



ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอุจจาระร่วงบางชนิดของสารสกัดพื้กัตตรีสมอด้วยเอทานอล

Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Trisamo Against Diarrheal Pathogen

อัสมา ออแซ¹, ภูวดล มีมาก¹, เบญจวรรณ พูนธนาณิวัฒน์กุล¹, โรสนานี เหมตระกูลวงศ์¹, ซูฮัยลา สะมะแอ¹
Asma Asae¹, Puwadol Meemak¹, Benjawan Poonthananiwatkul¹, Rosenanee Hemtragoonwong¹, Suhaila Sama-ae¹

(Received: May 27, 2019; Revised: June 28, 2019; Accepted: July 15, 2019)

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคอุจจาระร่วงบางชนิด ได้แก่เชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดพื้กัตตรีสมอด้วยเอทานอล ซึ่งประกอบด้วย สมอไทย สมอเทศและสมอพิเภก ด้วยวิธี Agar disc diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ด้วยวิธี Broth macrodilution โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย ผลการศึกษาพบว่า ร้อยละปริมาณสารสกัดที่ได้จากพื้กัตตรีสมอ เท่ากับ 19.09 มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. โดยมีค่า Inhibition zone เฉลี่ยเท่ากับ 9.34 ± 0.58 และ 9.00 ± 0.00 มิลลิเมตร มีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. เท่ากับ 256 และ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด มากกว่า 1024 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดพื้กัตตรีสมอกับยามาตรฐานพบว่า ยามาตรฐานมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 64 เท่าของสารสกัดพื้กัตตรีสมอ

คำสำคัญ: ตรีสมอ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โรคอุจจาระร่วง

Abstract

The objective of this research was to study the antibacterial activities of ethanolic extract of Trisamo against diarrhea caused by bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella* spp.). Trisamo extract, including Terminalia chebula Retz., Terminalia arjuna Roxb. and Terminalia bellirica (Gaertn.) Roxb., were tested on their antimicrobial activities, by using agar disc diffusion method for evaluating Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Rapid broth macrodilution method was applied. Three experiments were performed for each test to get an average. Results of this study showed that percentage of crude ethanolic extract was 19.09. The average of inhibition zone for *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Salmonella* spp. from Trisamo extract were at 9.34 ± 0.58 mm. and 9.00 ± 0.00 mm, respectively. MIC for *E. coli* and *Salmonella* spp. were at 256 μ g/ml and 512 μ g/ml and MBC > 1024 μ g/ml, respectively. The comparison between Trisamo extract and a standard drug, norfloxacin, found that the standard drug had the MBC that could kill 16 micrograms per milliliter, equivalent to 64 times the effects of Trisamo.

Keywords: Trisamo, Antibacterial Activity, Diarrhea

¹ วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดยะลา

¹ Sirindhorn College of Public Health, Yala

บทนำ

สถานการณ์โรคอุจจาระร่วงของประเทศไทย ในปี 2558 พบว่ามีผู้ป่วยเป็นอหิวาตกโรค (Cholera) จำนวน 125 ราย คิดเป็นอัตราป่วย 0.19 ต่อประชากรแสนคน พบผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน (Acute diarrhea) จำนวน 1,111,959 ราย คิดเป็นอัตราป่วย 1,854.21 ต่อประชากรแสนคน เสียชีวิตจำนวน 3 ราย พบผู้ป่วยโรคบิด (Dysentery) จำนวน 7,052 ราย คิดเป็นอัตราป่วย 10.78 ต่อประชากรแสนคน เป็นชนิด *Bacillus* จำนวน 2,621 ราย เสียชีวิต 1 ราย (Bureau of Epidemiology, 2016)

โรคอุจจาระร่วง (Diarrhoeal diseases) หมายถึง การถ่ายอุจจาระที่ถี่กว่าเดิม ลักษณะเหลวหรือเป็นน้ำมากกว่า 3 ครั้งต่อวัน หรือมีการถ่ายอุจจาระที่มีเลือดปนอย่างน้อย 1 ครั้งต่อวัน และหากมีการถ่ายอุจจาระในลักษณะดังกล่าวนานเกิน 4 สัปดาห์ ถือว่าเป็นโรคอุจจาระร่วงแบบเรื้อรัง ทั้งนี้การถ่ายอุจจาระบ่อยครั้งแต่อุจจาระเป็นปกติไม่ถือว่าเป็นโรคอุจจาระร่วง สาเหตุของการเกิดโรคอุจจาระร่วงมีหลายสาเหตุ แต่สาเหตุส่วนหนึ่งเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Vibrio*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Shigella* และ *Salmonella* เป็นต้น โดยอาการอุจจาระร่วงมีลักษณะเด่นคือ การถ่ายเป็นน้ำใสหรือเหมือนน้ำข้าวขาว ถ่ายบ่อยและมีปริมาณมากจนทำให้เกิดภาวะขาดน้ำรุนแรงหรือเกิดภาวะช็อกได้ มักไม่มียาและอาจคลื่นไส้อาเจียนเพียงเล็กน้อย มักเกิดจากเชื้อ *Vibrio cholerae* ซึ่งก่อให้เกิดอหิวาตกโรค (Natha, Prayongrat, Srisaet & Prayoonwivat, 2015)

การรักษาโรคอุจจาระร่วงในอดีตนั้น จะใช้สมุนไพรซึ่งเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่อยู่คู่กับมนุษยมาช้านาน โดยการจดจำถ่ายทอดสืบต่อกันมาจนเกิดเป็นตำรายาจนถึงปัจจุบัน สมุนไพรหรือตำรายาที่ใช้ในการรักษาโรคอุจจาระร่วงนั้นมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น ลูกเบญจกัญชี่ ลูกกรวย เปลือกมังคุด ลูกสมอพิเภกแก่ เปลือกขี้เฒ่า พักตร์พิริจักร พักตร์พิริหารทิพย์ เป็นต้น แต่ในปัจจุบันความนิยมในการใช้สมุนไพรได้ลดน้อยลงไปอย่างมาก เนื่องจากการพัฒนาของเภสัชกรรมแผนปัจจุบันที่เข้ามามีบทบาทอย่างมากอีกทั้งยังมีความน่าเชื่อถือความรวดเร็วในการบรรเทาอาการและการรักษาโรค จนกระทั่งผู้บริโภคได้ตระหนักถึงอันตรายจากผลข้างเคียงและเกิดการซื้อขายของเชื้อจุลินทรีย์ต่อยาปฏิชีวนะมากขึ้น ทำให้สมุนไพรเป็นที่สนใจและมีความสำคัญขึ้นอีกครั้งหนึ่ง (Intranupakorn, 2007). อีกทั้งในร่างแผนพัฒนาสุขภาพแห่งชาติ ฉบับที่ 12 (พ.ศ. 2560 - 2564) ที่ส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการวิจัยสมุนไพรไทยอย่างครบวงจร เพื่อพัฒนาและสร้างความเข้มแข็งในการอภิบาลระบบสุขภาพ (Board of committee of the strategic development plan for the national health no. 12, 2016)

พิกัดตรีสมอได้ปรากฏอยู่ในตำราแพทย์แผนโบราณ สาขาเภสัชกรรมไทย มีสรรพคุณ แก่เสมหะ แก้ไข้ บำรุงธาตุ ผายธาตุ ระบายอุจจาระ ประกอบด้วยสมุนไพร 3 ชนิด คือ ลูกสมอไทย ลูกสมอเทศ และลูกสมอพิเภก (Art of healing, 1998) และมีรายงานวสารสกัดจากผลสมอไทย สมอเทศและสมอพิเภก มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์หลายชนิด สารสกัดจากผลสมอไทยและสมอพิเภกที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. sonnei*, *S. flexneri*, *V. cholerae*, *E. coli* และ *E. faecalis* (Amanullah, Chandramoorthy, Kumar & Khatheer, 2010) เช่นเดียวกับ ปิยนุช พรหมภรณ์ และณภัสน์ ราชรินทร์ (Prompamom & Ratcharin, 2016) ได้กล่าวว่า สารสกัดผลสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* เช่นเดียวกับ Murad, et al. (2011) ได้รายงานว สารสกัดจากเปลือกสมอเทศมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V. cholerae* ได้

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษา ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงบางชนิดของสารสกัดพิกัดตรีสมอ ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้กระบวนการสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) เพื่อนำผลการศึกษามาใช้ประโยชน์ในการดูแลรักษาสุขภาพ และส่งเสริมการใช้สมุนไพรให้มากยิ่งขึ้น เพื่อให้สอดคล้องกับแผนพัฒนาสุขภาพแห่งชาติ ฉบับที่ 12 ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับประชาชนคนไทยและผู้สนใจ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดพิกัดตรีสมอด้วยเอทานอลต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคอุจจาระร่วงบางชนิด



ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมสารสกัด

สมุนไพรรักคุดที่นำมาใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผลของสมอไทย สมอพิเภก และสมอเทศ นำมาบดให้ละเอียด ร่อนด้วยแรงเบอร์ 40 แล้วนำมาสกัดสาร โดยการหมักด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมากรอง ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ มาทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยการระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนักเพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (% Yield)

$$(\% \text{ Yield}) = \frac{\text{น้ำหนักของสมุนไพรรักคุดจากการสกัด}}{\text{น้ำหนักของสมุนไพรรักคุดที่ใช้ในการสกัด}} \times 100$$

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดพิกัดตรีสมอและยามาตรฐาน Norfloxacin โดยใช้วิธี Agar disc diffusion

เตรียมแผ่นยาต้านจุลชีพ โดยสารสกัดพิกัดตรีสมอบรรจุขนาด 3 มิลลิกรัมต่อแผ่น แผ่นควบคุมเชิงบวก (Positive control) ใช้ยา Norfloxacin บรรจุขนาด 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น และแผ่นควบคุมเชิงลบ (Negative control) ใช้ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร Nutrient Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นเชื้อให้ได้ 1.5×10^8 CFU/ml โดยเทียบความขุ่นกับ McFarland Standard No. 0.5 นำเชื้อแบคทีเรียป้าย (swab) ลงบนอาหาร NA แล้วนำแผ่นยาต้านจุลชีพของสารสกัดพิกัดตรีสมอ ยา Norfloxacin และ DMSO วางบนอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการทดสอบโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ แบคทีเรีย (MBC) ของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ด้วยวิธี Broth Macrodilution

เจือจางสารสกัดให้ได้ 13 ความเข้มข้น ได้แก่ 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 และ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เติมน้ำเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองทุกหลอดในปริมาณที่เท่ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) สังเกตหลอดทดลองที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดและไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น จากนั้นนำสารละลายแต่ละหลอดไปกลั้ว (Spread) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ผลการวิจัย

ผลการสกัดสารจากพิกัดตรีสมอด้วยเอทานอล

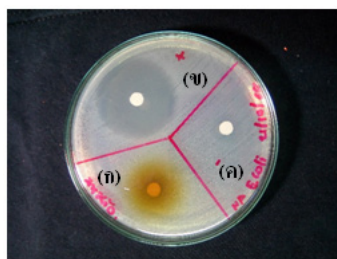
ผลการสกัดสารจากพิกัดตรีสมอด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ทำโดยการหมักผงของผลสมอไทย สมอเทศ สมอพิเภก รวมกัน เป็นเวลา 7 วัน ได้ปริมาณสารสกัดหยาบ (% Yield) ร้อยละ 19.09

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัดตรีสมอ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

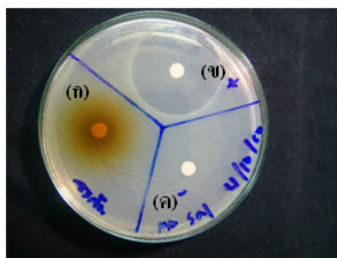
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัดตรีสมอ โดยทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* (*E. coli*) และ *Salmonella* spp. ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่า Inhibition zone ต่อเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดพิกัดตรีสมอ มีค่าเท่ากับ 9.34 ± 0.58 และ 9.00 ± 0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1 - 2

ตารางที่ 1 ค่า Inhibition zone ของสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม

สารที่ใช้ทดสอบ	เชื้อแบคทีเรีย	ค่า Inhibition Zone (มิลลิเมตร)			
		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	Mean $\pm$ S.D.
สารสกัดพืชที่สกัด	<i>E. coli</i>	9.00	10.00	9.00	9.34 $\pm$ 0.58
	<i>Salmonella spp.</i>	9.00	9.00	9.00	9.00 $\pm$ 0.00
Norfloxacin	<i>E. coli</i>	34.00	35.00	34.00	34.34 $\pm$ 0.58
	<i>Salmonella spp.</i>	35.00	34.00	35.00	34.67 $\pm$ 0.58
DMSO	<i>E. coli</i>	6.00	6.00	6.00	6.00 $\pm$ 0.00
	<i>Salmonella spp.</i>	6.00	6.00	6.00	6.00 $\pm$ 0.00



ภาพที่ 1 ค่า Inhibition zone บนเชื้อ *E. coli* (ก) สารสกัดพืชที่สกัด (ข) ยา Norfloxacin (ค) DMSO



ภาพที่ 2 ค่า Inhibition zone บนเชื้อ *Salmonella spp.* (ก) สารสกัดพืชที่สกัด (ข) ยา Norfloxacin (ค) DMSO

ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ด้วยวิธี Broth Macrodilution

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสารสกัดพืชที่สกัดต่อเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella spp.* มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 256 ± 0.00 และ 512 ± 0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ยา Norfloxacin ที่ความเข้มข้น 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella spp.* ได้ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดพืชที่สกัดต่อเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella spp.* มีค่ามากกว่า 1024 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยา Norfloxacin ที่ความเข้มข้น 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella spp.* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 2 - 3 และภาพที่ 3 - 4

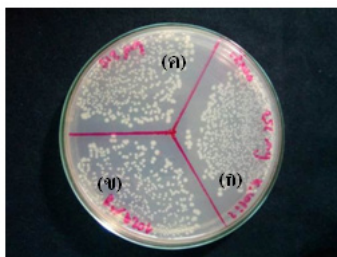


ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) *E. coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดพืชกระทิงตรีสมอและยามาตรฐาน

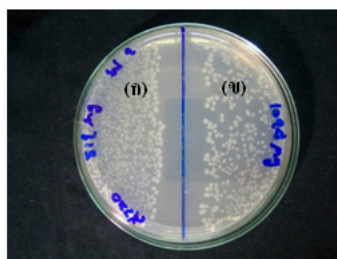
สารที่ใช้ทดสอบ	เชื้อแบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)			
		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	Mean $\pm$ S.D.
สารสกัดพืชกระทิงตรีสมอ	<i>E. coli</i>	256	256	256	256 $\pm$ 0.00
	<i>Salmonella</i> spp.	512	512	512	512 $\pm$ 0.00
Norfloxacin 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร	<i>E. coli</i>	16	16	16	16 $\pm$ 0.00
	<i>Salmonella</i> spp.	16	16	16	16 $\pm$ 0.00

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดพืชกระทิงตรีสมอและยามาตรฐาน

สารที่ใช้ทดสอบ	เชื้อแบคทีเรีย	ค่า MBC (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)		
		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3
สารสกัดพืชกระทิงตรีสมอ	<i>E. coli</i>	> 1024	> 1024	> 1024
	<i>Salmonella</i> spp.	> 1024	> 1024	> 1024
Norfloxacin 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร	<i>E. coli</i>	16	16	16
	<i>Salmonella</i> spp.	16	16	16



ภาพที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อของสารสกัดหยาบพืชกระทิงตรีสมอต่อเชื้อ *E. coli*
(ก) 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (ข) 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (ค) 1024 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร



ภาพที่ 4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อของสารสกัดหยาบพืชกระทิงตรีสมอต่อเชื้อ *Salmonella* spp.
(ก) 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (ข) 1024 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

อภิปรายผล

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคอุจจาระร่วงบางต่อเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดพิกัดตรีสมอ (สมอไทย สมอเทศ สมอพิเภก) ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 พบว่ามีปริมาณสารสกัดหยาบ (% Yield) ร้อยละ 19.09 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของปิยนุช พรหมภมร และณัฏสร ราชรินทร์ (Prompamorn & Ratcharin, 2016) ได้เตรียมสารสกัดหยาบจากสมอไทย โดยการนำผลสมอไทยบดให้เป็นผงละเอียด ทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 ด้วยวิธีการหมัก จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองแล้วระเหยตัวทำละลายออก ซึ่งได้ร้อยละปริมาณสารสกัดที่ได้ เท่ากับ 14.124 สอดคล้องกับการศึกษาของ Kannan, Ramadevi & Hopper (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทางคลินิกทั่วไปที่สำคัญของสารสกัดจากสมอไทย โดยทำการสกัดสารด้วยเอทานอล หมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ได้ร้อยละปริมาณสารสกัดที่ได้ เท่ากับ 1.09 และสอดคล้องกับการศึกษาของ Amanullah, et al., (2010) พบว่าได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ของพิกัดตรีผลา โดยมีส่วนประกอบคือ สมอไทย สมอพิเภก และมะขามป้อม โดยการนำผลพืชตัวอย่างบดเป็นผง แล้วทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 แล้วนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ได้ร้อยละปริมาณสารสกัดที่ได้ เท่ากับ 14 โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการระเหยสารสกัดด้วยวิธีการระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งได้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 19.09 การศึกษาของปิยนุช พรหมภมร และณัฏสร ราชรินทร์ (Prompamorn & Ratcharin, 2016) ได้ศึกษาสารสกัดจากสมอไทยด้วยเอทานอล ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ และ Amanullah, et al., (2010) พบว่าสารสกัดจากสมอไทยด้วยน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *E. coli* ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. Paratyphi* - B ได้ และ Kannan et al. (2009) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากสมอด้วยเอทานอลไทยมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. typhi* ได้ Aneja, Sharma & Joshi. (2012) พบว่า สารสกัดจากสมอเทศที่ทำการสกัดด้วย เมทานอล เอทานอล อะซิโตน มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *E. coli* ได้ Murad, et al. (2011) พบว่าสารสกัดจากสมอด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V. Cholera* ได้ การศึกษาของ Morshed et al. (2011) พบว่าสารสกัดเปลือกต้นด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *S. typhi* และ *S. paratyphi* ได้ การศึกษาของ Devi, Kaleeswari & Poonkothai. (2014) พบว่า สารสกัดจากผลสมอพิเภกด้วยอีเทอร์ น้ำ และคลอโรฟอร์ม มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. typhi* ได้และพบสารกลุ่ม Alkaloids, Flavonoid, Phenols และ Tannins Debnath, Dey, Hazra, Ghosh, Ray, & Hazra (2013) พบว่า สารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเมทานอลของสมอพิเภกมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้อย่างได้หลายชนิด และพบสารจำพวก Phenolic ปริมาณสูงที่สุด แต่สารสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย Chanda, Menpara, & Desai (2013) พบว่าสารสกัดจากใบและสเต็มของสมอพิเภกสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhimurium* ได้ แต่สารสกัดจาก Hexane ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาด้านแบคทีเรียที่ก่อโรคอุจจาระร่วงบางชนิด ของสารสกัดพิกัดตรีสมอ ด้วยวิธีการ Agar disc diffusion โดยการนำสารสกัดพิกัดตรีสมอบรรจุลงในแผ่นกระดาษ ขนาด 6 มิลลิเมตร แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chanda, Menpara & Desai (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของใบและสเต็มของสมอพิเภกจากแหล่งที่ต่างกัน 2 แหล่ง โดยใช้วิธี Agar disc diffusion สอดคล้องกับการศึกษาของ Kannan et al. (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อของสารสกัดจากเปลือกต้นสมอเทศ (*Terminalia arjuna* Roxb.) ต่อเชื้อ *Vibrio cholera* ที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด โดยใช้วิธี Agar disc diffusion ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Morshed et al. (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสมอเทศ (*Terminalia arjuna* Roxb.) ที่สกัดด้วยเอทานอล ด้วยวิธี Agar disc diffusion กับแบคทีเรีย 12 ชนิด สอดคล้องกับผลการศึกษาของ



Amanullah et al. (2010) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ของพิกัดตรีผลาและส่วนประกอบแต่ละชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion กับเชื้อแบคทีเรีย 10 ชนิด และสอดคล้องกับการศึกษาของ Kannan et al. (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทางคลินิกทั่วไปที่สำคัญของสารสกัดจากสมอไทยด้วยเอทานอลด้วยวิธี Agar disc diffusion กับเชื้อแบคทีเรีย 7 ชนิด

การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดพิกัดตรีผลา ทดสอบด้วยวิธีการ Broth macrodilution กับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงบางชนิด ได้แก่ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chanda et al. (2013) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของใบและสเต็มของสมอพิเภกจากแหล่งที่ต่างกัน 2 แหล่ง พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhimurium* ได้ อยู่ระหว่าง 39 - 2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและมีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้มากกว่า 2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสอดคล้องกับการศึกษาของ Amanullah et al. (2010) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ของพิกัดตรีผลาและส่วนประกอบแต่ละชนิด ด้วยวิธี Broth dilution กับเชื้อแบคทีเรีย 10 ชนิด พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมอไทยและสมอพิเภกที่สกัดด้วยเอทานอล มีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. paratyphi*, *S. typhi* และ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 10, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ไม่แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด โดยผลการศึกษานี้ในครั้งนี้ ได้แสดงให้เห็นถึงค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่เชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. มีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้มากกว่า 1,024 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุป

สารสกัดหยาบพิกัดตรีผลามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *Salmonella* spp. ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด (MIC) คือ 512 และ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งอาจสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับตำรับยาพิกัดตรีผลา และนำไปพัฒนาตำรับยาต่อไป

ข้อเสนอแนะ

สำหรับการศึกษาล้างต่อไปควรศึกษารูปแบบการออกฤทธิ์ของสารสกัดของพิกัดตรีผลาและส่วนประกอบแต่ละชนิด เพื่อทราบสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และควรใช้วิธีการระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดควรทำโดยใช้เครื่องมือระบบปิด เช่น Rotary evaporator เพื่อป้องกันสารปนเปื้อน

รายการอ้างอิง (References)

- Amanullah, S., Chandramoorthy, H. C., Kumar, V. A. & Khatheer, S. (2010). Antimicrobial activity of Triphala against bacterial isolates from HIV infected patients. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 4(12), 9 - 17.
- Aneja, K. R., Sharma, C. & Joshi, R. (2012). Antimicrobial activity of Terminalia arjuna Wight & Arn.: An ethnomedicinal plant against pathogens causing ear infection. *Brazilian Journal of otorhinolaryngology*, 78(1), 68 - 74.



- Art of healing. (1998). *Traditional Medicine Textbook of Pharmacy*. [n.p.]. (in Thai)
- Board of committee of the strategic development plan for the national health no. 12. (2016). *the strategic development plan for the national health no. 12*. [n.p.]. (in Thai)
- Bureau of Epidemiology. (2016). *Annual epidemiology surveillance report 2015*. Bangkok: Printing of Agricultural Co-operative Federation of Thailand. (in Thai)
- Chanda, S., Menpara, D. & Desai, D. (2013). Antimicrobial Activity of *Terminalia bellerica* Leaf and Stem Collected from Two Different Sites. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1(9), 721 - 733.
- Debnath, S., Dey, D., Hazra, S., Ghosh, S., Ray, R. & Hazra, B. (2013). Antibacterial and antifungal activity of *Terminalia arjuna* Wight & Arn. bark against multi-drug resistant clinical isolates. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(4), 312 - 318.
- Devi, P. N., Kaleeswari, S. & Poonkothai, M. (2014). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of fruit extracts of *Terminalia Bellerica*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 639 - 642.
- Intranupakorn, R. (2007). *Direction and extraction of herb*. Bangkok: Chulalongkorn university. (in Thai)
- Kannan, P., Ramadevi, S. R. & Hopper, W. (2009). Antibacterial activity of *Terminalia chebula* fruit extract. *African Journal of Microbiology Research*, 3(4), 180 - 184.
- Morshed, M. A., Uddin, A., Rahman, A., Hasan, T., Roy, S., Amin, A. A., Ahsan, R. & Islam, R. (2011). In vitro antimicrobial and cytotoxicity screening of *Terminalia arjuna* ethanol extract. *International Journal of Biosciences*, 1(2), 31 - 38.
- Murad, F., Alam, K. A., Mazumdar, R. M., Islam, S., Nipa, M. N., Iqbal, A. & Bhuiyan, H. R. (2011). Anti-bacterial Activity of the Extract of *Terminalia arjuna* Against Multi Antibiotic Resistant *Vibrio cholera*. *Journal of Scientific Research*, 3(1), 129 - 137.
- Natha, N., Prayongrat, K., Srisawat, J. & Prayoonwiwat, W. (Ed.). (2015). *Introduction to clinical medicine*. Bangkok: Book project of Phramongkutklao college of medicine. (in Thai)
- Promptamorn, P. & Ratcharin, N. (2016). Evaluation of Antibacterial Activity and Gel Formulation Development from *Terminalia chebula* Retz Extract. *Research Journal Sciences and Technology*, 9(1), 51 - 64.