



สารสกัดดอกมะเปรียงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการต้านอนุมูลอิสระ

Cynometra cauliflora Flower Extract on Antibacterial and Antioxidant Activity

กนกวลี สุขไชย^{1*}

Kanokwalee Sukchai^{1*}

(Received: April 7, 2022; Revised: August 11, 2022; Accepted: August 15, 2022)

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันผัก ผลไม้ และพืชสมุนไพรพื้นบ้าน เป็นที่ได้รับความนิยมในการนำมาทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกมะเปรียงจากอำเภอ ตากใบ จังหวัดนราธิวาส การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้วิธี Agar well diffusion method และใช้วิธี DPPH assay และ Folin-Ciocalteu ในการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และหาปริมาณสารฟีนอลิกตามลำดับ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกมะเปรียงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ 3 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (TISTR517), *Micrococcus luteus* (TISTR884) และ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA 142) พบบริเวณยับยั้งเท่ากับ 21.00 ± 0.17 25.00 ± 0.00 และ 26.00 ± 0.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย 18.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าแบคทีเรีย 300.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดจากดอกมะเปรียงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่วิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 312.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสกัดจากดอกมะเปรียงประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 4.45 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกมะเปรียงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ต่อไป

คำสำคัญ: มะเปรียง MRSA 142 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก

¹คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Medicine, Princess of Naradhiwas University

¹Corresponding Author: Kanokwalee.s@pnu.ac.th



Abstract

Nowadays, vegetables, fruits, and local herbs are popular for testing their antimicrobial and antioxidant properties. The purpose of this research was to study the effect of *Cynometra cauliflora* (*C. cauliflora*) flower extract from Tak Bai District, Narathiwat Province on antibacterial and antioxidant activity. Agar well diffusion method, DPPH assay, and Folin-Ciocalteu method were used to determine the antibacterial activity, to study the antioxidant property, and to identify phenolic quantification, respectively. The results of this study showed that the extract of *C. cauliflora* flower has antibacterial 3 species from 6 species effect against *Staphylococcus aureus* (TISTR517), *Micrococcus luteus* (TISTR884) and Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA142) with the inhibitory sites were 21.00 ± 0.17 , 25.00 ± 0.00 and 26.00 ± 0.15 mm, respectively. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration were 18.75 mg/mL and 300.00 mg/mL, respectively. In addition, the *C. cauliflora* flower extract showed antioxidant activity with an IC_{50} value was 0.11 $\mu\text{g/mL}$, while vitamin C had an IC_{50} of 312.62 $\mu\text{g/mL}$. This study also demonstrated that *C. cauliflora* flower extract contains 4.45 $\mu\text{g GAE/g}$ fresh weight of total phenolic compounds. This experimental research was found that the extract can antibacterial and antioxidant activity. Consequently, the extract can be further developed into medical product.

Keywords: *Cynometra cauliflora*, MRSA 142, Antibacterial, Antioxidant, Phenolic compound

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความอุดมสมบูรณ์ไปด้วยความหลากหลายทางชีวภาพ มีทรัพยากรทั้งพืช ผัก สมุนไพร ที่มีประโยชน์ด้านการแพทย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสมุนไพรที่ใช้เป็นยารักษาโรคตามภูมิปัญญาท้องถิ่น พืชสมุนไพรบางชนิดที่มีความสำคัญต่อการใช้ชีวิตประจำวัน ซึ่งการใช้สมุนไพรมาจากประสบการณ์การเรียนรู้ของคนรุ่นเก่า ตกทอดมาจนถึงรุ่นปัจจุบัน และมีการจดบันทึกไว้ในตำราหรือถ่ายทอดโดยวิธีการปฏิบัติ จนกลายเป็นภูมิปัญญาที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์ (Atchana, 2018) ในปัจจุบันการดื้อยาของแบคทีเรียเป็นปัญหาที่ทั่วโลกต้องเผชิญอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสาเหตุของการดื้อยาเกิดจากความสามารถของยาที่ลดลง ซึ่งหมายถึงการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย โดยมีผลทำให้ยาปฏิชีวนะมีประสิทธิภาพลดลง นอกจากนี้การดื้อยาอาจเกิดจากปริมาณความเข้มข้นของยาที่ใช้ในการรักษาที่อาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาอย่างต่อเนื่อง (Yuto, 2020) สารสกัดจากพืชเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมที่หลากหลายชนิด เช่น



อุตสาหกรรมอาหารและยารักษาโรค ด้วยคุณสมบัติความเป็นสมุนไพรที่ได้จากสารสกัดธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์โดยพบว่าสารสกัดธรรมชาติหลายชนิด เช่น สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดและฟ้าทะลายโจร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคกลากทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* และ *E. floccosum* และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดแกรมบวก *S. aureus* และ *S. pyogenes* (Yanisa, 2015) นอกจากนี้กลูต้าไธโอนที่พบในผลไม้เปลือกผลทับทิม ใบทับทิม ผลอ่อนฝรั่ง ใบฝรั่ง กระเทียม เปลือกมังคุด และรากแก้วของแตงโม สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* (Meesap, 2018)

มะเปรียง (*Cynometra cauliflora* L.) เป็นไม้ยืนต้นที่มีความสูงประมาณ 5 เมตร มีดอกสีแดงและผลที่มีลักษณะของพืชที่เป็นคลื่นไม่สม่ำเสมอ ลำต้นมีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม และมีลำต้นที่แข็งแรงมาก พบได้ทั่วไปในแหลมมลายู (Vichakaset, 2016) มะเปรียงถือเป็นผลไม้พื้นบ้านชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกกันอย่างกว้างขวางในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ โดยเฉพาะในพื้นที่จังหวัดนราธิวาสจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าพบว่ามีสารแทนนิน ซาโปนิน และฟลาโวนอยด์ แต่พบสารเทอร์ปีนอยด์ในผลและใบเท่านั้น และพบสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ในใบและเปลือก (Aziz & Iqbal, 2013) รวมทั้งได้มีการศึกษาพบว่าในผลของมะเปรียงมีไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามินซี แคลเซียม เหล็ก สังกะสี เส้นใย ฟลาโวนอยด์ รวมทั้งฟีนอลิก (Khoo et al., 2016) และมะเปรียงมีสรรพคุณทางยามากมาย โดยผลและใบของมะเปรียงสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสเพื่อลดการดูดซึมของไขมัน (Ado et al., 2013) และใบ ก้านและเปลือกมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Aziz & Iqbal, 2013) อีกทั้งผลของมะเปรียงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Somsap et al., 2019) จากผลการทดสอบทางเภสัชวิทยาของก้าน ใบ เปลือก และผลมะเปรียงพบว่า มีฤทธิ์ที่ดีจึงเป็นไปได้ที่ดอกมะเปรียงอาจมีฤทธิ์ด้านเภสัชวิทยาเช่นกัน

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้จัดทำงานวิจัยเรื่องนี้ขึ้นเพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือยาและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียง เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือยาของสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียง
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียง



วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากดอกของมะเปรียง

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ดอกมะเปรียงสด จาก อ.ตากใบ จ.นราธิวาส น้ำหนัก 105 กรัม แฉ่งใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 1,050 มิลลิลิตร นาน 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วนำมากรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 0.5 ไมโครเมตร และนำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอทิลแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง rotary evaporator ยี่ห้อ Heidolph ที่ 60 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ระเหยเอทิลแอลกอฮอล์เรียบร้อยแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บสารสกัดหยาบในขวดเก็บสารฝากลีวยปิดสนิทไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยปริมาณของสารสกัดหยาบที่ได้ คือ 0.3 กรัม

2. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากดอกมะเปรียง

2.1 ชนิดของแบคทีเรีย

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แบคทีเรียคือยาทั้งหมด 6 ชนิด ประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR517, *Micrococcus luteus* TISTR884 และ Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA 142) และแบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR1467, *Escherichia coli* ESBL182 และ *Salmonella typhimurium* TISTR292

แบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) เลี้ยงเชื้อในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำแบคทีเรียไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Mueller Hinton Broth (MHB) นาน 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำแบคทีเรียทั้งหมดมาทดสอบโดยการปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 Mcfarland ด้วยโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85%

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Somsap et al., 2019)

นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียงด้วยวิธี agar well diffusion โดยนำเชื้อแบคทีเรียมาเกลี่ยบนอาหารแข็ง MHA ด้วย cotton bud ให้ทั่ว หลังจากนั้นทำการเจาะ MHA ให้เป็นหลุมด้วย pipette tip โดยแต่ละหลุมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วทำการเติมสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียงที่มีความเข้มข้น 300 150 75 37.5 18.75 และ 9.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเติมหลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มในตู้ incubator ยี่ห้อ Memmert ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบผลการศึกษด้วยการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งด้วย vernier caliper โดยทำการทดลองการศึกษานี้ซ้ำ 3 ครั้ง และได้ใช้ตัวยา gentamicin ขนาดความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น positive control และใช้ 99% dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็น negative control



2.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration; MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการฆ่าแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration; MBC) (Somsap et al., 2019)

ในการหาค่า MIC ของการศึกษานี้ใช้วิธี Broth dilution technique โดยนำสารสกัดหยาบของดอกมะเปรียงที่เกิดบริเวณยับยั้ง เตรียมเป็นสารสกัดที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นทำ serial dilution ด้วยการใส่สารละลาย DMSO ให้ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดดอกมะเปรียงตั้งแต่ 9.37- 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำเชื้อทดสอบ 3 ชนิด ที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง MHA เกลี่ยเชื้อแบคทีเรียให้ทั่ว ทำการเจาะหลุมด้วย pipette tip โดยแต่ละหลุมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ไมโครเมตร แล้วเติมสารสกัดดอกมะเปรียงที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 300 150 75 37.5 18.75 และ 9.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และอ่านค่า MIC ด้วยการสังเกตบริเวณยับยั้งของแบคทีเรีย และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งด้วย vernier caliper โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

สำหรับการหาค่า MBC ทำโดยนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด คือ Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA 142), *Staphylococcus aureus* TISTR517 และ *Micrococcus luteus* TISTR884 โดยการนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่มีบริเวณโซนยับยั้งของค่า MIC ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้น แล้วนำเชื้อแบคทีเรียมา streak plate บนอาหารแข็ง MHA บ่มในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และในการอ่านค่า MBC โดยสังเกตผลทดสอบหากสารสกัดสามารถฆ่าเชื้อได้จะไม่มีการเจริญของเชื้อปรากฏขึ้น โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3. การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกมะเปรียง (Somsap et al., 2019)

3.1 การทำกราฟมาตรฐานระหว่างสารละลาย DPPH กับวิตามินซี

ชั่งวิตามินซี 0.01 กรัม แล้วทำการละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ (stock solution) 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปเจือจางต่อให้ได้สารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ 100 200 300 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับ control ได้จากการผสมกันระหว่างสารละลาย DPPH กับเอทิลแอลกอฮอล์นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Thermo Scientific และบันทึกค่า A_c โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็น blank นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นของวิตามินซี ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสาร DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และบันทึกค่า A_{30} เพื่อคำนวณค่าการกำจัดอนุมูลอิสระ (% Radicals scavenging)



จากสูตร % Radical scavenging = $[(A_c - A_{30})/A_c] \times 100$

A_c คือ ค่าการดูดกลืนแสงสารละลาย DPPH ก่อนทำปฏิกิริยา

A_{30} คือ ค่าการดูดกลืนแสงสารละลาย DPPH หลังทำปฏิกิริยา 30 นาที

3.2 ทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ

นำสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียงมาเจือจางให้มีความเข้มข้น ดังนี้ 0.78 0.39 0.195 และ 0.095 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเติมสาร DPPH 1 มิลลิลิตร ลงในสารสกัดแต่ละความเข้มข้นที่มีปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ สำหรับ control ได้จากการผสมกันระหว่างสาร DPPH 1 มิลลิลิตร กับเอทิลแอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตร โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็น blank ปริมาตร 2 มิลลิลิตร รายงานผลในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ascorbic acid หลังจากนั้นทำการคำนวณค่า IC_{50} จากกราฟระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัดดอกมะเปรียง

4. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิก (Somsap et al., 2019)

การทดสอบเพื่อหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียง ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยจากการผสมกันระหว่างสารสกัดจากดอกมะเปรียงปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการเติมสาร Folin-Ciocalteu's phenol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และทำการเติม 20% Na_2CO_3 300 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ในที่มืด และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 735 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และใช้สาร gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 0.02-0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณทั้งหมดของฟีนอลิกแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

การศึกษานี้วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) คือ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

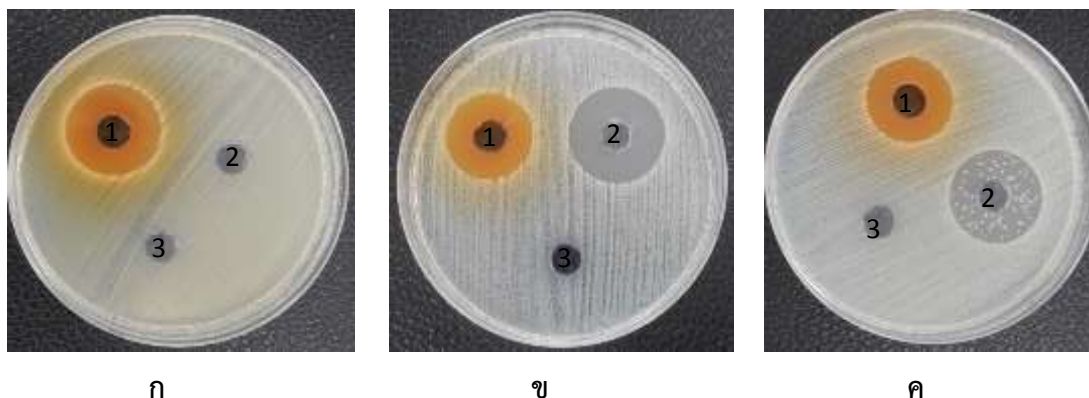
ผลการวิจัย

1. ผลของการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากดอกมะเปรียง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดอกมะเปรียงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนอาหารแข็ง MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดดอกมะเปรียงมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้ 3 ชนิด ได้แก่ Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA142), *Staphylococcus aureus* TISTR517 และ *Micrococcus luteus* TISTR884 มีขนาดเส้นผ่าน



ศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง คือ 26.00 ± 0.15 21.00 ± 0.17 และ 25.00 ± 0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ได้แสดงดังภาพที่ 1 และตารางที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากดอกมะเปรียง

ก) Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA142)

ข) *Staphylococcus aureus* TISTR517

ค) *Micrococcus luteus* TISTR884

(หลุมที่ 1 ใส่ สารสกัดจากดอกมะเปรียง หลุมที่ 2 ใส่ gentamicin 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมที่ 3 ใส่ DMSO)

2. ผลของการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration; MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการฆ่าแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration; MBC)

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียงมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ MRSA142, *S. aureus* TISTR517 และ *M. luteus* TISTR884 เท่ากับ 18.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบหาค่า MBC โดยการเขียนเชื้อจากบริเวณยับยั้งจากการหาค่า MIC ที่ความเข้มข้น 300, 150 และ 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี streak plate บนอาหารแข็ง MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ผลการทดสอบ พบว่าค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากดอกมะเปรียงในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 1

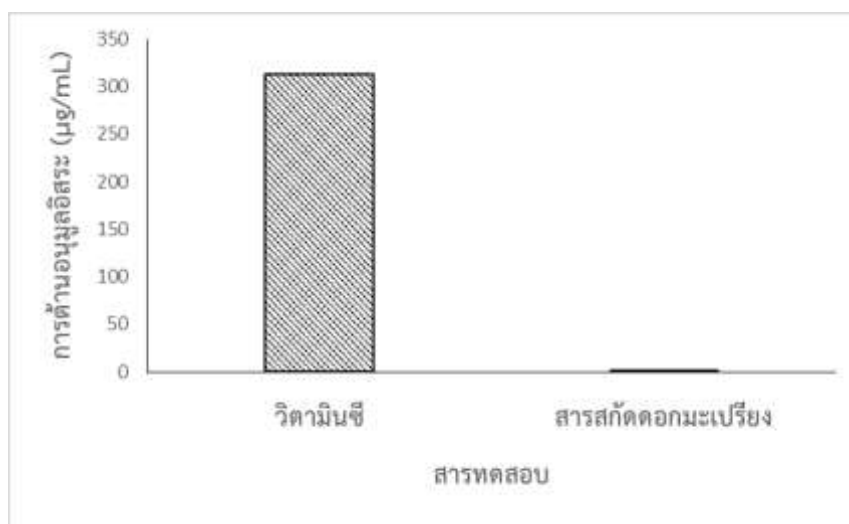


ตารางที่ 1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดอกมะเปรียงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimum inhibitory concentration, MIC) และการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal concentration, MBC)

เชื้อแบคทีเรีย	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
	สารสกัดดอกมะเปรียง	DMSO	Gentamicin		
<i>MRSA</i> 142	26.00±0.15	-	-	18.75	300
<i>S. aureus</i> TISTR517	21.00±0.17	-	24.00	18.75	300
<i>M. luteus</i> TISTR884	25.00±0.00	-	26.00	18.75	300

3. การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกมะเปรียง และการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี โดยการนำสารสกัดดอกมะเปรียงไปทดสอบด้วยสาร DPPH และหาค่า IC_{50} พบว่าวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 312.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดจากดอกมะเปรียง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังได้แสดงในภาพที่ 2 และจากการทดสอบเพื่อหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากดอกมะเปรียง พบว่า สารสกัดจากดอกมะเปรียง มีค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound) เป็น 4.45 ± 0.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง



ภาพที่ 2 แสดงค่าการต้านอนุมูลอิสระ IC_{50}



อภิปรายผล

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากพืชมีสารกลุ่มอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ไกลไซด์ ฟีนอล และแทนนินที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Meesup & Buachard, 2018) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดดอกมะเปรียงสามารถยับยั้งได้เฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น และสารสกัดจากมะเปรียงมีสารกลุ่ม เทอพีนอยด์ อัลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนและเอนไซม์ที่เชื่อมเซลล์ของแบคทีเรียได้ ส่งผลให้เชื่อมเซลล์ถูกทำลาย สารภายในเซลล์ไหลออกนอกเซลล์ (Somsap et al., 2019) ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยพืชสมุนไพร *Psidium guajava* L. และ *Phyllanthus niruri* ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งได้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น (Valle et al., 2015) และยังสอดคล้องกับการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลของมะเปรียงที่สามารถยับยั้งได้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกัน (Somsap et al., 2019) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจาก *Cuminum Cyminum* ซึ่งแสดงผลการยับยั้งแบคทีเรียเฉพาะแกรมบวกเท่านั้น (Mostafa et al., 2018) การติดต่อสารสกัดสมุนไพรของแบคทีเรียแกรมลบนั้น เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีองค์ประกอบของสารไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่อยู่ในผนังเซลล์ชั้นนอก ซึ่งมีหน้าที่ป้องกันสารสกัดไม่ให้เข้าสู่เซลล์ได้ มีการสร้างเอนไซม์ และมี vilulen factor ซึ่งตรงข้ามกับแกรมบวกซึ่งไม่มีผนังเซลล์ชั้นนอกจึงไม่สามารถป้องกันสารสกัดเข้าสู่เซลล์ได้ ทำให้แบคทีเรียแกรมลบคือยาได้มากกว่าแกรมบวก (Somsap et al., 2019)

จากการทดสอบพบว่าค่า MIC และ MBC ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากเป็นแบคทีเรียแกรมบวกเหมือนกัน และจากการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดดอกมะเปรียงมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งคล้ายกับสารสกัดจากหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.148 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดดอกมะเปรียงมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 4.45 ± 0.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nachakanok & Anong (2019) ที่ศึกษาปริมาณฟีนอลิกจากตัวอย่างใบหม่อน โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าชาใบหม่อนผงแบบพ่นฝอยให้ปริมาณฟีนอลิกรวม 4.44 ± 0.57 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง

สรุป

สารสกัดจากดอกมะเปรียงด้วยเอทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งได้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี เมื่อเทียบกับ gentamicin 10 ไมโครกรัม โดยพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ MRSA142 ซึ่งคือต่อยาปฏิชีวนะ และ MIC ของสารสกัดดอกมะเปรียงต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง MRSA 142, *S. aureus* TISTR517



และ *M. luteus* TISTR884 เท่ากับ 18.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดดอกมะเปรียงที่สามารถฆ่าเชื้อ *MRSA* 142, *S. aureus* TISTR517 และ *M. luteus* TISTR884 มีค่า MBC เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดดอกมะเปรียง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดดอกมะเปรียง พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกในสารสกัดดอกมะเปรียง มีค่าเท่ากับ 4.45 ± 0.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ควรมีการต่อยอดงานวิจัยอื่น ๆ ต่อไป อาจมีการศึกษาในเชิงลึกเพิ่มเติม เช่น การนำไปหาค่าความบริสุทธิ์สารสกัดจากดอกมะเปรียงเพื่อหาสารที่แท้จริงที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ขอขอบคุณความอนุเคราะห์ยาปฏิชีวนะและคำปรึกษาจาก ผศ.ดร.อรอนงค์ สมทรัพย์ ตำแหน่งรองคณบดีฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ และขอขอบคุณความอนุเคราะห์เชื้อสายพันธุ์ทดสอบจาก รศ.ดร.มณฑล เลิศคณาวนิชกุล สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และได้รับการสนับสนุนห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ อาคารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

รายการอ้างอิง (References)

- Ado, M.A., Abas, F., Mohammed, A.S., & Ghazali, H.M. (2013). Anti- and pro-lipase activity of selected medicinal, herbal and aquatic plants, and structure elucidation of an anti-lipase compound. *Molecules*, 18(146), 51-69.
- Atchana, S. (2018). *The Study of Diversity and Local Wisdom in Medicinal Plants Usage for Thai Traditional Medicine Knowledge: A Case Study in Muang District, Ratchaburi Province*. Department of Thai Traditional Medicine College of Muay Thai Studies and Thai Traditional Medicine Chom Bueng Rajabhat University, (in Thai).
- Aziz, A.F., & Iqbal, M. (2013). Antioxidant activity and phytochemical composition of *Cynometra cauliflora*. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 3, 337-341.



- Khoo, H.E., Azlan, A., Kong, K.W., & Ismail, A. (2016). Phytochemicals and medicinal properties of indigenous tropical fruits with potential for commercial development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 1-20.
- Meesup, P., & Buachard, S. (2018). Efficiency of plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Agricultural Science Journal*, 49(2), (suppl.), 485-488.
- Mostafa, A.A., Al-Askar, A.A., Almaary, K.S., Dawoud, T.M., Sholkamy, E.N., & Bakri, M.M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Science*, 25, 361-366.
- Nachakanok, M., & Anong, S. (2019). Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Mulberry Leaf Tea and Water Soluble Mulberry Leaf Tea Powder. *Thai Journal of Science and Technology*, 9(2), 230-242.
- Somsap, O.-A., Piboonpol, G., Payanglee, K., & Daengrot, C. (2019). Antibacterial and Antioxidant Activity of Nam-Nam Fruit Extract. *Princess of Naradhiwas University Journal*, 11(2), 156-167.
- Yuto, T., Ketsin, T., Anantasan, P., Siltrakool, B., Kangwanrattanakul, K., & Phanudulkitti, C. (2020). Consumers' Awareness, Expectation, and Behaviors related to Antibiotic Use of Consumers in Community Pharmacies in Saensuk Municipality, Chonburi Province. *The Public Health Journal of Burapha University*, 15(2), 62-73.
- Valle Jr, D.L., Andrade, J.I., Puzon, J.J., Cabrera, E.C., & Rivera, W.L. (2015). Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7), 532-540.
- Yanisa, L. (2015). *Anti-bacterial activity from mangosteen rind and gac crude extract for printing textile*. Burapha University: Chonburi, (in Thai).