



Research Article

Phytochemical content analysis, Antioxidant activities, and Antibacterial potential of *Piper retrofractum* Vahl leaf extract

การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากใบตีปลี (*Piper retrofractum* Vahl)

สมพล คนเพียร¹, ณัฐนิชา จำปาแดง¹, อารดา วิวัฒน์เดชา², พีรดา กนกวลัย³, คณพศ ตั้งพูลผลวนิชย์⁴, กชเกล้า มหาแสน⁵, พิชชาพร ไกรชู⁶, วริษดา วรเดชานันท์กุล⁷, ศยามล สิทธิสาร^{1*}

Somphon Khonphain¹, Natnicha Jumpadang¹, Arada Viwatdecha², Peerada Kanokwalai³, Khanabhoj Tangpulpolwanit⁴, Kotchaklao Mahasean⁵, Pitchapon Kraichoo⁶, Waritrada Woradechananthakul⁷, Sayamon Sithtisarn^{1*}

¹สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐานและวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี 140 หมู่ 4 ต.บ้านกลาง อ.เมืองปทุมธานี จ.ปทุมธานี 12000

¹Division of Basic Sciences and Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, PathumThani University, 140 Moo 4, Tiwanon Road, Ban Klang, Mueang Pathum Thani, Pathum Thani 12000

¹โรงเรียนสามัคคีวิทยาคม 159 ถนนบรรพปราการ ต.เวียง อ.เมือง จ.เชียงราย 57000

²159 Banphaprakan Road, Wiang Sub-District, Muang, Chiang Rai 57000

¹โรงเรียนนานาชาติโครสเบอร์รี่ 1922 ถนนเจริญกรุง แขวงวัดพระยาไกร เขตบางคอแหลม กรุงเทพมหานคร 10120

³Shrewsbury International School, 1922 Charoen Krung Road, Wat Praya Krai, Bang Kholaem, Bangkok, 10120

¹โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ 123 หมู่ 16 ถนนมิตรภาพ ต.ในเมือง อ.เมืองขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

⁴Demonstration school of Khon Kaen University 123 Mittraphap Road, Nai Mueang, Mueang Khon Kaen, Khon Kaen 40002

¹โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม (ฝ่ายมัธยม) 41 หมู่ 20 ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

⁵Mahasarakham University Demonstration School (Secondary) 41 Moo 20, Kham Rieng, Kantharawichai, Maha Sarakham 44150

¹โรงเรียนอำมาตย์พานิชนุกูล 10 ถนนอุตรกิจ ต.ปากน้ำ อ.เมืองกระบี่ จ.กระบี่ 81000

⁶Ammatpanichnukul school 10 Krabi Road, Pak Nam, Mueang Krabi, Krabi 81000

¹โรงเรียนนานาชาติเอกมัย 57 เอกมัย 12 สุขุมวิท 63 แขวงคลองตันเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

⁷Ekamai International School 57 Ekkamai 12, Sukhumvit 63, Klongton Nua, Vadhana, Bangkok 10110

Article Info

Received 5 February 2025

Revised 28 June 2026

Accepted 29 June 2026

Abstract

At present, oral health problems such as dental caries and periodontitis remain significant occurrences that affect the quality of life of populations across all age groups. Despite the widespread use of synthetic antimicrobial agents in dentistry, their side effects and the disruption of the normal flora balance have led to an interest in studying medicinal plants as new alternatives. This research, therefore, focuses on *Piper retrofractum* Vahl, a medicinal plant with therapeutic properties, particularly its leaves, which still have limited studies on their biological activities. The study analyzed phytochemical content, antioxidant activity, and the ability to inhibit the normal flora bacterium, *Streptococcus salivarius*. The results showed that the Long Pepper leaf extract contained a total phenolic content of 17.667 ± 5.462 mgGAE/gDW and a total flavonoid content of

51.401±2.128 mgQE/gDW. It exhibited moderate antioxidant activity, with DPPH and ABTS scavenging percentages of 26.248±0.659 and 34.615±2.359, respectively. For the antibacterial activity test against the oral normal flora *Streptococcus salivarius* using the disc diffusion method, it was found that the extract had limited inhibitory activity, with an average inhibition zone diameter of 0.5 mm. The research findings suggest that Long Pepper leaf extract has the potential to be developed as an ingredient in oral care products due to its high flavonoid content and antimicrobial activity that does not excessively disrupt the balance of oral normal flora, which is beneficial for the sustainable maintenance of the oral ecosystem.

Keywords: *Piper retrofractum* Vahl, Antioxidants, *Streptococcus salivarius*, Oral health

บทคัดย่อ

ปัจจุบันปัญหาโรคในช่องปาก เช่น โรคฟันผุและโรคปริทันต์อักเสบ ยังคงเป็นอุบัติการณ์สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของประชากรในทุกช่วงวัย แม้จะมีสารต้านจุลชีพสังเคราะห์ที่ใช้ในทางทันตกรรมอย่างแพร่หลาย แต่ผลข้างเคียงและการทำลายสมดุลของจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal Flora) นำไปสู่ความสนใจในการศึกษาพืชสมุนไพรเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาตีป्ली (*Piper retrofractum* Vahl) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา โดยเฉพาะในส่วนใบ ที่ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างจำกัด โดยวิเคราะห์ปริมาณสารฟลักเคมิ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียประจำถิ่นอย่าง *Streptococcus salivarius* ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดใบตีป्लीมีปริมาณฟีนอลิกรวม คือ 17.667±5.462 mgGAE/gDW และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม คือ 51.401±2.128 mgQE/gDW และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง โดยมีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS คือ 26.248±0.659 และ 34.615±2.359 ตามลำดับ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียประจำถิ่นในช่องปาก *Streptococcus salivarius* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจำกัด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.5 มิลลิเมตร ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากใบตีป्लीมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพช่องปาก เนื่องจากมีสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์สูงและมีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ไม่ทำลายสมดุลของเชื้อประจำถิ่นในช่องปากมากเกินไป ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการรักษาสมดุลของระบบนิเวศในช่องปาก

คำสำคัญ: ใบตีป्ली, สารต้านอนุมูลอิสระ, *Streptococcus salivarius*, สุขภาพช่องปาก

1. บทนำ

สุขภาพช่องปากเป็นองค์ประกอบสำคัญของคุณภาพชีวิต (Oral Health-related Quality of Life) ที่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อทั้งสุขภาพกาย จิตใจ และการเข้าสังคม [1] อย่างไรก็ตาม สถานการณ์สุขภาพช่องปากในประเทศไทยปัจจุบันยังคงเป็นประเด็นที่น่ากังวล จากรายงานการประชุมวิชาการทันตสาธารณสุขแห่งชาติ ครั้งที่ 9 (พ.ศ. 2566) พบว่าเด็กช่วงอายุ 3-5 ปี กว่าร้อยละ 75.6 มีประสบการณ์ฟันน้ำนมผุ ในขณะที่กลุ่มวัยทำงานอายุ 35-44 ปี มีปัญหาภาวะปริทันต์ที่พบการอักเสบของเหงือกร้อยละ 51.0 และในกลุ่มผู้สูงอายุ 60-70 ปี พบผู้ที่มีฟันผุที่ยังไม่ได้รับการรักษาสูงถึงร้อยละ 52.6 รวมถึงภาวะปริทันต์อักเสบรุนแรงร้อยละ 12.2 [1-3]

ช่องปากประกอบด้วยระบบนิเวศที่มีความซับซ้อน (Oral Microbiome) ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ในสภาวะสมดุลจุลินทรีย์เหล่านี้จะช่วยรักษาภาวะปกติในช่องปาก แต่หากเกิดความไม่สมดุลจากการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียบางชนิดมากเกินไป จะนำไปสู่ปัญหาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ และโรคปริทันต์

อักเสบ นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดยังส่งผลให้เกิดภาวะกลิ่นปากอีกด้วย [4] โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียสายพันธุ์ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการก่อตัวของคราบจุลินทรีย์และกรดที่ทำลายเคลือบฟัน [5]

จากการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากธรรมชาติและสมุนไพรไทย พบว่ามีพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคและบรรเทาการอักเสบในช่องปากได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ฝรั่ง [4] ว่านหางจระเข้ [6] ใบบัวบก [7] และ ฟ้ายาหลายใจ [8] ที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมี ข่อย [9] ชุมเห็ดเทศ [10] กระชาย [11] มะขามป้อม [12] และ ยูคาลิปตัส ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่ทำให้เกิดโรคฟันผุได้ [12] สำหรับการลดอาการอักเสบของเหงือกและเนื้อเยื่อ พบว่าสารสกัดจาก ผักคราดหัวแหวน [13] ตะไคร้ และข่อย [14] มีฤทธิ์โดดเด่นในการต้านการอักเสบที่เป็นสาเหตุของโรคปริทันต์ รวมถึงการค้นพบใหม่เกี่ยวกับ มะกอกป่า ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากเช่นกัน

นอกเหนือจากสมุนไพรข้างต้นที่กล่าวมา ตีบลิ (*Piper chaba* Hunter หรือ *Piper retrofractum* Vahl) และพืชในตระกูลใกล้เคียงอย่างชะพลู (*Piper sarmentosum*) เป็นพืชสมุนไพรที่น่าสนใจและมีการนำมาสกัดวิจัยอย่างกว้างขวางในระยะหลัง โดยเฉพาะส่วนของใบ ตีบลิ ซึ่งพบว่ามีสารประกอบทุติยภูมิในกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloids) เช่น ไพเพอรีน (Piperine) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่โดดเด่น [15]

สารสกัดจากใบตีบลิมีกลไกสำคัญในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ โดยเฉพาะการออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคฟันผุ และเชื้อในกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ [16] นอกจากนี้ฤทธิ์ในการต้านจุลชีพแล้ว สารสกัดจากใบตีบลิยังมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) โดยสามารถยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบ (Inflammatory cytokines) ซึ่งช่วยลดความรุนแรงของสภาวะเหงือกอักเสบได้ดี [17]

ด้วยเหตุนี้ การพัฒนาสารสกัดจากใบตีบลิเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพช่องปาก เช่น น้ำยาบ้วนปากหรือยาสีฟัน จึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการนำภูมิปัญญาไทยมาประยุกต์ใช้เพื่อลดปัญหาทางทันตสาธารณสุขอย่างยั่งยืน แทนการพึ่งพาสารเคมีสังเคราะห์เพียงอย่างเดียว [18]

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การสกัดสารสำคัญจากใบตีบลิ [19]

คัดเลือกใบตีบลิสด นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นเพื่อขจัดสิ่งปนเปื้อน จากนั้นนำไปผึ่งลมให้แห้งในที่ร่ม แล้วจึงนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48–72 ชั่วโมง จนใบตีบลิแห้งสนิท จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้าจนมีลักษณะเป็นผงละเอียด นำผงใบตีบลิ 10 กรัม ไปแช่ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน โดยมีการกวนผสมเป็นระยะ หลังจากนั้นกรองแยกส่วนสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) จนได้สารสกัดหยาบใบตีบลิที่มีความเข้มข้น เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

2.2 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม [20]

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยวิธี folin-ciocalteu colorimetric โดยเตรียมสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารละลาย

มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.008 - 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายสารสกัดใบตีบลิ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย เติมสารละลายกรดแกลลิกและสารละลายสารสกัดใบตีบลิ 10 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลต 96 หลุม เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ร้อยละ 10 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ร้อยละ 10 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ 30 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ จากนั้นนำไปหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบตีบลิโดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

2.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม [21]

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมโดยวิธี aluminium chloride colorimetric โดยเตรียมสารละลายเคอควิทิน (quercetin) ที่ความเข้มข้น 0.008 - 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน และสารละลายสารสกัดใบตีบลิความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย เติมสารละลายมาตรฐานเคอควิทินและสารละลายสารสกัดใบตีบลิ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลต 96 หลุม เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ร้อยละ 10 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ร้อยละ 10 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ คำนวณหาค่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบตีบลิโดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอควิทิน

2.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH [22]

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH เตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายสารสกัดใบตีบลิความเข้มข้น 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอลร้อยละ 95 เติมสารละลายกรดแอสคอร์บิกและสารละลายสารสกัดใบตีบลิ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลต 96 หลุม เติมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.05 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ 30 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง และ

นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ จากสูตร

$$\text{scavenging effects (\%)} = \frac{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Sample}})}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$$

เมื่อ A_{DPPH} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{Sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และสารสกัดใบตติปลีหรือสารมาตรฐาน

2.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS [23]

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS เตรียมสารละลาย ABTS radical โดยใช้สารละลาย ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) 7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) 140 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 176 ไมโครลิตร เก็บไว้ในที่มืด 12-16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง แล้วเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ (trolox) ความเข้มข้น 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายสารสกัดใบตติปลี 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอลร้อยละ 95 เติมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์และสารละลายสารสกัดใบตติปลี ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลต 96 หลุม แล้วเติมสารละลาย ABTS radical ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ จากสูตร

$$\text{scavenging effects (\%)} = \frac{(A_{\text{ABTS}} - A_{\text{Sample}})}{A_{\text{ABTS}}} \times 100$$

เมื่อ A_{ABTS} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS radical

A_{Sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS radical และสารสกัดใบตติปลีหรือสารมาตรฐาน

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus salivarius* [24]

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus salivarius* โดยวิธี disc diffusion assay โดยนำสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus salivarius* แล้วนำไปเขียนบนอาหารแข็ง Mueller-Hinton agar (MHA) ที่เตรียมไว้ วางแผ่น paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นหยดสารสกัดใบตติปลีและยา Chlorhexidine ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร ตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) หรือวงใส (clear zone) โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดจะถูกระบุในรูปของ Mean and Standard Deviation (mean $\pm$ SD) โดยทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง และคำนวณเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel

3.ผลการวิจัย

3.1 การทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบตติปลี

จากการศึกษาการหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบตติปลีโดยใช้สารละลายกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่า กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก มีสมการเส้นตรง คือ $y = 1.596x + 0.091$ ($R^2 = 0.984$) และเมื่อคำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบตติปลีจากกราฟมาตรฐาน สารสกัดใบตติปลีมีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย 17.667 ± 5.462 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง (mgGAE/gDW) (ตารางที่ 1) และการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบตติปลีโดยใช้สารละลายเคอควิซิทินเป็นมาตรฐาน พบว่า กราฟของสารละลายเคอควิซิทิน มีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.301x + 0.081$ ($R^2 = 0.993$) และเมื่อคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบตติปลีจากกราฟมาตรฐาน สารสกัดใบตติปลีมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ย 51.401 ± 2.128 มิลลิกรัมเคอควิซิทินต่อกรัม น้ำหนักแห้ง (mgQE/gDW) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบตติปลี

สารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/gDW)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/gDW)
ใบตติปลี	17.667 ± 5.462	51.401 ± 2.128

3.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activities)

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบตติปลีเปรียบเทียบกับสารตัวอย่างควบคุมเชิงบวก พบว่าที่ความเข้มข้น 1.000 mg/ml สารละลายกรดแอสคอร์บิก (วิธี DPPH) มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 83.409 ± 1.139 และสารละลายโทรลอกซ์ (วิธี ABTS) มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ $90.775 \pm$

1.142 ในขณะที่สารสกัดจากใบตติปลีแสดงค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง โดยมีค่าเท่ากับ 26.248 ± 0.659 (วิธี DPPH) และ 34.615 ± 2.359 (วิธี ABTS) (ตารางที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดมีประสิทธิภาพในการช่วยลดอนุมูลอิสระที่อาจเกิดขึ้นในสภาวะแวดล้อมภายในช่องปาก

ตารางที่ 2 แสดงค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (Inhibition Percentage) ของสารสกัดใบตติปลีและสารมาตรฐาน

วิธีการทดสอบ	สารสกัดใบตติปลี (ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ)	สารมาตรฐาน (ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ)
DPPH Assay	26.248 ± 0.659	83.409 ± 1.139 (กรดแอสคอร์บิก)
ABTS Assay	34.615 ± 2.359	90.775 ± 1.142 (ไทโรลออกซ์)

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus salivarius*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบตติปลีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในช่องปาก โดยใช้วิธี Disc Diffusion Assay พบว่าสารสกัดแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ในระดับที่จำกัด ดังนี้ สารสกัดจากใบตติปลี พบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition Zone) เฉลี่ยเท่ากับ 0.50 ± 0.30 มิลลิเมตร ส่วนยา Chlorhexidine แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อเป็นวงใสอย่างชัดเจน โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 11.41 ± 1.19 มิลลิเมตร จากการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากใบตติปลีที่มีความเข้มข้นที่นำมาทดสอบมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus salivarius* เพียงเล็กน้อย ซึ่งในทางทันตแพทยศาสตร์อาจถือเป็นข้อดีในแง่ของการไม่ทำลายสมดุลของเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) ที่มีประโยชน์ในช่องปากมากเกินไป เมื่อเทียบกับสารเคมีสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์กว้าง (Broad-spectrum) ซึ่งมักทำลายแบคทีเรียทุกชนิดในช่องปาก

4. วิจัยารณ์ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดใบตติปลีมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมทั้งค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในพืชตระกูลพริกไทย (Piperaceae) ที่มักพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และอัลคาลอยด์ในปริมาณมาก สารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียและยับยั้งการเกาะกลุ่มของจุลินทรีย์ในช่องปาก [25]

อย่างไรก็ตาม ปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในระดับปานกลางอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ ABTS) อยู่ในระดับร้อยละ 26.248 ± 0.659 และ 34.615 ± 2.359 ตามลำดับ เนื่องจากการต้านอนุมูลอิสระในพืชส่วนใหญ่มักมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก [26]

สาเหตุที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบตติปลีไม่สูงเท่าสารมาตรฐาน อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารสกัดหยาบ (Crude extract) ที่ยังมีสารอื่นๆ ปะปนอยู่ หรือโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญในใบตติปลีอาจมีความจำเพาะเจาะจงต่อการยับยั้งจุลินทรีย์มากกว่าให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระโดยตรง [27] แต่ในด้านของสุขภาพช่องปาก การที่สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระควบคู่ไปกับสารฟลาโวนอยด์ จะช่วยลดสภาวะ oxidative stress ในเนื้อเยื่อเหงือก ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยชะลอการอักเสบของโรคปริทันต์และช่วยรักษาสมดุลของเชื้อประจำถิ่นอย่าง *Streptococcus salivarius* ไม่ให้ถูกทำลายจากการอักเสบที่รุนแรงเกินไป [28]

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus salivarius* พบว่าสารสกัดใบตติปลีให้ค่า Inhibition Zone เพียง 0.50 ± 0.30 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ระบุว่า สารสกัดกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากพืชตระกูล Piper มักแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ แต่ประสิทธิภาพจะแปรผันตามความเข้มข้นของสารสำคัญ [29] การที่บริเวณการยับยั้งมีขนาดเล็กอาจเนื่องมาจากสารสกัดหยาบมีความสามารถในการแพร่ (Diffusion) ผ่านชั้นวันอาหารเลี้ยงเชื้อได้จำกัด หรือความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์หลัก เช่น ไพเพอริน (Piperine) ในส่วนของใบมีปริมาณไม่สูงเท่าส่วนของผล อย่างไรก็ตาม การที่สารสกัดไม่ทำลายเชื้อ *Streptococcus salivarius* อย่างรุนแรง ถือเป็นประเด็นที่น่าสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากที่ช่วยรักษาสภาวะสมดุลของจุลินทรีย์ในช่องปาก เพื่อป้องกันการติดเชื้อฉวยโอกาสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น [30]

5. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบตติปลี พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (51.401 ± 2.128 mgQE/gDW) สูงกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (17.667 ± 5.462 mgGAE/gDW) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มสารสำคัญหลักในใบตติปลี ในด้านการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1.000 mg/ml สารสกัดใบตติปลีแสดง

ประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 26.248 ± 0.659 และ 34.615 ± 2.359 ในวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารมาตรฐาน (กรดแอสคอร์บิกและโธรลอกซ์) แต่จากผลการทดลองการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus salivarius* ยืนยันได้ว่าสารสกัดใบตติปลีอาจะมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารจากธรรมชาติเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์สำหรับช่องปากได้

เอกสารอ้างอิง

1. กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย, รายงานผลการประชุมวิชาการทันตสาธารณสุขแห่งชาติ ครั้งที่ 9, นนทบุรี: กระทรวงสาธารณสุข; 2566.
2. สำนักทันตสาธารณสุข. รายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากระดับประเทศ ครั้งที่ 8. นนทบุรี: กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข; 2560.
3. Petersen PE, Ogawa H. The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontol* 2000. 2012;60(1):15-39.
4. ชูพงศ์ สิริไพศาล. การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรต่อแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก, วารสารทันตแพทยศาสตร์. 2560;67(2):124-135.
5. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health*. 2006.
6. Mangaiyarkarasi R, et al. Efficacy of Aloe vera mouthwash on dental plaque and gingivitis. *J Clin Exp Dent*. 2015;7(3):e380-4.
7. Gupta R, Flora SJ. Effect of *Centella asiatica* on free radical mediated oxidative stress. *Chem Biol Interact*. 2005.
8. สมศักดิ์ นวลแก้ว. สมุนไพรที่ใช้ในงานทันตกรรม. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน. 2555;8(1):1-12.
9. Taweekaisupapong S, et al. In vitro inhibitory effect of *Streptococcus asper* leaf extract on adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. *J Ethnopharmacol*. 2005.
10. จุไรรัตน์ เกิดทอง. ฤทธิ์ทางชีวภาพของชุมเห็ดเทศต่อเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปาก. รายงานการวิจัย; 2562.
11. พิชราภรณ์ เทพกาญจนา. กระจายกับการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans*. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2564.
12. Hasan S, et al. Anticariogenic potentials of *Acacia nilotica*, *Ocimum sanctum* and *Emblica officinalis*. *Afr J Microbiol Res*. 2011.
13. ประคอง ปรงศิลป์. การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดผักคราดหัวแหวน. วารสารวิจัยสมุนไพร. 2563.
14. Wannissorn B, et al. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*. 2005.
15. ญัฐกานต์ วงศ์ณศิริ และคณะ. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบพิชวงค์พริกไทย. วารสารสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. 2565;5(2):45-58.
16. Salaheen S, et al. Antibacterial and anti-biofilm activities of *Piper sarmentosum* extracts against oral pathogens. *Journal of Herbal Medicine*. 2018;11:23-29.
17. Mohamad NS, et al. Anti-inflammatory potential of *Piper sarmentosum* in human gingival fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;250:112462.
18. ศิริพร กลิ่นมาลี. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรตระกูล *Piper* ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคฟันผุ. วารสารทันตแพทยศาสตร์และเทคโนโลยีสุขภาพ. 2566;4(1):12-25.
19. สมชาย สันติวัฒนกุล. เทคนิคการสกัดและวิเคราะห์สารพฤกษเคมีจากพืชสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัย; 2565.
20. สุรศักดิ์ ละลี. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2561;26(5):854-866.
21. CHANG, Chia-Chi, et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 2002;10(3):178-182.

22. Brand-Williams, et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology 1995;28.1:25-30.
23. Re Roberta, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine, 1999;26.9-10:1231-1237.
24. Ibrahim MA, Sazalli NA, Zakaria NH, Adibah F. Antibacterial activity of *Piper sarmentosum* (Roxb.) aqueous extract against pathogenic bacteria. Revelation and Science. 2024;1(2):45-52.
25. Salehi B, et al. The Genus Piper: A Comprehensive Review on Ethnomedicine, Phytochemistry, and Biological Activities. Molecules. 2019;24(7):1364.
26. Aryal S, et al. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. Plants (Basel). 2019;8(4):96.
27. Mgbeahuruike EE, et al. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Extracts from Selected Piper Species. Plants. 2021;10(10):2141.
28. Zhang Y, et al. The Role of Oral Microbiota and Antioxidants in Periodontal Health: A Current Review. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(2):1102.
29. Mgbeahuruike EE, et al. Antibacterial activities of essential oils and extracts from selected *Piper* species. Antibiotics. 2022;11(1):12.
30. Radaic A, Kapila YL. The oral microbiome and salivary biomarkers: a strategy for personalized dental management. Periodontology 2000. 2021;85(1):15-34.