

Phytochemical analysis of *Ardisia silvestris* leaf extracts and their antioxidant and antibacterial activities

Biet V. Huynh^{1*}, Phuong N. T. Nguyen², Nga T. T. Nguyen^{3,4},
Toan Q. Truong¹, & Hong C. V. Phung¹

¹Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Applied Science, Ton Duc Thang University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Department of Biotechnology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Faculty of Agriculture, Vietnam National University of Forestry (Dong Nai Campus), Dong Nai, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: December 16, 2019

Revised: February 10, 2020

Accepted: May 13, 2020

Keywords

Antibacterial activities

Antioxidant

Ardisia silvestris

Phytochemical analysis

*Corresponding author

Huynh Van Biet

Email: hvbiet@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The phytochemical analysis and antibacterial and antioxidant activity of *Ardisia silvestris* extracts were carried out. The bioactive compounds of *Ardisia silvestris* leaves were extracted with petroleum ether, ethyl acetate, ethanol and water by immersion and microwave method. The DPPH method was used to determine the antioxidant activity of *Ardisia silvestris* extracts. The antibacterial properties of *Ardisia silvestris* tested against of *Staphylococcus aureus*, *Samonella* sp., and *Escherichia coli* were determined by using agar diffusion method. The agar diffusion method was used to determine the antibacterial effects of both plant extracts on the test organisms. The results showed that *Ardisia silvestris* leaves contained compounds such as essential oils, fats, alkaloids, flavonoids, coumarins, tannins, anthocyanoids, carotenoids, organic acids, reducing agents, proanthocyanidins, saponins and anthraquinones. *Ardisia silvestris* leaves had a total polyphenol content of 0.26% dry matter, tannin of 8.8%, and a total flavonoid of 1.44 mg/g. The ethyl acetate extract and water extract of the leaves had the antioxidant activity and were 4.2 and 4.4 times lower than ascorbic acid, respectively. The ethyl acetate extract of *Ardisia silvestris* had the highest oxidative activity. The zone of inhibition of the plant extract diameters at the concentration of 100 µl/ml ranged between 9.67mm and 20.67mm for ethyl acetate and ethanol extracts, respectively on E.coli. Similarly, the zones of inhibition of ethyl acetate and ethanol extracts diameters were 14.67 and 15.33 mm, respectively on *Samonella* sp., however, it was not shown for *Staphylococcus aureus*.

Cited as: Huynh, B. V., Nguyen, P. N. T., Nguyen, N. T. T., Truong, T. Q., & Phung, H. C. V. (2020). Phytochemical analysis of *Ardisia silvestris* leaf extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *The Journal of Agriculture and Development* 19(4), 28-35.

Phân tích thành phần hóa thực vật và xác định khả năng chống oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết từ lá của cây khôi nhung (*Ardisia silvestris* Pitard)

Huỳnh Văn Biết^{1*}, Nguyễn Thị Ngọc Phương², Nguyễn Thị Thanh Nga^{3,4},
Trương Quang Toàn¹ & Phùng Võ Cẩm Hồng¹

¹Viện Nghiên Cứu Công Nghệ Sinh Học Và Môi Trường, Trường Đại Học Nông Lâm TP. HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa Học Ứng Dụng, Trường Đại Học Tôn Đức Thắng, TP. Hồ Chí Minh

³Bộ Môn Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

⁴Khoa Nông Học, Trường Đại Học Lâm Nghiệp - Phân Hiệu Đồng Nai, Đồng Nai

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 16/12/2019

Ngày chỉnh sửa: 10/02/2020

Ngày chấp nhận: 13/05/2020

Từ khóa

Cây khôi nhung *Ardisia silvestris*

Chống oxy hóa

Kháng khuẩn

Phân tích hoá thực vật

*Tác giả liên hệ

Huỳnh Văn Biết

Email: hvbiet@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật, định lượng một số hợp chất và xác định khả năng kháng khuẩn, khả năng chống oxy hóa từ lá cây khôi nhung (*Ardisia silvestris*) đã được thực hiện. Các hợp chất của lá cây khôi nhung được ly trích với dung môi petroleum ether, ethylacetate, ethanol và nước bằng phương pháp ngâm dầm và đánh vi sóng. Khả năng chống oxy hóa của các dịch chiết lá cây khôi nhung được xác định bằng phương pháp DPPH. Khả năng kháng khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Samonella* sp. và *Escherichia coli* của các cao chiết lá cây khôi nhung được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Các dung môi petroleum ether, ethyl acetate, ethanol và nước được dùng cho li trích. Kết quả cho thấy lá cây khôi nhung có chứa các hợp chất như tinh dầu, chất béo, alkaloid, flavonoid, coumarin, tanin, anthocyanoid, carotenoid, các acid hữu cơ, chất khử, proanthocyanidin, saponin và anthraquinon. Hàm lượng polyphenol có trong lá cây khôi nhung là 0,26% chất khô. Hàm lượng tanin của lá cây khôi là 8,80%. Hàm lượng Flavonoid của lá cây khôi nhung là 1,442 mg/g. Dịch chiết ethyl acetate và dịch chiết nước của lá cây khôi nhung có khả năng kháng oxy hóa, nhưng thấp hơn so với acid ascorbic lần lượt là 4,2 và 4,4 lần. Dịch chiết ethyl acetate của lá khôi nhung có hoạt tính oxy hóa cao nhất. Các dịch chiết ethyl acetate và dịch chiết ethanol thể hiện rõ tính kháng vi khuẩn thông qua đường kính vòng vô khuẩn, đối với vi khuẩn *E.coli* lần lượt từ 9,67 mm đến 20,67 mm và *Salmonella* sp. là 14,67 mm và 15,33 mm, tuy nhiên không thể hiện đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus*.

1. Đặt Vấn Đề

Do có điều kiện tự nhiên đa dạng nên Việt Nam có một hệ sinh thái phong phú và tiềm năng to lớn về tài nguyên cây dược liệu. Chính vì vậy, ở nước ta, từ lâu đời, trong dân gian với trí thức sử dụng các loài dược liệu, nhiều bài thuốc quý có giá trị chữa bệnh hữu hiệu đã được lưu truyền (Do, 2004). Tuy nhiên, để đáp ứng xu hướng hiện nay về sự “Trở về với thiên nhiên” với việc sử dụng thảo dược làm thuốc ngày càng nâng cao ở trong nước và trên thế giới thì cần có các nghiên chuyên

sâu và khoa học.

Cây khôi nhung (*Ardisia silvestris* Pitard) là loài thuộc chi *Ardisia*, họ *Myrsinaceae*, có nhiều hoạt tính sinh học đáng quý như hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, kháng viêm giảm đau, chống oxy hóa, chống đái tháo đường, chống loãng xương, bảo vệ thần kinh, bảo vệ gan và nhất là hoạt tính chống ung thư rất tốt (Do, 2004). Kobayashi & de Mejía (2005) đã nhận định: Chi *Ardisia* – một nguồn mới cung cấp các hợp chất tăng cường sức khỏe và dược phẩm có nguồn gốc thiên nhiên quý giá. Một số nghiên cứu cho thấy

rằng trong cây khô nhưng *Ardisia silvestris* có sự hiện diện của tannin, glucoside, saponin, alkaloid, chất béo, carotene, flavonoid (Nguyen, 1999; Tran, 2002). Tuy nhiên, ở Việt Nam dù đã được sử dụng làm thuốc chữa bệnh trong dân gian nhưng chưa có nhiều các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của các loài thực vật trong chi *Ardisia* nói chung và cây khô nhung *Ardisia silvestris* riêng. Chính vì vậy, nghiên cứu sơ bộ thành phần hóa thực vật, định lượng một số hợp chất và xác định khả năng kháng khuẩn, khả năng kháng oxy hóa từ lá cây khô nhung được thực hiện nhằm củng cố, và cung cấp thêm các thông tin khoa học có giá trị và tin cậy về hoạt tính sinh học của cây khô nhung, từ đó giúp cho việc khai thác sử dụng cây khô nhung làm nguồn dược liệu trong thực tế có hiệu quả hơn.

2. Vật liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Cây khô nhung (*Ardisia silvestris* Pitard) được thu thập tại Khu bảo tồn Thiên nhiên và Văn hóa Đông Nai, Vườn quốc gia Cát Tiên và tiếp tục nuôi trồng tại nhà lưới Viện nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường (RIBE), Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu lá được rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ 50°C, sau đó được đem xay và đạt kích thước qua rây 2 mm được sử dụng làm nguyên liệu thí nghiệm. Vi khuẩn thử nghiệm: Các chủng vi khuẩn *Samonella* sp. và *Escherichia coli* ATCC 2592 gây bệnh tiêu chảy, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 gây nhiễm trùng da, được cung cấp bởi Phòng vi sinh của Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường – Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định độ ẩm của dược liệu: theo phương pháp cân, sấy ở nhiệt độ 105°C, đánh giá theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV (MOH, 2010), độ ẩm của dược liệu không được quá 13%.

Xác định độ tro toàn phần: phương pháp cân và nung dược liệu ở 550°C, chỉ tiêu được đánh giá theo Dược điển Việt Nam IV (MOH, 2010), độ tro toàn phần không quá 12%.

Tách chiết cao dược liệu: Tách chiết cao tổng bằng phương pháp ngâm dầm kết hợp đánh sóng siêu âm. Ngâm bột nguyên liệu (100 g) trong bình

chứa bằng thủy tinh với 500 mL dung môi, đánh sóng siêu âm 30 phút ở 30°C và để yên nhiệt độ phòng qua đêm.

Các chỉ tiêu phân tích hóa thực vật: Chuẩn bị dịch chiết với bốn dung môi petroleum ether, ethyl acetate, ethanol và nước lần lượt nhau: Chiết 10 g bột nguyên liệu (hoặc bã xác nguyên liệu đã được trích ly với dung môi trước) trong bình thủy tinh bằng dung môi (petroleum ether, ethyl acetate, ethanol hoặc nước) trong bồn siêu âm 30 phút (riêng đối với dung môi là nước thì được đun cất thủy nóng trên lò). Chiết cho đến khi dịch dung môi bốc hơi không còn vết mờ trên giấy thấm. Gộp dịch chiết lại đem cô quay còn khoảng 50 mL dịch chiết (Nguyen, 2007). Các cao chiết này được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Định tính các nhóm chất: tinh dầu, chất béo, alkaloid, flavonoid, coumarin, tanin, anthocyanoid, carotenoid, các acid hữu cơ, chất khử, proanthocyanidin, saponin và anthraquinon (Nguyen, 2007).

Xác định hàm lượng polyphenol: Dùng thuốc thử Folin - Ciocalteu (FC) để xác định các polyphenol trong dịch chiết nước của lá cây khô, acid gallic được làm chất hiệu chuẩn, kết quả trung bình của 3 lần lặp lại (Fu & ctv., 2011).

Xác định hàm lượng tannin: Tanin bị $KMnO_4$ oxy hóa ở môi trường acid. Điểm kết thúc định lượng được xác định bằng chỉ thị màu sulfo indigo. Từ lượng $KMnO_4$ tiêu thụ, tính ra lượng chất bị oxy hóa trong dược liệu dựa trên chất tanin chuẩn, quá trình chuẩn độ kết thúc khi dung dịch thử chuyển sang màu vàng, kết quả trung bình của 3 lần lặp lại (Le & ctv., 2005).

Xác định hàm lượng flavonoid: với đường chuẩn Rutin, kết quả trung bình của 3 lần lặp lại (Chang & ctv., 2002).

Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa - phương pháp thử nghiệm DPPH: với Acid ascorbic (Merck, Germany) được sử dụng làm chất chuẩn đối chiếu.

Đánh giá khả năng kháng khuẩn: Xác định khả năng kháng khuẩn của các dịch chiết lá khô nhung đối với vi khuẩn *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. và *Staphylococcus aureus* với mật số là 10⁶ cfu/mL và đánh giá khả năng kháng khuẩn theo phương pháp cấy trang trên bề mặt thạch có đục lỗ (đường kính 5 mm, chứa 100 μ L dịch chiết mẫu) của từng nghiệm thức. Đo đường kính vòng vô khuẩn đánh giá mức độ kháng khuẩn của dịch chiết lá cây khô nhung.

Bảng 1. Kết quả độ ẩm và tro toàn phần của mẫu nguyên liệu lá khô

Chỉ tiêu	Tỷ lệ (%)	Tiêu chuẩn dược liệu (%)	Đánh giá
Độ ẩm mẫu nguyên liệu	5,54 ± 0,22	< 13	Đạt
Độ tro toàn phần	10,73 ± 0,75	< 12	Đạt

Xử lý số liệu: các số liệu được phân tích ANOVA và trắc nghiệm phân hạng Tukey.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Đánh giá độ ẩm và tro toàn phần của mẫu nguyên liệu

Độ ẩm và tro toàn phần của mẫu cao chiết cây khô nhưng được trình bày trong Bảng 1. Kết quả cho thấy độ ẩm mẫu cao chiết lá khô nhưng khô đạt trung bình là 5,54 ± 0,22% và độ tro toàn phần là 10,73 ± 0,75%. Kết quả này phù hợp với tiêu chuẩn cao chiết theo quy chuẩn của Dược điển Việt Nam IV (MOH, 2010).

3.2. Định tính sơ bộ thành phần hóa học của nguyên liệu

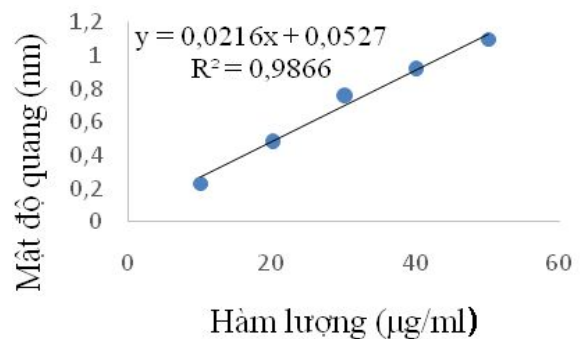
Lá cây khô nhưng sau khi xay nhuyễn được chiết với các hệ dung môi khác nhau theo độ phân cực tăng dần kết hợp đánh sóng siêu âm. Các loại dịch chiết petroleum ether, dịch chiết ethyl acetate, dịch chiết ethanol, dịch chiết nước được dùng để thử nghiệm định tính các hợp chất. Kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả khảo sát sơ bộ hóa thực vật của lá cây khô nhưng cho thấy sự xuất hiện của các hợp chất như tinh dầu, chất béo, alkaloid, flavonoid, coumarin, tanin, anthocyanoid, carotenoid, các acid hữu cơ, chất khử, proanthocyanidin, saponin và anthraquinon. Ngoài một số hợp chất tương tự đã được công bố trước đây như tanin, saponin, alkaloid, đường khử, chất béo, carotene, flavonoid (Nguyễn, 1999), kết quả nghiên cứu này đã cho thấy rằng trong cây khô nhưng còn có các hợp chất khác như anthocyanoid, proanthocyanidin, anthraquinon. Trong dịch chiết với nước, phần lớn có sự hiện diện của các hợp chất khảo sát ngoại trừ chất béo và coumarin. Khảo sát thành phần hóa học của các hợp chất trong thực vật có ý nghĩa quan trọng trong xác định các nhóm chất và tác dụng của các chất này, giúp cho quá trình xác định cấu trúc, chức năng và việc tách chiết từng chất dễ dàng và ít tốn kém thời gian, chi phí và đồng thời qua việc xác định sự hiện diện của các hợp chất trong lá cây khô nhưng cũng

góp phần nâng cao giá trị sử dụng nhờ những hợp chất có trong lá cây khô nhưng nói riêng, cây dược liệu nói chung.

3.3. Định lượng hàm lượng polyphenol, tanin, flavonoid trong dịch chiết lá cây khô nhưng

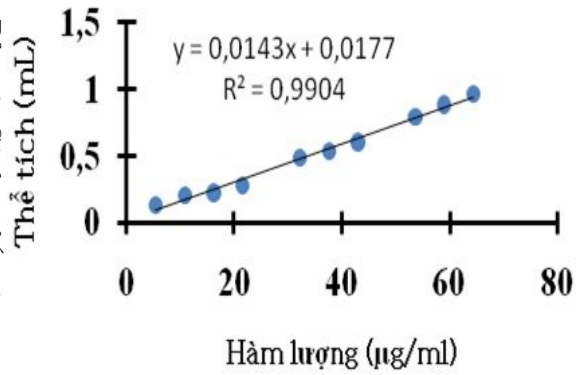
Hàm lượng polyphenol trong lá cây khô được xác định dựa trên đường chuẩn acid gallic (Hình 1)) với dãy nồng độ 10; 20; 30; 40; 50 µg/mL với phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,0216x + 0,0527$; với $R^2 = 0,9866$. Kết quả hàm lượng polyphenol trong lá cây khô được trình bày ở Bảng 3. Hàm lượng flavonoid tổng số của mẫu được xác định dựa vào đường chuẩn rutin (Hình 2) với các thể tích 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 2,4 mL, xác định được phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,0143x + 0,0177$; với $R^2 = 0,9904$. Kết quả về hàm lượng flavonoid tổng số của mẫu được thể hiện ở Bảng 3. Hàm lượng tannin được xác định bằng phương pháp oxy hóa. Một mL dung dịch $KMnO_4$ 0,1 N tương ứng với 0,004157 g tanin tinh khiết. Kết quả về hàm lượng tanin có trong mẫu lá cây khô được trình bày ở Bảng 3.



Hình 1. Đường chuẩn acid gallic.

Lá cây khô nhưng có hàm lượng polyphenol tổng số là 0,26% chất khô, tanin là 8,8%, và flavonoid tổng số là 1,44 mg/g chất khô (Bảng 3).

Một số nghiên cứu cho thấy polyphenol là một trong những hợp chất thứ cấp chính của nhiều loài thực vật, tham gia vào một số chức năng



Hình 2. Đường chuẩn rutin.

Bảng 2. Các hợp chất có trong mẫu lá cây khô nhưng

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Phản ứng dương tính	Dịch chiết petroleum ether	Dịch chiết ethyl acetate	Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước
Chất béo	Nhỏ dd lên giấy H ₂ SO ₄	Vết trong mờ	+	+	-	-
Carotenoid	Bốc hơi tới cạn	Xanh dương hay xanh đậm	-	+	+	+
Tinh dầu	Phát quang trong kiềm KOH 10%	Có mùi thơm	+	+	+	+
Coumarin	HCl	Có hiện tượng vẩn đục	+	+	-	-
Anthraquinon	HCl	Đỏ	-	+	-	+
Anthocyanosid	HCl/nhiệt độ dd FeCl ₃	Đỏ	-	+	-	+
Proanthocyanidin	Lắc mạnh dd Na ₂ CO ₃	Xanh rêu hay xanh đen	+	+	+	+
Tannin	Pha loãng với cồn 90%	Bột bèn	+	-	-	+
Saponin	Pha loãng với cồn 90%	Sủi bọt	+	-	-	+
Acid hữu cơ	TT Dragendorff	Tủa bông trắng - vàng nâu	+	+	+	+
Hợp chất polymeric	Mg/HCl đậm đặc	Tủa đỏ cam	-	-	+	+
Akaloid	TT Fehling	Dung dịch có màu đỏ hồng	-	-	+	+
Flavonoid		Màu đỏ gạch ở đáy	-	-	+	+
Chất khử			-	-	+	+

sinh lý như kháng oxy hóa (Bhattacharyya & ctv., 2014) và có tác dụng mạnh mẽ trong hoạt tính kháng oxy hóa (Kikuzaki & ctv., 2002), kháng viêm, kháng khuẩn, kháng dị ứng, kháng lão hóa và một số bệnh liên quan tới ung thư (Dai & Mumper, 2010). Phần lớn các hợp chất polyphenol bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố tác động như UV, nhiệt độ, thành phần dưỡng chất và yếu tố di truyền (Ling & Subramaniam, 2007). Hàm lượng polyphenol phụ thuộc rất nhiều vào chất lượng hay độ non già của nguyên liệu. Nguyên liệu càng non, hàm lượng polyphenol càng lớn và ngược lại. Hàm lượng polyphenol trong lá cây khô nhưng trong nghiên cứu này thấp hơn so với thí nghiệm được thực hiện trên nguyên liệu lá chè từ non đến già là 14,63% đến 26,60% chất khô (mẫu được sấy ở 70°C) (Giang & ctv., 2011).

Tương tự, tannin có tính kháng khuẩn được dùng trong điều trị các bệnh viêm ruột, tiêu chảy. Tannin thường có nhiều trong búp sim, búp ổi, vỏ ổi và vỏ măng cụt, vì vậy đây là những nguồn dược liệu tiêu biểu đã được dân gian sử dụng trong việc điều trị các bệnh này. Phối hợp với tính làm săn se, tannin còn được dùng để làm thuốc súc miệng khi niêm mạc miệng, họng bị viêm loét hoặc chữa vết loét do người bệnh nằm lâu. Theo dược liệu Việt Nam hàm lượng tannin có trong lá ổi từ 7 - 10%. Như vậy, hàm lượng tannin của lá khô nhưng đạt 8,8% (Bảng 3) tương đương với hàm lượng tannin trong lá ổi.

Một trong những hợp chất khá phổ biến và có nhiều chức năng trong nhiều loài thực vật đó là flavonoid. Trong thực vật bậc cao, flavonoids tham gia vào lọc tia cực tím (UV), cộng sinh cố định đạm và sắc tố của hoa (Grotewold, 2007). Flavonoids có thể hoạt động như một chất chuyển hoá hóa học hoặc điều chỉnh sinh lý, và cũng có

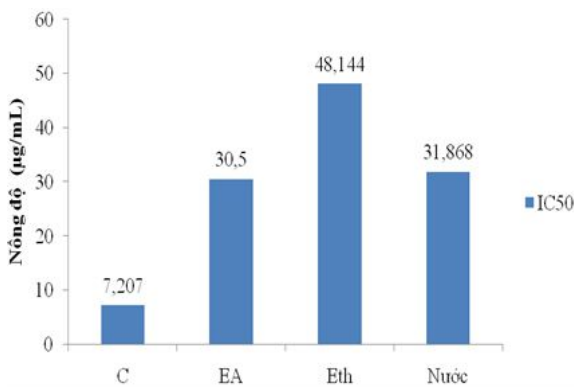
Bảng 3. Kết quả định lượng hợp chất polyphenol, flavonoid và tanin có trong lá cây khô

Loại	Polyphenol (% chất khô)	Tanin (% w/w chất khô)	Flavonoid tổng số (mg/g chất khô)
Mẫu lá khô (n = 3)	0,26 ± 0,05	8,80 ± 0,4	1,44 ± 0,19

thể hoạt động như các chất ức chế chu kỳ tế bào. Trong nghiên cứu này, hàm lượng flavonoid trung bình của dịch chiết từ lá cây khô nhưng đạt 1,442 ± 0,19 (mg/g) (Bảng 3) thấp hơn so với kết quả nghiên cứu hàm lượng flavonoid từ lá cây rau sam (*P. oleraceal.*) (1,76 mg/g) (Zhu & ctv., 2009).

3.4. Khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết lá cây khô nhưng

Các dịch chiết được dùng thử nghiệm đều có hoạt tính sinh học khác nhau. Giá trị IC₅₀ của vitamin C (acid ascorbic) là 7,207 µg/mL. Tiếp theo là ethyl acetate (EA) và nước lần lượt là 30,51 µg/mL và 31,868 µg/mL. Cao nhất là ethanol (Eth) là 48,144 µg/mL. Giá trị IC càng cao thể hiện khả năng kháng oxy hóa càng thấp. Theo đồ thị ở Hình 3 dựa vào giá trị IC₅₀ thấy được dung môi ethyl acetate và nước có khả năng kháng oxy hóa thấp hơn lần lượt 4,2 lần và 4,4 lần so với acid ascorbic. Ethanol (Eth) có khả năng kháng oxy hóa thấp nhất, thấp hơn IC₅₀ của acid ascorbic là 6,7 lần. Dịch chiết với Petroleum ether không cho kết quả kháng oxy hóa.



Hình 3. Đồ thị thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa của các dịch chiết thông qua giá trị IC₅₀. C: Acid ascorbic, EA: dịch chiết với dung môi Ethyl acetate, Eth: dịch chiết với dung môi ethanol, Nước: dịch chiết với nước.

Các dịch chiết được dùng thử nghiệm đều có hoạt tính sinh học khác nhau. Giá trị IC₅₀ của vitamin C (acid ascorbic) là 7,207 µg/mL. Tiếp theo là ethyl acetate (EA) và nước lần lượt là 30,51

µg/mL và 31,868 µg/mL. Cao nhất là ethanol (Eth) là 48,144 µg/mL. Giá trị IC càng cao thể hiện khả năng kháng oxy hóa càng thấp. Theo đồ thị ở Hình 3 dựa vào giá trị IC₅₀ thấy được dung môi ethyl acetate và nước có khả năng kháng oxy hóa thấp hơn lần lượt 4,2 lần và 4,4 lần so với acid ascorbic. Ethanol (Eth) có khả năng kháng oxy hóa thấp nhất, thấp hơn IC₅₀ của acid ascorbic là 6,7 lần. Dịch chiết với Petroleum ether không cho kết quả kháng oxy hóa.

3.5. Đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá cây khô nhưng

Bốn loại dịch chiết lá cây khô với các dung môi petroleum ether, ethyl acetate, ethanol được đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn *E. coli*, *Samonella sp.*, *S. aureus*. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, đối với vi khuẩn *E. coli* các dịch chiết đều có khả năng ức chế ngoại trừ dịch chiết petroleum ether không thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức. Trong đó, đường kính trung bình vòng vô khuẩn của dịch chiết ethyl acetate là lớn nhất, tiếp đến là của dịch chiết ethanol và sau đó là của dịch chiết nước lần lượt tương ứng là 20,67; 9,67 và 6,67 mm.

Tương tự, đối với vi khuẩn *Samonella sp.*, đường kính vòng vô khuẩn của các dịch chiết rất khác nhau (Bảng 4), từ nhỏ đến lớn lần lượt là 0; 7,67; 14,67; 15,33 mm tương ứng của dịch chiết petroleum ether, nước, ethanol và ethyl acetate. Trong đó, đường kính vòng vô khuẩn của dịch chiết ethanol và ethyl acetate không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Hai dịch chiết này có tính kháng mạnh đối với vi khuẩn *Samonella sp.*

Trong khi đó, cả bốn dịch chiết lá cây khô nhưng trong nghiên cứu này đều không có khả năng ức chế đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus* điều này có thể do nồng độ các hoạt chất có trong dịch chiết thấp. Trong nghiên cứu trước đây, kết quả cho thấy dịch chiết của cây *Ardisia elliptica* không có khả năng kháng khuẩn đối với *E. coli* và *Staphylococcus aureus* (Al-Abd & ctv., 2017).

Bảng 4. Khả năng kháng khuẩn của các dịch chiết với các dung môi khác nhau

Vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
	Dịch chiết petroleum ether	Dịch chiết ethyl acetate	Dịch chiết ethanol	Dịch chiết nước
<i>E. coli</i>	-	20,67 ^a ± 0,94	9,67 ^b ± 0,47	6,67 ^c ± 0,47
<i>Salmonella</i> sp.	-	15,33 ^a ± 0,47	14,67 ^a ± 0,48	7,67 ^b ± 0,49
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-

"-": không có giá trị.

^{a-b}Trong cùng một hàng, các giá trị có các ký tự khác nhau thì có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$.

4. Kết Luận

Lá cây khô nhưng *Ardisia silvestris* Pitard có độ ẩm và độ tro toàn phần đạt tiêu chuẩn dược liệu. Trong lá cây khô nhưng có chứa các hợp chất tinh dầu, chất béo, alkaloid, flavonoid, coumarin, tanin, anthocyanoid, carotenoid, các acid hữu cơ, chất khử, proanthocyanidin, saponin và anthraquinon. Trong lá cây khô nhưng, hàm lượng polyphenol tổng số là 0,26% chất khô, tanin là 8,8%, và flavonoid tổng số là 1,44 mg/g. Dịch chiết ethyl acetate và dịch chiết nước của lá cây khô nhưng có khả năng kháng oxy hóa thấp hơn so với acid ascorbic lần lượt 4,2 lần và 4,4 lần. Dịch chiết ethyl acetate và dịch chiết ethanol thể hiện vòng vô khuẩn đối với vi khuẩn *E. coli* (từ 9,67 mm đến 20,67 mm) và *Salmonella* sp. (từ 14,67 mm đến 15,33 mm), tuy nhiên không thể hiện đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Việc cô lập các đơn chất trong lá cây khô nhưng đang được thực hiện và cần được nghiên cứu đánh giá sâu hơn hoạt tính sinh học của các đơn chất này.

Lời Cảm Ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã cấp kinh phí cho nghiên cứu này; cảm ơn Ban Lãnh đạo, Cán bộ công tác tại Khu bảo tồn Thiên nhiên và Văn hóa Đồng Nai, Vườn quốc gia Cát Tiên đã hỗ trợ trong việc thu thập mẫu cây khô nhưng.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Al-Abd, N. M., Nor, Z. M., Mansor, M., Zajmi, A., Hasan, M. S., Azhar, F., & Kassim, M. (2017). Phytochemical constituents, antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of *Ardisia elliptica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 7(6), 569-576.
- Bhattacharyya, P., Kumaria, S., Diengdoh, R., & Tandon, P. (2014). Genetic stability and phytochemical analysis of the invitro regenerated plants of *Dendrobium nobile* Lindl., an endangered medicinal orchid. *Meta Gene* 2, 489-504.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chen, J. (2002). Estimation of flavonoid total content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3), 178-182.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15, 7313-7352.
- Do, T. L. (2004). *Vietnamese medicinal plants and herbs*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.
- Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., & Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry* 129(2), 345-350.
- Giang, K. T., Nguyen, M. T., Pham, H. V., Pham, D. T. H., & Duez, P. (2011). Effect of quality of material on polyphenol content and antibacterial activity of pH tea varieties. *Journal of Science and Development* 9(2), 258-264.
- Grotenow, E. (2007). *The science of flavonoids*. New York, USA: Springer Publishing House.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 2161-2168.
- Kobayashi, H., & de Mejia, E. (2005). The genus *Ardisia*: a novel source of health-promoting compounds and phytopharmaceuticals. *Journal of Ethnopharmacology* 96(3), 347-354.
- Le, T. M., Nguyen, T. H., Pham, T. T., Nguyen T. H., & Le, T. L. C. (2005). *Methods of analysis for fermentation technology*. Hanoi, Vietnam: Science and Technics Publishing House.
- Ling, L. F., & Subramaniam, S. (2007). Biochemical analyses of *Phalaenopsis violacea* orchid. *Asian Journal of Biochemistry* 2, 237-246.
- MOH (Ministry of Health) (2010). *Vietnam pharmacopoeia IV*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.
- Nguyen, P. K. T. (2007). *Methods of isolation of organic compounds*. Ho Chi Minh City, Vietnam: National University Publishing House.
- Nguyen, T. P. (1999). *Handbook for searching and identifying families of angiosperms in Vietnam*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.

- Tran, L. T. K (2002). *Study on chemical composition and biological activity of some Ardisia species of Myrsinaceae family in Vietnam* (Unpublished Doctoral dissertation). Vietnam Academy of Science and Technology, Ha Noi, Vietnam.
- Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y., & Tang, T. (2009). Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods* 3(2), 90-97.