

DOI: 10.58490/ctump.2024i82.3201

KHẢO SÁT MÃ VẠCH ADN, ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA LÁ TRẦU KHÔNG (*Piper betle* L.)

Nguyễn Thị Trang Đài, Lê Thị Thanh Yến, Nguyễn Hữu Nhân,
Thân Đặng Tuyết Minh, Nguyễn Ngọc Nhã Thảo*

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: nnnthao@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 02/10/2024

Ngày phản biện: 16/12/2024

Ngày duyệt đăng: 25/12/2024

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Lá trầu không (*Piper betle* L.) là một dược liệu phổ biến, được ứng dụng rộng rãi trong y học cổ truyền. Việc nghiên cứu các đặc điểm định danh cũng như thành phần hoá học của lá trầu không tạo cơ sở khoa học cho việc khai thác và ứng dụng an toàn, hiệu quả trong lĩnh vực y học. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định các đặc điểm thực vật học, mã vạch ADN và thành phần hóa học của lá trầu không. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mẫu lá trầu không được thu thập tại tỉnh Hậu Giang. Đánh giá đặc điểm thực vật học được thực hiện thông qua phân tích hình thái và vi học, trong khi mã vạch ADN được xác định bằng phương pháp điện di trên gel agarose. Thành phần hóa học được xác định thông qua quá trình chiết xuất tuần tự bằng ba dung môi có độ phân cực tăng dần. Các hợp chất chính được nhận diện thông qua các thuốc thử đặc hiệu. **Kết quả:** Nghiên cứu đã xác định được đặc điểm hình thái, cấu trúc vi học, trong đó đặc trưng là sự hiện diện của lỗ khí khổng vòng bào, ống tiết và tế bào tiết tinh dầu. Mã vạch ADN đã khẳng định đúng loài *Piper betle*. Phân tích hóa học cho thấy sự hiện diện của tinh dầu, flavonoid, alkaloid, tanin (polyphenol), saponin, và triterpenoid. **Kết luận:** Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin về đặc điểm thực vật học và thành phần hóa học của lá trầu không (*Piper betle* L.), có tiềm năng ứng dụng trong việc lựa chọn và sử dụng dược liệu này một cách phù hợp và an toàn.

Từ khóa: Lá Trầu không, *Piper betle*, mã vạch ADN, thành phần hóa học.

ABSTRACT

INVESTIGATION ON THE BOTANY, DNA BARCODE, AND ANALYSIS OF CHEMICAL CONSTITUENTS OF PIPER BETLE L.

Nguyen Thi Trang Dai, Le Thi Thanh Yen, Nguyen Huu Nhan,
Than Dang Tuyet Minh, Nguyen Ngoc Nha Thao*

Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Betel leaf (*Piper betle* L.) is a popular medicinal plant widely used in traditional medicine. Researching its identification characteristics as well as chemical constituents provides a scientific basis for the safe and effective utilization of this plant in the medical field. **Objectives:** To determine the botanical characteristics, DNA barcode, and chemical constituents of betel leaf (*Piper betle*). **Materials and methods:** Betel leaf samples were collected from Hau Giang province. Botanical characteristics were evaluated through morphological and microscopic analyses, while DNA barcodes were identified using agarose gel electrophoresis. Chemical constituents were determined through sequential extraction using three solvents of increasing polarity. Major compounds were identified using specific reagents. **Results:** The study identified the morphological and microscopic characteristics of *Piper betle*, notably the presence of anomocytic stomata, secretory ducts, and oil cells. DNA barcoding confirmed the species as *Piper betle*. Chemical analysis revealed the presence of essential oils, flavonoids, alkaloids, tannins

(polyphenols), saponins, and triterpenoids. **Conclusion:** The findings provide valuable information on the botanical characteristics and chemical constituents of betel leaf (*Piper betle*), highlighting its potential for appropriate and safe utilization as a medicinal resource.

Keywords: Betel leaf, *Piper betle*, DNA barcodes, chemical composition.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lá trầu không (*Piper betle* L.) là một dược liệu quen thuộc trong y học cổ truyền, được sử dụng phổ biến tại nhiều quốc gia châu Á, bao gồm Việt Nam. Lá trầu không có mùi thơm đặc trưng và chứa nhiều thành phần hoạt chất có khả năng kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa và tác động lên nhiều quá trình sinh lý trong cơ thể [1], [2], [3]. Theo y học cổ truyền, lá trầu không thường được dùng để chữa các bệnh nhiễm trùng, viêm họng, và chăm sóc răng miệng [4-6]. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng lá trầu không chứa các hợp chất phenolic, flavonoid và các thành phần tinh dầu, là những chất có hoạt tính sinh học trong dược liệu [7-9]. Tuy nhiên, mặc dù các nghiên cứu sơ bộ về thành phần hóa học đã được công bố, nhưng vẫn chưa có sự tổng hợp đầy đủ về mô tả thực vật học, mã vạch ADN và các hợp chất có trong lá trầu không trồng tại huyện Vị Thủy, tỉnh Hậu Giang. Do đó, việc tiến hành nghiên cứu về thành phần thực vật học và phân tích sơ bộ thành phần hóa học của lá trầu không được trồng tại tỉnh Hậu Giang là cần thiết để cung cấp thêm thông tin khoa học làm cơ sở cho các ứng dụng y học và công nghiệp [7].

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu: Lá trầu không (*Piper betle*) được thu hái vào tháng 03/2024 tại huyện Vị Thủy, tỉnh Hậu Giang. Mẫu dược liệu đã qua xử lý, nghiên cứu và được lưu giữ tại Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. Mẫu được định danh trong quá trình nghiên cứu. Mẫu sau khi xử lý được gửi đi giải trình tự tại công ty TNHH DNA SEQUENCING, thành phố Cần Thơ

Dung môi và hóa chất: Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu bao gồm methanol, Javel 50%, chloral hydrat 50% pha trong nước, acid acetic, carmin, diethyl ether, ethanol 96%, và nước cất đạt tiêu chuẩn phân tích.

Thiết bị: Kính hiển vi Olympus CX31 cùng các thiết bị cơ bản khác trong phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát đặc điểm thực vật học:

Nghiên cứu này bao gồm khảo sát các đặc điểm hình thái, cấu trúc vi phẫu và phân tích bột dược liệu.

- Đặc điểm hình thái: Quan sát và mô tả các đặc điểm hình thái trên mẫu cây tươi, sau đó đối chiếu với tài liệu phân loại thực vật để xác định chính xác tên loài [10], [11].

- Khảo sát vi phẫu: Mẫu lá và thân được cắt lát mỏng tại các vị trí thích hợp, sau đó nhuộm màu bằng thuốc nhuộm kép. Quan sát, mô tả đặc điểm vi phẫu và chụp ảnh dưới kính hiển vi Olympus CX31 với độ phóng đại 10x và 40x.

- Kiểm tra bột dược liệu: Lá và thân được sấy khô ở 50°C, nghiền mịn và rây qua lưới có đường kính 0,1 mm. Bột dược liệu được lấy bằng kim mũi mác, đặt lên phiến kính chứa một giọt nước cất, đặt lamén, quan sát dưới kính hiển vi Olympus CX31 và chụp ảnh mô tả các cấu trúc.

Nghiên cứu mã vạch ADN:

DNA từ mẫu lá được ly trích theo phương pháp CTAB (Doyle and Doyle, 1990) [12]. DNA sau khi ly trích và tinh sạch sẽ được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%. Mỗi mẫu được trộn với 1 µl dung dịch loading dye 6X, 1 µl DNA, và 4 µl nước PCR trên giấy parafilm, sau đó từ từ nạp vào giếng gel. Điện di được thực hiện ở điện áp 85V trong 30 phút. Sau đó, gel được nhuộm ethidium bromide (10 mg/L) trong 10 phút, rửa sạch bằng nước cất trong 5 phút và chụp ảnh dưới ánh sáng UV. Tiếp theo, thực hiện phản ứng PCR, điện di sản phẩm PCR và giải trình tự.

Phân tích sơ bộ thành phần hóa học:

Lá trà không được sấy khô ở 50°C, nghiền thành bột thô, sau đó chiết xuất lần lượt bằng các dung môi với độ phân cực tăng dần (diethyl ether, ethanol 96%, nước). Các dịch chiết được định tính nhóm hợp chất chính (tinh dầu, chất béo, carotenoid, triterpenoid, alkaloid, coumarin, anthranoid, flavonoid, tannin, saponin, chất khử, acid hữu cơ) theo phương pháp cải tiến của Ciulei [1]. Nhóm hợp chất chính cũng được kiểm tra định tính bằng sắc ký lớp mỏng (TLC).

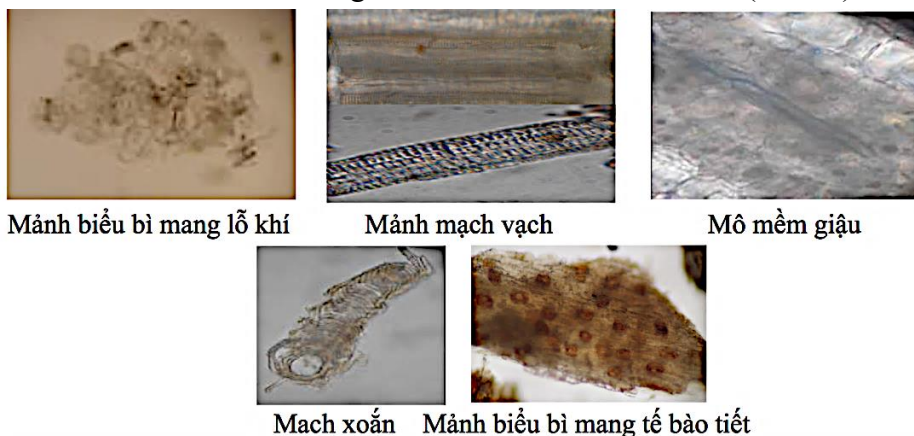
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát đặc điểm thực vật học

Mẫu dược liệu và đặc điểm hình thái

Mẫu dược liệu: Lá trà không được thu hái là những lá trưởng thành, nguyên vẹn, sau đó sấy khô đến khi đạt độ ẩm dưới 15%. Độ ẩm kiểm tra thực tế của mẫu đạt 10,16%. Mẫu lá được nghiền thành bột và rây qua lưới có đường kính 0,3 mm.

Đặc điểm bột lá: Bột lá có màu vàng nâu, mùi thơm đặc trưng, hơi hắc và vị cay. Quan sát dưới kính hiển vi cho thấy rõ các thành phần như lông che chở, mảnh tế bào chứa lỗ khí, mảnh biểu bì có tế bào tiết, mô mềm giậu, mạch xoắn và mạch vạch (Hình 1).



Hình 1. Đặc điểm các cấu tử bột lá

Đặc điểm hình thái thực vật: Trà không (*Piper betle*) là cây dây leo, thân có hình trụ, nhẵn và có khía dọc, rễ mọc ra từ các đốt. Lá mọc so le, có hình tim tròn với phần gốc đôi khi hơi lệch, đầu nhọn. Kích thước lá dao động từ 10–13 cm chiều dài và 4,5–9 cm chiều rộng. Cả hai mặt lá đều nhẵn; mặt trên có màu lục sẫm và bóng, trong khi mặt dưới nhạt màu hơn và có gân nổi rõ. Cuống lá kéo dài có bẹ, lá có mùi thơm đặc trưng và vị cay. Hình thái của lá trà không được minh họa ở Hình 2.

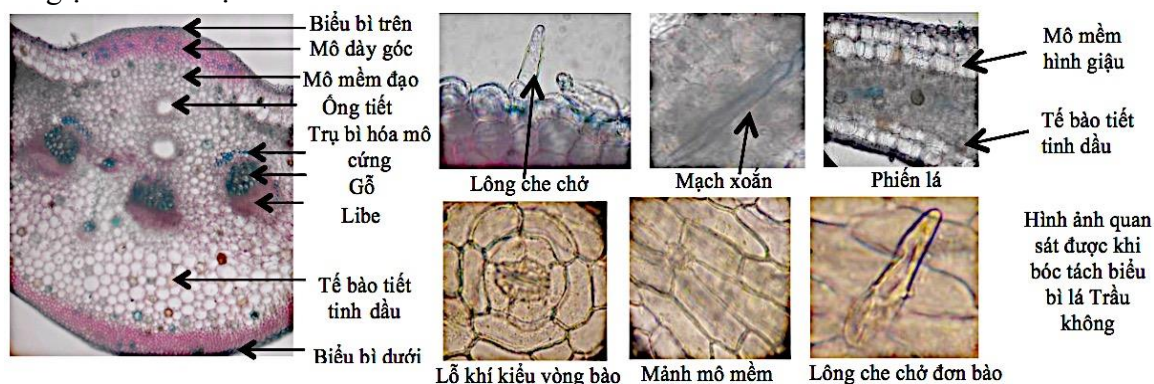


Hình 2. Đặc điểm hình thái của lá Trà không

Đặc điểm vi phẫu

- Gân giữa: Lõi tròn ở cả hai mặt lá. Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào hình chữ nhật sắp xếp khá đồng đều. Lông che chở đơn bào xuất hiện nhiều ở biểu bì dưới. Mô mềm: Gồm các tế bào gần như tròn, chứa các tế bào tiết tinh dầu phân bố rải rác. Bó libe-gỗ có cấu trúc với bó gỗ ở phía trên và bó libe ở phía dưới. Trụ bì được hóa mô cứng, tạo thành cụm trên đầu bó libe-gỗ với các tế bào đa giác có vách dày, xếp chặt chẽ.

- Phiến lá: Mô mềm giậu có các tế bào hình chữ nhật thuôn dài, xếp chặt và vuông góc với biểu bì trên. Các tế bào tiết tinh dầu nằm rải rác trong mô mềm. Dưới biểu bì trên và mô giậu có các mạch xoắn.



Hình 3. Vi phẫu lá Trà không

3.2. Kết quả phân tích mã vạch ADN

Kết quả giải trình tự gen và định danh loài được trình bày trong Bảng 1 và Bảng 2.

Bảng 1. Trình tự cặp môi RbcL sử dụng trong phản ứng PCR

Tên môi	Trình tự (5'-3')	Tm (°C)	Tác giả
RbcL.F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	60	Levin và cộng sự (2003) & Fazekas và cộng sự (2008)
RbcL.R	GTAAATCAAGTCCACCRGC		

(Ghi chú: Tm, nhiệt độ gắn môi)

Trình tự mẫu 240409

ATTACAAATTAACCTTATTATACTCCTGAGTATGAAACCAAAGATACTGATATC
TTGGCAGCATTCGAGTAACTCCGCAACCCGGAGTTCCGCCCCGAAGAAGCAGGGGCT
GCAGTAGCTGCCGAATCCTCTACTGGTACATGGACAACCTGTATGGACCGACGGACTTA
CCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGGGAGG
AAAATCAATATATTTGCTATGTAGCCTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTT
ACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAAATGTATTTGGCTTCAAAGCCCTACGAGCCCT
ACGCTGGAAGATCTACGAATTCCTCCTGCTTATTCCAAACCTTTCCAAGGCCACCC
CATGGAATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGCCCTTTATTGGGAT
GTACTATTAAACCAAAGTTGGGGTTATCGGCTAAGAACTACGGTAGGGCGGTTTATGA
ATGTCTCC

Bảng 2. Mức độ tương đồng của mẫu khi BLAST trên NCBI

Mẫu	Tên loài	Mã số	% đồng nhất	Nguồn	Tác giả
Mẫu 240409	<i>Piper betle</i>	MT498318.1	100	NCBI	Bharathi,T.R. và Prakash,H.S., 2016 (Unpublished)

Nhận xét: Từ Bảng 2 cho thấy mẫu 240409 đã được xác định là *Piper betle* với độ tương đồng 100% so với cơ sở dữ liệu NCBI.

3.3. Phân tích sơ bộ thành phần hoá học

Mẫu lá trà không (20g) có độ ẩm kiểm tra thực tế là 10,06% đã được chiết xuất lần lượt bằng ba loại dung môi có độ phân cực tăng dần: diethyl ether, ethanol 96%, và nước. Một phần dịch chiết từ ethanol 96% và nước được thủy phân bằng acid hydrochloric 10%. Các nhóm hợp chất chính được định tính sơ bộ thông qua các phản ứng hóa học đặc trưng, kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Bảng kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học của lá Trà không

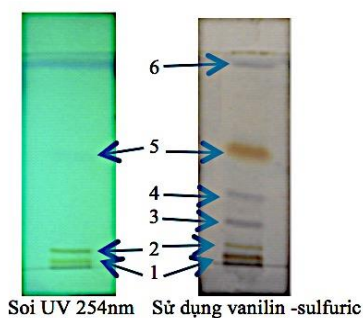
STT	Nhóm hợp chất	Thuốc thử Cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả
1	Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	Sủi bọt	-
2	Anthranoid	Phản ứng Borntrager	Dung dịch kiểm có màu đỏ	+
3	Anthocyanosid	HCl/KOH	Đỏ/Xanh	-
4	Alkaloid	Thuốc thử chung của alkaloid	Tủa vô định hình màu trắng-vàng nhạt	+
5	Các chất khử	Thuốc thử Fehling	Tủa đỏ gạch	-
6	Carotenoid	H ₂ SO ₄	Màu xanh dương đậm hay màu xanh dương lục ngả sang màu xanh dương	-
7	Coumarin	Phát huỳnh quang/UV 365 nm	Sự phát quang mạnh UV 365 nm	-
8	Chất béo	Nhỏ dung dịch lên giấy	Vết trong mờ	-
9	Flavonoid	Phản ứng cyanidin	Màu hồng đến đỏ	+
10	Hợp chất polyuronic	Pha loãng với cồn 96%	Tủa bông trắng	+
11	Saponin	Phản ứng tạo bọt	Có bọt bền	+
12	Tanin	Dung dịch gelatin muối (Tanin)	Tủa bông trắng	-
13	Polyphenol	Phản ứng với dung dịch FeCl ₃ (Polyphenol)	Có màu xanh đen hay xanh rêu	+
14	Tinh dầu	Bốc hơi đến cạn	Có mùi thơm	+++
15	Triterpenoid	Phản ứng Liebermann-Burchard	Màu hồng đến đỏ tím	+
16	Glycosid tim (Khung steroid/aglycon)	Phản ứng Liebermann-Burchard	Màu chuyển dần thành xanh dương đậm hoặc xanh dương lục pha xanh dương	-
17	Glycosid tim (đường và vòng lacton 5 cạnh)	Phản ứng Legal	Xuất hiện màu đỏ	-
		Phản ứng Keller-Liliani	Vòng phân cách có màu đỏ nâu, với sắc xanh lá khuếch tán dần lên phía trên.	-

Ghi chú: (-): âm tính; (+, ++, +++, ++++): dương tính với các mức độ tăng dần.

Nhận xét: Phân tích sơ bộ cho thấy lá trà không chứa các nhóm hợp chất như tinh dầu, flavonoid, tannin (polyphenol), anthranoid, alkaloid, triterpenoid và saponin. Trong đó, tinh dầu là thành phần chính.

3.4. Định tính hợp chất bằng sắc ký lớp mỏng

Phân tích sắc ký lớp mỏng (TLC): Dịch chiết ethanol được phân tích bằng sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi phát triển gồm ether dầu hỏa và chloroform (tỉ lệ 5:5). Các vết được phát hiện dưới ánh sáng UV (254 nm) và thông qua thuốc thử vanillin-sulfuric. Kết quả được minh họa ở Hình 5.



Hình 5. Sắc ký lớp mỏng mẫu lá Trà không

Nhận xét: Sau khi phun thuốc thử vanillin-sulfuric, sắc ký lớp mỏng của dịch chiết ethanol cho thấy có 6 vết với giá trị R_f lần lượt là: 0,04; 0,08; 0,18; 0,31; 0,53; và 0,96. Trong đó, vết số 5 cho màu vàng cam, sơ bộ cho thấy hiện diện flavonoid; vết số 3 cho màu tím, sơ bộ cho thấy sự hiện diện của triterpenoid.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Khảo sát đặc điểm thực vật học

Trà không (Piper betle) là một dược liệu quan trọng trong y học cổ truyền, được biết đến với nhiều tác dụng sinh học và dược lý quý giá. Nghiên cứu này đã tiến hành đánh giá đặc điểm hình thái, cấu trúc vi học và phân tích thành phần hóa học của lá trà không thu hái tại huyện Vị Thủy, tỉnh Hậu Giang, nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc nhận diện, tiêu chuẩn hóa và ứng dụng dược liệu này trong thực tiễn.

Đặc điểm hình thái và vi phẫu: Mẫu dược liệu có các đặc điểm hình thái tương đồng với mô tả thực vật của Piper betle trong các tài liệu tham khảo [1], [4], bao gồm đặc điểm của gân giữa, phiến lá và cấu trúc vi phẫu của lá. Điều này xác nhận tính nhất quán về mặt hình thái của loài trà không trồng tại khu vực Hậu Giang so với các vùng trồng khác. Đặc biệt, khảo sát vi học đã phát hiện sự hiện diện của lông che chở và lông tiết tinh dầu trên lá. Điều này là một điểm đặc trưng vì trà không chứa hàm lượng tinh dầu cao, đồng thời hỗ trợ cho kết quả phân tích hóa học về sự hiện diện của các tế bào tiết tinh dầu trong cấu trúc mô mềm.

4.2. Kết quả phân tích mã vạch ADN

Phân tích mã vạch ADN: Kết quả giải trình tự gen cho thấy mẫu lá trà không nghiên cứu có mức độ tương đồng 100% với Piper betle trong cơ sở dữ liệu NCBI. Điều này xác nhận chính xác tên khoa học của mẫu nghiên cứu, đồng thời khẳng định phương pháp mã vạch ADN là công cụ hữu ích để định danh loài, đặc biệt khi có nguy cơ nhầm lẫn với các

loài tương tự như *Piper sarmentosum*. Phương pháp này góp phần đảm bảo tính chính xác trong quá trình thu hái và chuẩn hóa dược liệu.

4.3. Phân tích sơ bộ thành phần hoá học

Phân tích sơ bộ thành phần hóa học: Phân tích hóa học bằng phương pháp cải tiến của Ciulei cho thấy lá trầu không chứa các nhóm hợp chất chính như tinh dầu, flavonoid, tannin (polyphenol), anthranoid, alkaloid, triterpenoid và saponin. Trong đó, tinh dầu là thành phần chính và chiếm tỷ lệ đáng kể, phù hợp với kết quả của các nghiên cứu trước đó như của Pin K.Y. và Ramarao KDR [13], [14]. Đáng chú ý, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng điều kiện sấy ở nhiệt độ 50°C giúp bảo toàn hoạt chất, đặc biệt là các hợp chất dễ bay hơi như tinh dầu. Phân tích sắc ký lớp mỏng đã xác định được các hợp chất chính, hỗ trợ cho việc định danh hóa học và đánh giá chất lượng của dịch chiết từ lá trầu không.

4.4. Định tính hợp chất bằng sắc ký lớp mỏng

Kết quả nghiên cứu đã bổ sung thông tin về đặc điểm hình thái, vi phẫu và thành phần hóa học của lá trầu không thu hái tại Hậu Giang. Điều này không chỉ giúp xác định chính xác và ngăn ngừa nhầm lẫn trong quá trình thu hái dược liệu mà còn cung cấp dữ liệu quan trọng cho việc chuẩn hóa, đảm bảo chất lượng dược liệu khi sử dụng dưới dạng bột hoặc chiết xuất. Ngoài ra, các kết quả này có thể hỗ trợ cho các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính sinh học của các hợp chất chính có trong trầu không, đặc biệt là tinh dầu, nhằm phát triển các sản phẩm có giá trị từ dược liệu này.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cung cấp các thông tin chi tiết về đặc điểm thực vật học, mã vạch ADN và thành phần hóa học của dược liệu lá trầu không thu hái tại Hậu Giang. Kết quả xác định loài bằng giải trình tự gen khẳng định mẫu dược liệu thuộc loài *Piper betle* với độ chính xác cao, giúp tránh nhầm lẫn và phát hiện hàng giả. Phân tích thành phần hóa học cho thấy sự hiện diện của các nhóm hợp chất chính như tinh dầu, flavonoid, tannin, alkaloid, và triterpenoid, với tinh dầu là thành phần nổi bật. Các kết quả này cung cấp cơ sở khoa học cho việc lựa chọn và sử dụng dược liệu này một cách phù hợp và an toàn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Hùng. Nhận thức dược liệu và cây thuốc. Nhà xuất bản Y học. 2021. 131.
2. Sarma C., Rasane P., Kaur S., Singh J., Singh J et al. Antioxidant and antimicrobial potential of selected varieties of *Piper betle* L. (Betel leaf). *An Acad Bras Cienc*. 2018. 90, 3871–3878, doi: 10.1590/0001-3765201820180285.
3. Das S., Parida R., Sandeep I.S., Nayak S., Mohanty S. Biotechnological intervention in betelvine (*Piper betle* L.): A review on recent advances and future prospects. *Asian Pacific J. Trop. Med*. 2016. 9, 938–946, doi: 10.1016/j.apjtm.2016.07.029.
4. Võ Văn Chi. Tự điển thực vật thông dụng-tập 2. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật. 2004. 1386-1387.
5. Kwankaew P., Sangkanu S., Mitsuwan W., Boonhok R., Lao-On U. et al. Inhibitory and anti-adherent effects of *Piper betle* L. leaf extract against *Acanthamoeba triangularis* in co-infection with *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*: A sustainable one-health approach. *Vet World*. 2024. 17(4), 848-862, doi: 10.14202/vetworld.2024.848-862.
6. Noorazlan N.A.A., Camalxaman S.N., Mohamed E., Haron N., Rambely A.S. et al. Larvicidal potential of plant-based extracts against dengue vector: A short review. *Medical Journal of Malaysia*. 2024. 79(Suppl 1), 203-208.

7. Umar R.A., Zahary M.N., Rohin M.A.K., Ismail S. Chemical Composition and The Potential Biological Activities of *Piper Betel*–A Review. *Malaysian Journal of Applied Sciences*. 2018. 3, 1-8.
 8. Madhumita M., Guha P., Nag A. Extraction of betel leaves (*Piper betle* L.) essential oil and its bio-actives identification: Process optimization, GC-MS analysis and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*. 2019. 138, 111578. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111578.
 9. Chakraborty J.B., Mahato S.K., Joshi K., Shinde V., Rakshit S. et al. Hydroxychavicol, a *Piper betle* leaf component, induces apoptosis of CML cells through mitochondrial reactive oxygen species-dependent JNK and endothelial nitric oxide synthase activation and overrides imatinib resistance. *Cancer Science*. 2012. 103(1), 88-99, doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02107.x.
 10. Bộ Y Tế. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2018.
 11. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam, tập III. Nhà xuất bản trẻ. 2002. 454-457.
 12. Doyle, J.J., Doyle, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 1990. 12, 13-15.
 13. Pin K.Y., Chuah T.G., Rashih A.A., Law C.L., Rasadah M.A., et al. Drying of Betel Leaves (*Piper betle* L.): Quality and Drying Kinetics. *Drying Technology*. 2009. 27, 149–155, doi: 10.1080/07373930802566077.
 14. Ramarao K.D.R., Razali Z., Somasundram C., Kunasekaran W., Jin T.L. Effects of Drying Methods on the Antioxidant Properties of *Piper betle* Leaves. *Molecules*. 2024. 29(8), 1762, doi: 10.3390/molecules29081762.
-