



DOI:10.22144/ctu.jvn.2017.119

KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG PHENOLIC TỔNG, FLAVONOID TỔNG, HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT ETHANOL VÀ METHANOL CỦA LÁ VÀ THÂN RỄ CÂY CỎ TRANH (*Imperata cylindrica*)

Võ Thị Kiều Ngân¹, Nguyễn Thị Ngọc Mai¹, Nguyễn Thanh Hoàng¹, Trần Hồng Đức² và Nguyễn Đức Độ¹

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Phòng Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn huyện Châu Thành, Tỉnh Hậu Giang

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/04/2017

Ngày nhận bài sửa: 28/06/2017

Ngày duyệt đăng: 31/10/2017

Title:

Determination of total phenolic and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of ethanolic and methanolic extracts of *Imperata cylindrica* rhizomes and leaves

Từ khóa:

Chống oxy hóa, Cỏ Tranh, flavonoid, kháng khuẩn, phenolic

Keywords:

Antibacterial activity, antioxidant activity, flavonoids, *Imperata cylindrica*, phenolics

ABSTRACT

The different ultrasound - assisted extractions with ethanol 70% and methanol 70% from leaves and rhizomes of *Imperata cylindrica* revealed the presence of phenolics and tannins, flavonoids, quinones, coumarins, alkaloids, terpenoids and saponins. The leaf of *I. cylindrica* was extracted in methanol (LM70S) showed the highest total phenolic concentration was 73.45 to 86.90 gallic acid equivalents g^{-1} of extract. The highest total flavonoid content was revealed in ethanolic leaf extract (LE70S) (78.38 mg quercetin equivalent g^{-1} of extract), LE70S also demonstrated highest antioxidant activity with a lowest IC_{50} value ($313.76 \pm 2.08 \mu g/ml$) in comparison with those of the other extracts, the IC_{50} value of the standard ascorbic acid is $274.33 \pm 3.83 \mu g/ml$. The methanolic leaf extract (LM70S) had the highest antibacterial activity with largest zones of inhibition of 9.6 ± 0.14 mm against *Escherichia coli* and 8.4 ± 0.14 mm against *Bacillus subtilis* at concentration 100 mg/mL. The *I. cylindrica* can be regarded as promising candidates for natural plant sources of antioxidant and antibacterial activities.

TÓM TẮT

Các cao chiết lá và thân rễ cây Cỏ Tranh (*Imperata cylindrica*) được chiết xuất bằng dung môi ethanol 70% và methanol 70% được khảo sát đều chứa nhiều hợp chất tự nhiên như phenolic và tannin, flavonoid, quinone, coumarin, alkaloid, terpenoid và saponin. Cao chiết lá - methanol (LM70S) có hàm lượng phenolic tổng nhiều nhất ($86,90$ mg gallic acid/g chiết xuất). Và hàm lượng flavonoid tổng nhiều nhất có giá trị là $78,38$ mg quercetin/g chiết xuất ở cao chiết lá - ethanol (LE70S). LE70S cũng là cao chiết có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất với giá trị IC_{50} thấp nhất là $313,76 \pm 2,08 \mu g/ml$, giá trị IC_{50} của ascorbic acid là $274,33 \pm 3,83 \mu g/ml$. Cao chiết lá - methanol (LM70S) là cao chiết có khả năng kháng khuẩn mạnh nhất với đường kính vòng vô khuẩn là $9,6 \pm 0,14$ mm trên *Escherichia coli* và $8,4 \pm 0,14$ mm trên *Bacillus subtilis* ở nồng độ 100 mg/mL. Cỏ Tranh có thể được xem là nguồn thực vật tự nhiên đầy tiềm năng của các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn.

Trích dẫn: Võ Thị Kiều Ngân, Nguyễn Thị Ngọc Mai, Nguyễn Thanh Hoàng, Trần Hồng Đức và Nguyễn Đức Độ, 2017. Khảo sát hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng, hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết ethanol và methanol của lá và thân rễ cây Cỏ Tranh (*Imperata cylindrica*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 52b: 16-22.

1 GIỚI THIỆU

Các hợp chất phenolic là các hợp chất chuyển hóa thứ cấp của thực vật như flavonoid, alkaloid và terpenoid không chỉ có chức năng sinh lý mà còn có tác dụng tích cực đối với sức khỏe con người vì chúng có tính chất chống oxy hóa (Velioglu *et al.*, 1998; Çalışkan and Polat, 2011). Chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa các quá trình gây bệnh liên quan đến não, ung thư, viêm, rối loạn hay thoái hóa thần kinh, tiểu đường, viêm khớp cũng như tim mạch (Uddin *et al.*, 2008; Jayasri *et al.*, 2009). Ngoài hoạt tính chống oxy hóa, các hợp chất phenolic từ các cây khác nhau đã được báo cáo là có hoạt tính kháng khuẩn chống lại các vi sinh vật gây bệnh khác nhau (Türkyilmaz *et al.*, 2013; Megdiche-Ksouri *et al.*, 2015; Stefanović *et al.*, 2015). Việc kiểm tra các hợp chất tự nhiên ở thực vật đối với khả năng chống oxy hóa và chống nhiễm trùng đã trở nên quan trọng vì tính ứng dụng trong điều trị bệnh và sự gia tăng đáng báo động của vi sinh vật gây bệnh kháng lại kháng sinh hiện có trong những năm gần đây. Sự xuất hiện và ngày một tăng của *Escherichia coli* kháng lại nhiều kháng sinh (ampicillin, sulfonamide, trimethoprim và gentamicin) hiện nay là một chủ đề đáng quan tâm của quốc tế (Kronvall, 2010). Cỏ Tranh (*Imperata cylindrica*) phổ biến trên toàn thế giới với tên “Cogon grass” (Anh) và “Lalang” (Malaysia), là loài cỏ hoang dại, phát triển được trong điều kiện khí hậu khắc nghiệt và môi trường ít dinh dưỡng (MacDonald, 2004). Các lá và thân rễ của Cỏ Tranh thường được sử dụng trong dân gian qua nhiều thập kỷ ở châu Á để điều trị cho người bị cảm lạnh, gút, trĩ, thiếu máu, tiểu đường và ung thư với các thành phần hóa học chính được biết đến như phenolic, flavonoid, alkaloid, terpenoid, carbohydrate và glycoside (Krishnaiah *et al.*, 2009; Parvathy *et al.*, 2011). Mục đích của nghiên cứu này là xác định hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng của các cao chiết lá và thân

rễ cây Cỏ Tranh, và đánh giá hoạt tính của chúng, đặc biệt là hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

Các hóa chất và môi trường được sử dụng trong thí nghiệm: ethanol (EtOH) (Việt Nam), methanol (MeOH), thuốc thử Folin-Ciocalteu, dung dịch gallic acid (GA), dung dịch H₂O₂ (Trung Quốc), quercetin (QE), ascorbic acid, ampicillin (Việt Nam), DMSO (dimethyl sulfoxide) (Đức) dùng để pha loãng cao chiết và môi trường Luria Bertani (trypton: 10 g/L (Đức); NaCl: 10 g/L (Trung Quốc); yeast extract: 5 g/L (Ấn Độ) và agar: 15 g/L (Việt Nam)) (Sambrook, 2001) được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) và *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*).

Vi sinh vật được sử dụng để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn gồm 2 dòng vi khuẩn đại diện gram âm - *E. coli* và vi khuẩn gram dương - *B. subtilis* được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Công nghệ Gen Thực vật và phòng thí nghiệm Công nghệ thực phẩm thuộc Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Hai dòng vi khuẩn này được nuôi cấy trên môi trường Luria Bertani (LB) ở 37°C trong 24 giờ.

Mẫu lá và thân rễ cây Cỏ Tranh không sâu bệnh được thu tại khu dân cư ven Nam sông Hậu thành phố Cần Thơ. Sau khi được đưa về phòng thí nghiệm, mẫu cây được rửa sạch và để ráo nước ở điều kiện phòng thí nghiệm trong 6 giờ. Sau đó, phần lá và thân rễ được cắt nhỏ phân thành 4 loại mẫu cao chiết, mỗi loại gồm 500 g mẫu (lá hoặc thân rễ) cho vào ngâm với 1,750 mL dung môi (ethanol 70% hoặc methanol 70%). Bốn mẫu cao chiết được xay nhỏ, rồi tiến hành xử lý sóng siêu âm 120 W ở 30°C trong 45 phút. Sau đó, để yên trong 24 giờ rồi tiến hành lọc, cô quay để thu được 4 loại cao chiết: lá - ethanol (LE70S), lá - methanol (LM70S), thân rễ - ethanol (RE70S) và thân rễ - methanol (RM70S).

Bảng 1: Các phương pháp định tính các hợp chất tự nhiên

Hợp chất được định tính	Thực hiện phản ứng định tính	Kết quả phản ứng
Phenolic và tannin	50 µL dd cao chiết + 500 µL H ₂ O + 2-3 giọt FeCl ₃ (5%)	Tủa màu xanh đen
Flavonoid	50 µL dd cao chiết + 500 µL Pb(CH ₃ COO) ₂ (10%)	Tủa màu vàng
Quinone	50 µL dd cao chiết + 3 - 4 giọt HCl	Màu xanh lá
Coumarin	50 µL dd cao chiết + 750 µL NaOH (10%)	Màu vàng
Alkaloid	50 µL dd cao chiết + vài giọt thuốc thử Wagner	Tủa màu nâu đỏ
Terpenoid	50 µL dd cao chiết + 500 µL CHCl ₃ + 2 - 3 giọt H ₂ SO ₄ dd	Màu đỏ gạch hoặc xanh lá
Saponin	50 µL dd cao chiết + 2 mL nước cất + vài giọt dầu oliu + đun nóng 90°C	Nhũ tương màu sữa

*Ghi chú: dd: dung dịch; đđ: đậm đặc

Chỉ tiêu đánh giá: Quan sát hiện tượng màu sắc trước và sau phản ứng để ghi nhận có hoặc không có các hợp chất tự nhiên trong cao chiết

2.1 Định tính một số hợp chất tự nhiên

Phương pháp định tính được thực hiện theo mô tả của Sofowora *et al.* (1993) và Tiwari *et al.* (2011). Bốn cao chiết (LE70S, LM70S, RE70S và RM70S) nồng độ 100 mg/mL được định tính với các hóa chất và thuốc thử. Các bước thực hiện như Bảng 1.

2.2 Xác định hàm lượng phenol tổng

Hàm lượng phenol tổng được xác định theo mô tả của Yadav và Agarwala (2011). Sử dụng methanol pha loãng bốn mẫu cao chiết (LE70S, LM70S, RE70S và RM70S) để đạt nồng độ 1 mg/ml và dung dịch phenolic chuẩn gallic acid nồng độ 20, 40, 60, 80, 100 và 120 µg/mL; thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% được pha loãng với nước.

Lần lượt cho 1 mL dung dịch gallic acid (nồng độ 20, 40, 60, 80, 100 và 120 µg/mL) vào 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và để phản ứng trong 5 phút; sau đó, thêm tiếp vào 2 mL dung dịch Na₂CO₃ 2%. Sau 45 phút phản ứng ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ được xác định bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Giá trị OD được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để sử dụng xác định hàm lượng phenolic tổng trong các mẫu cao chiết. Các mẫu cao chiết được tiến hành tương tự với phenolic chuẩn.

Hàm lượng phenolic tổng được tính theo công thức:

$$P = a \times V/m$$

Trong đó: P: hàm lượng phenolic tổng (mg gallic acid/g chiết xuất); a: giá trị x từ đường chuẩn với gallic acid (µg/mL); V: thể tích dung dịch cao chiết (mL); m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.3 Xác định hàm lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo mô tả của Chang *et al.* (2002). Methanol được sử dụng để pha loãng bốn cao chiết để đạt nồng độ 1 mg/ml và dung dịch flavonoid chuẩn quercetin đạt nồng độ 20; 40; 60; 80 và 100 µg/mL; dung dịch AlCl₃ 10% và dung dịch CH₃COOK 1M được pha loãng với nước.

Lần lượt cho 0,5 mL dung dịch quercetin (nồng độ 20; 40; 60; 80 và 100 µg/mL) vào 1,5 mL MeOH và để phản ứng trong 5 phút. Sau đó, thêm tiếp 0,1 mL AlCl₃ 10% và để phản ứng trong 6 phút. Cuối cùng, hỗn hợp được thêm vào 0,1 mL CH₃COOK 1M và 2,8 mL nước cất, lắc đều rồi để ổn định ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Sau 45 phút, tiến hành xác định độ hấp thụ bằng máy đo

quang phổ ở bước sóng 415 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả OD được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để sử dụng xác định hàm lượng flavonoid trong các mẫu cao chiết. Các mẫu cao chiết được tiến hành tương tự với quercetin.

Hàm lượng flavonoid tổng được tính theo công thức:

$$F = c \times V/m$$

Trong đó: F: hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g chiết xuất); c: giá trị x từ đường chuẩn với quercetin (mg/mL); V: thể tích dịch chiết (mL); m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.4 Xác định hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được thực hiện theo mô tả của Rahate *et al.* (2013). Đệm phosphate pH 7,4; cao chiết ở các nồng độ 50, 100, 150, 200 và 250 µg/ml; dung dịch H₂O₂ 4 mM và dung dịch acid ascorbic nồng độ 50; 100; 150; 200 và 250 µg/ml.

Lần lượt cho vào ống nghiệm 2 mL dung dịch cao chiết (nồng độ 50 - 250 µg/mL) và 1 mL dung dịch H₂O₂ 4 mM. Sau 10 phút, tiến hành xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 230 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị chỉ chứa mẫu pha loãng (nồng độ 50 - 250 µg/mL) không có H₂O₂ và cũng được xác định độ hấp thụ ở bước sóng 230 nm. Thực hiện thí nghiệm tương tự đối với đối chứng acid ascorbic (nồng độ 50 - 250 µg/mL). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

$$\text{Phản trăm ức chế H}_2\text{O}_2 (\%) = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Trong đó: A₀: độ hấp thụ của mẫu trắng; A: độ hấp thụ của mẫu có H₂O₂.

Xây dựng đường chuẩn với phản trăm ức chế H₂O₂ thu được ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, tính giá trị IC₅₀ (nồng độ cao chiết hay acid ascorbic mà tại đó ức chế 50% H₂O₂) dựa vào phương trình đường chuẩn ((y) = ax + b) với y = 50% để tìm x (x là IC₅₀ cần tìm).

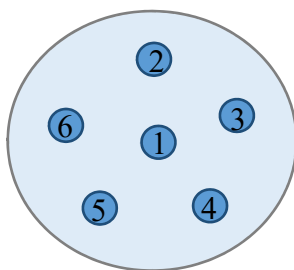
2.5 Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại gồm 4 loại cao chiết nồng độ 100 mg/mL và 2 dòng vi khuẩn *E. coli* và *B. subtilis* mật độ 10⁶ cfu/mL.

Thí nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn được tiến hành theo mô tả của Parkavi *et al.* (2012) có hiệu chỉnh. Trải 50 µL huyền phù từng dòng vi khuẩn (*E. coli* hoặc *B. subtilis*) (10⁶ cfu/mL) trên đĩa môi trường LB, sau đó đục 6 giếng (đường kính

6 mm). Tiếp tục bơm lần lượt 20 µL DMSO (đối chứng âm) vào 1 giếng, 20 µL ampicillin 0,003 mg/mL (đối chứng dương) vào 1 giếng, bơm 20 µL

các dung dịch cao chiết 100 mg/mL vào các giếng còn lại. Sau đó, đem các đĩa ủ ở 37°C trong 24 giờ.



- (1) DMSO
- (2) Ampicillin
- (3) LE70S
- (4) LM70S
- (5) RE70S
- (6) RM70S

Hình 1: Sơ đồ bố trí bốn cao chiết vào giếng thạch môi trường LB

Sau khi các đĩa thí nghiệm được ủ ở 37°C trong 24 giờ, tiến hành đo đường kính vòng vô khuẩn và lấy giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Đường kính vòng vô khuẩn được tính theo công thức:

$$\text{ĐKVVK (mm)} = D - d.$$

Trong đó, ĐKVVK: đường kính vòng vô khuẩn (mm); D: đường kính vùng ức chế vi khuẩn bao gồm đường kính của giếng (mm); d: đường kính của giếng (d = 6 mm).

2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được tính toán và xử lý bằng

phần mềm Excel. Phân tích ANOVA và so sánh trung bình bằng phần mềm Minitab 16.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khối lượng cao chiết và kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên

Khối lượng cao chiết lá-ethanol (LE70S), thân rễ-ethanol (RE70S), lá-methanol (LM70S) và thân rễ-methanol (RM70S) thu được từ mỗi 500 g mẫu tươi ban đầu được trình bày ở Bảng 2. Hai cao chiết LE70S và LM70S có khối lượng lớn nhất.

Bảng 2: Kết quả định tính các hợp chất tự nhiên và khối lượng của các cao chiết

Cao chiết	Phenolic và tannin	Flavonoid	Quinone	Coumarin	Alkaloid	Terpenoid	Saponin	Khối lượng cao chiết (g)
LE70S	+	+	+	+	+	+	-	1,741
LM70S	+	+	+	+	-	+	+	1,079
RE70S	+	+	-	+	+	+	+	0,575
RM70S	+	+	+	+	+	+	+	0,477

*Ghi chú: (+) có, (-) không.

3.2 Hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng

Hàm lượng phenolic tổng dao động từ 73,45 đến 86,90 mg gallic acid/g chiết xuất (Bảng 3). Các cao chiết của lá có hàm lượng phenolic tổng nhiều hơn so với các cao chiết thân rễ. Vì thực vật sản xuất ra các hợp chất nhóm phenolic để đối phó với các gốc oxy hoạt tính (ROS) và các gốc tự do chất nền (substrate derived-free radicals) được tạo ra trong quá trình quang hợp (Lu and Foo, 1995) nên có sự chênh lệch giữa hàm lượng phenolic ở lá và thân rễ. Hàm lượng phenolic tổng được xác định từ cao chiết methanol cao hơn so với cao chiết ethanol, cho thấy hàm lượng phenolic tổng trong các cao chiết phụ thuộc vào loại dung môi chiết xuất, cụ thể là độ phân cực của dung môi được sử dụng để chiết xuất. Độ hòa tan cao của phenolic

trong dung môi phân cực cung cấp nồng độ cao các chất này trong các cao chiết được chiết xuất sử dụng dung môi phân cực để tách (Zhou and Yu, 2004; Mohsen and Ammar, 2008). Cho nên, hàm lượng phenolic thu được từ chiết xuất dung môi methanol có phần cao hơn so với dung môi ethanol trong nghiên cứu vì độ phân cực của methanol là 6,6 cao hơn so với ethanol là 5,2 (Betancourt, 2008). Một số nghiên cứu trước đó cũng chỉ ra rằng độ tan của hợp chất phenolic trong dung môi chiết xuất phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi và methanol là một trong những dung môi thích hợp nhất để tách phenolic từ thực vật (De Abreu and Mazzafera, 2005; Galvez et al., 2005). Kết quả nghiên cứu của Trabelsi et al. (2010) trên cao chiết lá *Limoniastrum monopetalum* cũng cho thấy điều này. Như vậy, methanol là dung môi thích hợp để chiết xuất các hợp chất phenolic.

Bảng 3: Hàm lượng phenolic và flavonoid tổng trong các cao chiết Cỏ Tranh

Cao chiết	Hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/g chiết xuất) ⁽¹⁾	Hàm lượng phenolic tổng (mg GA/g chiết xuất) ⁽²⁾
LE70S	78,38±1,02 ^a	83,15±1,04 ^b
LM70S	49,70±1,15 ^b	86,90±0,46 ^a
RE70S	35,31±0,70 ^c	73,45±1,26 ^d
RM70S	28,60±1,67 ^d	79,10±1,25 ^c

*Ghi chú: ⁽¹⁾: các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của gallic acid ($y = 0,0114x + 0,0252$; $r^2 = 0,9968$). ⁽²⁾: các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của quercetin: $y = 0,0139x + 0,0095$; $r^2 = 0,9991$. Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey

Hàm lượng flavonoid tổng trong cao chiết từ 28,60 đến 78,38 mg QE/g chiết xuất (Bảng 3). Hàm lượng flavonoid tổng ở cao chiết lá cao hơn ở cao chiết thân rễ. Tương tự với nghiên cứu của Krishnaiah *et al.* (2009) và Wong *et al.* (2012), lá Cỏ Tranh cũng chứa nhiều flavonoid tổng hơn thân rễ (3,2 mg flavonoid/g trọng lượng khô ở lá so với 1,02±0,13 mg QE/g trọng lượng khô ở thân rễ). Dung môi EtOH có hiệu quả trội hơn MeOH trong việc chiết xuất các hợp chất flavonoid trong Cỏ Tranh. Điều này cũng giống với nghiên cứu của Alothman *et al.* (2009) khi định lượng flavonoid trên 3 loại trái cây là dứa, chuối và ổi được chiết xuất với dung môi MeOH 70% thì hàm lượng flavonoid trong chúng lần lượt là 1,24±0,03; 5,24±0,26 và 18,2±0,59 mg catechin (CEQ)/100 g trọng lượng tươi. Giá trị tương ứng khi chiết xuất bằng EtOH 70% lần lượt là 4,14±0,26; 9,35±0,35 và 37,1±0,83 mg catechin equivalent/100 g trọng lượng tươi, các giá trị này cao hơn các giá trị được chiết xuất bằng MeOH 70%.

Như vậy, MeOH là dung môi thích hợp cho việc chiết xuất phenolic, EtOH thích hợp để chiết xuất flavonoid. Cao chiết lá đều chứa phenolic và flavonoid với hàm lượng nhiều hơn so với cao chiết thân rễ.

3.3 Hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết Cỏ Tranh được đánh giá qua khả năng loại bỏ chất oxy hóa hydrogen peroxide (H₂O₂), được thể hiện qua giá trị nồng độ của mẫu mà tại đó có thể ức chế 50% H₂O₂. Giá trị IC₅₀ càng thấp mẫu sẽ có hoạt tính chống oxy hóa càng cao và ngược lại.

Bảng 4: Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được thể hiện qua giá trị IC₅₀

Cao chiết	Nồng độ cao chiết ức chế 50% H ₂ O ₂ (IC ₅₀) (µg/mL)
LE70S	313,76±2,080 ^b
LM70S	332,34±2,290 ^c
RE70S	383,15±8,080 ^d
RM70S	376,65±10,93 ^d
Acid ascorbic	274,33±3,830 ^a

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey

Kết quả khảo sát cho thấy, tất cả các cao chiết đều có khả năng chống oxy hóa, và theo thứ tự giảm dần như sau: LE70S > LM70S > RE70S = RM70S (Bảng 4). Với giá trị IC₅₀ nhỏ nhất, cao chiết LE70S (313,76±2,08 µg/mL) là cao chiết có khả năng chống oxy hóa tốt nhất trong thí nghiệm này. Các cao chiết của lá cho khả năng chống oxy hóa cao hơn của thân rễ, là do lá có chứa hàm lượng phenolic và flavonoid lớn hơn (Bảng 3). Nhóm phenolic gồm cả flavonoid là những hợp chất có khả năng chống oxy hóa nổi trội nhất ở thực vật (Lu và Foo, 1995), và là hững hợp chất chống oxy hóa rất mạnh được chứng minh là mạnh hơn cả vitamin C, E và carotenoid (Rice-Evans *et al.*, 1995; Rice-Evans *et al.*, 1996). Như vậy, dung môi ethanol là dung môi thích hợp để chiết xuất lá cho ra cao thô có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất so với các cao chiết khác.

3.4 Hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết Cỏ Tranh được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch và được đánh giá qua đường kính vòng vô khuẩn. Đường kính vòng vô khuẩn càng lớn thì hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết càng mạnh và ngược lại. Kết quả khảo sát cho thấy, tất cả 4 cao chiết đều có khả năng kháng *E. coli* và *B. subtilis* (Bảng 5). Cao chiết LM70S cho khả năng kháng khuẩn mạnh nhất với giá trị đường kính vòng vô khuẩn lớn nhất so với các cao chiết còn lại là 9,6±0,14 mm đối với *E. coli* và 8,4±0,14 mm đối với *B. subtilis*, và cao chiết RE70S (*E. coli*: 7±0,5 mm; *B. subtilis*: 7,2±0,29 mm) cho khả năng kháng khuẩn thấp nhất. Các cao chiết lá cho khả năng kháng khuẩn tốt hơn các cao chiết thân rễ, có thể do trong lá có chứa nhiều hợp chất kháng khuẩn hơn, và các hợp chất này có thể là các hợp chất nhóm phenolic và flavonoid vì ở lá chứa nhiều hàm lượng phenolic và flavonoid (Bảng 3). Theo công bố của Ismail *et al.* (2011), cao chiết từ lá Cỏ

Tranh cũng cho hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn từ thân rễ. Kết quả trên cũng cho thấy, dung môi MeOH 70% hiệu quả hơn trong việc chiết xuất các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn trong Cỏ Tranh so với dung môi EtOH 70%. Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Alo *et al.* (2012) trên lá cây Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum*).

Bảng 5: Đường kính vòng vô khuẩn của các cao chiết Cỏ Tranh kháng *E. coli* và *B. subtilis*

Cao chiết	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
LE70S	8,6±0,29 ^b	7,3±0,25 ^b
LM70S	9,6±0,14 ^a	8,4±0,14 ^a
RE70S	7,0±0,50 ^c	7,2±0,29 ^b
RM70S	9,0±0,0 ^{ab}	8,2±0,29 ^a
Ampicillin	3,5±0,00	12,2±0,29

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey

Như vậy, methanol là dung môi thích hợp để chiết xuất lá và thân rễ Cỏ Tranh để cho ra cao chiết có khả năng kháng *E. coli* và *B. subtilis* tốt hơn so với các cao chiết còn lại.

4 KẾT LUẬN

Các cao chiết lá và thân rễ của Cỏ Tranh đều có hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn (*E. coli* và *B. subtilis*). Cao chiết lá - ethanol (LE70S) cho hiệu quả chống oxy hóa tốt nhất. Cao chiết lá - methanol (LM70S) cho hiệu quả kháng khuẩn mạnh nhất dựa trên giá trị đường kính vòng vô khuẩn trên hai dòng *E. coli* và *B. subtilis*. Kết quả đã xác định Cỏ Tranh là nguồn hợp chất chống oxy hóa và kháng khuẩn tự nhiên tiềm năng với nhiều hợp chất tự nhiên như phenolic, tannin, flavonoid, quinone, coumarin, alkaloid, terpenoid và saponin. Đặc biệt, bộ phận lá Cỏ Tranh có hàm lượng phenolic và hàm lượng flavonoid đều cao thông qua kết quả định lượng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Alo, M.N., Anyim, C., Igwe, J.C., Elom, M., Uchenna, D.S., 2012. Antibacterial activity of water, ethanol and methanol extracts of *Ocimum gratissimum*, *Vernonia amygdalina* and *Aframomum melegueta*. *Advances in Applied Science Research*. 3(2): 844-848.

Alothman, M., Bhat, M.R., Karim, A.A., 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*. 115(3): 785-788.

Balasundram, N., Sundram, K., Sammar, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99(1): 191-203.

Bednarek, P., 2012. Chemical warfare or modulators of defence responses - The function of secondary metabolites in plant immunity. *Current Opinion Plant Biology*. 15(4): 407-414.

Betancourt, A.O., 2008. Analyse, extraction et récupération de poly-3-hydroxybutyrate présent dans la biomasse. Université du Québec à Montréal, pp. 45-55.

Çalışkan, O., Polat, A.A., 2011. Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Scientia Horticulturae*. 128(4): 473-478.

Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chem, J., 2002. Estimation of flavonoid total content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3): 178-182.

De Abreu, I.N., Mazzafera, P., 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology Biochemistry*. 43(3): 241-248.

Galvez, C.J., Martin-Cordero, P., Houghton, A.M., 2005. Antioxidant Activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 53(6): 1927-1933.

Ismail, A.F.H., Samah, O.A.B.D., Sule, A., 2011. A Preliminary study on antimicrobial activity of *Imperata cylindrica*. *Borneo Journal Resource Science Technology*. 1(1): 63-66.

Krishnaiah, D., Devi, T., Bono, A., Sarbatly, R., 2009. Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(2): 067-072.

Lu, F., Foo, L. Y., 1995. Toxicological aspects of food antioxidants. In Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K. (Eds). *Food Antioxidants*. New York, pp. 73-146.

Megdiche-Ksouri, W., Trabelsi, N., Mkdmini, K., Bourguou, S., Noumi, A., Snoussi, M., et al, 2015. *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*. 63: 104-113.

Mohsen, M.S., Ammar, S.M.A., 2008. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*. 112(3): 595-598.

Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H., Abdelly, C., 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT-Food Science Technology*. 43(4): 632-639.

Parkavi, V., Vignesh, M., Selvakumar, K., Mohamed, J.M., Ruby, J.J., 2012. Antibacterial Activity of Aerial Parts of *Imperata cylindrica* (L.) Beauv.

- International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 4(3): 209-212.
- Parvathy, N.G, Padma, R., Renjith, V., Kalpana, P., Rahate and Saranya, T.S, 2011. Phytochemical screening and anthelmintic activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(1): 232-234.
- Krishnaiah, D., Devi, T., Bono, A., Sarbatly, R., 2009. Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research. 3(2): 067-072.
- Kronvall, G., 2010. Antimicrobial resistance 1979-2009 at Karolinska Hospital, Sweden: normalized resistance interpretation during a 30-year follow-up on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* resistance development. Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica. 118(9): 621-39.
- Rahate, K.P., Padma, R., Parkavi, N.G., Renjith, V., 2013. Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 4(1): 73-77.
- Rice-Evans, C.A, Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research. 22(4): 375-383.
- Rice-Evans, C.A., Miller, J.N., Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine. 20(7): 933-956.
- Sambrook, J., Russell, D. W., 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3 edn. Cold Spring Harbor, N.Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp. A2.2
- Sofowora, A..1993. Screening Plants for Bioactive Agents. In: Medicinal Plants and Traditional Medicinal in Africa, ed. Sofowora, A., Ibadan: Spectrum Books Ltd, pp. 134-156.
- Stefanović, O.D., Tešić, J.D., Čomić, L.R., 2015. *Melilotus albus* and *Dorycnium herbaceum* extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potentials. Journal of Food and Drug Analysis. 23(3): 417-424.
- Theis, N., Lerchau, M., 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites. International Journal Plant Sciences. 164(S3): S93-S102.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia. 1(1): 98-106.
- Türkyılmaz, M., Tağı, Ş., Dereli, U., Özkan, M., 2013. Effects of various pressing programs and yields on the antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic content and colour of pomegranate juices. Food Chemistry. 138(2-3): 1810-1818.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46(10): 4113-4117.
- Uddin, S.N., Akond, M.A., Mubassara, S., Yesmin, M.N., 2008. Antioxidant and Antibacterial activities of *Trema cannabina*. Middle-East Journal of Scientific Research. 3(2): 105-108.
- Wong, F., Chai, T., Hoo, Y., 2012. Antioxidation and cytotoxic activities of selected medicinal herbs used in Malaysia. Journal of Medicinal Plants Research. 6(16): 3169-3175.
- Yadav, R.N.S., Agarwala, M., 2011. Phytochemical analysis of some medicinal plants. Journal of Phytology. 3(12): 10-14.
- Zhou, K. and Yu, L., 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. LWT-Food Science and Technology. 37(7): 717-721.