



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.012

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ ỨC CHẾ VI KHUẨN GÂY BỘI NHIỄM MỤN TRÚNG CÁ CỦA LÁ TRÚNG CÁ (*Muntingia calabura* L.)

Dương Thị Bích*, Huỳnh Ngọc Trung Dung, Tri Kim Ngọc, Lê Phụng Hiệp và Nguyễn Văn Bá
 Trường Đại học Tây Đô

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Dương Thị Bích (email: ngocbichtd10@gmail.com)

ABSTRACT

Calabura (*Muntingia calabura* L.) is a species of wild plants which is also grown as an shade tree in the Mekong Delta. However, the study of characterization of this plant is still limited. The aim of this study was to investigate antioxidant and antibacterial activity properties of calabura leaves extract by ethanol 96%. The antioxidant was tested by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The antimicrobia was tested by well diffusion agar method with indicator bacteria including *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne skin. The results showed that the antioxidant activity at the concentration of 250 µg/mL of ethanol was 91.38%, corresponding to IC₅₀ was 34.26 µg/mL. The antioxidant ability was 1.8 times lower than that of vitamin C (IC₅₀ = 18.18 µg/mL). The antibacterial activity of calabura leaves at concentration 50 mg/mL on *P. acnes* with average inhibition diameter was 16.33±2.08 mm, *S. aureus* was 12.33±1.52 mm and *S. epidermidis* was 15.33±0.57 mm. The MIC value of *P. acnes* was 10mg/mL. The MIC of was at 12.5 mg/mL. With the above results, the continued isolation and determination of antioxidant and antibacterial compounds from calabura leaves is an interesting issue that can continue to be studied.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 22/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Examining antioxidant activity and aganist acne-caused bacteria of *Muntingia calabura* L leave

Từ khóa:

Chống oxy hóa, lá trứng cá, *P. Acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*

Keywords:

Antioxidants, *Muntingia calabura* L, *P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*

TÓM TẮT

Cây trứng cá (*Muntingia calabura* L.) là loài cây mọc hoang hoặc được trồng để lấy bóng mát ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, những nghiên cứu về hoạt tính sinh học của lá cây này vẫn còn hạn chế. Vì vậy, đề tài khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và ức chế vi khuẩn của lá trứng cá được thực hiện. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết toàn phần từ lá trứng cá với ethanol 96% bằng phương pháp trung hòa gốc tự do của DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Khảo sát sự ức chế vi khuẩn *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus epidermidis* phân lập từ da của người bị mụn trứng cá bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Kết quả cho thấy hoạt tính chống oxy hóa cao nhất của cao lá trứng cá là 91,38% ở nồng độ 250 µg/mL và IC₅₀ là 34,26 µg/mL thấp hơn vitamin C 1,8 lần (IC₅₀ của vitamin C là 18,18 µg/mL). Khả năng ức chế vi khuẩn *Propionibacterium acnes* với đường kính vòng vô khuẩn là 16,33±2,08 mm, *Staphylococcus aureus* là 12,3 ±1,52 mm và *Staphylococcus epidermidis* là 15,33±0,57 mm ở nồng độ cao 50 mg/mL. Giá trị MIC (Minimal Inhibitory Concentration) của *Propionibacterium acnes* là 10mg/mL, *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus epidermidis* là 12,5 mg/mL. Với kết quả trên, việc tiếp tục phân lập và xác định hoạt chất chống oxy hóa và kháng khuẩn từ lá trứng cá là vấn đề lý thú có thể tiếp tục được nghiên cứu.

Trích dẫn: Dương Thị Bích, Huỳnh Ngọc Trung Dung, Tri Kim Ngọc, Lê Phụng Hiệp và Nguyễn Văn Bá, 2019. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và ức chế vi khuẩn gây bội nhiễm mụn trứng cá của lá trứng cá (*Muntingia calabura* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 91-97.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự kháng thuốc của một số vi khuẩn bội nhiễm ở bệnh mụn trứng cá ngày càng lan rộng và gây nhiều khó khăn trong việc điều trị. Ngoài việc không chế vi khuẩn gây bội nhiễm ở mụn trứng cá, vấn đề xử lý chất oxy hóa hay còn gọi là gốc tự do trong da cũng được chú ý nhiều trong quy trình chăm sóc da. Các gốc tự do có khả năng tấn công các đại phân tử quan trọng như: lipid, protein, acid nhân dẫn đến tổn thương tế bào và phá vỡ cân bằng nội môi (Lobo *et al.*, 2010). Các tế bào, mô mất chức năng và suy yếu làm giảm khả năng đề kháng với tác nhân gây bệnh từ bên ngoài như vi sinh vật. Ngoài ra, sự hiện diện quá nhiều gốc tự do góp phần gia tăng các bệnh viêm nhiễm và lão hóa (Lobo *et al.*, 2010), từ đó làm cho tình trạng mụn trứng cá trên da kéo dài và khó điều trị hơn. Vì vậy, việc tìm kiếm nguồn nguyên liệu có khả năng chống gốc tự do và ức chế vi khuẩn dùng trong chăm sóc da là rất cần thiết.

Cây trứng cá hay còn gọi là mật sâm được sử dụng phổ biến trong các bài thuốc dân gian ở khu vực Đông Nam Á. Cây thường dùng để điều trị sốt, cảm lạnh, bệnh tiêu hóa hay kháng khuẩn. Một số nghiên cứu ghi nhận cây trứng cá chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học như: flavonoid, tanin, phenolic (Keneda *et al.*, 1991; Su *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2005) có khả năng kháng các tế bào ung thư và kháng khuẩn.

Mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát khả năng chống oxy hóa và kháng vi khuẩn gây bội nhiễm ở bệnh mụn trứng cá của lá trứng cá. Từ đó, bổ sung thêm nguồn nguyên liệu tự nhiên dùng chăm sóc và bảo vệ da.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện, thiết bị và mẫu vật

Lá cây trứng cá

Lá trứng cá được thu hái tại phường Thờng Thạnh, quận Cái Răng, thành phố Cần Thơ. Mẫu lá thu về, rửa sạch, sấy khô ở 60°C, xay nhuyễn, cho vào túi nylon kín bảo quản ở nhiệt độ phòng không quá một tuần để chuẩn bị cho nghiên cứu.

Vi sinh vật sử dụng để nghiên cứu

Propionibacterium acnes (P. acnes), *Staphylococcus aureus* (S. aureus) và *Staphylococcus epidermidis* (S. epidermidis) được phân lập từ da bệnh nhân bị mụn trứng cá.

Hóa chất và môi trường

Môi trường nuôi cấy vi khuẩn: Tryptone glucose yeast extract agar (TYEG agar), tryptic soy broth (TSB) (Án Độ), Mannitol Salt Agar (MSA) (Án Độ), tryptic soy agar (TSA) (Án Độ).

Hóa chất: thuốc nhuộm Gram, hóa chất kiểm tra đặc tính sinh hóa, Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Án Độ), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma, USA), vitamin C, kháng sinh erythromycin.

Thiết bị

Tủ cấy (Class II BSC, Esco, Indonesia), nồi khử trùng autoclave (Sturdy SA-300VF), bộ micropipet Hirschman đơn kênh từ 50 µL-5 mL, tủ sấy Memmert UN55 (Đức), bếp cách thủy Memmert (Đức), cân phân tích độ ẩm MB27 Ohaus (Mỹ), cân phân tích 4 số lẻ PA 124C Ohaus (Mỹ), máy quang phổ Genesys 10S UV- Vis (Mỹ).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp điều chế cao ethanol toàn phần

Cao lá trứng cá được chiết theo kỹ thuật rần - lỏng bằng soxhlet (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007). Bột lá trứng cá khô được làm ẩm với dung môi (ethanol 96%) vừa đủ trong 30 phút, sau đó cho vào soxhlet, rót dung môi với tỷ lệ 1:20 (w/v) và đun ở 70°C trong 3 giờ. Kết thúc quá trình đun, chiết lấy phần dịch và cô cách thủy ở 70°C cho đến khi thu được cao đạt độ ẩm dưới 20%.

2.2.2 Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hóa bằng 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết và vitamin C được xác định bằng thử nghiệm DPPH (Prakash, 2000; Wojdylo *et al.*, 2007; Chanda and Dave, 2009) với các bước thực hiện sau:

Chuẩn bị thuốc thử và mẫu thử

Dung dịch DPPH: Pha dung dịch DPPH 0,6 mM.

Mẫu thử: cao chiết được hòa tan với methanol để đạt được nồng độ 10 µg/mL; 50 µg/mL; 100 µg/mL; 150 µg/mL; 200 µg/mL; 250 µg/mL.

Đối chứng dương được sử dụng là vitamin C pha với nồng độ 10 µg/mL; 20 µg/mL; 30 µg/mL; 40 µg/mL; 50 µg/mL.

Tiến hành quy trình thử nghiệm

Bảng 1: Phản ứng thử nghiệm DPPH

Mẫu thí nghiệm	Cao chiết (ml)	Dung dịch methanol (ml)	Dung dịch DPPH (ml)
Mẫu trắng	0,0	4,0	0,0
Mẫu đối chứng	0,0	3,5	0,5
Mẫu thử	0,5	3,0	0,5

Hỗn hợp sau khi pha để trong tối, ở nhiệt độ phòng (25-30°C) trong 30 phút, đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm.

Cách tính kết quả

Phần trăm hoạt tính chống oxy hóa (HTCO, %) được tính theo công thức:

$$HTCO(\%) = \frac{(ODc - ODt)}{ODc} \times 100$$

Trong đó:

OD_c: Mật độ quang của dung dịch DPPH và methanol

OD_t: Mật độ quang của DPPH và mẫu thử.

Phân tích số liệu trên phần mềm Excel được phương trình logarit giữa nồng độ mẫu thử và HTCO (%) có dạng $y = a \ln(x) + b$, thế $y = 50$ để suy ra IC₅₀ (khả năng trung hòa 50% DPPH của mẫu). Giá trị IC₅₀ càng thấp tương ứng với HTCO càng cao và ngược lại. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị trung bình của 3 lần đo khác nhau.

2.2.3 Phân lập và nhận diện vi khuẩn từ mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm được lấy từ bệnh nhân mụn trứng cá đến khám tại Bệnh viện Da liễu Cần Thơ.

Lấy mẫu: dùng tăm bông vô trùng được làm ướt với dung dịch lấy mẫu (NaCl 0,15 M và 0,1% tween 20 đã khử trùng) lau mạnh trên bề mặt của vị trí bệnh với diện tích 4 cm². Tăm bông sau khi lấy mẫu cho vào ống nghiệm chứa 5 mL dung dịch lấy mẫu và chuyển về phòng thí nghiệm vi sinh vật cấy phân lập không quá 2 giờ (Kishishita *et al.*, 1980).

Nhận diện vi khuẩn *S. aureus* và *S. epidermidis*: Mẫu bệnh phẩm cấy trên môi trường MSA, ủ ở 37°C sau 24 giờ, quan sát sự xuất hiện của khuẩn lạc. Khuẩn lạc xuất hiện, chọn những khuẩn lạc có màu trắng hoặc vàng, cấy phân lập nhiều lần để có dòng thuần. Các dòng phân lập được kiểm tra hình thái và sinh hóa bằng nhuộm Gram, thử phản ứng catalase, thử coagulase. Kết quả, nếu vi khuẩn có hình cầu, Gram dương, catalase dương tính được xác định là Staphylococci. Nếu nhóm Staphylococci làm biến đổi màu môi trường MSA từ đỏ sang vàng và phản ứng coagulase dương tính được xem là *S. aureus*. Nếu nhóm Staphylococci không làm thay đổi màu

môi trường MSA và phản ứng coagulase âm tính được xem là *S. epidermidis*.

Nhận diện vi khuẩn *P. acnes*: mẫu bệnh phẩm được cấy trên môi trường TYEG và ủ ở điều kiện kỵ khí (bằng bình nén) nhiệt độ 37°C, sau 2-3 ngày quan sát sự xuất hiện của khuẩn lạc. Khuẩn lạc xuất hiện, chọn những khuẩn lạc có màu vàng, nhỏ, mô cao cấy phân lập nhiều lần để tách ròng làm thuần vi khuẩn. Các dòng phân lập được kiểm tra hình thái và sinh hóa bằng nhuộm Gram, thử catalase, indol, nitrate hóa, dịch hóa gelatin. Kết quả, chọn những vi khuẩn có hình que, Gram dương và phản ứng dương tính với catalase, indol, nitrate hóa, dịch hóa gelatin được xem là *P. acnes* (Gotz *et al.*, 2006; Marla *et al.*, 2016).

Các dòng phân lập sau khi nhận diện dựa vào hình thái và thử nghiệm sinh hóa được chọn gửi giải trình tự và xác định tên tại Công ty TNHH MTV Sinh hóa Phù Sa.

2.2.4 Phương pháp thử kháng khuẩn

a. Phương pháp khuếch tán trên giếng thạch

Chuẩn bị huyền phù vi khuẩn chỉ thị có mật số là 10⁸ CFU/mL: vi khuẩn *S. aureus*, *S. epidermidis* và *P. acnes* được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB có bổ sung 1% dịch trích tim sau 24 giờ. Huyền phù vi khuẩn được pha loãng và so độ đục với ống chuẩn Mc Faland 0,5, ống nào có cùng độ đục với ống chuẩn, vi khuẩn trong ống đạt mật số 10⁸ CFU/mL.

Chuẩn bị đĩa môi trường làm kháng khuẩn: môi trường TSA có bổ sung 1% dịch trích tim có bề dày 4 mm.

Chuẩn bị cao chiết: cao lá trứng cá được pha loãng các nồng độ 50 mg/mL, 100 mg/mL và 200 mg/mL với DMSO 30%.

Các đĩa môi trường đã chuẩn bị được trải vi khuẩn chỉ thị để khô và đục giếng, giếng có đường kính 6 mm. Mỗi giếng được nhỏ 30 µL cao chiết, mỗi nồng độ cao chiết được lặp lại 3 lần. Mỗi đĩa khảo sát có đặt khoảng giấy kháng sinh erythromycin làm đối chứng. Các đĩa khảo sát được ủ ở 37°C và quan sát ghi nhận kết quả sau 24 giờ. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng đường kính vòng vô khuẩn.

b. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu trong môi trường lỏng (MIC)

Khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu được thực hiện trong môi trường lỏng TSB có bổ sung 1% dịch trích tim. Nồng độ cao chiết để khảo sát đối với *S. aureus*, *S. epidermidies* là 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL và 6,25 mg/mL. Đối với *P. acnes* là 40 mg/mL; 20 mg/mL; 10 mg/mL và 5 mg/mL. Mật số vi khuẩn chỉ thị chủng vào là 10^3 CFU/mL, mỗi nồng độ lặp lại 3 lần có đối chứng là môi trường khảo sát không bổ sung cao. Kết quả xác định bằng cách quan sát độ đục sau 24 giờ đối với *S. aureus*, *S. epidermidies* và 48 giờ đối với *P. acnes*. Trong trường hợp khó nhận diện sự phát triển của vi khuẩn, cấy kiểm tra trên môi trường đặc. Nếu vi khuẩn không phát triển ở nồng độ cao chiết thấp nhất đó chính là nồng độ ức chế tối thiểu của cao.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Điều chế cao chiết ethanol

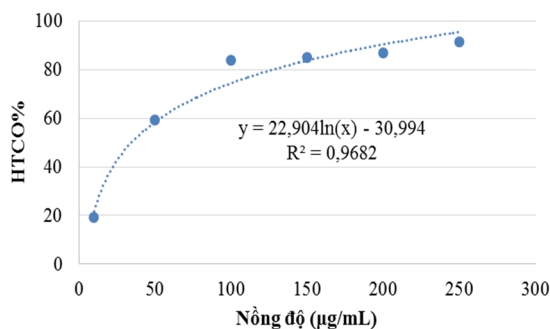
Từ 208 g bột lá trứng cá khô, qua quá trình chiết thu được 90,04 g cao có độ ẩm 17,38%, hiệu suất đạt 43,28%. Kết quả được thể hiện Bảng 2.

Bảng 2: Độ ẩm và hiệu suất cao lá trứng cá chiết với ethanol 96%

Chỉ tiêu	Kết quả
Độ ẩm bột mẫu khô (%)	12,8
Độ ẩm cao (%)	17,38
Khối lượng mẫu khô chiết (g)	208
Khối lượng cao ethanol (g)	90,04
Hiệu suất chiết (%)	43,28

Độ ẩm nguyên liệu chiết dưới 13% và độ ẩm trung bình của cao chiết không quá 20%. Nguyên

Lá Trứng cá



A

liệu và cao thu được sau quá trình chiết đạt độ ẩm theo qui định ở Phụ lục 1.1 của Dược điển Việt Nam 4.

3.2 Hoạt tính chống oxy hóa bằng DPPH

Diphenyl-picrylhydrazine (DPPH) được sử dụng như một chất có hoạt động làm sạch gốc tự do của chất chống oxy hóa. Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua việc chất chống oxy hóa cho một nguyên tử hydrogen để khử gốc tự do DPPH màu tím thành DPPH-H có màu vàng, được xác định bằng cách đo quang ở bước sóng 517 nm (Moharram and Youssef, 2012).

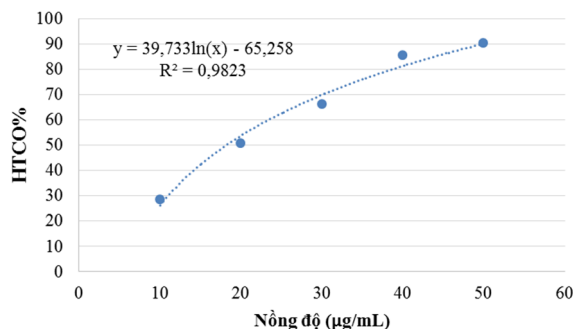
Hiệu quả chống oxy hóa của cao chiết từ lá cây trứng cá được xác định dựa vào hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH.

Bảng 3: Kết quả khảo sát chống oxy hóa bằng DPPH của cao chiết lá trứng cá

Nồng độ (µg/mL)	Hoạt tính chống oxy hóa (%)	
	Cao chiết lá trứng cá	Vitamin C
10	18,82 ^a ±2,2	28,53 ^a ±0,005
20	x	50,78 ^b ±0,000
30	x	66,18 ^c ±0,000
40	x	85,55 ^d ±0,000
50	59,23 ^b ±1,0	90,35 ^e ±0,003
100	83,49 ^c ±0,5	x
150	84,73 ^c ±0,2	x
200	84,79 ^c ±2,6	x
250	91,38 ^d ±1,0	x

Ghi chú: các số mang mũ chữ cái khác nhau trong cùng một cột khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức 1% trong phép thử Tukey; x nồng độ không khảo sát

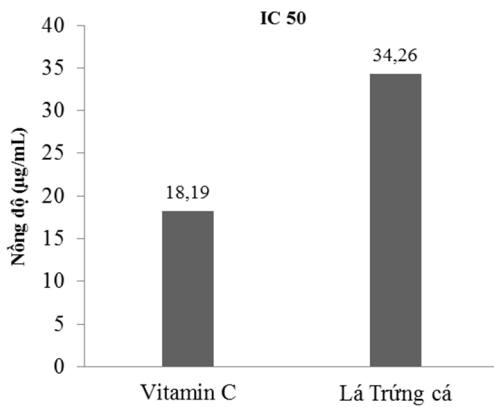
Vitamin C



B

Hình 1: Hiệu quả chống oxy hóa của cao chiết từ lá trứng cá (A) cá và vitamin C (B)

(HTCO%: hoạt tính chống oxy hóa theo phần trăm)



Hình 2: Biểu đồ thể hiện giá trị IC₅₀ của vitamin C và cao chiết lá trứng cá

Kết quả cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của cao lá trứng cá chiết với ethanol tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết. Nồng độ cao chiết ở 10 µg/mL có HCO là 18,82% và ở nồng 250 µg/mL là 91,38%. Tuy nhiên, ở các nồng độ 100 µg/mL, 150 µg/mL và 200 µg/mL thì giá trị HCO khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3). Khả năng trung hòa DPPH của cao chiết ở các nồng độ này đạt mức dao động trong khoảng 84%. Giá trị IC₅₀ của cao chiết là 34,26% thấp hơn vitamin C 1,8 lần (IC₅₀ của vitamin C là 18,18 µg/mL) (Hình 1, 2).

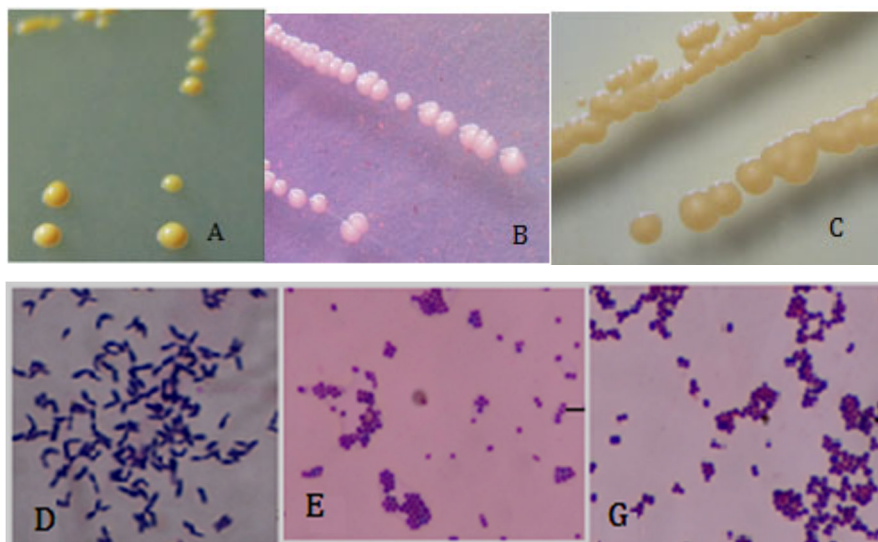
3.3 Đặc điểm sinh hóa và hình thái các vi sinh vật phân lập

Các dòng vi khuẩn *P. acnes*, *S. aureus* và *S. epidermidis* phân lập từ các mẫu bệnh phẩm mụn trứng cá được xác định qua các phản ứng sinh hóa, nhuộm Gram và giải trình tự. Kết quả thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4: Đặc điểm sinh hóa, hình thái của vi khuẩn phân lập

Đặc điểm	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Hình dạng tế bào	Que ngắn	Cầu, chùm	Cầu, đơn, chùm
Đặc điểm khuẩn lạc	Vàng đậm, mô cao, tròn, bìa nguyên	Vàng nhạt, mô ít, tròn, bìa nguyên	Trắng đục, mô ít, tròn, bìa nguyên
Gram	+	+	+
Catalase	+	+	+
Indol	+	-	-
Nitrat hóa	+	-	-
Gelatin hóa	+	-	-
Lên men mannitol	-	+	-
Coagulase	-	+	-

Ghi chú: + kết quả thử nghiệm dương tính; - kết quả thử nghiệm âm tính



Hình 3: Đặc điểm khuẩn lạc và hình dạng tế bào vi khuẩn phân lập

(A: khuẩn lạc *P. acnes*; B: khuẩn lạc *S. epidermidis*; C: khuẩn lạc *S. aureus*; D: vi khuẩn *P. acnes* nhuộm Gram; E: vi khuẩn *S. epidermidis* nhuộm Gram; G: vi khuẩn *S. aureus* nhuộm Gram)

Đặc tính của vi khuẩn *S. aureus* có khuẩn lạc màu vàng nghệ trên môi trường MSA, *S. epidermidis* màu trắng, tế bào hình cầu, xếp chùm, Gram dương phù hợp với mô tả về đặc điểm sinh học nhóm tụ cầu *S. epidermidis*, *S. aureus* của Rosenbach (1884) được phân lập từ mẫu bệnh phẩm nhiễm trùng bệnh viện. Vi khuẩn *P. acnes* có khuẩn lạc trên môi trường thạch TYEG có màu vàng mô cao, nhỏ, tế bào hình que, Gram dương trùng khớp với mô tả của Kishishita *et al.*, 1980 về đặc điểm vi khuẩn *P. acnes* phân lập mụn trứng cá.

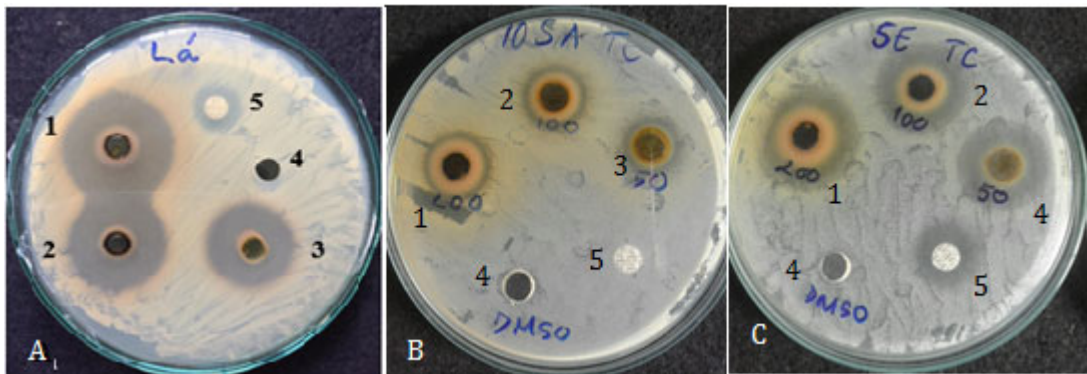
3.4 Hoạt tính ức chế vi khuẩn bội nhiễm ở bệnh mụn trứng cá

Hoạt tính kháng khuẩn của cao lá trứng cá chiết với ethanol 96% được thử bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch với 3 chủng vi khuẩn phân lập từ bệnh mụn trứng cá gồm: *P. acnes*, *S. aureus* và *S. epidermidis*. Kết quả cho thấy cao ethanol lá trứng cá có khả năng ức chế cả 3 chủng vi khuẩn chỉ thị cụ thể ở Bảng 5 và Hình 4.

Bảng 5: Hoạt tính kháng vi khuẩn chỉ thị của cao ethanol lá trứng cá

Vi khuẩn	Đường kính vô khuẩn (mm) của các nồng độ cao lá trứng cá (mg/mL)			Erythromycin (mm)	MIC (mg/mL)
	50	100	200		
<i>Propionibacterium acnes</i>	16,33 ^b ±2,08	19 ^b ±0,00	23 ^c ±1,73	8,67 ^a ±0,57	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,3 ^a ±1,52	14,33 ^b ±0,57	16,0 ^b ±1,0	0,0	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15,33 ^b ±0,57	15,66 ^{bc} ±0,57	16,66 ^c ±0,57	9,55 ^a ±0,25	12,5

Ghi chú: các số có mang mũ chữ cái khác nhau trong cùng một hàng khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức 1% trong phép thử Tukey



Hình 4: Vòng vô khuẩn của cao chiết với các dòng vi khuẩn (mm)

(A: *P. acnes*; B: *S. aureus*; C: *S. epidermidis*)

(1: nồng độ cao 200 mg/mL; 2: nồng độ cao 100 mg/mL; 3: nồng độ cao 50 mg/mL; 4: dung môi pha cao DMSO; 5: kháng sinh erythromycin)

Kết quả khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch cho thấy, ở nồng độ 50 mg/mL cao chiết có khả năng ức chế cả ba nhóm vi khuẩn gây bội nhiễm ở bệnh mụn trứng cá (Bảng 5). Khả năng ức chế vi khuẩn của cao lá trứng cá tỷ lệ thuận với nồng độ. Khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu trong môi trường TSB cho thấy, nồng độ ức chế tối thiểu của cao chiết với vi khuẩn *P. acnes* là 10 mg/mL, *S. aureus* và *S. epidermidis* là 12,5 mg/mL. So với erythromycin (30 µg/mL) thì sự ức chế ba nhóm vi khuẩn khảo sát của cao lá trứng cá thấp.

Qua khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn gây bội nhiễm ở bệnh mụn trứng cá của cao chiết là do trong

lá trứng cá có chứa hợp chất flavonoid (Keneda *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 2005). Flavonoid là hợp chất có khả năng kiềm hãm và ngăn sự phân chia của vi khuẩn, ức chế enzyme transpeptidase ngăn chặn quá trình thành lập vách tế bào; khi gắn lên màng tế bào vi khuẩn làm thay đổi tính thấm của màng; ức chế quá trình tổng hợp acid nucleic và RNA của vi khuẩn và ức chế hoạt động của hyaluronidase (Cushnie and Andrew, 2005).

4 KẾT LUẬN

Lá trứng cá chiết bằng ethanol 96% thể hiện hoạt tính chống oxy hóa ở nồng độ 250 µg/mL là 91,38% với IC₅₀ là 34,26 µg/mL thấp hơn vitamin C 1,8 lần. Cao lá trứng cá cũng có khả năng ức chế vi khuẩn

gây bội nhiễm ở bệnh mụn trứng cá gồm *P. acnes*, *S. aureus* và *S. epidermidis* với nồng độ ức chế tối thiểu tương ứng là 10 mg/mL đối với *P. acnes* và 12,5 mg/mL đối với *S. aureus* và *S. epidermidis*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chanda, S. and Dave, R., 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*. 3: 981-996.
- Chen, J.J., Lee, H.H., Duh, C.Y. and Chen I.S., 2005. Cytotoxic chalcones and flavonoids from the leaves of *Muntingia calabura*. *PlantaMod*. 7: 970-973.
- Cushnie, T.P.T. and Andrew, J.L., 2005. Antimicrobial activity of flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agent*. 26: 343-356.
- Gotz, F., Bannerman, T. and Schleifer, K.E., 2006. The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*, In Dworki, M. (Editor-Chief). *Prokaryotes - A Handbook on the Biology of Bacteria* 3rd ed. 4: 5-75.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and function food: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*. 4: 118-126.
- Marla, S.R., Shailaja, D. and Polugari, R., 2016. Isolation and Molecular Characterization of acne causing *Propionibacterium acnes*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 6: 809-814.
- 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. TP HCM, 527 trang.
- Keneda, N., Pezzuto, J.M., Soejarto, D.D. et al., 1991. New cytotoxic flavonoids from *Muntingia calabura* L. roots. *Plant anticancer agents*. 54: 196-206.
- Kishishita, M., Shijima, T. U., Ozaki, Y. and Ito, Y., 1980. New Medium for Isolating *Propionibacteria* and Its Application to Assay of Normal Flora of Human Facial Skin. *Applied and environment Microbiolog*. 40: 1100-1105.
- Prakash, A., Rigelhof, F. and Miller, E., 2000. Antioxidant activity. *Analytical progress Medallion Laboratories*. 1-4.
- Rosenbach, F.J., 1884. Mikro-Organismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen. J. F. Bergman. 19-21.
- Su, B.N., Jung Park, E., Vigo, J.G. et al., 2003. Activity-guided isolation of chemical constituents of *Muntingia calabura* using a quinone reductase induction assay. *Pytochemistry*. 63: 335-341.
- Wojdylo, A., Oszmianski, J., and Czemerys, R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105: 940-949.