

Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ  
 Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường

website: [sj.ctu.edu.vn](http://sj.ctu.edu.vn)

DOI:10.22144/ctu.jvn.2017.107

**KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN VÀ KHÁNG OXY HOÁ CỦA CÁC CAO CHIẾT TỪ THÂN VÀ LÁ CÂY BỘ MẮM (*Pouzolzia zeylanica* L.)**

Võ Thị Tú Anh, Trần Chí Linh, Trần Thị Thanh Thi và Đỗ Phước Quý

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

**Thông tin chung:**

Ngày nhận bài: 13/03/2017

Ngày nhận bài sửa: 13/03/2017

Ngày duyệt đăng: 30/10/2017

**Title:**

Studies on antimicrobial and antioxidant activities of extracts from *Pouzolzia zeylanica* L. leaves and stems

**Từ khóa:**

Bộ Mắm, DPPH,  $EC_{50}$ , gốc tự do, MIC, kháng khuẩn, kháng oxy hóa

**Keywords:**

Antibacterial, antioxidant,  $EC_{50}$ , MIC, *Pouzolzia zeylanica* L.

**ABSTRACT**

This study was aimed to evaluate antibacterial and antioxidant activities of the methanol, hexane and ethyl acetate extracts from *Pouzolzia zeylanica* L. leaves and stems (fresh and dry). The antimicrobial activity was determined in the extracts using Kirby-Bauer method and the antioxidant activities using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH). The studied antibiotics showed that all extracts have antimicrobial effect against three bacterial strains including *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* higher than positive control (with amoxicillin) at all studied levels with  $40 \mu\text{g/mL} < \text{MIC} \leq 80 \mu\text{g/mL}$ . However, all extracts had no antibacterial activities against *V. parahaemolyticus* and *E. cloacae*. The antioxidant potential of all extracts of *P. zeylanica* was lower than that of vitamin C ( $EC_{50} = 25,33 \mu\text{g/mL}$ ). In general, the fresh extracts gave higher efficiency than the dried extracts.

**TÓM TẮT**

Hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của các cao chiết methanol, hexane và ethyl acetate từ thân và lá cây Bộ Mắm (*Pouzolzia zeylanica* L.) tươi và khô được khảo sát. Khả năng kháng khuẩn của các cao chiết Bộ Mắm được khảo sát bằng phương pháp Kirby-Bauer và khả năng kháng oxy hóa được thực hiện bằng phương pháp DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Kết quả cho thấy, tất cả cao chiết từ thân và lá Bộ Mắm đều cho hoạt tính kháng *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* tốt hơn kháng sinh amoxicillin ở tất cả nồng độ được khảo sát với  $40 \mu\text{g/mL} < \text{MIC} \leq 80 \mu\text{g/mL}$ . Tuy nhiên, cao chiết Bộ Mắm không kháng hai dòng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *E. cloacae*. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết thân và lá Bộ Mắm cho thấy 6 cao chiết khảo sát có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH đều thấp hơn vitamin C ( $EC_{50} = 25,33 \mu\text{g/mL}$ ) từ 1,85 – 3,2 lần. Nhìn chung, các loại cao chiết từ cây tươi lại cho hiệu quả tốt hơn cao chiết từ cây khô.

Trích dẫn: Võ Thị Tú Anh, Trần Chí Linh, Trần Thị Thanh Thi và Đỗ Phước Quý, 2017. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hoá của các cao chiết từ thân và lá cây Bộ Mắm (*Pouzolzia zeylanica* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 52a: 29-36.

**1 GIỚI THIỆU**

Cây Bộ Mắm (*Pouzolzia zeylanica* L.) là một cây thân thảo, sống lâu năm, thuộc họ Gai (Urticaceae), thường sinh trưởng tốt ở vùng đất ẩm

ướt. Từ xa xưa, Bộ Mắm đã được xem là một loại thảo dược thường được sử dụng trong các phương thuốc y học cổ truyền ở Việt Nam. Bộ Mắm không chỉ là một loại thảo dược chỉ có tác dụng trong điều trị các chứng tiêu chảy, khó tiêu, viêm vú cấp tính,

mà còn đặc biệt hữu hiệu trong việc điều trị các chứng ho và cả bệnh lao phổi (Tang *et al.*, 2013). Với những tiềm năng trên, cây Bộ Mắm thật sự là một nguồn nguyên liệu quý trong lĩnh vực dược học.

Năm 2011, cao chiết ethyl acetate cây Bộ Mắm được trồng tại Trung Quốc đã được xác định như một nguồn hợp chất chống oxy hóa tự nhiên với hàm lượng polyphenol cao và có thể hữu ích cho việc phòng trị các bệnh liên quan đến sự lão hóa tế bào (Li *et al.*, 2011). Năm 2012, cao chiết từ cây Bộ Mắm tươi đã được nghiên cứu là có hoạt tính kháng khuẩn đối với các chủng vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm bao gồm *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* và *Shigella dysenteriae*, trong khi đó, cao cây Bộ Mắm khô thì không thể hiện hoạt tính (Paul and Saha, 2012). Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Saha *et al.* (2012), cao chiết ethanol cây Bộ Mắm khô được trồng tại Bangladesh đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn chống lại cả vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm như *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* và *Salmonella typhi* (Saha *et al.*, 2012). Từ những nghiên cứu trên, việc xác thực lại hoạt tính kháng khuẩn của cây Bộ Mắm tươi và khô là cần thiết. Nghiên cứu đồng thời góp phần cung cấp dữ liệu về nguồn thảo dược mang tiềm năng sinh học có sẵn tại địa phương.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện, thiết bị và vật liệu thí nghiệm

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Tủ cây (Class II BSC, Esco, Indonesia), nồi hấp khử trùng autoclave (HVE-50, Hirayama, Nhật), máy ly tâm (Mikro 12-24, Hettich, Đức), máy vortex (ZX3, Velp, Ý), micropipette 100  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L Thermolabsystems, máy đo quang phổ (Beckman Coulter 640B, Mỹ), máy cô quay chân không (Heidolph, Đức).

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm gồm: Methanol, hexane (Chemsol), ethyl acetate (Chemsol), acetone (Chemsol), môi trường LB (Luria – Bertani, Ấn Độ), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Wako, Japan), vitamin C, amoxicillin (25  $\mu$ g/mL).

Vật liệu thí nghiệm là cây Bộ Mắm (thân và lá) được thu hái tại thành phố Cần Thơ. Cây Bộ Mắm được định danh theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam (Phạm Hoàng Hộ, 2003).

Các dòng vi khuẩn được sử dụng trong thử nghiệm là: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* LMG 2683 và *Vibrio parahaemolyticus* RIMD 2210633 được cung cấp bởi Bộ môn Sinh, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Những dòng vi khuẩn này khá phổ biến, thường gây nên các bệnh về da và hệ tiêu hóa ở người và nhiều loài sinh vật khác.

### 2.2 Phương pháp

#### 2.2.1 Điều chế cao chiết

Thân và lá Bộ Mắm sau khi thu mua tại TP. Cần Thơ được rửa sạch, loại bỏ những phần bị sâu bệnh, nấm mốc, vàng héo, úa dập, đem phơi đến gần khô rồi chia làm 2 phần:

*Phần 1:* Gồm 5 kg thân và lá Bộ Mắm được cắt ra thành từng đoạn ngắn khoảng 1-1,5 cm, sau đó ngâm đậm mẫu với methanol (10 lít).

*Phần 2:* Gồm 5 kg thân và lá Bộ Mắm đem sấy ở nhiệt độ 40-45°C đến khô. Sau đó đem xay nhuyễn, thu được 0,55 kg mẫu bột nguyên liệu. Bột cây được chiết trong methanol (10 lít) bằng phương pháp ngâm đậm.

Mỗi mẫu được ngâm trong thời gian 48 giờ, hỗn hợp được cô quay ở áp suất thấp thu được cao methanol cây tươi và cao methanol cây khô. Cao methanol cây tươi và cao methanol cây khô được chiết phân bố lỏng – lỏng với các dung môi hexane và ethyl acetate thu được các cao chiết tương ứng (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

#### 2.2.2 Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các loại cao chiết Bộ Mắm

Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết Bộ Mắm được khảo sát bằng phương pháp Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Khả năng kháng khuẩn của cao chiết được xác định dựa vào sự hình thành vòng vô khuẩn xung quanh khoanh giấy tẩm cao chiết. Dịch vi khuẩn với nồng độ  $10^6$  CFU được trải đều trên bề mặt đĩa thạch LB với thể tích dịch khuẩn là 100  $\mu$ L, sau đó đĩa thạch được để khô 15 phút trước khi đặt khoanh giấy tẩm cao chiết. Khoanh giấy tẩm cao chiết ở các nồng độ 40, 80, 160, 320, 640 và 1280  $\mu$ g/mL được đặt lên các đĩa thạch đã trải vi khuẩn. Mỗi nồng độ cao chiết được lặp lại 3 lần. Đường kính vòng vô khuẩn (bao gồm khoanh giấy tẩm cao chiết) được đo bằng thước đo đơn vị mm sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 32°C. Kháng sinh thương mại amoxicillin có hoạt tính chống đa số vi khuẩn Gram dương và Gram âm được sử dụng như đối chứng dương trong thí nghiệm. Các nồng độ của kháng sinh được dùng để khảo sát tương tự như thí nghiệm đối với cao chiết Bộ Mắm.

2.2.3 Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa DPPH

Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết và vitamin C được xác định theo phương pháp DPPH (Prakash, 2000) được tóm tắt như sau: hỗn hợp phản ứng có thể tích 200 µL gồm 100 µL DPPH (6x10<sup>-4</sup> M) và 100 µL cao chiết hoặc vitamin C sao cho nồng độ cao chiết cuối cùng trong mỗi phản ứng lần lượt là 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 và 100 µg/mL. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 60 phút, sau đó được đo độ hấp thụ của DPPH bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 517 nm.

Thí nghiệm được lặp lại tương tự với vitamin C với dãy nồng độ vitamin C cuối cùng trong phản ứng lần lượt là 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 và 40 µg/mL. Khả năng kháng oxy hóa được tính dựa vào giá trị EC<sub>50</sub> (Effective concentration of 50%, khả năng trung hòa 50% gốc tự do). Giá trị EC<sub>50</sub> được tính dựa trên phương trình tuyến tính của vitamin C và cao chiết.

2.2.4 Thống kê phân tích số liệu

Số liệu được phân tích và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16. Các biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu suất chiết cao

Từ 5000 g mẫu thân và lá Bộ Mắm, các cao chiết methanol cây khô và cây tươi được tách chiết bằng phương pháp ngâm dầm và cô quay với áp suất thấp. Kết quả thu được 148 g cao methanol cây khô và 133 g cao methanol cây tươi. Hiệu suất chiết cao và phần trăm ẩm độ được trình bày trong Bảng 1.

Trong hai loại cao tổng có thể nhận thấy cao methanol được chiết từ cây khô (2,96%) sẽ cho

hiệu suất cao hơn so với chiết từ cây tươi (2,66%).

**Bảng 1: Hiệu suất chiết cao methanol từ cây Bộ Mắm tươi và khô**

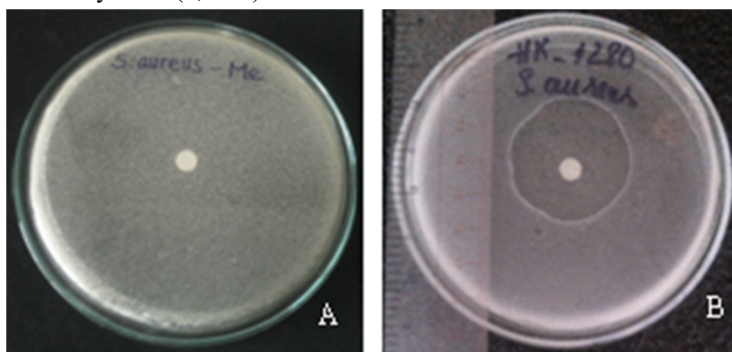
Loại cao	Cao khô	Cao tươi
Khối lượng mẫu tươi (g)	5000	5000
Khối lượng cao (g)	148	133
Hiệu suất chiết cao (%)	2,96	2,66
Ẩm độ (%)	89	100

Cao methanol Bộ Mắm tươi và khô được chiết phân bố lỏng – lỏng với 2 dung môi hexane và ethyl acetate thu được các cao chiết: hexane khô, hexane tươi, ethyl acetate khô và ethyl acetate khô lần lượt với hiệu suất là 24,32%, 16,54%, 15,54% và 5,26%. Kết quả ban đầu cho thấy hiệu suất chiết cao từ cây khô luôn cao hơn cây tươi.

3.2 Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các loại cao chiết Bộ Mắm

Hoạt tính kháng khuẩn của 6 loại cao chiết Bộ Mắm tươi và khô tương ứng với 3 loại dung môi methanol, hexane và ethyl acetate được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán trên thạch trên 5 đối tượng vi khuẩn: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* LMG 2683 và *Vibrio parahaemolyticus* RIMD 2210633.

Methanol được dùng làm dung môi để pha loãng cao chiết trong thí nghiệm kháng khuẩn nên cũng được khảo sát hoạt tính kháng khuẩn tương tự như các cao chiết. Kết quả cho thấy methanol không có hoạt tính kháng 5 dòng vi khuẩn thử nghiệm. Điều này có thể liên quan đến tốc độ bay hơi của methanol quá nhanh, không đủ thời gian để ức chế vi khuẩn. Ảnh hưởng của methanol và cao chiết đến sự phát triển của vi khuẩn được trình bày ở Hình 1.



**Hình 1: Ảnh hưởng của cao chiết và dung môi lên sự phát triển của vi khuẩn *Staphylococcus aureus***

Chú thích: Vòng vô khuẩn không xuất hiện khi khoanh giấy tẩm methanol (A)  
 Vòng vô khuẩn tạo bởi cao hexane Bộ Mắm khô ở nồng độ 1280 µg/mL (B)

3.2.1 Khảo sát hoạt tính kháng *E. coli* của các loại cao chiết Bộ Mắm

Tất cả các loại cao chiết Bộ Mắm đều có hoạt tính kháng *E. coli* thể hiện qua sự xuất hiện vòng vô khuẩn xung quanh khoan giấy tẩm cao chiết. Sự xuất hiện vòng vô khuẩn xung quanh khoan giấy tẩm cao chiết có thể do các chất có

hoạt tính kháng khuẩn trong các cao chiết khuếch tán từ khoan giấy sang mặt thạch xung quanh và ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli* của các cao chiết Bộ Mắm và amoxicillin thể hiện qua đường kính vòng vô khuẩn được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2: Hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli* của các cao chiết Bộ Mắm và kháng sinh amoxicillin**

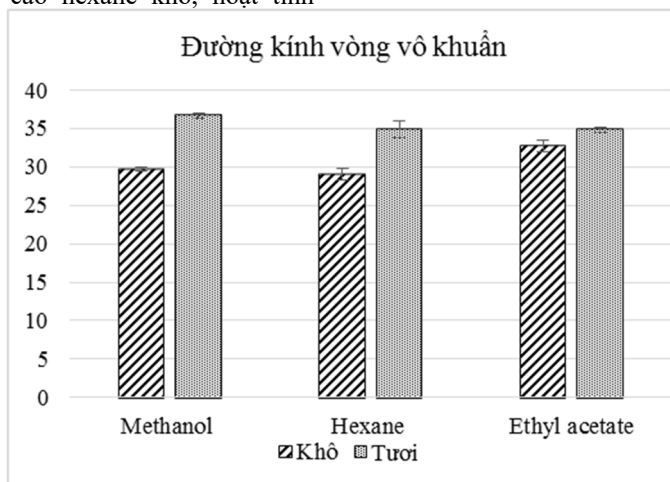
Cao chiết	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)						MIC (µg/mL)
	ở các nồng độ cao chiết khác nhau (µg/mL)						
	40	80	160	320	640	1280	
Methanol khô	- 29,75±0,25 <sup>Ec</sup>	30,25±0,25 <sup>Ebc</sup>	32,833±2,08 <sup>Db</sup>	38,92±0,52 <sup>Ba</sup>	39,00±2,65 <sup>Ca</sup>	40<MIC≤80	
Methanol tươi	- 36,68±0,28 <sup>Ac</sup>	37,02±0,53 <sup>Ac</sup>	38,83±0,76 <sup>Ab</sup>	39,88±0,79 <sup>Aab</sup>	40,83±0,76 <sup>Aa</sup>	40<MIC≤80	
Hexane khô	- 29,08±0,80 <sup>Fb</sup>	29,17±0,76 <sup>Fb</sup>	30,17±0,76 <sup>Fab</sup>	31,33±1,53 <sup>Fa</sup>	27,25±0,25 <sup>Gc</sup>	40<MIC≤80	
Hexane tươi	- 34,90±1,15 <sup>Bd</sup>	36,77±0,23 <sup>Bc</sup>	37,77±0,25 <sup>Bbc</sup>	38,42±0,14 <sup>Cab</sup>	39,07±0,40 <sup>Ba</sup>	40<MIC≤80	
Ethyl acetate khô	- 32,67±0,76 <sup>Dc</sup>	34,25±0,25 <sup>Dc</sup>	32,50±0,50 <sup>Eb</sup>	36,92±0,52 <sup>Ea</sup>	36,83±0,29 <sup>Ea</sup>	40<MIC≤80	
Ethyl acetate tươi	- 34,83±0,29 <sup>Cd</sup>	35,58±0,38 <sup>Cd</sup>	37,00±0,50 <sup>Cc</sup>	38,03±0,48 <sup>Db</sup>	38,92±0,52 <sup>Da</sup>	40<MIC≤80	
Amoxicillin	-	- 29,00±0,90 <sup>Gd</sup>	30,02±0,08 <sup>Gc</sup>	30,93±0,54 <sup>Gb</sup>	32,51±0,16 <sup>Fa</sup>	80<MIC≤160	

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái in thường khác nhau trong cùng một hàng hoặc in hoa khác nhau trong cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa ở mức thống kê 5%, (-) là không kháng khuẩn

Kết quả khảo sát cho thấy, tại nồng độ cao chiết 40 µg/mL, không có sự xuất hiện vòng vô khuẩn xung quanh khoan giấy tẩm cao chiết. Cao chiết chỉ thể hiện hoạt tính từ nồng độ 80 µg/mL. Do đó, nồng độ ức chế tối thiểu được xác định nằm trong khoảng dao động 40 µg/mL<MIC≤80 µg/mL. Nồng độ ức chế tối thiểu là nồng độ cao chiết hay kháng sinh thấp nhất mà tại nồng độ đó có sự xuất hiện vòng vô khuẩn.

Ở các nồng độ cao chiết khác nhau, kích thước vòng vô khuẩn khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê 5% và có xu hướng tăng dần theo nồng độ cao chiết. Riêng đối với cao hexane khô, hoạt tính

kháng *E. coli* giảm ở nồng độ cao chiết 1280 µg/mL. Điều này có thể giải thích theo tính phụ thuộc vào nồng độ của kháng sinh. Ở nồng độ cao, ảnh hưởng tác động của các chất kháng sinh có thể bị giới hạn (Bernier and Surette, 2013). Tại nồng độ 80 µg/mL, hoạt tính kháng *E. coli* của cao methanol tươi đạt cao nhất trong 6 loại cao với đường kính vòng vô khuẩn đạt 36,68 mm ở mức ý nghĩa thống kê 5%. Nhìn chung, hoạt tính kháng *E. coli* của cao Bộ Mắm chiết từ cây tươi luôn cao hơn cao Bộ Mắm chiết từ cây khô trong cùng loại dung môi.



**Hình 2: So sánh hoạt tính kháng *E. coli* của các cao chiết ở nồng độ 80 µg/mL**

Một số loài thực vật khác như: *Hypericum roeperianum*, *Heteromorpha arborescens*,

*Pittosporum viridiflorum* đã được nghiên cứu và kết quả khảo sát hoạt tính sinh học 3 loài thực vật

này cũng cho thấy khả năng kháng *E. coli* (Ishaku et al., 2017). Trong khi các cao chiết Bộ Mắm có MIC ở nồng độ 40 µg/mL < MIC ≤ 80 µg/mL thì ở cây *Hypericum roeperianum* nồng độ này là 130 µg/mL, còn ở cây *Heteromorpha arborescens*, *Pittosporum viridiflorum* lần lượt là 180 µg/mL và 110 µg/mL. Như vậy, các cao chiết từ thân và lá cây Bộ Mắm trong thí nghiệm này cho hiệu quả kháng *E. coli* tương đối cao hơn một số loài thực vật khác. Cao chiết methanol và acetone từ cây *Pouzolzia mixta* khô đã được khảo sát trên các dòng vi khuẩn *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*,

*Aeromonas hydrophila*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella cholerae-suis* và *Serratia marcescens*. Kết quả cho thấy, hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cây *Pouzolzia mixta* chỉ thể hiện với MIC ≥ 12 mg/mL (Samie et al., 2005). Như vậy, tất cả các cao chiết Bộ Mắm đều có hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với cây *Pouzolzia mixta* – loài thực vật cùng chi với cây Bộ Mắm, với MIC ở nồng độ 40 µg/mL < MIC ≤ 80 µg/mL.

3.2.2 Khảo sát hoạt tính kháng *P. aeruginosa* của các loại cao chiết Bộ Mắm

Hoạt tính kháng khuẩn *P. aeruginosa* của các cao chiết Bộ Mắm và kháng sinh amoxicillin được thể hiện qua các đường kính vòng vô khuẩn .

**Bảng 3: Hoạt tính kháng *P. aeruginosa* của các cao chiết Bộ Mắm và kháng sinh amoxicillin**

Loại cao và kháng sinh	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)						MIC (µg/mL)
	ở các nồng độ cao chiết khác nhau (µg/mL)						
	40	80	160	320	640	1280	
Methanol khô	-	24,00±0,50 <sup>a</sup>	25,33±1,16 <sup>a</sup>	24,83±0,29 <sup>a</sup>	24,17±0,76 <sup>a</sup>	20,17±0,74 <sup>b</sup>	40 < MIC ≤ 80
Methanol tươi	-	25,17±0,76 <sup>a</sup>	26,67±0,29 <sup>a</sup>	25,50±0,50 <sup>a</sup>	24,83±0,56 <sup>a</sup>	24,50±3,04 <sup>a</sup>	40 < MIC ≤ 80
Hexane khô	-	22,17±1,04 <sup>b</sup>	23,50±0,50 <sup>ab</sup>	23,50±0,50 <sup>ab</sup>	24,83±1,61 <sup>a</sup>	22,00±2,00 <sup>b</sup>	40 < MIC ≤ 80
Hexane tươi	-	27,00±1,00 <sup>a</sup>	25,17±0,76 <sup>b</sup>	25,83±0,29 <sup>b</sup>	26,00±0,50 <sup>ab</sup>	25,67±0,29 <sup>b</sup>	40 < MIC ≤ 80
Ethyl acetate khô	-	26,17±0,29 <sup>ab</sup>	26,50±0,50 <sup>ab</sup>	27,50±0,50 <sup>a</sup>	25,50±0,50 <sup>b</sup>	25,50±1,50 <sup>b</sup>	40 < MIC ≤ 80
Ethyl acetate tươi	-	25,25±0,67 <sup>c</sup>	26,27±0,46 <sup>b</sup>	27,00±0,00 <sup>ab</sup>	27,17±0,29 <sup>a</sup>	27,67±0,29 <sup>a</sup>	40 < MIC ≤ 80
Amoxicillin	-	-	-	-	17,67±0,60 <sup>b</sup>	19,69±0,41 <sup>a</sup>	320 < MIC ≤ 640

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái theo sau khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa ở mức thống kê 5%. (-) là không kháng khuẩn

Tại nồng độ 40 µg/mL, tất cả các cao chiết đều không thể hiện hoạt tính kháng *P. aeruginosa*. Nhìn chung, khả năng kháng *P. aeruginosa* của các cao chiết Bộ Mắm đạt “ngưỡng” ở nồng độ 80 µg/mL, 160 µg/mL và đường kính vòng kháng khuẩn thay đổi không rõ rệt ở các nồng độ 320 µg/mL, 640 µg/mL, 1280 µg/mL. Hầu hết ở các nồng độ cao chiết, đường kính vòng vô khuẩn không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Đối với kháng sinh amoxicillin, vi khuẩn *P. aeruginosa* thể hiện sự kháng kháng sinh ở các nồng độ 40, 80 160 và 320 µg/mL kháng sinh. Ở nồng độ 640 µg/mL, amoxicillin thể hiện được hoạt tính kháng *P. aeruginosa* với đường kính vòng vô khuẩn đạt 17,67 mm. Từ đây cho thấy việc ứng dụng cao chiết Bộ Mắm sẽ mang lại hiệu quả cao trong việc kháng *P. aeruginosa*.

So sánh khả năng ức chế *P. aeruginosa* của các cao thân và lá Bộ Mắm với cao chiết cây *Cremaspora triflora* (MIC = 160 µg/mL), *Calpurnia aurea* (MIC = 160 µg/mL) và

*Pittosporum viridiflorum* (MIC = 160 µg/mL) (Ishaku et al., 2017) và cây *Pouzolzia mixta* (MIC = 12 mg/mL) (Samie et al., 2005) cho thấy hiệu quả kháng *P. aeruginosa* của các loài cây này thấp hơn cây Bộ Mắm rất nhiều. Từ kết quả này cho thấy việc sử dụng cây Bộ Mắm trong điều trị nhiễm khuẩn có thể mang đến hiệu quả tích cực.

3.2.3 Khảo sát hoạt tính kháng *S. aureus* của các loại cao chiết Bộ Mắm

Tương tự như khả năng kháng *E. coli* và *P. aeruginosa*, tất cả các cao chiết Bộ Mắm đều không thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* ở nồng độ 40 µg/mL và bắt đầu thể hiện hoạt tính ở nồng độ 80 µg/mL. Như vậy, đối với 3 dòng vi khuẩn *E. coli* và *P. aeruginosa* và *S. aureus*, nồng độ ức chế tối thiểu của các cao chiết Bộ Mắm là 40 µg/mL < MIC ≤ 80 µg/mL.

Hoạt tính kháng khuẩn *S. aureus* của các cao chiết Bộ Mắm và kháng sinh amoxicillin được thể hiện qua các đường kính vòng vô khuẩn được thể hiện qua Bảng 4.

**Bảng 4: Hoạt tính kháng *S. aureus* của các cao chiết Bộ Mắm và kháng sinh amoxicillin**

Loại cao và kháng sinh	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)						MIC (µg/mL)
	ở các nồng độ cao chiết khác nhau (µg/mL)						
	40	80	160	320	640	1280	
Methanol khô	- 35,25±0,25 <sup>b</sup>	35,17±0,76 <sup>b</sup>	36,92±0,52 <sup>a</sup>	35,92±0,52 <sup>ab</sup>	36,00±0,00 <sup>ab</sup>		40<MIC≤80
Methanol tươi	- 34,78±0,26 <sup>d</sup>	35,58±0,52 <sup>d</sup>	36,98±0,48 <sup>c</sup>	37,95±0,70 <sup>b</sup>	39,12±0,34 <sup>a</sup>		40<MIC≤80
Hexane khô	- 39,17±1,26 <sup>a</sup>	36,02±1,33 <sup>bc</sup>	37,50±0,50 <sup>ab</sup>	36,33±1,26 <sup>bc</sup>	35,50±1,00 <sup>c</sup>		40<MIC≤80
Hexane tươi	- 35,67±0,76 <sup>b</sup>	38,32±0,28 <sup>a</sup>	39,32±0,28 <sup>a</sup>	39,67±1,26 <sup>a</sup>	38,83±0,76 <sup>a</sup>		40<MIC≤80
Ethyl acetate khô	- 40,00±1,80 <sup>a</sup>	35,83±1,53 <sup>c</sup>	31,33±0,76 <sup>d</sup>	37,58±0,52 <sup>bc</sup>	38,43±0,81 <sup>ab</sup>		40<MIC≤80
Ethyl acetate tươi	- 34,83±0,76 <sup>d</sup>	35,83±0,29 <sup>c</sup>	36,68±0,28 <sup>b</sup>	38,58±0,14 <sup>a</sup>	39,12±0,43 <sup>a</sup>		40<MIC≤80
Amoxicillin	-	-	-	- 17,08±0,44 <sup>b</sup>	18,06±0,09 <sup>a</sup>		320<MIC≤640

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái theo sau khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa ở mức thống kê 5%. (-) là không kháng khuẩn

Trong 5 nồng độ được khảo sát, amoxicillin chỉ thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở 640 µg/mL và 1280 µg/mL. Tuy nhiên, kích thước vòng vô khuẩn của amoxicillin chỉ đạt 17,08±0,44 mm nhỏ hơn cao hexane tươi 2,3 lần. Trong khi ở nồng độ 1280 µg/mL, các cao chiết Bộ Mắm đều cho vòng vô khuẩn lớn hơn 35 mm thì amoxicillin cho vòng kháng khuẩn có kích thước là 18,06±0,09 mm.

**3.2.4 Khảo sát hoạt tính kháng *V. parahaemolyticus* và *E. cloacae* của các cao chiết Bộ Mắm**

Tất cả 6 loại cao chiết Bộ Mắm đều không có hoạt tính kháng 2 dòng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *E. cloacae*. Trong khi đó, kháng sinh amoxicillin cho kết quả kháng cả 2 dòng vi khuẩn này. Kết quả được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5: Khả năng kháng *V. parahaemolyticus* và *E. cloacae* của kháng sinh amoxicillin**

Vi khuẩn	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)						MIC (µg/mL)
	ở các nồng độ cao chiết khác nhau (µg/mL)						
	80	160	320	640	1280		
<i>V. parahaemolyticus</i>	21,30±0,50 <sup>d</sup>	26,41±0,44 <sup>b</sup>	30,20±0,27 <sup>a</sup>	23,86±0,72 <sup>c</sup>	21,5±0,50 <sup>d</sup>		≤80
<i>E. cloacae</i>	-	-	24,16±0,18 <sup>c</sup>	26,53±0,44 <sup>b</sup>	27,02±0,05 <sup>a</sup>		160<MIC≤320

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái theo sau khác nhau trong cùng một hàng thì khác biệt có ý nghĩa ở mức thống kê 5%. (-) là không kháng khuẩn

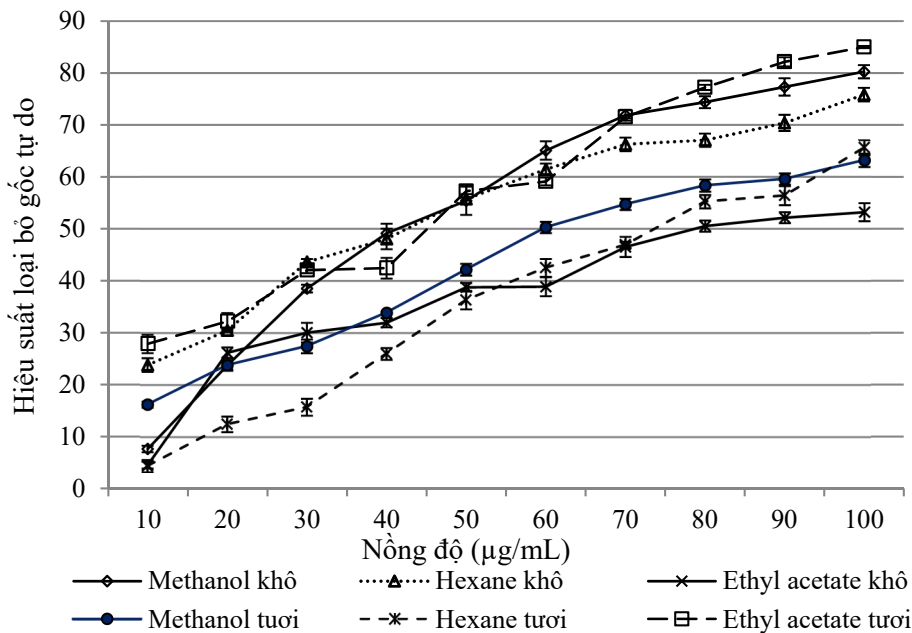
Kết quả cho thấy, amoxicillin thể hiện hoạt tính kháng *V. parahaemolyticus* ở nồng độ 80 µg/mL và hoạt tính kháng *E. cloacae* ở nồng độ 320 µg/mL. Vi khuẩn *E. cloacae* là một trong những tác nhân gây các bệnh nhiễm trùng phổ biến ở bệnh viện do có tính kháng kháng sinh cao và khó tiêu diệt bằng các phương pháp khử trùng thông thường (John *et al.*, 1982). Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được biết đến như là một tác nhân gây bệnh trên thủy sản và là nguyên nhân chính gây bệnh viêm ống tiêu hóa ở người khi ăn phải hải sản nhiễm khuẩn (Shakibzadeh *et al.*, 2009). Hai dòng vi khuẩn này có khả năng kháng các cao chiết từ Bộ Mắm, do đó, cần có các nghiên cứu khác tìm hiểu thêm cơ chế kháng kháng sinh của các dòng vi khuẩn này nhằm tìm ra giải pháp kháng khuẩn hiệu quả.

**3.3 Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết cây Bộ Mắm bằng phương pháp DPPH**

Diphenyl-picrylhydrazine (DPPH) được sử dụng như một chất phản ứng để đánh giá hoạt động làm sạch gốc tự do của chất kháng oxy hóa. Chất

kháng oxy hóa có khả năng cho một nguyên tử hydrogen để khử gốc tự do DPPH màu tím thành dạng ổn định diphenyl-picrylhydrazine (DPPH-H) có màu vàng. Khả năng chống oxy hóa của chất kháng oxy hóa được đánh giá bằng sự thay đổi độ hấp thụ của DPPH ở bước sóng 517 nm (Moharram and Youssef, 2012).

Hiệu quả kháng oxy hóa của các cao chiết từ thân và lá cây Bộ Mắm được xác định dựa vào hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH. Hoạt động trung hòa gốc tự do DPPH được đánh giá dựa trên lượng gốc tự do DPPH còn lại sau khi đã kết hợp với chất kháng oxy hóa. Tỷ lệ giảm của mật độ quang đo được ở bước sóng 517 nm khi có và không có chất kháng oxy hóa được xem như hiệu suất kháng oxy hóa của mẫu thí nghiệm (Đái Thị Xuân Trang và Võ Thị Tú Anh, 2016). Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cây Bộ Mắm còn được xác định dựa vào giá trị EC<sub>50</sub> và so sánh với chất chuẩn vitamin C.



**Hình 4: Hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH của các loại cao chiết Bọ Mắm**

Kết quả cho thấy khả năng kháng oxy hóa của các cao Bọ Mắm tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết. Trong các loại cao chiết Bọ Mắm được dùng thí nghiệm chỉ có cao ethyl acetate tươi cho hiệu suất đạt trên 80% ở nồng độ 100 µg/mL. Cao ethyl acetate khô có hiệu suất thấp nhất, ở nồng độ 100 µg/mL chỉ có thể kháng được khoảng 53,19±1,74 % DPPH.

Khả năng kháng oxy hóa cũng như hiệu quả trung hòa gốc tự do của vitamin C và cao chiết cây Bọ mấm được so sánh dựa vào giá trị EC<sub>50</sub>. Giá trị EC<sub>50</sub> của các loại cao được tính dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính của từng cao và trình bày trong Bảng 6.

**Bảng 6: Giá trị EC<sub>50</sub> (µg/mL) của vitamin C và cao chiết cây Bọ Mắm**

Cao chiết	Phương trình hồi quy	Giá trị EC <sub>50</sub> (µg/mL)
Vitamin C	$y = 1,8164x + 3,999$ ( $R^2 = 99,04\%$ )	25,33
Methanol khô	$y = 0,8310x + 7,853$ ( $R^2 = 93,20\%$ )	50,71
Methanol tươi	$y = 0,6034x + 8,871$ ( $R^2 = 95,00\%$ )	68,16
Hexane khô	$y = 0,6670x + 15,990$ ( $R^2 = 89,50\%$ )	50,99
Hexane tươi	$y = 0,6755x - 0,922$ ( $R^2 = 98,80\%$ )	75,38
Ethyl acetate khô	$y = 0,5163x + 8,102$ ( $R^2 = 88,80\%$ )	81,15
Ethyl acetate tươi	$y = 0,7754x + 13,67$ ( $R^2 = 94,40\%$ )	46,85

Hoạt tính kháng oxy hoá của các cao chiết Bọ Mắm tăng dần theo thứ tự: ethyl acetate tươi (EC<sub>50</sub> = 46,85 µg/mL), methanol khô (EC<sub>50</sub> = 50,71 µg/mL), hexane khô (EC<sub>50</sub> = 50,99 µg/mL), methanol tươi (EC<sub>50</sub> = 68,16 µg/mL), hexane tươi (EC<sub>50</sub> = 75,38 µg/mL) và ethyl acetate khô (EC<sub>50</sub> = 81,12 µg/mL). Như vậy, khả năng kháng oxy hóa của cao ethyl acetate Bọ Mắm tươi là cao nhất nhưng vẫn thấp hơn vitamin C (kém hơn vitamin C 1,85 lần).

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết cây Bọ Mấm (*P. zeylanica* L.) tương đối cao và mạnh hơn loài *Pouzolzia bennettiana* – loài thực vật cùng chi, được khảo sát tại Ấn Độ. Giá trị EC<sub>50</sub> của cao

methanol cây Bọ Mấm khô là 50,71 µg/mL. Trong khi đó, giá trị EC<sub>50</sub> của cao methanol lá và cao methanol thân cây *Pouzolzia bennettiana* lần lượt là 71,29 µg/mL và 99,45 µg/mL (Preethi *et al.*, 2016).

Trên thế giới, đã có một số công trình khoa học đã nghiên cứu về thành phần hóa học của Bọ Mấm (*P. zeylanica* L.) cho thấy chúng chứa các chất chuyển hóa thứ cấp bao gồm: alkaloid, flavonoid, triterpenoid, anthraquinon, tannin, steroid và saponin (Saha *et al.*, 2012). Trong đó, hợp chất flavonoid là thành phần được biết đến với hoạt tính kháng khuẩn (Luisa và Irene, 2012) và kháng oxy hoá mạnh (Pietta, 2000). Hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của những cao chiết thực vật có

thể là do hàm lượng polyphenol và flavonoid. Các hợp chất polyphenol là các thành phần quan trọng của thực vật vì khả năng trung hòa gốc tự do nhờ các nhóm hydroxyl (Yi *et al.*, 2007). Các chất chiết xuất từ trái cây, thảo dược, rau củ, ngũ cốc và các vật liệu thực vật khác giàu polyphenol và flavonoid ngày càng được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm vì tính chất kháng oxy hóa và kháng khuẩn (Shoib and Shahid, 2014).

#### 4 KẾT LUẬN

Tất cả 6 loại cao chiết Bộ Mắm đã khảo sát đều có khả năng ức chế 3 dòng vi khuẩn: *E. coli*, *P. aeruginosa* và *S. aureus* ( $40 \mu\text{g/mL} < \text{MIC} \leq 80 \mu\text{g/mL}$ ) và hiệu quả kháng khuẩn của các cao chiết đều tốt hơn amoxicillin. Tất cả 6 loại cao chiết đều không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với 2 dòng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *E. cloacae*.

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của những cao chiết thân và lá Bộ Mắm cho thấy tất cả các cao chiết đều có khả năng kháng oxy hóa, tuy nhiên hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết đều thấp hơn vitamin C từ 1,85 – 3,20 lần.

Cao thân và lá Bộ Mắm được chiết từ cây khô và cây tươi đều có hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa. Trong đó, cao chiết từ cây Bộ Mắm tươi cho hiệu quả kháng khuẩn, kháng oxy hóa tốt và ổn định hơn cây khô.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bauer, A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Turck M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology, 45(4): 493-496.

Bernier, S.P., & Surette, M.G., 2013. Concentration-dependent activity of antibiotics in natural environments. *Frontiers in Microbiology*, 4, 20.

Đái Thị Xuân Trang và Võ Thị Tú Anh, 2016. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và kháng vi khuẩn *Enterobacter cloacae* của các cao chiết từ cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.). *Tạp chí Phát triển KH&CN*. 19(5):76–83.

Ishaku, L. E., Botha F. S., McGaw L. J., Eloff J. N., 2017. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BioMed Central*, 17(1): 133.

John, J.F., Sharbaugh R.J., Bannister E.R., 1982. *Enterobacter cloacae*: bacteremia, epidemiology, and antibiotic resistance. *Rev. Infect.Dis*, 4:13–28.

Li, P., Huo L., Su W., Lu R., Deng C., Liu N., Deng Y., Guo N., Lu C., He C., 2011. Radical - scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. *J. Serb. Chem. Soc.* 76:709–717.

Moharram H.A. and Youssef M.M., 2012. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 1, 106.

Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. 28–40.

Phạm Hoàng Hộ, 2003. Cây cỏ Việt Nam (Quyển III). Nhà xuất bản Trẻ. 602.

Paul, S., Saha D., 2012. Pharmacognostic Studies of Aerial Part of *Pouzolzia zeylanica* (L.). *Asian J. Pharm*, 2(4):141–142.

Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.*, 63(7):1035–1042.

Pistelli, L. and Giorgi, I., 2012. Antimicrobial properties of flavonoids. In: Patra A. (eds) *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Springer, Netherlands, pp. 33-91.

Prakash, A., Rigelhof F., Miller E., 2000. Antioxidant activity. *Analytical progress Medallion Laboratories*, 1–4.

Preethi, P.N., Jeya J.G., Rajasekaran A., Arivukkarasu R., 2016. HPTLC Fingerprinting of Phenolic Acids and Assessment of Antioxidant Potential of *Pouzolzia bennettiana* Wight a Medicinal Plant from Nilgiri Hills. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 13(3):1–9.

Saha, D., Paul S., Chowdhury S., 2012. Antibacterial activity of ethanol extract of *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn. *International journal of pharmaceutical innovations*, 2(1):1–5.

Samie, A., Obi C.L., Bessong P.O., Namrita L., 2005. Activity profiles of fourteen selected medicinal plants from Rural Venda communities in South Africa against fifteen clinical bacterial species. *African Journal of Biotechnology*, 4(12):1443–1451.

Shakibazadeh, S., Saad C., Christianus A., Kamarudin M., Sijam K., NorShamsudin M., Neela V., 2009. Bacteria flora associated with different body parts of hatchery reared juvenile *Penaeus monodon*, tanks water and sediment. *Annals of microbiology*, 59(3): 425-430.

Shoib, A.B., Shahid A.M., 2014. Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of methanolic extracts of *Gentiana kurroo royle*. *Saudi J Biol Sci*, 21(5):493–498.

Tang, Y.F., Du Z.G., He Z.F., She X.M., Cai J.H., 2013. Molecular characterization of a novel monopartite begomovirus isolated from *Pouzolzia zeylanica* in China. *Arch Virol*, 158: 1617–1620.

Yi, O., Jovel E.M., Towers N.G.H., Wahbe T.R., Cho D., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of native *Rosa* sp. from British Columbia. Canada. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 58(3):178–189.