

**KHẢO SÁT QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CAO TỪ LÁ TRẦU KHÔNG
(*Piper betle* L., Piperaceae) Ở AN GIANG VÀ ĐÁNH GIÁ
KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT ĐƯỢC**

Lê Thị Minh Ngọc*, Huỳnh Thị Mỹ Duyên, Hồ Thị Thanh Nhân

Trường Đại học Y dược Cần Thơ

**Email: ltmngoc@ctump.edu.vn*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Lá Trầu không có chứa rất nhiều thành phần hóa học có hoạt tính sinh học, trong đó phải kể đến nhóm hợp chất polyphenol đã được chứng minh có tác động kháng khuẩn, kháng nấm da. **Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát điều kiện chiết xuất tối ưu và đánh giá khả năng kháng khuẩn của cao lá Trầu Không ở An Giang. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Lá Trầu Không tươi được chiết bằng phương pháp đun hồi lưu với dung môi là nước, một số điều kiện ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất được xác định nhờ vào sự hỗ trợ của phần mềm BC-Pharsoft. Khảo sát in vitro gồm định tính hoạt tính kháng khuẩn và định lượng hoạt tính kháng khuẩn của cao lá Trầu không. **Kết quả:** Dữ liệu phân tích cho thấy hiệu suất chiết bị ảnh hưởng bởi 3 yếu tố khảo sát là tỷ lệ dược liệu/ dung môi, thời gian chiết và lượng dịch cô còn lại trước khi lắc với diclorometan. Cao lá Trầu Không cho tác dụng mạnh và tốt đối với vi khuẩn gram dương (*Staphylococci*) hơn so với vi khuẩn gram âm (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp). Cao lá Trầu Không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên chủng vi khuẩn *Staphylococci* với MIC khoảng từ 32-128 µg/mL, trên chủng vi khuẩn gram âm với MIC khoảng từ 128-256 µg/mL. **Kết luận:** Đã xây dựng được quy trình chiết xuất cao lá Trầu không (TK) và đánh giá được hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết được.

Từ khóa: Cao lá Trầu Không, BCPharsoft, hoạt tính kháng khuẩn.

ABSTRACT

**RESEARCHING THE EXTRACTION PROCEDURE FOR BETEL LEAVES
(*PIPER BETLE* L., PIPERACEAE) FROM AN GIANG AND ASSESSING
ANTI-BACTERIAL ABILITY OF THE EXTRACTION**

Le Thi Minh Ngoc*, Huynh Thi My Duyen, Ho Thi Thanh Nhan

Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Betel leaves contains lots of chemical components having biological activity, including polyphenol compounds with antimicrobial and antifungal effect. **Objectives:** Researching the

optimal condition to extract and evaluate anti-bacterial ability of betel leaves from An Giang. **Materials and methods:** Fresh betel leaves were used for extraction with water by reflection module method, some conditions effecting extraction procedure were determined by BCPharsoft software. The in vitro survey was about qualitative anti-bacterial ability and quantitative anti-bacterial ability of betel leaves extraction. **Results:** Analytical data showed that the betel leaf extract's efficiency was influenced by 3 survey factors including: material/solvent ratio, extraction time and the amount of concentration left before shaking with dichloromethane. Betel leaf extract had stronger and better effect against gram-positive bacteria (*Staphylococci*) than gram-negative bacteria (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp*). The antibacterial activity of betel leaf extract was shown on *Staphylococci* bacteria with MIC of 32-128 μ g/mL, on gram-negative bacteria with MIC of 128-256 μ g/mL. **Conclusion:** The conditions were determined to give betel extract that has anti-bacterial effect.

Keywords: Betel extract, BCPharsoft, anti-bacterial effect.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trầu Không (*Piper betle* L.) (TK) là một loài cây quen thuộc đối với người Việt Nam; được ứng dụng rộng rãi trong đời sống hằng ngày với nhiều công dụng như chữa đau đầu, đau bụng, viêm răng lợi, cảm lạnh, ho [1]... Ngày nay, TK đã được quan tâm và nghiên cứu nhiều hơn về thành phần hóa học cũng như tác dụng điều trị trên *in vitro*. Trong lá TK có chứa rất nhiều thành phần hóa học có hoạt tính sinh học, trong đó phải kể đến nhóm hợp chất polyphenol đã được chứng minh có tác động kháng khuẩn, kháng nấm da [3]. Nhiều tác dụng khác được phát hiện như hoạt tính kháng giun, tác dụng chống oxy hóa, làm lành vết thương, ức chế một số dòng tế bào ung thư... [4], [8]. Do đó, nhằm mục đích khai thác lá TK như một nguồn nguyên liệu để làm thuốc điều trị một số bệnh, góp phần xây dựng tiêu chuẩn cho cao lá TK, nghiên cứu có hai mục tiêu:

- Khảo sát điều kiện chiết xuất của cao lá TK với sự hỗ trợ của phần mềm BCPharsoft.
- Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao lá TK.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá TK bánh tẻ tươi thu hái vào tháng 10 năm 2018 ở An Giang và được định danh bằng cách tham chiếu với tài liệu tham khảo (Shukla, R., 2015) tại Liên bộ môn Dược liệu-dược cổ truyền-thực vật, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

Các chủng vi khuẩn: *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 do bộ môn Vi sinh-Trường Đại học Y Dược Cần Thơ cung cấp và các vi khuẩn phân lập được từ 20 mẫu bệnh phẩm mụn trứng cá được lấy từ Bệnh viện Da Liễu Cần Thơ.

- Hóa chất

Nước cất, diclorometan, dimethyl sulfoxid, methanol, natri carbonat, thuốc thử Folin-Ciocalteu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát điều kiện chiết xuất cao lá TK với sự hỗ trợ của phần mềm BCPharsoft

Quy trình chiết xuất:

Theo Phan Thị Thanh Thủy và cộng sự, lá TK tươi được chiết bằng phương pháp đun hồi lưu với nước cho hiệu suất kháng khuẩn-kháng nấm tốt nhất [2]. Lá TK tươi sau khi làm

sạch, cắt nhỏ được chiết bằng phương pháp đun hồi lưu ở 70°C bằng một lượng dung môi nước (X_1) trong thời gian khảo sát (X_2). Dịch chiết thu được đem cô bớt dung môi đến thể tích khảo sát (X_3). Dịch chiết sau khi cô được lắc phân bố với diclorometan và phân đoạn diclorometan được cô thu hồi dung môi, hút ẩm đến trọng lượng không đổi trước khi xác định khối lượng cao lá TK chiết được.

Các điều kiện cố định:

- Nguyên liệu: lá TK tươi 200 g/lô.
- Dung môi: nước cất.
- Phương pháp chiết: đun hồi lưu.

Các biến độc lập bao gồm:

- X_1 : tỉ lệ dung môi/dược liệu (3/1-4/1-5/1).
- X_2 : thời gian chiết (1-2-3 giờ).
- X_3 : lượng dịch chiết sau khi cô trước khi lắc phân bố với diclorometan (20-60-100 mL).

Các biến phụ thuộc:

- Y_1 : hiệu suất chiết tính theo mức độ kháng *S.aureus*.
- Y_2 : hiệu suất chiết tính theo mức độ kháng *E.coli*.
- Y_3 : hàm lượng phenolic toàn phần có trong cao chiết tính bằng đơn vị đương lượng gam acid gallic/lượng cao chiết (g).

Hiệu suất chiết (X) được tính theo công thức: $X =$

Trong đó:

- m là khối lượng cao chiết được (mg).
- MIC là nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn ($\mu\text{g/ml}$) [2].

Các mẫu cao lá TK được xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) bằng phương pháp vi pha loãng theo hướng dẫn của Viện tiêu chuẩn xét nghiệm lâm sàng (CLSI- *Clinical and laboratory standards institute*) [5].

Định lượng polyphenol toàn phần trong cao lá TK bằng phương pháp Folin-Ciocalteu, bằng cách xây dựng đường chuẩn với acid gallic chuẩn [7].

Mô hình thực nghiệm: Dựa vào mô hình D-Optimal với các mức khảo sát như bảng, mô hình thực nghiệm được xây dựng gồm 19 thí nghiệm. Các biến số phụ thuộc được xác định đối với từng thí nghiệm.

Tối ưu hóa: Kết quả thực nghiệm sẽ được đưa vào phần mềm BCPharsoft (phần mềm do Trung tâm Công nghệ thông tin, Khoa dược, Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh phát triển). *Điều kiện ràng buộc cho các biến phụ thuộc:* dùng hàm Up (càng cao càng tốt).

Kiểm chứng lại kết quả bằng thực nghiệm.

Lá TK tươi được chiết 5 lần với cùng điều kiện đã xác định theo mô hình. Kết quả thực nghiệm được so sánh với các giá trị dự đoán.

2.2.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao lá Trầu Không

Định tính khả năng kháng khuẩn của cao chiết bằng phương pháp khuếch tán [6]: được thực hiện bằng phương pháp kháng sinh đồ Kirby-Bauer trên các chủng vi khuẩn *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 2592 và các chủng vi khuẩn phân lập được từ 20 mẫu bệnh phẩm của bệnh nhân bị mụn trứng cá đến điều trị tại bệnh viện Da liễu Cần Thơ. Chứng dương là vancomycin đối với vi khuẩn gram dương và colistin đối với vi khuẩn gram âm;

chứng âm là DMSO. Đo đường kính vòng vô khuẩn (ĐKVK) theo công thức: ĐKVK= ĐKVK mẫu thử - ĐKVK chứng âm.

Định lượng khả năng kháng khuẩn của cao chiết bằng phương pháp MIC [6]: thực hiện bằng phương pháp đục lỗ trên thạch với các nồng độ thử nghiệm giảm dần. Vi khuẩn thử nghiệm là *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 và các chủng vi khuẩn phân lập được mẫu mụn. Quan sát bất cứ sự hiện diện của sự phát triển vi khuẩn trên vết chấm. Xác định MIC là nồng độ thấp nhất mà ở đó vi khuẩn bị ức chế hoàn toàn quan sát được bằng mắt thường.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát điều kiện chiết xuất cao lá TK với sự hỗ trợ của phần mềm BCPharsoft

Kết quả bố trí thí nghiệm khảo sát sự ảnh hưởng của các yếu tố tỉ lệ dung môi/được liệu (X_1), thời gian chiết (X_2) và lượng dịch chiết sau khi cô trước khi lắc phân bố với diclorometan (X_3) đến quá trình chiết xuất cao lá TK được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thực nghiệm khảo sát quy trình chiết cao lá TK

CT	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3	CT	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3
1	3	1	20	40.625	10.156	1,9690	11	5	3	60	76.563	19.141	3,4492
2	4	3	20	73.750	18.438	3,2101	12	4	1	60	43.750	10.938	2,2384
3	4	2	60	62.188	15.547	2,8380	13	5	2	100	62.500	15.625	3,2931
4	4	1	100	54.063	13.516	2,7706	14	3	2	100	46.875	11.719	2,0549
5	3	3	20	53.438	13.359	2,2200	15	5	1	100	53.438	13.359	2,5770
6	5	2	20	56.250	14.063	2,8831	16	5	1	20	52.188	13.047	2,5401
7	5	3	100	77.188	19.297	3,5605	17	4	3	100	69.688	17.422	3,3765
8	5	2	60	67.188	16.797	2,9720	18	3	2	60	48.438	12.109	1,8569
9	4	2	20	60.313	15.078	2,8363	19	3	3	60	50.938	12.734	2,2155
10	3	1	60	36.875	9.219	1,9549							

Dữ liệu trong bảng được dùng làm yếu tố đầu vào cho phần mềm BC-Pharsoft.

Công thức tối ưu từ phần mềm BC-Pharsoft

Cao lá TK được chiết xuất tối ưu khi tỉ lệ dung môi/được liệu (X_1) là 4/1 thời gian chiết (X_2) là 129 phút và lượng dịch cô còn lại trước khi lắc với diclorometan (DCM) (X_3) là 91 mL.

Bảng 2. Kiểm chứng lại kết quả bằng thực nghiệm

	Y_1	Y_2	Y_3
Lần 1	72.813	18.203	3,3287
Lần 2	74.063	18.516	3,5154
Lần 3	73.125	18.281	3,3843
Lần 4	70.313	17.578	3,3745
Lần 5	70.938	17.734	3,3070
TB	72.250	18.063	3,3820
Dự đoán	70.161	17.378	3,261

Nhận xét: Kết quả thực nghiệm và giá trị dự đoán bởi mô hình được xây dựng bằng phần mềm BCPharsoft khác nhau không có ý nghĩa thống kê. ($F=2,26 < F_{crit}=18,51$).

3.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao lá TK

Từ các mẫu bệnh phẩm của 20 bệnh nhân bị mụn trứng cá đến điều trị tại Bệnh viện Da liễu Cần Thơ, tiến hành phân lập và định tính và định lượng khả năng kháng khuẩn của cao lá TK, đồng thời đối sánh trên 2 chủng vi khuẩn *S.aureus* ATCC 25923 và *E.coli* ATCC 25922.

Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn của cao chiết

Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn của cao chiết bằng phương pháp khuếch tán được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn của cao chiết trên các mẫu bệnh phẩm

Mẫu	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			Ghi chú	Mẫu	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			Ghi chú
	Chứng âm	Chứng dương	Cao			Chứng âm	Chứng dương	Cao	
1	6	12 ^a	8 ^a		11	6	17 ^b	31 ^b	
2	6	17 ^b	32 ^b		12	-	-	-	Chết
3	6	17 ^b	39 ^b		13	-	-	-	Chết
4	6	17 ^b	50 ^b		14	6	17 ^b	39 ^b	
5	6	17 ^b	28 ^b		15	6	17 ^b	25 ^b	
6	6	17 ^b	40 ^b		16	6	12 ^a	15 ^a	
7	-	-	-	Chết	17	6	12 ^b	14 ^b	
8	6	12 ^a	8 ^a		18	6	17 ^b	36 ^b	
9	-	-	-	Chết	19	-	-	-	Chết
10	6	17 ^b	30 ^b		20	6	17 ^b	34 ^b	

Chú thích:

- Lượng mẫu thử là 625 μ g, lượng mẫu chứng dương 30 μ g.
- Đường kính lỗ là 6 mm.
- a, b lần lượt biểu thị cho giá trị trên vi khuẩn gram âm và gram dương.

Nhận xét:

Hoạt tính kháng sinh được thể hiện qua vòng vô khuẩn thực hiện bằng phương pháp kháng sinh đồ Kirby-Bauer. Qua kết quả thử định tính cho thấy: đối với chứng dương kháng sinh vancomycin, dùng dạng đĩa giấy nồng độ chuẩn 30 μ g, cho đường kính vòng vô khuẩn 17 mm chứng tỏ vancomycin nhạy với nhóm vi khuẩn gram dương theo CLSI. Với Colistin, cũng dùng dạng đĩa giấy nồng độ chuẩn 10 μ g cho đường kính vòng vô khuẩn 12 mm chứng tỏ colistin nhạy với nhóm vi khuẩn gram âm theo CLSI. Đối với chứng âm, DMSO không gây ức chế vi khuẩn, do đó có thể loại trừ yếu tố ảnh hưởng từ dung môi.

Kết quả định lượng khả năng kháng khuẩn của cao chiết

Kết quả định lượng khả năng kháng khuẩn của cao chiết được trên mẫu bệnh phẩm và trên chủng vi khuẩn chuẩn (*S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922) bằng phương pháp dựa vào nồng độ ức chế tối thiểu được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả định lượng khả năng kháng khuẩn của cao chiết trên mẫu bệnh phẩm và trên chủng vi khuẩn chuẩn bằng phương pháp MIC.

Mẫu	MIC (μ g/mL)	Ghi chú	Mẫu	MIC (μ g/mL)	Ghi chú
1	128 ^a		11	64 ^b	
2	64 ^b		12	-	Chết

Mẫu	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	Ghi chú	Mẫu	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	Ghi chú
3	64 ^b		13	-	Chết
4	64 ^b		14	32 ^b	
5	64 ^b		15	256 ^b	
6	128 ^b		16	256 ^a	
7	-	Chết	17	128 ^b	
8	128 ^a		18	64 ^b	
9	-	Chết	19	-	Chết
10	32 ^b		20	32 ^b	
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	32 ^b		<i>E.coli</i> ATCC 25922	128 ^a	

Chú thích: a, b lần lượt biểu thị cho giá trị của cao trên vi khuẩn gram (-) và gram (+).

Nhận xét: Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao lá TK đối với 15/20 mẫu bệnh phẩm lấy từ bệnh nhân bị mụn trứng cá hầu hết đều cao hơn so với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao lá TK đối với 2 chủng vi khuẩn chuẩn tương ứng. MIC của cao lá TK đối với vi khuẩn gram âm (128-256 $\mu\text{g/mL}$) cao hơn so với vi khuẩn gram dương (32-128 $\mu\text{g/mL}$); điều này cho thấy cao lá TK có hoạt tính kháng khuẩn trên vi khuẩn gram dương tốt hơn.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Khảo sát điều kiện chiết xuất cao lá TK với sự hỗ trợ của phần mềm BCPharsoft

Việc áp dụng phần mềm thông minh trong khảo sát điều kiện chiết xuất giúp làm giảm chi phí và thời gian thực nghiệm. Khi so sánh kết quả tối ưu từ phần mềm với các giá trị thực nghiệm từ bảng 2 cho thấy có sự khác biệt: kết quả tối ưu từ phần mềm là tỉ lệ dung môi/dược liệu (X_1) là 4/1, thời gian chiết (X_2) là 129 phút và lượng dịch cô trước khi lắc với DCM là 91 mL. Theo kết quả khảo sát thực nghiệm, công thức tốt nhất để chiết xuất cao lá TK là CT7 với tỉ lệ dung môi/dược liệu (X_1) là 5/l; thời gian chiết (X_2) là 3 giờ và lượng dịch cô trước khi lắc với DCM là 100 mL và CT11 với tỉ lệ dung môi/dược liệu (X_1) là 5/1; thời gian chiết (X_2) là 3 giờ và lượng dịch cô trước khi lắc với DCM là 60 mL. Tỉ lệ hoạt chất chiết được tỷ lệ thuận với lượng dung môi và thời gian chiết. Để đảm bảo tính kinh tế, khi sản xuất, lượng dung môi tiêu hao, thời gian chiết càng ít càng tốt. Ngoài ra, trong quy trình chiết xuất, lượng dịch chiết sau khi cô cần phải kiểm soát nhằm tránh tạo nhũ khi lắc với DCM sẽ ảnh hưởng đến hiệu suất chiết. Do các điều kiện khi cô dịch chiết cần phải đảm bảo: thời gian cô càng ngắn càng tốt, nhiệt độ cô càng thấp càng tốt; kèm theo đó là sự ảnh hưởng của lượng dịch cô lên quá trình chiết cao là không quá đáng kể, vì vậy mà ta có thể lựa chọn cô dịch chiết đến một mức thích hợp để đảm bảo thành phần trong cao không bị biến tính và theo khảo sát từ phần mềm, lượng dịch cô tốt nhất là còn khoảng 1/8-1/9 thể tích dịch ban đầu.

Hiệu suất chiết tính theo mức độ kháng vi sinh vật được tính toán dựa theo hai chỉ tiêu là khối lượng cao chiết được và MIC. Cách tính toán này giúp đánh giá hiệu quả kháng vi sinh vật thật sự và độ tinh sạch của cao chiết: hiệu suất chiết của cao càng cao khi khối lượng cao chiết được càng lớn và giá trị MIC của cao phải càng nhỏ.

4.2. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

4.2.1. Kết quả định tính khả năng kháng khuẩn của cao chiết

Xét về vi khuẩn gram dương, với lượng mẫu đem thử của cao lá TK là 625 μg , hầu như tất cả các mẫu đều cho kết quả kháng khuẩn tốt (đường kính vòng vô khuẩn lớn, rõ, tròn đều), đường kính vòng kháng khuẩn to hơn đường kính vòng kháng khuẩn của chứng dương. Xét về vi khuẩn gram âm, với lượng mẫu đem thử của cao lá TK là 625 μg cho thấy các mẫu có hoạt tính kháng khuẩn, nhưng hoạt tính lại khá yếu (đường kính vòng vô khuẩn nhỏ, khó xác định chính xác). Như vậy, về mặt *in vitro* có thể cơ bản xác định rằng: cao lá TK có hoạt tính kháng khuẩn trên cả 2 dòng vi khuẩn gram âm và gram dương, trong đó cao lá TK cho tác dụng mạnh và tốt trên vi khuẩn gram dương hơn so với vi khuẩn gram âm.

So sánh với kết quả của tác giả Kazi Nahid Akter (2014), dịch chiết được thử trên đĩa giấy (đường kính 6 mm) với nồng độ 400 μg /đĩa có tác dụng trên *S.aureus* là $6,77 \pm 0,25$ mm và *E.coli* là $8,53 \pm 0,25$ mm, chứng tỏ cao chiết được có khả năng kháng khuẩn tốt hơn [8].

4.2.2. Kết quả định lượng khả năng kháng khuẩn của cao chiết

Kết quả định lượng khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá TK trên vi khuẩn *S.aureus* là 32 $\mu\text{g/mL}$. So sánh với kết quả nghiên cứu Aiza Izyani Aminuddin và cộng sự (2018) thực hiện trên dịch chiết lá TK là 3,67 mg/ml cho thấy kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá TK của nhóm nghiên cứu tốt hơn (xấp xỉ 115 lần) [3].

So sánh trên 2 dòng vi khuẩn chuẩn và dòng phân lập từ bệnh phẩm cho thấy: hoạt tính của cao lá TK trên dòng vi khuẩn phân lập từ bệnh phẩm mụn thấp hơn so với dòng vi khuẩn chuẩn. Điều này lý giải là vì vi khuẩn trong mẫu bệnh phẩm mụn đã trở nên kém nhạy cảm hơn do các điều kiện môi trường thay đổi, thói quen sinh hoạt hay do việc tự tiện sử dụng các loại thuốc để điều trị... Vì vậy để diệt được những vi khuẩn này phải cần dùng thuốc với một nồng độ cao hơn hoặc thay đổi thuốc khác có khả năng ức chế tốt hơn. Việc đánh giá hoạt tính kháng khuẩn này được xem như là tiền đề cho các nghiên cứu thực nghiệm tiếp theo hay nghiên cứu các sản phẩm mới có liên quan đến bệnh lý về mụn.

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được quy trình chiết xuất cao lá TK bằng phần mềm BC-Pharsoft như sau: sử dụng phương pháp đun hồi lưu với dung môi nước, tỉ lệ dung môi/dược liệu là 4/1, thời gian chiết là 129 phút và lượng dịch cô còn lại trước khi lắc phân bố với DCM là 91 mL. Với điều kiện này sẽ thu được hiệu suất chiết dựa trên mức độ kháng *S.aureus* và *E.coli* lần lượt là 70161,177 và 17378,379. Cao lá TK chiết được có khả năng kháng khuẩn trên các chủng vi khuẩn *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 và các chủng vi khuẩn phân lập được từ mẫu bệnh phẩm mụn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2015), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB thời đại, tr.118-119.
2. Phan Thị Thanh Thủy và cộng sự (2014), Khảo sát điều kiện chiết xuất cao trầu không (*Piper betel* L, Piperaceae), *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, tập 18, phụ bản số 2.
3. Aiza Izyani Aminuddin, Siti Suraiya and Ruzilawati Abu Bakar (2018), Comparison of antimicrobial activity of crude extracts of *Piper betle*, *Aloe vera*, *Solanum lycopersicum*, *Cinnamomum zeylanicum* and *Cucumis sativus* against acne inducing bacteria, *Asian Journal of Medicine and Biomedicine*, Vol 2(1).

4. Buddhie Samanmalie Nanayakkara, Charmalie Lilanthi Abayasekara, Gehan J. Panagoda, H. M. Dinusha Kumari Kanatiwela and M. R. Dammantha M. Senanayake (2014), Anti-candidal activity of *Piper betle* (L.), *Vitex negundo* (L.) and *Jasminum grandiflorum* (L.), *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 8(23), pp. 2307-2314.
5. Clinical and laboratory standard institute (2018), *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, USA, pp.30-64.
6. Coyle MB (2005), *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*, American Society for Microbiology, pp.25-62, 133-141.
7. International Standard ISO (2005), *Determination of substances characteristic of green and black tea Part 1, ISO 14502-1*, Switzerland, pp.1-6.
8. Kazi Nahid Akter, Palash Karmakar, Abhijit Das, Shamima Nasrin Anonna, Sharmin Akter Shoma, and Mohammad Mafruhi Sattar (2014), Evaluation of antibacterial and anthelmintic activities with total phenolic contents of *Piper betel* leaves, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, vol 4(5), pp.320-329.

(Ngày nhận bài: 15/08/2020 - Ngày duyệt đăng: 16/09/2020)
