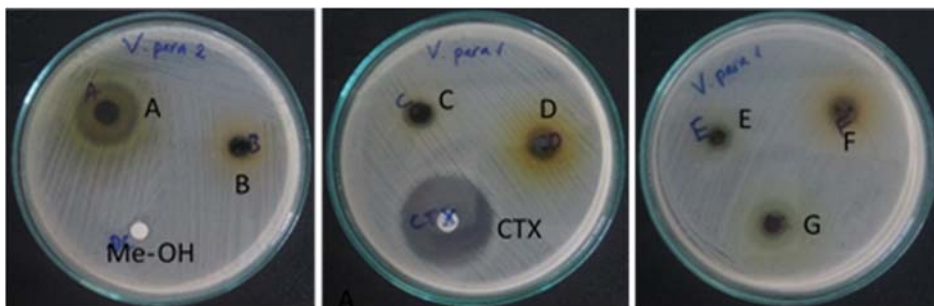
Hầu hết các loại cao chiết thảo dược dùng trong nghiên cứu đều có khả năng ức chế sự phát triển của *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*. Cụ thể, thầu dầu cho thấy khả năng kháng *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* rất tốt với đường kính vòng kháng khuẩn tương ứng là 18,0±1,4 mm và 17,5±0,7 mm. Nhóm cao chiết mật gấu, chùm ngây, ô rô, sài đất có khả năng kháng *V. harveyi* ở mức trung bình (đường

kính vòng kháng khuẩn ≥ 10 mm), trong khi lưỡi rắn và lược vàng thì gần như không thể hiện được hoạt tính kháng khuẩn đối với chủng vi khuẩn này (Hình 2). Tuy nhiên, đối với *V. parahaemolyticus*, nhóm cao chiết mật gấu, chùm ngây, ô rô, sài đất cho thấy hiệu quả thấp hơn (đường kính vòng kháng khuẩn ≥ 8,0 – 9,5 mm), cây lưỡi rắn và lược vàng cũng cho hiệu quả tương tự 7,0 mm và 7,5 mm (Hình 3).



Hình 2: Hoạt tính kháng vi khuẩn *V. harveyi* của các loại dịch chiết thảo dược

A: cao chiết thảo dầu, B: cao chiết lõi rắn, C: cao chiết mật gấu, D: cao chiết chùm ngây, E: cao chiết lược vàng, F: cao chiết ô rô, G: cao chiết sài đất, Me-OH: methanol, CTX: cefotaxime (30µg)



Hình 3: Hoạt tính kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của các loại dịch chiết thảo dược

A: cao chiết thảo dầu, B: cao chiết lõi rắn, C: cao chiết mật gấu, D: cao chiết chùm ngây, E: cao chiết lược vàng, F: cao chiết ô rô, G: cao chiết sài đất, Me-OH: methanol, CTX: cefotaxime (30µg)

Kết quả cho thấy các hợp chất tự nhiên được chiết xuất từ thảo dược có khả năng kháng khuẩn. Nghiên cứu của Hussain and Kumaresan (2013) đã chứng minh được hoạt tính kháng khuẩn đối với vi khuẩn Gram âm và Gram dương (*Bacillus*, *Klebisella*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas*) của cao chiết cây lõi rắn, hay khả năng ức chế và kháng lại vi khuẩn *Edwardsiella tarda*, *Edwardsiella ictaluri* và *Staphylococcus aureus* của cao chiết cây từ bì (*Blumea balsamifera* LINDL.) (Huỳnh Kim Diệu và Nguyễn Thị Cẩm Quyên, 2016). Tuy nhiên, một số hợp chất chiết xuất từ tự nhiên chỉ có thể diệt được một nhóm loại vi khuẩn, cụ thể như chiết xuất có chứa l'-acetoxyeugugenol acetate có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn Gram dương (*Staphylococcus cerevisiae*, *S. epidermidis*, *S. aureus* và *Bacillus cereus*), nhưng không ức chế sự phát triển của các vi khuẩn Gram âm (*Salmonella* spp., *E. coli* và *Enterobacter aerogenes*) (Oonmettaree *et al.*, 2006).

Saptiani *et al.* (2013) đã khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với vi khuẩn *V. harveyi* của cao chiết lá ô rô (*Acanthus ilicifolius*) ở dạng cao thô sau đó được phân đoạn trong các loại dung môi như n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, ethanol và methanol với

nồng độ từ 50 đến 1000 ppm. Kết quả cho thấy cao chiết lá ô rô ở phân đoạn ethyl acetate, ở dạng chiết xuất thô và ở phân đoạn n-butanol cho hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất, với đường kính kháng khuẩn đạt tương ứng 12 mm, 11,33 mm và 11 mm. Cây thảo dầu hay còn gọi là cây đu đủ tía, là loài thân gỗ nhỏ có nguồn gốc từ Ấn Độ, cây này phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Thành phần chính của lá cây thảo dầu bao gồm 3 monoterenoid (1,8-cineole, camphor và α -pinene) và 1 sesquiterpenoid (β -caryophyllene) (Darmanin *et al.*, 2009). Theo kết quả nghiên cứu của Immanuel *et al.* (2004), cao chiết thảo dầu có khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (MTC-451 – Viện Công nghệ vi sinh, Ấn Độ) với đường kính vòng kháng khuẩn $20,3 \pm 0,62$ mm. Tuy nhiên, ở báo cáo này, nhóm tác giả không đề cập đến nồng độ cao chiết xuất thảo dầu dùng để thực hiện khảo sát hoạt tính kháng khuẩn. Hiện nay, chiết xuất từ cây thảo dầu đã được nghiên cứu và được ứng dụng nhiều trong y học (chất chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn, ...) (Rana *et al.*, 2012).

3.2 MIC và MBC của thảo dược đối với vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*

Kết quả xác định hoạt tính kháng khuẩn cho thấy cao chiết thảo dầu kháng tốt (nhạy) đối với hai

chúng vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm, cho nên cao chiết thảo dầu sẽ được sử dụng để tiếp tục xác định MIC và MBC. Kết quả Bảng 3 cho thấy cao chiết từ cây thảo dầu có khả năng ức chế sự phát triển của các vi khuẩn *V.*

harveyi (1,25 mg/ml) và *V. parahaemolyticus* (2,5 mg/ml) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu được tìm thấy đối với hai chủng vi khuẩn này tương ứng là 2,5 mg/ml và 5,0 mg/ml (Bảng 3).

Bảng 3: Kết quả MIC và MBC của chất chiết thảo dầu đối với vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*

Vi khuẩn	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
<i>V. harveyi</i>	1,25	2,5	2,0
<i>V. parahaemolyticus</i>	2,5	5,0	2,0

Theo báo cáo của Canillac and Mourey (2001), nếu tỉ lệ MBC/MIC nhỏ hơn hoặc bằng 4, chiết xuất được xem là có khả năng diệt khuẩn; mặt khác, nếu tỉ lệ này lớn hơn 4, thì có tác dụng kìm khuẩn. Từ kết quả nghiên cứu MIC và MBC, chất chiết thảo dầu có khả năng diệt được vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm (MBC/MIC = 2,0). Theo kết quả nghiên cứu của Lawhavinit *et al.* (2011), cao chiết ethanol nghệ có nồng độ ức chế tối thiểu đối với *V. harveyi*, *V. cholera*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* và *V. fluvialis* lần lượt là 0,47; 0,47; 0,94; 0,47; 3; 75 và 0,47 mg/ml. Bên cạnh đó, dựa vào nồng độ ức chế tối thiểu mà nhóm tác giả còn cho rằng khi bổ sung cao chiết ethanol nghệ với một tỉ lệ 15 g/kg thức ăn sẽ giúp gia tăng tỉ lệ sống của tôm thẻ chân trắng chống lại vi khuẩn *V. harveyi* cao hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nhóm không bổ sung. Thảo dầu được dùng làm chất giàu hóa cho Artemia, sau đó dùng làm thức ăn cho ấu trùng tôm *Peneaus indicus* nhằm chống lại mầm bệnh vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (Immanuel *et al.*, 2004). Naz and Bano (2012) đã nghiên cứu tính kháng khuẩn của các cao chiết lá cây thảo dầu từ các dung môi methanol, ethanol và nước, kết quả khảo sát cho thấy cao chiết thảo dầu có tiềm năng kháng lại vi khuẩn Gram âm và Gram dương (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*). Bên cạnh đó, một số nghiên cứu khác về hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết thảo dầu cũng cho ra kết quả tương tự (Kota and Manthri, 2011; Jeyaseelan and Jashothan, 2012). Kamel (2001) cho rằng một số chất chiết xuất từ thực vật có khả năng kháng khuẩn giống như kháng sinh, chúng tác động vào màng tế bào của vi khuẩn, và đây có thể là một cơ chế kháng khuẩn quan trọng của các hợp chất tự nhiên có trong lá thảo dầu giúp chúng có khả năng kháng lại vi sinh vật gây bệnh trong tự nhiên. Ngoài ra, thông qua các nghiên cứu trong ống nghiệm, Kamel (2001) còn cho rằng nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh có liên quan đến nồng độ hoạt chất và độ tinh khiết của chiết xuất.

4 KẾT LUẬN

Chất chiết thảo dầu (*R. communis* L.) có hoạt tính kháng khuẩn cao nhất trong bảy loại chất chiết thảo được được khảo sát. Khả năng kháng khuẩn của chất chiết thảo dầu đối với vi khuẩn *V. harveyi* cao hơn so với *V. parahaemolyticus*. Cụ thể, đường kính kháng khuẩn 18,0±1,4 mm, MIC ở nồng độ 1,25 mg/ml, MBC ở nồng độ 2,5 mg/ml trên chủng *V. harveyi*; và tương ứng 17,5±0,7 mm, 2,5 mg/ml, 5,0 mg/ml trên chủng *V. parahaemolyticus*. Do đó, thông qua các kết quả đạt được, cao chiết thảo dầu có thể sử dụng như một chất có khả năng diệt khuẩn và có tiềm năng là nguồn thực phẩm giúp tôm nuôi tăng cường khả năng kháng vi khuẩn *V. harveyi* gây bệnh phát sáng và *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin cảm ơn sinh viên Nguyễn Thị Quế Anh, lớp Bệnh học Thủy sản K40 (Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ) đã tham gia quá trình phân tích mẫu dùng trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., and Zilberg, D., 2004. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*, 238(1-4): 97-105.

Ahmad, M.H., and Abdel-Tawwab, M., 2011. The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: Growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture* 314(1-4): 110-114.

Canillac, N., and Mourey A., 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, 18(3): 261-268.

Chitmanat, C., Tongdonmuan, K., Khanom, P., Pachontis, P., and Nunsong, W., 2003. Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a Terminalia catappa solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens. In III WOCMAP Congress

- on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 4: Targeted Screening of Medicinal and Aromatic Plants, Economics 678 (pp. 179-182).
- Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3): 403-414.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-582.
- Đái Thị Xuân Trang và Võ Thị Tú Anh, 2015. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cỏ mực (*Eclipta alba*) đối với vi khuẩn được phân lập từ ruột tôm sú (*Penaeus monodon*), Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 37(1se): 261-266.
- Đặng Thị Lua, Lai Thị Ngọc Hà và Nguyễn Thanh Hải, 2015. Tác dụng diệt khuẩn của dịch chiết lá sim và hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) đối với vi khuẩn gây bệnh từ gan tụy cấp trên tôm nuôi nước lợ. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(7): 1101-1108.
- Darmanin, S., Wismayer, P.S., Camilleri Podesta, M.T., Micallef, M.J., and Buhagiar, J.A., 2009. An extract from *Ricinus communis* L. leaves possesses cytotoxic properties and induces apoptosis in SK-MEL-28 human melanoma cells. *Natural product research*, 23(6): 561-571.
- El-Mahmood, A.M. and Doughari, J.H., 2008. Phytochemical screening and antibacterial evaluation of the leaf and root extracts of *Cassia alata* Linn. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(7): 124-129.
- Febles, C.I., Arias, A., Gil-Rodríguez, M.C., Hardisson, A. and Sierra Lopez, A., 1995. In vitro study of antimicrobial activity in algae (Chlorophyta, Phaeophyta and Rhodophyta) collected from the coast of Tenerife. *Anuario del Instituto de Estudios Canarios*, 34:191-192.
- Guo, J.J., Her, B.Y., Chou, R.L. and Chen, T.I., 2010. Screening of Modern Herbal Medicines in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio harveyi* Infection. *The Israeli Journal of Aquaculture—Bamidgeh*, 63(2), 1-7.
- Hussain, A. Z. and Kumaresan, S., 2013. Phytochemical and antimicrobial evaluation of *Oldenlandia corymbosa*. *Asian J. Plant Sci. Res*, 3(4): 155-158.
- Huỳnh Kim Diệu và Nguyễn Thị Cẩm Quyên, 2016. Đánh giá sự đa dạng di truyền và tính kháng khuẩn của cây từ bi (*Blumea balsamifera* Lindl.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 47b: 119-126.
- Immanuel, G., Vincybai, V.C., Sivaram, V., Palavesam, A. and Marian, M.P., 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aquaculture*, 236(1-4): 53-65.
- Jeyaseelan, E.C. and Jashothan, P.J. 2012. In vitro control of *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) by *Ricinus communis* L. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(9): 717-721.
- Kamel, C., 2001. Tracing modes of action and the roles of plant extracts in non-ruminants. *Recent advances in animal nutrition*, 135-150.
- Kota, C.S., and Manthri, S., 2011. Antibacterial activity of *Ricinus communis* leaf extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(5): 1259.
- Lawhavit, O.A., Sincharoenpokai, P., and Sunthornandh, P., 2011. Effects of ethanol tumeric (*Curcuma longa* Linn.) extract against shrimp pathogenic *Vibrio* spp. and on growth performance and immune status of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 45(1): 70-77.
- Lorian, V., 1995. Antibiotics in laboratory medicine. *In: J. F. Acar, and F.W. Goldstein (Eds.)*. Disk susceptibility test, Fourth Edition. London: Williams and Walkins Awaverly, p.1.
- Naz, R., and Bano, A., 2012. Antimicrobial potential of *Ricinus communis* leaf extracts in different solvents against pathogenic bacterial and fungal strains. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(12): 944-947.
- Ngo Van Hai, 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture, *Aquaculture*, 446: 88-96.
- Oonmetta-Aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G., 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *LWT-Food Science and Technology*, 39(10): 1214-1220.
- Rana, M., Dhamija, H., Prashar, B. and Sharma, S., 2012. *Ricinus communis* L. - a review. *International Journal of PharmTech Research*, 4(4): 1706-1711.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. and Sasal, P., 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433: 50-61.
- Rosell, K.G. and Srivastava, L.M., 1987. Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae. *Hydrobiologia*, 151/152: 471-475.
- Pholdaeng, K. and Pongsamart, S., 2010. Studies on the immunomodulatory effect of polysaccharide gel extracted from *Durio zibethinus* in *Penaeus monodon* shrimp against *Vibrio harveyi* and WSSV. *Fish Shellfish Immunol*, 28: 555-561.
- Saptiani, G., Prayitno, S.B. and Anggoro dan, S., 2013. Antibacteria potential of jeruju (*Acanthus ilicifolius*) leaf extract on the in vitro growth of the *Vibrio harveyi*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 7(1): 17-20.

- Shangliang, T., Hetrick, F.M., Roberson, B.S. and Baya, A., 1990. The antibacterial and antiviral activity of herbal extracts for fish pathogens. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 20: 53-60.
- Sritunyalucksana, K., Dangtip, S., Sanguanrut, P., Sirikharin, R., Thitamadee, S., Taengchaiphum, S., Mavichak, R., Proespraiwong, P. and Flegel, T.W., 2014. A two-tube, Nested PCR Detection Method for AHPND Bacteria Network of Aquaculture Centres in Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand.
- Syahidah, A., Saad, C.R. Daud, H.M. and Abdelhadi, Y.M., 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(1): 27-44.
- Trần Thị Tuyết Hoa, 2014. Phát hiện vi khuẩn *Vibrio harveyi* và *Streptococcus agalactiae* bằng phương pháp PCR khuôn lạc. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2: 1-6.
- Turker, H., Yildirim, A.B. and Karakaş, F.P., 2009. Sensitivity of Bacteria Isolated from Fish to Some Medicinal Plants. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 9: 181-186.