

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* của hạt Đu đủ (*Carica papaya* L.) trên một số vi khuẩn liên quan đến nhiễm trùng da

Nguyễn Thị Kim Liên*, Nguyễn Hoàng Thiên Kim, Lê Bảo Minh, Nguyễn Thanh Long

Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*ntklien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nhiễm trùng da là bệnh thường gặp, gây ra bởi các vi khuẩn cơ hội thường trú trên da. Hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* của hạt Đu đủ (*Carica papaya* L.) trên các vi khuẩn liên quan nhiễm trùng da được khảo sát trong nghiên cứu. Hạt Đu đủ được chiết xuất bằng phương pháp ngâm phân đoạn với các dung môi ethanol 70 %, ethanol 80 % và ethanol 90 %. Các dịch chiết được loại dung môi thu các mẫu cao đặc. Các cao chiết được thử hoạt tính kháng khuẩn trên các vi khuẩn Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Streptococcus pyogenes* và *Pseudomonas aeruginosa* bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Cao chiết có hiệu quả tốt nhất được sử dụng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) bằng phương pháp vi pha loãng. Kết quả cho thấy cao chiết hạt Đu đủ ở nồng độ 100 mg/mL có hoạt tính kháng khuẩn trên MSSA, MRSA và *S. pyogenes* nhưng lại không hiệu quả với *P. aeruginosa*. Cao chiết hạt Đu đủ trong ethanol 80 % cho hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất trong 3 dung môi được khảo sát. Cao chiết này có MIC đối với MSSA và MRSA là 5,0 mg/mL, với *S. pyogenes* là 2,5 mg/mL; MBC đối với MSSA và MRSA là 20 mg/mL, với *S. pyogenes* là 10 mg/mL.

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 26/09/2023
Được duyệt 11/11/2023
Công bố 29/12/2023

Từ khóa
hạt Đu đủ,
dịch chiết ethanol,
kháng khuẩn,
nhiễm trùng da

1 Đặt vấn đề

Da là hàng rào đầu tiên giúp cơ thể tránh các yếu tố có hại từ môi trường, bao gồm các vi sinh vật. Nhưng khi tính toàn vẹn của da không đảm bảo thì có thể dẫn đến nhiễm trùng da, đặc biệt là các vùng da ẩm và ở những người bị suy giảm miễn dịch. Nhiễm trùng da thường liên quan đến một số vi khuẩn Gram dương như Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Streptococcus pyogenes* và vi khuẩn Gram âm *Pseudomonas aeruginosa*; trong đó chủng *S. aureus* là tác nhân thường được tìm thấy trên các vùng da bệnh [1]. Dạng thuốc bôi chứa kháng sinh điều trị nhiễm trùng tại chỗ mang lại nhiều lợi thế so với đường uống, bao gồm cung cấp nồng độ thuốc cao tại vị trí tác dụng

và giảm độc tính hệ thống. Tuy nhiên, nếu dùng thường xuyên các kháng sinh dạng bôi da (đặc biệt là mupirocin và acid fusidic) sẽ dễ gây ra tình trạng đề kháng trên các vi sinh vật gây bệnh [2].

Cây Đu đủ (*Carica papaya* L. (Caraceae)) là loại cây ăn quả phổ biến ở Việt Nam. Quả Đu đủ mang lại giá trị kinh tế trong ngành thực phẩm nhờ thịt quả ngon ngọt và bổ dưỡng [3]. Song, qua quá trình chế biến quả, một lượng lớn hạt Đu đủ, được xem là phụ phẩm nông nghiệp bị thải bỏ ra môi trường. Mặc dù hạt Đu đủ không ngon do có vị cay, lại có dược tính mạnh hơn so với phần thịt quả. Trong thành phần hóa học của hạt Đu đủ có chứa nhiều nhóm hợp chất có tác dụng kháng khuẩn như alkaloid, glycosid, flavonoid, triterpenoid, saponin và các acid béo [4-6]. Hạt Đu đủ cũng chứa một lượng đáng kể glucotropaeolin, một glycosid với



aglycon là benzyl-isothiocyanat có khả năng diệt khuẩn mạnh; ngoài ra hạt còn chứa myrosin, một protein đóng vai trò enzym thủy phân glucotropaelin glycosid thành rhamnose, ion sulfat và benzyl-isothiocyanat [7]. Nhiều nghiên cứu khẳng định dịch chiết ethanol của hạt Đu đủ kháng được *P. aeruginosa* [8,9] và *S. aureus* [8-10]; tuy nhiên theo kết quả của một nghiên cứu khác thì dịch chiết ethanol của hạt Đu đủ lại không ức chế được các vi khuẩn này [4]. Có thể nhận thấy trong số các kết quả đã được công bố trước đây về hoạt tính kháng khuẩn của hạt Đu đủ còn có nhiều điểm không thống nhất, thậm chí trái ngược với nhau.

Từ các cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích đánh giá khả năng kháng khuẩn *in vitro* trên một số vi khuẩn liên quan đến nhiễm trùng da của hạt Đu đủ được trồng ở miền Nam Việt Nam, góp phần cung cấp thêm thông tin về tác dụng sinh học của hạt Đu đủ để có thể tận dụng được nguồn phụ phẩm này trong việc phát triển các sản phẩm bảo vệ da.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

Hạt tươi được lấy từ quả chín của cây Đu đủ (*C. papaya* L.), loại đu đủ ruột vàng, thu hái tại tỉnh Long An (Việt Nam).

Các hóa chất: ethanol, dimethylsulfoxid (DMSO), tween 80, đĩa giấy amikacin 10 UI (Việt Nam); amikacin sulfate 250 mg/mL (Bulgaria).

Các chủng vi khuẩn: *P. aeruginosa* ATCC 27853, Methicillin-Sensitive *S. aureus* (MSSA) ATCC 25923, Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) ATCC 33591, *S. pyogenes* ATCC 41119 do Bộ môn Vi sinh - Kí sinh, Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành cung cấp.

Môi trường thử nghiệm: Brain Heart Infusion (BHI) bổ sung agar, NaCl 0,85 % bổ sung 0,05 % Tween 80, Mueller-Hinton Agar (MHA).

Trang thiết bị nghiên cứu: cân kỹ thuật Sartorius-TE 412, cân phân tích Ohaus-PA 214, máy cô quay chân không Heidolph Hei-VA, nồi hấp tiệt trùng Hirayama HV 110, tủ sấy Memmert UNB-500, tủ ẩm Heraeus, máy đo quang phổ GeneQuant UV-1280, máy vortex Labnet, tủ cấy vi sinh ESCO AVC 4D1, cân phân tích ẩm OHAUS MB45 và các dụng cụ thường quy của phòng thí nghiệm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chuẩn bị dược liệu

Hạt Đu đủ tươi sau khi thu về được rửa sạch, phơi khô, xay thành bột thô (1400/355) và bảo quản trong bao bì kín, nơi khô thoáng.

- Xác định độ ẩm của dược liệu: sử dụng cân phân tích ẩm OHAUS MB45 (Mỹ), nhiệt độ 105 °C, đánh giá theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (Phụ lục 9.6) [11], độ ẩm của dược liệu không được quá 15 %.

- Xác định độ tro toàn phần: chỉ tiêu được đánh giá theo Dược điển Việt Nam V (Phụ lục 9.7), độ tro toàn phần không quá 12 %. Cho (2-3) g bột hạt Đu đủ vào một chén sứ đã nung và cân bì. Nung ở nhiệt độ không quá 450 °C tới khi không còn carbon, làm nguội rồi cân [11]. Tính tỉ lệ phần trăm của tro toàn phần theo khối lượng mẫu thử dược liệu đã dùng. Hàm lượng tro theo phần trăm được tính theo công thức: $x(\%) = \frac{(G_2 - G)}{(G_1 - G)} \times 100$

trong đó: G: trọng lượng chén (g), G₁: trọng lượng chén và mẫu trước khi nung (g), G₂: trọng lượng chén và mẫu sau khi nung (g)

2.2.2 Chiết xuất dược liệu bằng ethanol

Bột hạt Đu đủ được chiết bằng phương pháp ngâm lạnh phân đoạn với 3 mẻ khác nhau, sử dụng các dung môi ethanol 70%, ethanol 80% và ethanol 90% theo tỉ lệ ngâm 1:5 (g dược liệu/mL dung môi) trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Ngâm lần đầu với 3/5 lượng dung môi, lần 2 với 2/5 lượng dung môi. Dịch chiết được lọc và loại dung môi bằng máy cô quay chân không ở nhiệt độ 50 °C, 80 rpm. Cao chiết được sấy ở 50 °C đến khối lượng không đổi và được bảo quản trong tủ lạnh.

- Xác định độ ẩm cao chiết: áp dụng phương pháp mất khối lượng do làm khô, dùng cân phân tích độ ẩm. Trải cao thử nghiệm thành lớp mỏng trên đĩa cân (khoảng 0,5 g). Vận hành cân và ghi nhận độ ẩm với 3 lần lặp lại của mỗi mẫu, đánh giá theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (Độ ẩm không quá 20 %) [11].

- Xác định hiệu suất chiết: dựa vào tỉ lệ giữa trọng lượng cao thu được so với lượng mẫu hạt được sử dụng khi chiết, theo công thức

$$H(\%) = \frac{m_2 \times (1 - A/100)}{m_1} \times 100$$

trong đó: m₁: khối lượng dược liệu khô (g), m₂: khối lượng cao thu được sau khi cô (g), A: độ ẩm của cao (%)

2.2.3 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

2.2.3.1 Sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn

Ba mẫu cao chiết được tiến hành sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn với các chủng vi khuẩn *P. aeruginosa*, MSSA, MRSA và *S. pyogenes*, theo phương pháp

giếng khuếch tán. Chọn ra mẫu cao có hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất.

- Chuẩn bị chất thử: cao chiết được pha loãng trong DMSO 10 % với nồng độ 100 mg/mL.

- Chuẩn bị môi trường: môi trường sau khi được pha và hấp tiệt trùng, cho vào mỗi đĩa petri có đáy phẳng và đặt lên mặt phẳng để thạch có bề dày đồng nhất, khoảng 4 mm. Thể tích môi trường khoảng (20-25) mL/đĩa (đĩa có đường kính 90 mm). Để nguội ở nhiệt độ phòng thí nghiệm, nếu chưa sử dụng thì để trong tủ lạnh từ (4-8) °C.

- Chuẩn bị huyền dịch vi khuẩn thử nghiệm: sau khi cấy hoạt hóa trên đĩa thạch BHI, ủ ở 37 °C trong 24 giờ, vi khuẩn được pha trong dung dịch nước muối sinh lí có thêm 0,05 % tween 80 và phân tán đều bằng máy vortex. Huyền dịch vi khuẩn được điều chỉnh về giá trị OD (0,08-0,12) tại bước sóng 625 nm. Giá trị này tương đương với khoảng $(1-2) \times 10^8$ CFU/mL.

- Tiến hành: huyền dịch vi khuẩn được trải đều trên mặt thạch bằng que bông vô trùng. Lặp lại 3 lần, mỗi lần xoay đĩa 60°. Lần cuối cùng xoay tròn que bông xung quanh thành đĩa để vi khuẩn được trải đều. Đục lỗ đường kính 5 mm trong đĩa thạch bằng que đục lỗ thép không rỉ. Cho vào mỗi lỗ 50 µL chất thử. Để yên khoảng 15 phút cho các chất thử khuếch tán vào lớp môi trường. Mỗi chất thử nghiệm được lặp lại 3 lần. Ủ đĩa thạch trong tủ ẩm ở (35-37) °C.

- Đọc kết quả: sau (16-18) giờ và chất thử có tác động kháng khuẩn sẽ cho vòng ức chế xung quanh lỗ. Đo và ghi nhận đường kính vòng ức chế bằng thước kẹp có độ chia nhỏ nhất bằng 0,01 mm. Mức độ kháng vi sinh vật được đánh giá sơ bộ theo dựa theo đường kính vòng kháng được chia làm 3 mức độ: mạnh (> 14 mm), trung bình (10-14 mm), yếu (7-9 mm) và không kháng (6 mm) [12].

2.2.3.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Sau khi sàng lọc, mẫu cao chiết có tác động ức chế vi khuẩn hiệu quả nhất sẽ được thử nghiệm tìm nồng độ ức chế tối thiểu bằng phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng, sử dụng đĩa 96 giếng được qui định tại hướng dẫn M07 – A10 của CLSI.

- Chuẩn bị huyền dịch vi khuẩn thử nghiệm: tương tự với mục 2.2.3.1. Sau đó, huyền dịch trên tiếp tục được pha loãng 100 lần. Vi khuẩn sau khi được pha phải được sử dụng trong vòng 30 phút.

- Thuốc thử: resazurin ở nồng độ 0,15 mg/mL trong môi trường thử

- Môi trường: MHB (Mueller-Hinton Broth)

- Tiến hành:

Bước 1: cho vào giếng thử nghiệm (A1) 60 µL môi trường thử nghiệm và 40 µL cao chiết (nồng độ 100 mg/mL). Giếng chứng dương (B1): 8 µL amikacin 2,5 mg/mL và 92 µL môi trường. Giếng chứng âm (C1): 40 µL DMSO 10 % và 60 µL môi trường.

Bước 2: hút 50 µL môi trường vào mỗi giếng từ cột 2 đến cột 12.

Bước 3: tiến hành pha loãng cao theo từng dãy hàng ngang sao cho nồng độ giảm dần một nửa so với giếng trước đó từ số 1 đến số 12, thu được dãy nồng độ của chất thử A1 đến A12 giảm dần từ 20 mg/mL đến 0,0098 mg/mL và nồng độ kháng sinh ở dãy chứng dương B1 đến B12 từ 100 µg/mL đến 0,0488 µg/mL.

Bước 5: cho 50 µL vi khuẩn đã được huyền phù vào tất cả các giếng từ dãy số 1 đến số 12. Đậy nắp khay, ủ bằng 96 giếng trong tủ ẩm 37 °C trong 24 giờ.

Bước 6: thêm vào mỗi giếng 30 µL thuốc thử resazurin có nồng độ 0,015 %, ủ thêm (2-4) giờ rồi đọc kết quả.

- Đọc kết quả: giếng chứng âm không có hoạt tính kháng khuẩn, vi khuẩn tăng trưởng sẽ làm thay đổi màu chỉ thị resazurin sang màu hồng hoặc trắng hồng (ở trường hợp *S. pyogenes*). Những giếng không có vi khuẩn vẫn giữ nguyên màu xanh dương của chỉ thị, giá trị MIC được xác định là giếng cuối cùng có nồng độ cao chiết thấp nhất ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn[13].

2.2.3.3. Xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

- Môi trường: BHI (Brain heart infusion)

- Tiến hành: trên các đĩa 96 giếng đã thực hiện MIC, chọn các đĩa có nồng độ như sau: 1 giếng ngay nồng độ MIC và 2 giếng có nồng độ lần lượt gấp 2, gấp 4 lần MIC. Hút toàn bộ dịch có trong giếng thử nghiệm, cho trực tiếp lên đĩa thạch. Dùng que tam giác bằng thủy tinh đã nhúng vào cồn, hơ qua lửa để nguội, phân tán đều huyền dịch trên mặt thạch cho đến khi mặt thạch hoàn toàn khô. Ủ ở nhiệt độ 37 °C. Nếu có vi khuẩn thì sẽ mọc thành các khóm trên bề mặt thạch.

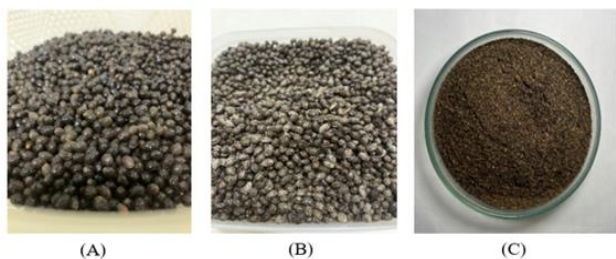
- Đọc kết quả: đọc kết quả sau 24 giờ. MBC là nồng độ mà tại đó diệt 99,9 % vi khuẩn thử nghiệm. Đĩa không có vi khuẩn mọc là nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của cao chiết đối với vi khuẩn thử nghiệm[13].

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Chuẩn bị dược liệu

Hạt Đu đủ chín có màu đen hoặc nâu, hình bầu dục, kích thước tương đối đồng nhất. Hạt được rửa sạch và

phơi khô sau đó xay thành bột thô (1400/355) có màu nâu đen (Hình 1).



Hình 1 Mẫu hạt Đu đủ: (A) Hạt Đu đủ tươi; (B) Hạt Đu đủ khô; (C) Bột hạt Đu đủ

Độ ẩm trung bình của mẫu bột xay ra từ hạt là $8,01 \pm 0,17$ %, đáp ứng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (Phụ lục 9.6) đối với độ ẩm của dược liệu (không được quá 15 %).

Hàm lượng tro toàn phần của hạt Đu đủ là $10,69 \pm 0,42$ %, đạt tiêu chuẩn về hàm lượng tro có trong thực phẩm theo Dược điển Việt Nam V đối với bột dược liệu (< 12 %).

3.2 Chiết xuất dược liệu với ethanol

Các dịch chiết sau khi được cô đặc và sấy đến khối lượng không đổi thu được các mẫu cao đặc có thể chất sánh, màu nâu đen. Độ ẩm trung bình của các cao chiết bằng ethanol 70 %, ethanol 80 % và ethanol 90 % lần lượt là $9,73 \pm 0,18$ %; $9,79 \pm 0,17$ % và $7,86 \pm 0,25$ % (Bảng 1); các giá trị này đều đáp ứng tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V về cao đặc (độ ẩm không quá 20 %). Hiệu suất tách chiết của dung môi ethanol ở các nồng độ khác nhau có sự khác biệt; cụ thể, hiệu suất chiết của dung môi ethanol 70 % là cao nhất, với kết quả là $3,87 \pm 0,50$ %, kể đến là dung môi ethanol 80 % với $3,25 \pm 0,12$ %, cuối cùng là dung môi ethanol 90 % thấp nhất với $2,50 \pm 0,08$ %. Kết quả này cho thấy dung môi ethanol 70 % chiết được nhiều chất từ hạt Đu đủ hơn so với hai nồng độ còn lại. Tuy nhiên, những thành phần trong dịch chiết có thể bao gồm tạp chất không mong muốn, do đó chưa thể khẳng định được rằng dung môi ethanol 70 % là dung môi chiết tách tối ưu. Vì vậy, để tìm được dung môi chiết phù hợp thì cần tiếp tục khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu cao trên các chủng vi sinh vật *P. aeruginosa*, MSSA, MRSA và *S. pyogenes*.

Bảng 1 Độ ẩm của các cao chiết và hiệu suất chiết

Độ ẩm cao chiết (%)				
Lần thực hiện	1	2	3	Trung bình
Ethanol 70 %	9,94	9,50	9,76	$9,73 \pm 0,18$
Ethanol 80 %	10,12	9,84	9,56	$9,79 \pm 0,17$

Ethanol 90 %	7,71	8,21	7,65	$7,86 \pm 0,25$
Hiệu suất chiết (%)				
Ethanol 70 %	4,03	4,39	3,20	$3,87 \pm 0,50$
Ethanol 80 %	3,11	3,40	3,24	$3,25 \pm 0,12$
Ethanol 90 %	2,43	2,61	2,46	$2,50 \pm 0,08$

3.3 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

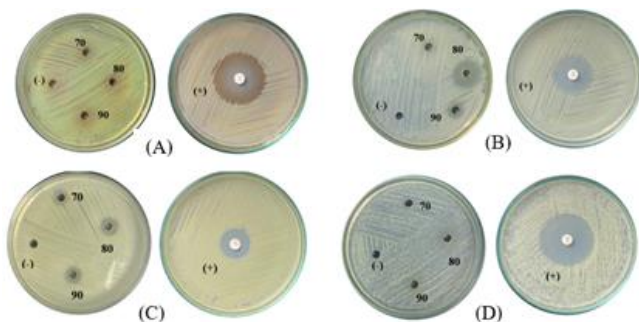
3.3.1 Sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn

Hiệu quả kháng khuẩn của các cao chiết thể hiện qua đường kính vòng ức chế khi thử nghiệm trên 4 chủng vi khuẩn được trình bày trong Bảng 2 và Hình 2. Có thể thấy, ở nồng độ pha loãng 100 mg/mL, cả 3 mẫu cao đều không kháng được *P. aeruginosa*. Cao chiết ethanol 80 % cho hoạt tính kháng khuẩn trung bình đối với MSSA và *S. pyogenes*, hoạt tính yếu trên MRSA. Trong khi đó, cao chiết ethanol 70 % kháng khuẩn ở mức yếu đối với *S. pyogenes*, không ức chế được MSSA và MRSA; cao chiết ethanol 90 % cho kết quả kháng khuẩn yếu đối với 2 chủng *S. pyogenes* và MRSA, không ức chế được MSSA. Như vậy, hoạt tính kháng khuẩn của hạt Đu đủ đạt tốt nhất khi được chiết bằng ethanol 80 %. Điều đó cho thấy mối liên quan giữa khả năng hòa tan của hoạt chất với tính phân cực của dung môi, và trong trường hợp này thì ethanol 80 % có độ phân cực phù hợp với các thành phần có hoạt tính kháng khuẩn. Dựa vào kết quả sàng lọc, cao chiết hạt Đu đủ ở nồng độ ethanol 80 % được chọn để tiếp tục thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu trên các chủng vi khuẩn nhạy cảm.

Các số liệu trên cho thấy, hạt Đu đủ thể hiện được hoạt tính ức chế các chủng vi khuẩn Gram dương trong thử nghiệm, nhưng không hiệu quả với *P. aeruginosa* là một trực khuẩn Gram âm. Hiệu quả trên *S. aureus* có sự tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đây, trừ nghiên cứu của Nna P.J. (năm 2019). Trong khi kết quả âm tính trên *P. aeruginosa* tương đồng với nghiên cứu của Nna P.J. nhưng lại mâu thuẫn với nghiên cứu của Ukaegbu-Obi (năm 2018) và Dagne (năm 2021). Sự khác biệt này có thể đến từ nguồn nguyên liệu đu đủ được thử nghiệm, cũng như phương pháp chiết xuất và xử lý cao. Nghiên cứu hiện tại đã cố gắng chuẩn hóa các yếu tố từ kiểm soát nguồn cung cấp, kiểm tra độ ẩm, độ tro của dược liệu, cũng như các thông số quy trình chiết và độ ẩm của cao để đảm bảo các kết quả thu được là đáng tin cậy và có thể lặp lại. Ngoài ra, khả năng ức chế được vi khuẩn *S. pyogenes* của hạt Đu đủ là một ghi nhận mới của nghiên cứu này so với các tài liệu đã công bố.

Bảng 2 Đường kính vòng ức chế của các cao chiết thử nghiệm trên các chủng vi khuẩn (mm)

Cao chiết 100 g/mL	Ethanol 70 %	Ethanol 80 %	Ethanol 90 %	Amikacin
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	30,33 ± 0,57
MSSA	0	10,83 ± 1,65	6,33 ± 0,62	23,5 ± 1,08
MRSA	6,33 ± 0,85	8,50 ± 1,22	7,33 ± 0,62	17,5 ± 1,08
<i>S. pyogenes</i>	7,33 ± 0,85	13,17 ± 1,65	8,17 ± 0,85	29,17 ± 1,43

**Hình 2** Kết quả thử nghiệm kháng khuẩn của các cao chiết trên các chủng vi khuẩn (A) *Pseudomonas aeruginosa*, (B) MSSA, (C) MRSA, (D) *Streptococcus pyogenes*

3.3.2 Xác định nồng độ ức chế tối thiểu

Kết quả xác định MIC của cao chiết hạt Đu đủ ethanol 80 % đối với các chủng vi khuẩn MSSA, MRSA và *Streptococcus pyogenes* bằng phương pháp vi pha

loãng trên bảng 96 giống với nồng độ ban đầu của các mẫu thử nghiệm là 20 mg/mL và nồng độ ban đầu của kháng sinh là 100 µg/mL được thể hiện qua Bảng 3 và Bảng 4. Giá trị MIC của cao chiết hạt Đu đủ trong ethanol 80 % đối với 2 chủng vi khuẩn MSSA, MRSA là 5,0 mg/mL và *S. pyogenes* là 2,5 mg/mL. So sánh với nghiên cứu của Dagne Eshetu (năm 2021) trong đó dịch chiết hạt Đu đủ cũng sử dụng ethanol 80 % cho MIC đối với *S. aureus* là 25 mg/mL, có thể thấy cao chiết hạt Đu đủ ethanol 80 % trong nghiên cứu hiện tại cho kết quả kháng khuẩn tốt hơn với giá trị MIC chỉ 5,0 mg/mL, bằng một phần năm so với nghiên cứu trước. Tuy nhiên, nghiên cứu của Dagne lại khẳng định, dịch chiết ethanol 80 % của hạt Đu đủ có khả năng ức chế *Pseudomonas aeruginosa* với MIC là 12,5 mg/mL, trong khi mẫu thử nghiệm tại lại âm tính với chủng vi khuẩn này.

Bảng 3 Kết quả các giếng thử nghiệm MIC của cao chiết hạt Đu đủ

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
MSSA	Cao chiết	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A
	Amikacin	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	B
	Chứng âm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	C
MRSA	Cao chiết	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A
	Amikacin	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	B
	Chứng âm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	C
<i>S. pyogenes</i>	Cao chiết	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	A
	Amikacin	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	B
	Chứng âm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	C

Chú thích: (-): vi khuẩn bị ức chế (+): vi khuẩn phát triển

Bảng 4 Giá trị MIC của hạt Đu đủ trên các vi khuẩn thử nghiệm

	MSSA	MRSA	<i>S. pyogenes</i>
MIC (mg/mL)	5	5	2,5

3.3.2 Xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu

Kết quả xác định MBC của cao chiết hạt Đu đủ trong ethanol 80 % đối với các vi khuẩn gây bệnh ngoài da bằng phương pháp trải đĩa được trình bày ở Bảng 5. Nồng độ tối thiểu để cao chiết hạt Đu đủ có khả năng diệt 99 % đối với 2 chủng MSSA, MRSA là 20 mg/mL,

trong khi đó chủng *Streptococcus pyogenes* thì nhạy cảm hơn với nồng độ diệt khuẩn tối thiểu là 10 mg/mL. Có thể kết luận cao chiết hạt Đu đủ có khả năng diệt được một số vi khuẩn gây bệnh cơ hội trên da như MSSA, MRSA và *S. pyogenes* ở nồng độ phù hợp để có thể phát triển thành các sản phẩm bôi da. Hoạt tính kháng khuẩn của hạt Đu đủ có thể được giải thích dựa trên các thành phần hóa học đã được công bố trong hạt

như alkaloid, glycosid, flavonoid, triterpenoid, saponin và các acid béo.

Bảng 5 Giá trị MBC của hạt Đu đủ trên các vi khuẩn thử nghiệm

	MSSA	MRSA	<i>S. pyogenes</i>
MBC (mg/mL)	20	20	10

Với các kết quả đã trình bày, nghiên cứu cung cấp các dữ liệu giúp củng cố thông tin về khả năng ức chế vi khuẩn của hạt Đu đủ trên các chủng MSSA, MRSA so với các nghiên cứu trước đó, đồng thời *Streptococcus pyogenes* là một vi khuẩn chưa được thử nghiệm về tính nhạy cảm với hạt Đu đủ cũng đã được khảo sát trong nghiên cứu lần này và cho kết quả tốt. Khả năng diệt khuẩn của hạt Đu đủ qua các giá trị MBC của cao hạt Đu đủ chiết bằng dung môi ethanol 80 % cũng được khẳng định trên các chủng vi khuẩn gây bệnh ngoài da. Đây là một đóng góp mới của nghiên cứu, vì các tài liệu trước đây chưa cung cấp các thông tin này. Bên cạnh đó, nghiên cứu cho thấy được tiềm năng của hạt Đu đủ trong việc phát triển thành các sản phẩm điều trị nhiễm trùng da và cũng là một giải pháp tốt giúp cho việc tận dụng các phụ phẩm của ngành thực phẩm vào sản xuất dược phẩm.

Kết quả khả quan của nghiên cứu này gợi ý cho hướng nghiên cứu tiếp theo là mở rộng khảo sát khả năng kháng nấm của hạt Đu đủ trên các chủng vi nấm gây bệnh cơ hội trên da, đồng thời chuẩn hóa quy trình chiết

cao hạt Đu đủ để làm nguyên liệu bào chế các sản phẩm ứng dụng.

4 Kết luận

Nghiên cứu khẳng định hạt Đu đủ (*Carica papaya* L.) có hoạt tính ức chế vi khuẩn và diệt khuẩn trên một số chủng vi khuẩn liên quan với nhiễm trùng da. Khi chiết xuất hạt Đu đủ bằng ethanol, để cao chiết hạt Đu đủ có hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất cần chọn dung môi chiết là ethanol 80 %. Chiết xuất hạt Đu đủ bằng phương pháp ngâm lạnh phân đoạn, sử dụng hạt xay thô (độ ẩm $8,01 \pm 0,17$ %, độ tro $10,69 \pm 0,42$ %) thu được tỉ lệ cao chiết là $3,25 \pm 0,12$ % tính trên dược liệu khô, với độ ẩm cao chiết là $9,79 \pm 0,17$ %. Cao hạt Đu đủ ở nồng độ pha loãng 100 mg/mL thể hiện được khả năng kháng khuẩn trên 3 chủng vi khuẩn gây bệnh cơ hội trên da là MSSA, MRSA và *S. pyogenes*; nhưng không ức chế được *P. aeruginosa*. Cao chiết hạt Đu đủ có giá trị MIC đối với MSSA và MRSA là 5,0 mg/mL, với *S. pyogenes* là 2,5 mg/mL; giá trị MBC đối với MSSA và MRSA là 20 mg/mL, với *S. pyogenes* là 10 mg/mL.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Trường Đại học Nguyễn Tất Thành trong đề tài mã số 2023.01.64/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

- Swetha, T. K., & Pandian, S. K. (2019). Role of bacteria in dermatological infections. *Pocket Guide to Bacterial Infections*, 279.
- Williamson, D. A., Carter, G. P., & Howden, B. P. (2017). Current and emerging topical antibacterials and antiseptics: agents, action, and resistance patterns. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(3), 827-860.
- Aravind, G., Bhowmik, D., Duraivel, S., & Harish, G. (2013). Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(1), 7-15.
- Nna, P. J., Egbuje, O. J., & Don-Lawson, D. C. (2018). Determination of phytoconstituents and antimicrobial analysis of the ethyl acetate extract of *Carica papaya* seed. *International Journal Research and Innovation in Applied Science*, 4(12), 1-7.
- Ying, C. K. J., Perveen, N., Paliwal, N., & Khan, N. H. (2021). Phytochemical analysis, Antioxidant and Antibacterial Activity Determination of ethanolic extract of *Carica papaya* Seeds. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 33(5), 26175-26187.
- Jeon, Y. A., Chung, S. W., Kim, S. C., & Lee, Y. J. (2022). Comprehensive assessment of antioxidant and anti-inflammatory properties of papaya extracts. *Foods*, 11(20), 3211.

7. Nayak, B. S., Ramdeen, R., Adogwa, A., Ramsabhag, A., & Marshall, J. R. (2012). Wound-healing potential of an ethanol extract of *Carica papaya* (Caricaceae) seeds. *International Wound Journal*, 9(6), 650-655.
8. Dagne, E. (2020). Antibacterial activity of Papaya (*Carica papaya*) Leaf and Seed extracts against some selected Gram positive and Gram negative bacteria (Doctoral dissertation).
9. Ukaegbu-Obi, K. M., Anyaegbunam, C. P., & Enya, E. (2018). Antibacterial activity of *Carica papaya* seeds on some human pathogens. *Annals of West University of Timisoara: Series of Biology*, 21(1).
10. Setyani, W., Yakub, J., Yandri, O., Kawan, V. R., Haryanto, T. J., & Darmika, I. M. M. (2020). Phytochemical Investigation and Antibacterial activity ethanol extract of papaya seeds (*Carica papaya* L.) applicated for gel product. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(1), 96-100.
11. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V, tập 2*, NXB. Y học, Hà Nội, tr.PL-203-204.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (2012). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition*, CLSI Document M02-A11, Wayne, 32(1).
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (2015). *Methods for Dilution of Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—10th Edition*, CLSI Document M07-A10, Wayne, PA.

Investigation of *in vitro* antibacterial activity of papaya seeds on some bacteria related to skin infections

Nguyen Thi Kim Lien*, Nguyen Hoang Thien Kim, Le Bao Minh, Nguyen Thanh Long
Faculty of Pharmacy - Nguyen Tat Thanh University

*ntklien@ntt.edu.vn

Abstract Skin infection is a common skin disease caused by opportunistic bacteria that reside on the skin. Research on the antibacterial ability of Papaya seeds (*Carica papaya* L.) helps provide information about the *in vitro* antibacterial activity of this medicinal herb. Papaya seeds are extracted by fractional soaking method with 70 % ethanol, 80 % ethanol and 90 % ethanol solvents. The extracts were removed solvent to obtain concentrated samples. The extracts were tested for antibacterial activity on Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* by agar well diffusion method. The most effective extract was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using the microdilution method. The results showed that Papaya seed extracts at a concentration of 100 mg/mL had antibacterial activity against MSSA, MRSA and *S. pyogenes* but was ineffective against *P. aeruginosa*. Papaya seed extract in 80 % ethanol showed the best antibacterial activity among the three solvents examined. This extract had the MIC for MSSA and MSSA of 5.0 mg/mL, for *S. pyogenes* of 2.5 mg/mL; while the MBC for MSSA and MSSA of 20 mg/mL, for *S. pyogenes* of 10 mg/mL.

Keywords Papaya seeds, ethanol extract, antibacterial activity, skin infections

