



DOI:10.22144/ctujos.2024.458

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG VI KHUẨN GÂY MỤN CỦA TINH DẦU NGẢI NĂM ÔNG (*Curcuma involucrata* (King ex Baker) Škorničk)

Nguyễn Thanh Tô Nhi¹, Nguyễn Minh Thái², Phan Huyền Trang¹, Hoàng Đức Thuận³ và Nguyễn Thành Triết^{4*}

¹Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

³Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng

⁴Khoa Y học cổ truyền, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): nguyenthanchtriet1702@ump.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 28/05/2024

Sửa bài (Revised): 13/06/2024

Duyệt đăng (Accepted): 11/08/2024

Title: Investigation of the inhibitory activity of *Curcuma involucrata* King ex baker Škorničk essential oil against *acne bacteria*

Author(s): Nguyen Thanh To Nhi¹, Nguyen Minh Thai², Phan Huyen Trang¹, Hoang Duc Thuan³ and Nguyen Thanh Triet^{4*}

Affiliation(s): ¹Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City; ²Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City; ³Faculty of Pharmacy, Lac Hong University; ⁴Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

TÓM TẮT

Nghiên cứu thực hiện khảo sát khả năng kháng vi khuẩn gây mụn từ tinh dầu của *Curcuma involucrata* thu hái từ tỉnh Long An. Tinh dầu được chiết bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước. Hoạt tính kháng khuẩn của dược liệu được khảo sát bằng các phương pháp: đĩa giấy khuếch tán; pha loãng trong môi trường rắn (MIC), trải đĩa (MBC), đĩa ba ngăn (pha hơi). Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS). Hiệu suất chiết tinh dầu là 0,29%. Kết quả xác định thành phần hóa học của tinh dầu bằng GC-MS cho thấy sự hiện diện của ít nhất 28 chất, trong đó hai hợp chất chính là isoterpinolen (29,65%) và β -ocimen (11,60%). Tinh dầu thể hiện tác dụng ức chế tốt nhất trên *Staphylococcus aureus* với MIC = 0,16 μ L/mL và tác dụng ức chế trung bình trên *Propionibacterium acnes* với MIC = 0,63 μ L/mL. Tinh dầu thân rễ ngải năm ông thích hợp đối với chế phẩm dạng kem, tác động tại chỗ trong điều trị mụn vì cho hoạt tính kháng khuẩn trên pha rắn tốt hơn so với pha hơi.

Từ khóa: MIC, MBC, ngải năm ông, tinh dầu, vi khuẩn, mụn

ABSTRACT

Objective of this research is to investigate the ability to fight acne-causing bacteria from the essential oils (EOs) of *Curcuma involucrata* collected from Long An province. EOs were extracted by steam distillation. Their antibacterial activity was investigated using disc diffusion and agar microdilution to determine MIC and MBC against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* in a three-compartment system. The EOs chemical composition was determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The EOs extraction efficiency was 0.29%. The EOs chemical composition showed the presence of at least 28 substances, of which the two main compounds were isoterpinolen (29.65%) and β -ocimen (11.60%). The EOs showed the best inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* with MIC = 0.16 μ L/mL and a moderate inhibitory effect on *Propionibacterium acnes* with MIC = 0.63 μ L/mL. Essential oils of *Curcuma involucrata* are suitable for cream preparations and topical effects in acne treatment because it has better antibacterial activity in the solid phase than in the vapor phase

Keywords: MIC, MBC, wormwood, essential oil, bacteria, acne

1. GIỚI THIỆU

Khí hậu nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm mưa nhiều là sự ưu ái của thiên nhiên dành cho Việt Nam. Đây là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của hệ thực vật, trong đó có chi *Curcuma* thuộc họ Zingiberaceae. Từ lâu, chi *Curcuma* đã được ứng dụng trong đời sống với nhiều mục đích như: làm thuốc chữa bệnh, gia vị, thuốc nhuộm,... (Binh & Hanh, 2018). Có 23/27 loài thuộc chi *Curcuma* được sử dụng làm thuốc tại Việt Nam: nghệ trắng trị tê thấp, làm lành vết thương, trị ho gà; nghệ lá hẹp giúp phục hồi sức khỏe cho người ốm; nghệ đen chữa đầy hơi, ăn không tiêu; nghệ rễ vàng chữa các bệnh liên quan đến gan, bệnh đường tiết niệu; nghệ Nam Bộ và nghệ vàng dùng chữa bệnh đau dạ dày hay nghệ rừng chữa đau bụng kinh theo kinh nghiệm dân gian (Binh & Hanh, 2018). Bên cạnh đó, nghiên cứu trên *Curcuma aromatica* và *Curcuma zedoaria* cho thấy hai loài này có hiệu quả trên các tác nhân gây mụn (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*) (Subramanian et al., 2021). Mặt khác, một loài rất đặc trưng trong chi này là cây Ngải năm ông (*Curcuma involucrata* (King ex Baker) Škorničk), được cho là có hoạt tính chống viêm, chống ung thư và hạ sốt (Li et al., 2021).

Ngải năm ông cao 40–50 cm. Thân rễ dạng củ, đường kính 1 cm, bên trong màu vàng nâu, mùi thơm nồng, rễ màu trắng, lá có cuống lá dài 10–17 cm, phiến màu xanh lục, hình trứng thuôn dài hoặc hình mác đầu nhọn, cụm hoa mọc bên, phân bố ở Bangladesh, Trung Quốc, Ấn Độ, Myanmar và Thái Lan. Sự xuất hiện ở Campuchia, Lào và Việt Nam cũng đã được báo cáo (Rathi et al., 2016). Dịch chiết ethanol của cây được xác định có 17 hợp chất, ba hợp chất chiếm nhiều nhất là benzyl benzoat (22,71%); etan, isothiocyanate (17,28%); và 2-phenanthrenol; 16 chất khác; các hợp chất chiếm 48,84% của dịch chiết. Trong y học dân gian Bangladesh, loài cây này được cho là có thể điều trị các chứng rối loạn viêm nhiễm và sốt (Pingsusaen et al., 2015).

Nghiên cứu tiến hành trên cây Ngải năm ông *Curcuma involucrata*, Zingiberaceae, ở dạng chiết tinh dầu, với đối tượng là các tác nhân gây mụn, nhằm mục tiêu góp phần làm phong phú thêm tác dụng sinh học của *Curcuma involucrata*, tìm ra các dạng chiết phù hợp của loài thực vật này, dạng bào chế thích hợp cho sản phẩm chăm sóc da mặt, ức chế sự phát triển của các tác nhân gây bệnh ngoài da phổ biến.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

2.1.1. Dược liệu

Thân rễ (củ) Ngải năm ông được thu hái tại xã Hội Xuân, huyện Châu Thành, tỉnh Long An vào tháng 4/2022 (Hình 1). Mẫu được định danh bởi TS. DS. Nguyễn Thành Triết, Bộ môn Dược học cổ truyền, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu được lưu tại Bộ môn Dược học cổ truyền với mã số NNO-4/22. Thân rễ tươi được rửa sạch dưới vòi nước, để ráo, cắt nhỏ và mang đi chiết xuất tinh dầu.



Hình 1. Cây Ngải năm ông

2.1.2. Vật liệu thử nghiệm

Vi sinh vật: Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300; *Propionibacterium acnes* ATCC 6919. Tất cả vi sinh vật được cung cấp bởi bộ môn Vi sinh-Ký sinh trùng, Khoa Dược-Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chung cất lôi cuốn hơi nước

Dược liệu sau khi được thu hái sẽ tiến hành rửa sạch dưới vòi nước để loại bỏ bụi bẩn, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Tinh dầu được chiết bằng phương pháp chung cất lôi cuốn hơi nước trong thời gian khoảng 3 giờ và ở nhiệt độ khoảng 60°C. Sau khi kết thúc quá trình chưng cất, thu tinh dầu vào eppendorf và ly tâm loại nước, thu được tinh dầu nguyên chất cho vào eppendorf bảo quản trong tủ lạnh 2 – 8°C.

2.2.2. Phương pháp xác định các chất trong tinh dầu bằng GC-MS

Các thành phần trong tinh dầu Ngải năm ông được xác định bằng sắc ký khí GC-MS. Chương trình phân tích mẫu được cài đặt trên hệ thống GC-MS hãng Agilent 5972 với các thông số sau:

- Tiêm tay

- Chế độ: Scan 45-550 m/z
- F=1mL/min
- Chương trình: 50 độ (giữ 5 phút) tăng lên 300 độ (giữ 5 phút), tốc độ gia nhiệt 5 độ/ phút.

Xử lý số liệu GC-MS: Dựa trên phổ đồ ion kết hợp với dữ liệu từ thư viện NIST, WILEY và các thông tin giải phổ trước đó để nhận diện các hợp chất có trong tinh dầu.

2.2.3. Phương pháp đĩa giấy khuếch tán

Hoạt tính kháng tác nhân gây mụn của tinh dầu thân rễ Ngải năm ông được thực hiện theo quy trình chuẩn (Balouiri et al., 2016). Vi khuẩn *S. aureus* được cấy hoạt hóa trên môi trường thạch Brain Heart Infusion (BHI) ở 37°C trong 24 giờ. Vi khuẩn *P. acnes* được cấy trong môi trường Brain Heart Infusion Agar (BHIA), sau đó đặt đĩa môi trường đã cấy vi khuẩn vào hộp ủ có hạt hút ẩm và có túi ủ kỵ khí, đậy nắp hộp ngay lập tức (túi ủ kỵ khí dùng để tạo ra môi trường nuôi cấy vi sinh kỵ khí hoàn toàn); ủ ở nhiệt độ 37°C có bổ sung 5% CO₂. Các chủng vi khuẩn chuẩn sau khi cấy, hoạt hóa, được pha trong dung dịch NaCl 0,9% có bổ sung 0,05% Tween 80 tới nồng độ thích hợp, đạt giá trị khoảng 1-2×10⁸ CFU/mL. 100 μL huyền dịch vi khuẩn được trải đều lên môi trường Mueller-Hinton Agar (MHA) bổ sung 0,05% Tween 80. Đĩa giấy (Whatman) 6 mm được đặt giữa đĩa petri có chứa 5 μL tinh dầu. Ủ các đĩa thạch trong tủ ẩm ở 37°C từ 18-24 giờ đối với *S. aureus* và 48-72 giờ có bổ sung 5% CO₂ đối với *P. acnes*. Đọc kết quả bằng cách đo đường kính vòng ức chế bao gồm đường kính của đĩa giấy. Phân loại mức độ hoạt tính kháng khuẩn theo đường kính vòng ức chế: >20 mm, ức chế rất mạnh; 10-20 mm, ức chế mạnh; 5-10 mm, ức chế trung bình; <5 mm, không tác dụng (Ouchari et al., 2019). Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.4. Phương pháp pha loãng trong môi trường rắn

Nồng độ ức chế tối thiểu MIC được xác định bằng phương pháp pha loãng trong môi trường rắn. Tinh dầu thân rễ Ngải năm ông được pha loãng, nồng độ giảm đi 2 lần trong môi trường MHA bổ sung 0,05% Tween 80, sau đó đổ vào đĩa petri 40 mm và chờ thạch khô. Huyền dịch vi khuẩn (1-2 x 10⁸ CFU/mL) được pha loãng để đạt mật độ vi khuẩn tương ứng với 10⁷ CFU/mL. Tiếp theo, 1 μL huyền dịch vi khuẩn được nhỏ vào đĩa thạch (nồng độ cuối vi khuẩn là 10⁴ CFU/mL). Các đĩa được ủ 18-24 giờ đối với *S. aureus* và 24-48 giờ đối với *P. acnes* ở nhiệt độ 37°C. Nồng độ ức chế tối thiểu của

tinh dầu được xác định tại đĩa không có sự hiện diện của vi khuẩn. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.5. Phương pháp trải đĩa

Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) được xác định bằng phương pháp trải đĩa. Trên các đĩa thạch đã thực hiện MIC, chọn các đĩa có nồng độ như sau: 1 x MIC, 2 x MIC và 4 x MIC. Dùng cây đục lỗ và que gỗ đã tiệt trùng để lấy phần thạch đã chạm vi khuẩn trên các đĩa được chọn làm MBC cho vào eppendorf. Sau đó, cho vào mỗi eppendorf 100 μL nước muối sinh lý có thêm 0,05% Tween 80. Hút huyền dịch trong eppendorf cho vào đĩa môi trường đã được hấp tiệt trùng sẵn. Dùng que tam giác phân tán đều huyền dịch trên mặt thạch cho đến khi mặt thạch khô hoàn toàn. Nồng độ tại đĩa thạch không xuất hiện sự hiện diện của vi khuẩn là giá trị MBC của tinh dầu đối với tác nhân gây mụn sau khi các đĩa đó được ủ ở 18-24 giờ đối với *S. aureus* và 24-48 giờ đối với *P. acnes* ở nhiệt độ 37°C. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.6. Phương pháp khuếch tán ở pha hơi

Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn của các thành phần bay hơi có trong tinh dầu được thực hiện theo quy trình đã công bố (Kloucek et al., 2012) và có cải tiến. Môi trường là MHA có bổ sung 0,05% Tween 80 được đổ vào đĩa petri 90 mm 3 ngăn, mỗi ngăn 5 mL. Vi khuẩn sau khi pha loãng đạt nồng độ 10⁷ CFU/mL được cấy vào các ngăn của đĩa 3 ngăn, một ngăn trống để kiểm soát độ tinh khiết (*S. aureus*: một ngăn cấy MSSA, một ngăn cấy MRSA và một ngăn để trống; *P. acnes*: cấy vào 2 ngăn của đĩa 3 ngăn, một ngăn để trống). Giấy lọc vô trùng đường kính 85 mm được đặt lên thành ngăn của đĩa petri, 20 μL tinh dầu được phân bổ đều vào giấy lọc. Sau đó, đĩa petri được quấn parafilm để ngăn sự bay hơi ra ngoài môi trường của tinh dầu. Đĩa được lật ngược lại và ủ ở nhiệt độ 37°C và có bổ sung 5% CO₂ đối với *P. acnes*. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Hiệu suất chiết tinh dầu

Hiệu suất chiết tinh dầu được tính theo công thức sau: $H (\%) = \frac{\text{lượng tinh dầu thu được}}{\text{lượng dược liệu đem chiết}} \times 100$.

Hiệu suất chiết tinh dầu trung bình của thân rễ Ngải năm ông là 0,29 ± 0,16%.

3.2. Đánh giá sơ bộ thành phần hóa học

Kết quả phân tích thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp GC-MS cho thấy sự hiện diện của ít nhất 30 hợp chất, trong đó có hai hợp chất chính là isoterpinolen (29,65%) và β-ocimen

(11,60%). Terpinolen và các đồng phân là các monoteren có nhiều trong tinh dầu các loại thảo mộc, làm giảm viêm và chống oxy hóa *in vitro*; là chất chống tăng sinh mạnh đối với các tế bào khối u não và có thể có tiềm năng như một chất chống ung thư (Scherer et al., 2019). Các loại thực vật có chứa terpinolen, β -ocimen đều có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm tốt như nấm *Gypsophila bicolor* (Shafaghat et al., 2011) ảnh hưởng trên vi khuẩn Gram âm và Gram dương; hay loài *Diplotaenia damavandica* cũng có hoạt tính kháng khuẩn (Eftekhar et al., 2005).

Bảng 1. Thành phần các chất tinh dầu

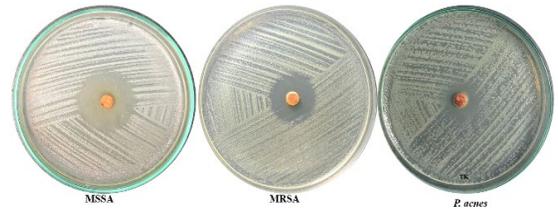
STT	Thành phần có trong tinh dầu	Hàm lượng (%)
1	Isoterpinolen	29,65
2	β - Ocimen	11,6
3	α -Cubeben	9,46
4	(+)-2-Bornanon	7,36
5	2,6-Dimethyl-1,3,6-heptatrien	5,13
6	Alloaromadendren	5,00
7	4-hydroxy-2-prop-1-en-2-yl-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-on	3,6
8	3-Caren	3,14
9	Inden	3,05
10	4-Undecyn	2,23
11	1-ethyl-4-propan-2-ylbenzen	2,00
12	1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-1,2,3,4,4a,7-hexahydronaphthalen	1,54
13	3-(iodomethyl)cyclohexen	1,53
14	5-Phenyl-1,3-diazaadamantan-6-one Hydraxon	1,52
15	borabicyclo[3.3.1]nonan-9-yl)pyrrol	1,36
16	3-ethyl-1-methylquinoxalin-2-on	1,14
17	1H-Benzocyclohepten, 2,4a,5,6,7,8	1,11
18	Limonen	1,08
19	4,5,6,7-tetramethyl-2H-isoidol	1,05
20	Santolina epoxid	1,01
21	2,8-Decadiyn	0,8
22	Isolongifolen-5-on	0,76

23	7,7-dimethyl-8,9-dihydrobenzo[8]annulen-10-on	0,68
24	4-(1H-Pyrazol-4-yl)anilin	0,67
25	β -Calacoren	0,65
26	cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	0,65
27	Sabinen	0,61
28	5-methylhepta-1,3,6-trien	0,56
29	Neocloven	0,52
30	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	0,51

3.3. Hoạt tính kháng tác nhân gây mụn

Hoạt tính kháng khuẩn ở pha rắn

Kết quả đường kính vòng ức chế, nồng độ ức chế tối thiểu, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu được trình bày ở **Hình 2** và **Bảng 2**.



Bảng 2. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn ở pha rắn

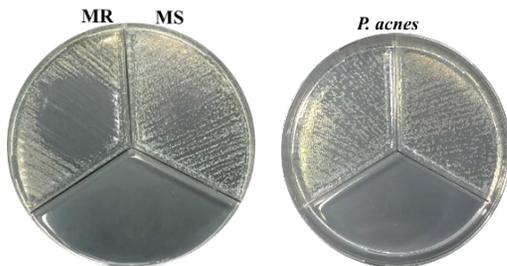
Phương pháp	MSSA	MRSA	<i>P. acnes</i>
Đường kính vòng ức chế (mm)	25,33 ± 0,58	23,67 ± 0,58	15,33 ± 0,58
MIC (μL/mL)	0,16	0,16	0,63
MBC (μL/mL)	0,31	0,63	1,25

Tinh dầu thân rễ Ngải năm ông có tác dụng kháng khuẩn mạnh trên cả 3 chủng vi sinh vật và hoạt tính kháng tốt nhất trên MSSA với đường kính ức chế là $25,33 \pm 0,58$ mm. Vì chưa thấy nghiên cứu tinh dầu thân rễ Ngải năm ông trên tác nhân gây mụn, do đó chúng tôi so sánh kết quả của đề tài với các loài khác trong cùng chi *Curcuma*. Đề tài nghiên cứu cùng dạng chiết là tinh dầu và phương pháp đĩa giấy khuếch tán cho thấy tinh dầu thuộc chi *Curcuma* thể hiện hoạt tính kháng mạnh trên tác nhân gây mụn, đồng thời, kết quả kháng MSSA của đề tài nghiên cứu tương đồng với kết quả nghiên cứu trên *Curcuma aeruginosa* (Akarchariya et al., 2017; Subramanian et al., 2021).

Tinh dầu thân rễ Ngải năm ông của đề tài thử nghiệm MIC sử dụng phương pháp pha loãng trong môi trường rắn cho MIC tốt nhất trên *S. aureus* (0,16 μ L/mL) và tương đối trên *P. acnes* (0,63 μ L/mL), thể hiện tỷ lệ MBC/MIC = 2 trên vi khuẩn *P. acnes*,

MBC/MIC = 2 trên vi khuẩn MSSA và MBC/MIC = 4 đối với MRSA. Cùng nghiên cứu trên *S. aureus*, trên cùng chi *Curcuma*, nghiên cứu của Trang và cộng sự (2022) cho kết quả MIC tương tự (0,63 $\mu\text{L}/\text{mL}$).

Hoạt tính kháng khuẩn ở pha hơi



Hình 3. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn ở pha hơi

Pha hơi của tinh dầu thân rễ Ngải năm ông hình thành vòng ức chế kháng khuẩn với MRSA khoảng 30 mm, ức chế sự tăng trưởng MSSA và không làm giảm mật độ vi khuẩn *P. acnes* (Hình 3). Tinh dầu là những hợp chất kháng khuẩn có khả năng thể hiện hoạt tính ở pha hơi (Inouye, 2003). Do nghiên cứu này tạo tiền đề phát triển đa dạng nhiều dạng sản phẩm có chứa tinh dầu ở pha hơi tác động lên da bị mụn, điển hình như dạng xịt, dạng xông, dạng bôi,... nên đề tài đã thử nghiệm khả năng kháng khuẩn phần bay hơi của tinh dầu bằng phương pháp đĩa ba ngăn. Hoạt tính kháng khuẩn pha hơi của nhiều loại tinh dầu đã được khảo sát trong nghiên cứu trước,

và nhận thấy rằng tác dụng giảm dần phụ thuộc vào thành phần hóa học trong pha hơi, cụ thể là tinh dầu chứa phenol > aldehyde > alcohol > ketone > ester > ether > hydrocarbon (Inouye et al., 2001). Tinh dầu thân rễ Ngải năm ông thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở phương pháp tiếp xúc trực tiếp tốt hơn ở phương pháp đĩa ba ngăn. Điều này có thể giải thích trong thành phần tinh dầu, các hợp chất phenol có trọng lượng tương đối lớn hơn và khả năng bay hơi sẽ thấp hơn các cấu tử có cấu trúc nhỏ như các monoterpen hay sesquiterpen. Do đó, khi sử dụng phương pháp khuếch tán ở pha hơi, các thành phần này không phát huy được tác dụng mạnh

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chiết xuất thành công, xác định sơ bộ thành phần hóa học, và xác định được nồng độ ức chế tối thiểu MIC và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu MBC của tinh dầu thân rễ Ngải năm ông trên 3 chủng vi khuẩn gây mụn MSSA, MRSA, và *P. acnes*. Tinh dầu thân rễ Ngải năm ông có tác dụng ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn gây mụn cao, đặc biệt trên MRSA và MSSA với MIC thấp (0,16 $\mu\text{L}/\text{mL}$) và MBC tương đối thấp, lần lượt trên MSSA, MRSA, *P. acnes* là 0,31 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 0,63 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Tinh dầu thể hiện hoạt tính kháng tác nhân gây mụn ở pha rắn tốt hơn pha hơi. Từ đó, đề tài kiến nghị việc tiếp tục nghiên cứu sâu hơn, phân lập ra hợp chất có tác dụng trị mụn, nghiên cứu bào chế ra sản phẩm cho tác dụng trị mụn hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akarchariya, N., Sirilun, S., Julsrigival, J., & Chansakaowa, S. (2017). Chemical profiling and antimicrobial activity of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Curcuma glans* K. Larsen & J. Mood and *Curcuma cf. xanthorrhiza* Roxb. collected in Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(10), 881-885.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, SK. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.

Binh, N. Q., & Hanh, N. P. (2018). Đặc điểm hình thái một số loài trong chi Nghệ (*Curcuma*) có tác dụng làm thuốc ở Tây Nguyên. *Hội nghị Khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 6*.

De Christo Scherer, M. M., Marques, F. M., Figueira, M. M., Peisino, M. C. O., Schmitt, E. F. P., Kondratyuk, T. P., & Fronza, M. (2019). Wound healing activity of terpinolene and α -phellandrene by attenuating inflammation and oxidative stress in vitro. *Journal of Tissue Viability*, 28(2), 94-99.

Eftekhari, F., Yousefzadi, M., Azizian, D., Sonboli, A., & Salehi, P. (2005). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Diplomaena damavandica*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(11-12), 821-825.

Inouye, S. (2003). Laboratory evaluation of gaseous essential oils (Part 1). *International Journal of Aromatherapy*, 13(2-3), 95-107.

Inouye, S., Takizawa, T., & Yamaguchi, H. (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(5), 565-573.

Kloucek, P., Smid, J., Frankova, A., Kokoska, L., Valterova, I., & Pavela, R. (2012). Fast screening method for assessment of antimicrobial activity of essential oils in vapor phase. *Food Research International*, 47(2), 161-165.

- Li, W., Wu, B., Wang, Y., Lin, Y., An, L., & Zhang, G. (2021). The Potential Antioxidant Activity and Characterization of Bioactive Compounds of *Stahlianthus involucratus*. *BioMed Research International*.
- Ouchari, L., Boukeskase, A., Bouizgarne, B., & Ouhdouch, Y. (2019). Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Biology open*, 8(2), 350-410.
- Pingsusaen, P., Kunanusorn, P., Khonsung, P., Chiranthanut, N., Panthong, A., & Rujjanawate, C. (2015). Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 162, 199-206.
- Rathi, R. S., Pradheep, K., Roy, S., Singh, S. K., & Misra, A. K. (2016). *Stahlianthus involucratus* (King ex Baker) Craib ex Loes.: a new record to the flora of Mizoram, India. *Journal of Threatened Taxa*, 8(3), 8629-8631.
- Shafaghat, A., Shafaghatlonbar, M. (2011). Antimicrobial activity and chemical constituents of the essential oils from flower, leaf and stem of *Gypsophila bicolor* from Iran. *Natural product communications*, 6(2), 275-276.
- Subramanian, S., Shenoy, P. A., & Pai, V. (2021). Antimicrobial activity of some essential oils and extracts from natural sources on skin and soft tissue infection causing microbes: An In-vitro Study. *Research Journal of Pharmacy Technology*, 14(7), 3603-3609.
- Trang, L. T. T., Thinh, V. P., & Hoang, H. T. (2022). Nghiên cứu cấu tạo giải phẫu và hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết thân rễ cây Sâm đá (*Curcuma singularis* Gagnep.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 59(5), 47-56.