

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบไชยา  
Antibacterial Activity of Crude Extract from Leaves of Vegetable Spinach  
(*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh)

ศศิธร ธงชัย และ จาตุรงค์ จงจิ้น<sup>1</sup>  
Thongchai, S. and Jongjeen, J.<sup>1</sup>

#### Abstract

The purpose of this study to screening of antibacterial activity of crude extracted from leave of vegetable spinach (*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh) against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* using agar disc diffusion and evaluated the minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum bactericidal concentrations (MBCs) by broth dilution and drop plate techniques. Result showed that all bacterial strain susceptible to fresh and dried-crude ethanolic-extract of vegetable spinach at the concentration of 1,000 mg/ml, which *B. subtilis* had highest inhibition zone (32.8±0.2 mm and 32.3±0.6 mm for fresh and dried-crude extracted, respectively) when compared with control group. For the result of MIC and MBC value of this extract had shown greatest concentration as 125 and 500 mg/ml, respectively. This study indicated that crude extracted from leave of vegetable spinach had antibacterial activity that may be benefit alternative substance uses to therapeutic agents for bacterial infection in the further.

**Keywords:** *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh, Crude extract, Medicinal Plant, Antibacterial activity

#### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากส่วนใบต้นไชยาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* ด้วยวิธี Agar disc diffusion และหาค่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Broth microdilution และวิธี Drop plate ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบต้นไชยาทั้งแบบสดและแบบแห้ง ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ โดยมีผลต่อเชื้อ *B. subtilis* ดีที่สุด ให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเท่ากับ 32.8±0.2 มิลลิเมตร (แบบสด) และ 32.3±0.6 มิลลิเมตร (แบบแห้ง) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบให้ค่าที่ดีที่สุดเท่ากับ 125 และ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรครอบข้างชนิดในเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนใบต้นไชยา นำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากธรรมชาติที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ในอนาคต

**คำสำคัญ:** ต้นไชยา สารสกัดหยาบ พืชสมุนไพร ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

#### คำนำ

ปัจจุบันโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียก่อโรครยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญและพบได้บ่อยรวมทั้งก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์ เชื้อที่พบบ่อยได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบตามบริเวณผิวหนัง ก่อให้เกิดการติดเชื้อทางบาดแผล ผิวหนังและเป็นสาเหตุภาวะอาหารเป็นพิษ ตลอดจนโรคแทรกซ้อนอื่นๆ (นิติงษ์ และเอกชัย, 2552) *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*) พบปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและสร้างสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ก่อให้เกิดภาวะอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า fried-rice syndrome (Prajapati และ Cutting, 2002) และ *Escherichia coli* (*E.coli*) เป็นเชื้อประจำถิ่นอีกชนิดที่พบในระบบทางเดินอาหาร มีบางสายพันธุ์ เช่น *E. coli* O157: H7 ทำให้เกิดโรคท้องร่วง และโรคอื่นๆ นอกจากนี้เชื่อดังกล่าวยังมีความสามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะสูง ก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยา ดังนั้นการหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรครจึงมีความจำเป็น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจต้นไชยา (*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh) หรือคະນ້າเม็กชิโก หรือต้นผงชูรส ถือเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่ในปัจจุบันมีการให้ความสนใจเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนต่อสภาพแวดล้อมและการเข้าทำลายของแมลง

<sup>1</sup> สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000

Program of Biology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

รวมทั้งเป็นแหล่งโปรตีนสำหรับกลุ่มผู้บริโภคอาหารมังสวิรัต เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารมากกว่าผักใบเขียวบางชนิด 2-3 เท่า (ภฤติยา, 2562; ณพัฐ, 2020) มีสรรพคุณทางยาโรคได้ชนิด เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รวมทั้งใช้เป็นอาหารควบคุมน้ำหนัก (Jiménez-Arellanes, 2014) อีกทั้ง กลุ่มสารสำคัญที่พบในต้นไชยา ได้แก่ Flavonoids, Phenolic acids, Saponins, Cardiac glycoside และ Alkaloids ซึ่งสารที่มีการรายงานพบคือ สาร Kaempferol เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) พบมากบริเวณส่วนใบ ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด (Pillai, 2012) นอกจากนี้สารกลุ่มอื่นๆยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ และลดระดับคอเลสเตอรอล (Garcia-Rodriguea และคณะ, 2014) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจในการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นไชยาในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด โดยใช้ส่วนใบแบบสดและแห้งมาสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นแนวทางในการนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 1. การเตรียมสมุนไพรและเตรียมสารสกัดหยาบ

นำตัวอย่างส่วนใบไชยา (สดและแบบแห้ง) มาทำการสกัด ด้วยวิธีแช่ขุ่ย (maceration) โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% (95% EtOH) ในอัตราส่วน 1:5 (น้ำหนักตัวอย่างพืชต่อปริมาตรตัวทำละลายสกัด : w/v) ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน และเขย่าเป็นประจำทุกวัน เมื่อครบกำหนด นำตัวอย่างสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำไปประเหยตัวทำละลายด้วยตุ๋นลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50°C จนได้สารสกัดที่มีลักษณะเหนียวเหนียว เติร์มสารสกัดหยาบโดยนำมาละลายด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) ให้ได้ความเข้มข้น 1,000 mg/ml ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่าน Millipore filter เก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะนำมาทดสอบ (ดัดแปลงจากจารวี และสุบงกช, 2555)

#### 2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี Agar disc diffusion

เตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (*S. aureus*, *E. coli* และ *B. subtilis*) ให้มีความขุ่นที่ระดับ 0.5 McFarland standard ( $1.5 \times 10^8$  CFU/ml) จุ่มไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (sterile cotton swab) นำมาป้าย (swab) ลงบนผิวหน้าอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ให้ทั่ว ปล่อยให้ผิวหน้าอาหารแห้ง ปิเปิดสารสกัดหยาบ 100  $\mu$ l ลงบนแผ่น paper disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (100 mg/disc) นำมาวางตามตำแหน่งที่กำหนดไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดอ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณโซนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ในหน่วยเป็นมิลลิเมตร เทียบกับชุดควบคุม (ยาปฏิชีวนะ Tetracycline 250  $\mu$ g/ml และ DMSO 0.1% v/v) ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ (อ้างอิง วาริรัตน์, 2557)

#### 3. การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration: MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี Broth microdilution และ วิธี Drop plate technique

เจือจางสารสกัดลงทีละ 2 เท่า จากความเข้มข้น 1000 mg/ml ด้วยอาหาร MHB ในหลุม 96 well plate เติมเชื้อแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นหลุมละ 100  $\mu$ l บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง ครอบคลุมกำหนดอ่านค่า MIC ด้วยตาเปล่าโดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และยืนยันการอ่านค่า MIC ด้วยสารละลาย resazurin (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-one1O-oxide) ตามวิธีการของ Rakhmawatie (2019) สำหรับการหาค่า MBC โดยวิธี drop plate (ดัดแปลงจาก Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009) โดยหยดสารสกัดจากการทำ MIC ปริมาตร 10  $\mu$ l ลงบนผิวหน้าอาหาร MHA ปล่อยให้จุดสารแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง ครอบคลุมสังเกตค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ ให้อ่านเป็นค่า MBC และแปลผลฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดโดยหาค่าสัดส่วน MBC/MIC หากค่า MBC/MIC  $\leq 4$  มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (Bactericidal) และถ้า MBC/MIC  $> 4$  มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (Bacteriostatic) (Mogana, 2020) ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ

### ผลการทดลอง

ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *E. coli* และ *B. subtilis* ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบไชยาแบบสดและแบบแห้ง ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบแบบสดและแห้งที่ระดับความเข้มข้น 1000 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ โดยมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้มากที่สุด ให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเท่ากับ  $32.8 \pm 0.2$  mm (แบบสด) และ  $32.3 \pm 0.6$  mm (แบบแห้ง) รองลงมาคือเชื้อ *S. aureus* ในขณะที่เชื้อ *E. coli* ยับยั้งได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Table 1 และ Figure 1) นอกจากนี้สารสกัดหยาบให้ค่า MIC และค่า

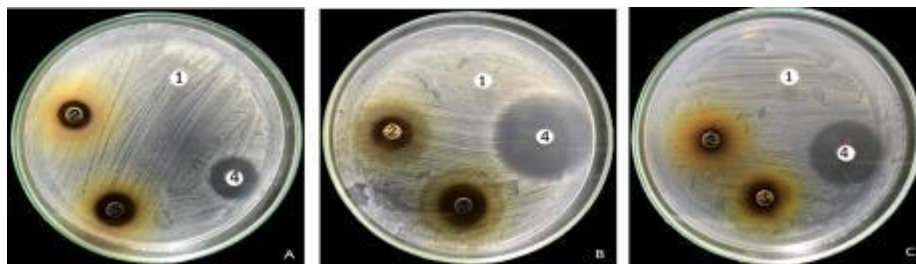
MBC ที่ดีที่สุดคือ 125 mg/ml (MIC) และ 500 mg/ml (MBC) ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าสัดส่วน MBC/MIC ของสารสกัดหยาบ พบว่า สารสกัดส่วนใหญ่ให้ค่าสัดส่วน MBC/MIC >4 ซึ่งมีแนวโน้มออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (MBC/MIC >4; Bacteriostatic) ยกเว้น ผลต่อเชื้อ *B. subtilis* มีแนวโน้มออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC/MIC ≤4; Bactericidal) ซึ่งคล้ายกับยาปฏิชีวนะ Tetracycline

**Table 1** Antibacterial activity of leaves extract of *C. chayamansa* against some bacterial pathogen.

Test organisms	Extracts	Inhibition zone		Antibacterial activity	
		(mm; $\bar{x} \pm SD$ )	MIC	MBC	(MBC/MIC ratio)
<i>S.aureus</i>	fresh leaves (1,000 mg/ml)	31.0±0.1	125	>1,000	Bacteriostatic
	dried leaves (1,000 mg/ml)	31.7±0.3	125	>1,000	Bacteriostatic
	Tetracycline (250 µg/ml)	35.0±0.1	7.81	15.62	Bactericidal
	DMSO (0.1% v/v)	0	ND	ND	ND
<i>B.subtilis</i>	fresh leaves (1,000 mg/ml)	32.8±0.2	250	1,000	Bactericidal
	dried leaves (1,000 mg/ml)	32.3±0.6	500	500	Bactericidal
	Tetracycline (250 µg/ml)	18.0±0.1	31.25	62.25	Bactericidal
	DMSO (0.1% v/v)	0	ND	ND	ND
<i>E.coli</i>	fresh leaves (1,000 mg/ml)	28.0±0.1	125	>1,000	Bacteriostatic
	dried leaves (1,000 mg/ml)	27.2±0.3	125	>1,000	Bacteriostatic
	Tetracycline (250 µg/ml)	25.7±0.3	1.95	3.90	Bactericidal
	DMSO (0.1% v/v)	0	ND	ND	ND

ND = not determined; MIC= minimal inhibitory concentration; MBC= minimal bactericidal concentration

The ratio of MBC/MIC for appreciate antibacterial activity, MBC/MIC ≤4 = Bactericidal; MBC/MIC >4 = Bacteriostatic



**Figure 1** Inhibition zone of fresh and dried leaves extract of *C. chayamansa* against the growth of bacterial (A) *B.subtilis*, (B) *S.aureus* and (C) *E.coli*.

1 = DMSO (0.1%v/v), 2 = fresh leaves extract, 3= dried leaves extract, 4 = Tetracycline (250 ug/ml)

### วิจารณ์ผล

การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบไชยาในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดสดและแห้งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน โดยยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือเชื้อ *S.aureus* และ *E.coli* ซึ่งในการศึกษาสารสกัดหยาบที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ยังไม่ถูกแยกให้เป็นสารบริสุทธิ์ จึงคาดว่าอาจมีกลุ่มสารสำคัญหลายชนิดที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ รวมทั้งอาจขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาศึกษา จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Perez-Gonzalez และคณะ (2017) ที่พบว่า สารสกัดจากใบไชยา (1 mg/disc) สามารถยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน โดยเฉพาะเชื้อ *E.coli* และ *Ps.aeruginosa* และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยบริเวณการยับยั้งกับค่าสัดส่วน MBC/MIC ของสารสกัดเพื่อดูแนวโน้มการออกฤทธิ์ของสารสกัด พบว่า สารสกัดหยาบให้ค่าเฉลี่ยบริเวณการยับยั้งที่ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะ รวมทั้งค่าสัดส่วน MBC/MIC ของสารสกัดยังมีแนวโน้มการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อคล้ายยาปฏิชีวนะ Tetracycline ที่ใช้เป็นชุดควบคุม โดยเฉพาะผลต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่มีแนวโน้มออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (Bactericidal) การศึกษาในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นไชยาอาจมีกลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ ดังนั้นต้นไชยาจึงเป็นอีกสมุนไพรที่ควรนำมาศึกษาเพิ่มเติมในเชิงลึกเพื่อพัฒนาและใช้ประโยชน์ต่อไป

### สรุปผล

จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นไชยาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้ ซึ่งให้ค่า MIC และ MBC ที่ดีที่สุดมีค่าเท่ากับ 125 mg/ml (MIC) และ 500 mg/ml (MBC) ตามลำดับ และจากค่าสัดส่วน MBC/MIC พบว่า ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารสกัดส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ ยกเว้นเชื้อ *B. subtilis* มีแนวโน้มออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยทุกท่านและสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ได้อำนวยความสะดวกในการให้ความอนุเคราะห์สถานที่จัดสรรอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีต่างๆ ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- กฤติยา ไชยนอก, 2563, คมน้ำเม็กชิโก ต้นไม้แสนอร่อย [สืบค้น], <https://cutt.ly/OmaXiSJ> [20/มีนาคม/2563].
- จารวี สุขประเสริฐ และสุภงกช ททรัพย์แดง, 2555, การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย, วารสารผลงานวิชาการกรมวิทยาศาสตร์บริการ, 1(1): 99-109.
- ณพัทธ์ อรบัวฉุน, 2020, พฤษภทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดคมน้ำเม็กชิโก, Research Journal Phranakhon Rajabhat: Science and Technology, 15(1).
- นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์, 2552, การดื้อยาปฏิชีวนะของ *Staphylococcus aureus* และแนวทางการควบคุม, สงขลานครินทร์เวชสาร, 27(4): 347-358.
- วาริรัตน์ หนูหืด, 2557, การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard, Eighth Edition (8th ed), CLSI Documents M7-A8, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- García-Rodríguez, R.V., Gutiérrez-Rebolledo, G.A., Méndez-Bolaina, E., Sánchez-Medina, A., Maldonado-Saavedra, O., Domínguez-Ortiz, M.Á., Vázquez-Hernández M, Muñoz-MuñozOD and Cruz-Sánchez, J.S., 2014, *Cnidocolus chayamansa* McVaugh, An Important Antioxidant, Anti-inflammatory and Cardioprotective Plant Used in Mexico, Journal of Ethnopharmacology, 151(2): 937-943.
- Jiménez-Arellanes, M.A., García-Martínez, I. and Rojas-Tomé, S., 2014, Potencial Biológico de Especies Medicinales del Género *Cnidocolus* (Euphorbiaceae), Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 45(4): 1-6.
- Mogana, R., Adhikari, A., Tzar, M. N., Ramliza, R. and Wiart, C., 2020, Antibacterial Activities of the Extracts: Fractions and Isolated Compounds from *Canarium patentinervium* Miq. Against Bacterial Clinical Isolates, BMC Complementary Medicine and Therapies, 20(1): 1-11.
- Pérez-González, M. Z., Gutiérrez-Rebolledo, G. A., Yépez-Mulia, L., Rojas-Tomé, I. S., Luna-Herrera, J. and Jiménez-Arellanes, M. A., 2017, Antiprotozoal, Antimycobacterial, and Anti-inflammatory Evaluation of *Cnidocolus chayamansa* (Mc Vaugh) Extract and the Isolated Compounds, Biomedicine & Pharmacotherapy, 89: 89-97.
- Pillai, K. K., Chidambaranathan, N., Halith, M. M., Jayaprakash, S. and Narayanan, N., 2012, Anti-hyperglycemic Effect of Alcoholic Extracts of *Cnidocolus chayamansa* in Experimental Diabetes and their Effects on Key Metabolic Enzymes Involved in Carbohydrate Metabolism, International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry, 2(1): 179-187.
- Prajapati, R.S. and Cutting, S.M., 2002, Spore and Sporulation and Germination, In: Sussman, M (et.) Molecular Medical Microbiology, San Diego, USA, 199-208.
- Rakhmawatie, M. D., Wibawa, T., Lisdiyanti, P. and Pratiwi, W. R., 2019, Evaluation of Crystal Violet Decolorization Assay and Resazurin Microplate Assay for Antimycobacterial Screening, Heliyon, 5(8): e02263.