



การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาแผนไทย สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อ

Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Extracts from a Thai Traditional Medicine Herbal Recipe for Infectious Disease

ทรรศนพร ไพบุณย์¹, รินรดา เมืองจีน², วันสนันท์ ว่องไวโรจน์³, พฤทธิกร ศุภพล^{4*}

¹โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย ตรัง 92000

²โรงเรียนปัญญาพิทยวิธานอนุสรณ์ นครศรีธรรมราช 80160

³โรงเรียนเฉลิมพระเกียรติ 60 พรรษาสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์พระบรมราชินีนาถ นนทบุรี 11140

⁴คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

Tatsanaphon Paiboon¹, Rinrada Muangjeen², Wanatsanan Wongwairoj³, Preuttiporn Supaphon^{4*}

¹Princess Chulabhorn Science High School, Trang 92000

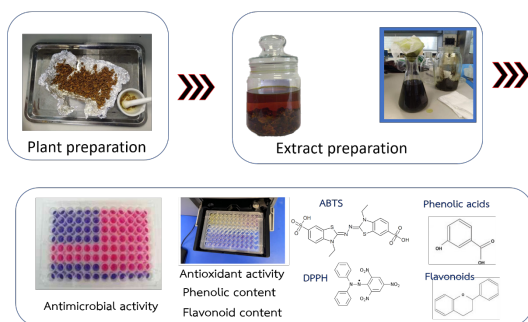
²Panyathipwittayanusorn School, Nakorn Sri Thammarat 80160

³Chalermprakat 60 Pansa Queen Sirikit School, Nonthaburi 11140

⁴Faculty of Education, Thaksin University, Songkhla 90000

Received 27 September 2025; Received in revised 5 November 2025; Accepted 12 November 2025

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from a Thai traditional medicine recipe developed by Luang Phinitphonnikon. The medicinal plants were extracted using two solvents: ethyl acetate and ethanol. The crude extracts were evaluated for the antimicrobial and antioxidant activities using the colorimetric broth microdilution method, DPPH and ABTS free radical scavenging

assays, respectively. The antimicrobial efficacy of the extracts was tested against nine human pathogenic microorganisms: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC 90112, *Microsporum gypseum* and *Talaromyces marneffeii*. The ethanol extract exhibited the highest inhibitory effect against Gram-positive bacteria (*S. aureus*, MRSA, and *S. epidermidis*), with minimum inhibitory concentrations (MICs) ranging from 0.025 to 6.4 mg/mL. Regarding antioxidant activity, the ethanol extract showed IC₅₀ values of 37.29 ± 1.03 µg/mL for the DPPH assay and 276.65 ± 0.41 µg/mL for the ABTS assay. In addition, total phenolic and flavonoid contents were analyzed by the Folin-Ciocalteu method and the colorimetric aluminum chloride method, respectively. The ethanol extract showed total phenolic and flavonoid contents of 67.00 ± 0.51 mg GAE/g extract and 15.20 ± 1.00 mg QE/g extract, respectively. These findings suggest that this Thai traditional medicine recipe is a promising source of bioactive compounds with both antimicrobial and antioxidant properties.

คำสำคัญ	บทคัดย่อ
พืชสมุนไพร; ตำรับยาแผนไทย; ฤทธิ์ทางชีวภาพ Keywords Medicinal plant; Thai traditional medicine recipe; Biological activity	งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินสารสกัดหยาบจากตำรับยาแผนไทยของหลวงพินิจพลนิกร ในการยับยั้งจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ โดยสกัดสารจากตำรับยาด้วยวิธีการแช่ในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทิลอะซิเตท และเอทานอล จากนั้นทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ ABTS Radical scavenging assays ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งหมด 9 สายพันธุ์ ได้แก่ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) SK1, <i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Candida albicans</i> ATCC 90028, <i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 90112, <i>Microsporum gypseum</i> และ <i>Talaromyces marneffe</i> ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก <i>S. aureus</i>, MRSA และ <i>S. epidermidis</i> ได้ดีที่สุด ให้ค่า MIC ในช่วง 0.025-6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ขณะที่สารสกัดจากเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 37.29 ± 1.03 และ 276.65 ± 0.41 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี Folin-ciocalteu และ Colorimetric aluminum chloride ตามลำดับ พบว่าสารสกัดมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ 67.00 ± 0.51 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 15.20 ± 1.00 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าตำรับยาแผนไทยมีศักยภาพนอกจากมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคแล้วยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีอีกด้วย

*ผู้รับผิดชอบบทความ: preutti@tsu.ac.th

DOI: 10.14456/tstj.2026.11

1. บทนำ

สุขภาพเป็นหนึ่งในผลสะท้อนของคุณภาพชีวิตของประชากรทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก ที่ผ่านมามีเห็นได้ว่าปัญหาสุขภาพยังเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลให้แนวโน้มของจำนวนผู้ป่วยและผู้เสียชีวิตมีจำนวนเพิ่มขึ้น มีรายงานจำนวนผู้ป่วยหรือผู้เสียชีวิตในปี พ.ศ. 2561-พ.ศ. 2565 เพิ่มขึ้น 9.0 ต่อ ประชากร 1000 คน โดยในปี พ.ศ. 2565 อัตราการเกิดเท่ากับ 7.4 คิดเป็น 485,085 คน และอัตราการตาย 9.0 คิดเป็นจำนวนผู้เสียชีวิต 256,489 คน โดยสาเหตุการตายที่สำคัญได้แก่มะเร็งทุกชนิด โรคหลอดเลือดในสมองและโรคปอด เป็นต้น หากพิจารณาถึงสาเหตุการตายมีสาเหตุทั้งจากโรคติดเชื้อและโรคไม่ติดเชื้อ โดยสาเหตุการตายลำดับต้นๆ ของโรคไม่ติดเชื้อคือ โรคมะเร็ง ซึ่งคาดการณ์ขององค์การอนามัยโลกพบว่าในปี พ.ศ. 2563 มีจำนวนผู้เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งถึง 11,000,000 คน โดยสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดมะเร็งมาจากอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นอันตรายต่อสารโมเลกุลใหญ่ภายในเซลล์ โดยเฉพาะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอซึ่งอาจนำไปสู่การกลายพันธุ์ [1] และสาเหตุรองลงมาคือโรคติดเชื้อ จากรายงานของกระทรวงสาธารณสุข พบว่าโรคติดเชื้อและปรสิต ในปี พ.ศ. 2561-พ.ศ. 2565 มีจำนวน 37,015-39,903 คน ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น 2,888 คน [2] ดังนั้นจากปัญหาของจำนวนผู้ป่วยและผู้เสียชีวิตทั้งโรคติดเชื้อและโรคไม่ติดเชื้อที่กล่าวมาข้างต้น การรักษาคือโอกาสในการลดจำนวนการเสียชีวิต โดยรูปแบบของการรักษาในปัจจุบันมีหลากหลายมากขึ้น ทั้งการรักษาโดยการแพทย์แผนปัจจุบัน การแพทย์แผนตะวันตก และการแพทย์แผนไทย หรืออาจมีการใช้การรักษาาร่วมกัน โดยการรักษาแผนปัจจุบัน เช่น การใช้ยาซิสพลาติน (Cisplatin) เป็นยาเคมีบำบัดในการรักษามะเร็งปากมดลูก พบอาการข้างเคียงจากยาได้บ่อย ยาามีพิษต่อไต [3] และยาปฏิชีวนะที่ใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อ พบปัญหาการดื้อยาซึ่งส่งผลต่อการรักษาของผู้ป่วย เช่น แบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรายงานว่าดื้อยาหลายชนิดและพบติดเชื้อใน

กระแสเลือด [4] โดยเมื่อมีการติดเชื้อร่างกายจะตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและอาจมีกลไกการทำลายเชื้อของอนุมูลอิสระร่วมด้วยเพื่อช่วยในการกำจัดเชื้อและส่งผลให้เกิดการอักเสบต่อเนื่องบริเวณนั้นได้ นอกจากนี้ในการใช้ยาปฏิชีวนะอาจพบผลข้างเคียงซึ่งอาจส่งผลถึงขั้นรุนแรงคือเสียชีวิตจากการใช้ยาได้ [5] ดังนั้นการแพทย์ทางเลือก โดยเฉพาะการใช้สมุนไพรในการรักษาจึงได้รับความสนใจมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องตามแผนปฏิบัติการด้านสมุนไพรแห่งชาติฉบับที่ 2 พ.ศ. 2566-2570 เพื่อส่งเสริมให้มีการสร้างผลิตภัณฑ์สำหรับดูแลสุขภาพ เพิ่มมูลค่าสมุนไพร แต่อย่างไรก็ตามมีข้อควรระวังของสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น สมุนไพรที่ประชาชนในประเทศไทยรู้จักกันดี เนื่องจากมีการนำมาใช้ในระหว่างมีการแพร่ระบาดของโรคโควิด ซึ่งขาดแคลนยาที่ใช้ในการรักษา แต่กลับพบว่าการใช้ฟ้าทะลายโจรอาจเกิดผลข้างเคียง คือ เกิดลมพิษ ใจสั่น และแน่นหน้าอกได้ นอกจากนี้ยังมีข้อควรระวังในการใช้สมุนไพรอื่นๆ อีกหลายชนิด [6] จากข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่าพืชสมุนไพรไทยที่ได้รับการยอมรับและมีการใช้กันอย่างแพร่หลายยังมีข้อจำกัดและอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพได้ ขณะเดียวกันยาแผนไทยหรือตำรับยาแผนไทย ที่ประกอบด้วยสมุนไพรหลายชนิด หรือบางตำรับอาจประกอบด้วยส่วนอื่นที่ไม่ใช่สมุนไพร ก็ยังได้รับการถ่ายทอดและมีการนำมาใช้จากรุ่นสู่รุ่น ซึ่งเป็นหนึ่งในภูมิปัญญาของบรรพบุรุษที่ถ่ายทอดสืบต่อกันมา แต่อย่างไรก็ตามตำรับยาเหล่านี้�ายังไม่ได้รับการยอมรับมากนัก เนื่องจากขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือถึงสรรพคุณเหล่านั้น ยังไม่พบรายงานผลการวิจัยฤทธิ์ของสารสกัดจากตำรับยาแผนไทยของหลวงพินิจพลนิกรมาก่อน มีเพียงการศึกษาฤทธิ์ของพืชแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบของตำรับ โดยมีพืชแต่ละชนิดมีสรรพคุณที่รายงานไว้ดังนี้ ใบมะค่าโก ใช้ตำพอกฝี ใบผักเสี้ยนผี แก้อาการปวดศีรษะ และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี ให้ค่า MIC ในช่วง 0.2-1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใบหนาดใหญ่ใช้รักษาโรคติดเชื้อผิวหนังในจมูก มีรายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิด

โรคผิวหนังอักเสบ มีฤทธิ์ยับยั้งทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และรา เส้นใย ให้ค่า MIC ในช่วง 0.8-12.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใบเขยตาย รักษาอาการงูสวัด ผื่นผิวหนังอักเสบ และใบเขยตายที่สกัดเอทานอลด้วยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบได้บางสายพันธุ์ ให้ค่า MIC ในช่วง 1.6-6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใบทองพันชั่ง รักษาโรคผิวหนังจากเชื้อรา มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบทองพันชั่งในเอทานอลและเอทิลอะซิเตท พบว่าสารสกัดทองพันชั่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและราเส้นใย ได้ ให้ค่าการยับยั้ง 1.6-6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และขมิ้นอ้อย มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ยีสต์และแบคทีเรียแกรมบวกได้ ให้ค่า MIC ในช่วง 0.4-6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [7] แต่อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรจากตำรายาอื่นๆ ที่แสดงให้เห็นว่าพืชในตำรับ มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี เช่น รายงานฤทธิ์ของสารสกัดจากตำรายาแผนไทย (ตำรายาเขียว) ซึ่งประกอบด้วยพืชหลายชนิด ดังนี้ ใบพิมเสน ใบผักกระฉอม ใบหมากผู้ ใบหมากเมีย ใบสันพร้าวหอม รากเผือกหอม เปราะหอม จันทน์เทศ จันทน์แดง ว่านกับแบริด ว่านร้อนทอง เนระพูสี พืชนาศน์มหาศดำ รากไคร้เครือ ดอกพิทูร เกสรบุณนาค เกสรสารภี รากระย่อม ใบพรมมิ จันทน์หอม และเกสรบัวหลวง ตำรายาชนิดนี้เป็นตำรายาลดไข้ แก้อ่อนใน ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานด้านการใช้รักษาหรือฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระมาก่อน แต่ได้นำสารสกัดจากตำรายาเขียวมาใช้ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในกุ้ง ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio harveyi* และ *V. parahaemolyticus* เพื่อต้องการลดการใช้สารเคมี โดยสารสกัดจากตำรายาเขียวสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ ให้ค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เห็นได้ว่าตำรายาสมุนไพรมีประสิทธิภาพที่ดี เพียงแต่ยังขาดข้อมูลยืนยันหรือรายงานจากผลการทดลองทางวิทยาศาสตร์เพื่อให้

เกิดการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายและเกิดประสิทธิภาพสูงสุด [8]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อประเมินประสิทธิภาพตำรายาแผนไทยของหลวงพินิจพลนิกร โดยทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ให้ครอบคลุมทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และราเส้นใย รวมทั้งหมด 9 สายพันธุ์ เพื่อทดสอบให้เห็นถึงคุณค่าและศักยภาพของตำรายาดังกล่าวที่อาจมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ที่มีความหลากหลายและก่อให้เกิดโรคในรูปแบบต่างๆ ซึ่ง *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* เป็นแบคทีเรียสาเหตุของการติดเชื้อบนผิวหนังและหนอง *E. coli* ก่อให้เกิดอาการท้องเสียและหากสร้างสารพิษอาจก่อให้เกิดอาการท้องเสียอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด *P. aeruginosa* ก่อให้เกิดโรคหลายระบบทั้งระบบไหลเวียนเลือด ระบบทางเดินปัสสาวะ ตาและหู เป็นต้น *C. albicans* พบติดเชื้อในช่องปาก ระบบสืบพันธุ์และกระแสเลือด *C. neoformans* ติดเชื้อในปอดและสามารถกระจายไปยังอวัยวะอื่น เช่น สมอง ทำให้เกิดอาการเยื่อหุ้มสมองอักเสบ *M. gypseum* ก่อให้เกิดโรคกลาก และ *T. marneffeii* เป็นเชื้อฉวยโอกาส ก่อให้เกิดโรคในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ขณะเดียวกันผู้วิจัยยังเห็นถึงความเป็นไปได้ของศักยภาพสมุนไพรไทย จึงทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ พบว่าโรคและอาการผิดปกติหลายอย่างมีความเชื่อมโยงกับอนุมูลอิสระ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าอนุมูลอิสระมีผลต่อการเสื่อมของเซลล์ในร่างกาย ก่อให้เกิดการอักเสบ และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง เป็นต้น โดยสารต้านอนุมูลอิสระอาจส่งผลในการลดการทำลายเซลล์และลดการอักเสบจากการติดเชื้อได้ ซึ่งผลจากการศึกษานี้อาจเป็นแหล่งทางเลือกของการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและอาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

2.1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำพืชสมุนไพรในตำรับทั้งหมด 6 ชนิด ที่ได้จากพื้นที่ปลูกในจังหวัดสงขลาและพัทลุง ปี พ.ศ. 2564 ได้แก่ ใบมะคำไก่ (*Drypetes roxburghii*) ใบผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*) ใบหนาด (*Blumea balsamifera*) ใบเขยตาย (*Glycosmis pentaphylla*) ใบทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus*) และเหง้าขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) โดยได้รับความอนุเคราะห์ข้อมูลพืชสมุนไพรทั้ง 6 ชนิดจากคุณมานี แก้วชนิด นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ นำตัวอย่างพืชมาอบแห้งจากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างแต่ละชนิด 50 กรัม แช่ในตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท เป็นเวลา 7 วัน และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ มาละลายด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อทดสอบต่อไป

2.1.2 การเตรียมยาปฏิชีวนะมาตรฐาน

ทำการละลายยา Vancomycin และ Gentamicin ด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ส่วนยา Amphotericin B เตรียมที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยยา Vancomycin และ Gentamicin จะใช้เป็นยามาตรฐานสำหรับแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ ตามลำดับ ส่วนยา Amphotericin B จะใช้เป็นยามาตรฐานสำหรับยีสต์และรา

2.1.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวก 3 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus*) และ Methicillin-resistant

Staphylococcus aureus (MRSA) SK1 แบคทีเรียแกรมลบ 2 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*) และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*) และยีสต์ 2 สายพันธุ์ คือ *Candida albicans* ATCC 90028 (*C. albicans*) และ *Cryptococcus neoformans* ATCC 90112 (*C. neoformans*) ราเส้นใย 2 สายพันธุ์ คือ *Microsporum gypseum* (*M. gypseum*) และ *Talaromyces marneffeii* (*T. marneffeii*)

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์โดย Streak เชื้อแบคทีเรีย ลงบนจานอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) ยีสต์ลงบน Sabouraud's dextrose agar (SDA) และราเส้นใยบน Potato dextrose agar (PDA) จากนั้นบ่มจานอาหารในสภาวะที่เหมาะสม แบคทีเรียและยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ขณะที่ราเส้นใยบ่มที่อุณหภูมิห้อง (27-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการเตรียมเชื้อเริ่มต้นโดยเชื้อแบคทีเรีย 3-5 โคโลนี ลงในอาหาร Nutrient broth (NB) ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ปราศจากเชื้อ ให้ได้ 0.5 Mcfarland standard (เชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml) และเจือจางต่อที่อัตราส่วน 1:200 ด้วยอาหาร Mueller-hinton broth (MHB) เตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้นโดยเชื้อยีสต์ 3-5 โคโลนี ลงในอาหาร Sabouraud's dextrose broth (SDB) ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ปราศจากเชื้อให้ได้ 2 Mcfarland standard และเจือจางต่อที่อัตราส่วน 1:20 ด้วยอาหาร SDB สำหรับราเส้นใยเตรียมโคโคนิเดียด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ปราศจากเชื้อให้ได้ (เชื้อประมาณ 1.4×10^4 CFU/ml)

2.1.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยวิธี Colorimetric broth microdilution tests ดัดแปลงจาก CLSI [9, 10, 11] และ Sarker et al. [12]

ทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดที่ความเข้มข้น 25.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

เตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ 25.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยดูดสารสกัดที่เตรียมไว้ลงใน Sterile 96-well microtiter plates จำนวน 3 หลุม จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบจุลินทรีย์แต่ละชนิด ดูดอาหาร MHB สำหรับแบคทีเรีย และดูดอาหาร SDB สำหรับยีสต์และรา เติมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบลงไป โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรียและยีสต์ (*C. albicans*) และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 ชั่วโมงสำหรับ *C. neoformans* หยด Resazurin indicator (0.18%) ลงในหลุมทดสอบหลุมละ 30 ไมโครลิตร และนำไปบ่มต่อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดอ่านผลการทดสอบโดยสังเกตสีของ Resazurin หากเป็นสีน้ำเงินแสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ และหากเปลี่ยนเป็นสีชมพูหรือใสไม่มีสีแสดงว่าสารสกัดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ แต่สำหรับราเส้นใยให้บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ติดตามผลทุกวัน โดยสังเกตจากหลุมทดสอบในชุดควบคุม หากราเจริญเต็มที่ในหลุมแล้วให้อ่านผลการทดสอบโดยอ่านผลการยับยั้งที่ 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเราได้

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ (The minimum inhibitory concentrations; MICs) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (The minimum bactericidal concentration; MBCs หรือ Minimum fungicidal concentration; MFC)

นำสารสกัดที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้น 25.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบและหาค่า MIC MBC และ MFC ด้วยวิธี Broth microdilution เช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัด โดยเตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในช่วง 25.6-0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งหมด 10 ความเข้มข้น จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อทดสอบ โดยทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

และมีชุดควบคุมคือ อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียวน และอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อทดสอบ หลังบ่มงานทดสอบอ่านผลเช่นเดียวกับการทดสอบเบื้องต้น โดยอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้เป็นค่า MIC และอ่านค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้เป็นค่า MBC หรือ MFC

2.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl - 1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) ดัดแปลงจาก Ghafar et al. [13]

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่ความเข้มข้นสุดท้าย 512-1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 96 Well plate โดยเจือจางสารสกัดแบบ 2-Fold dilution และเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) และใช้ DMSO เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) จากนั้นคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ เพื่อหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = [(A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ Blank

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

A_2 คือ Negative control

2.2.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ดัดแปลงจาก Binsan, et al. [14]

เตรียมสารละลาย ABTS (ผสม 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) และน้ำ) ให้ได้ที่ระดับความ

เข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ จากนั้นมาเติมโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ที่ระดับความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ ผสมสารทั้งสองชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน (1:1) ก่อนนำไปใช้เก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 27-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางสารละลาย ABTS ด้วยเอทานอล และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 1.1 ± 0.02

เตรียมสารสกัดโดยเจือจางสารสกัดแบบ 2-Fold dilution ในช่วงความเข้มข้น 512-16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดที่เตรียมได้ผสมกับสารละลาย ABTS ที่เตรียมไว้ วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เทียบผลการทดลองกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ดัดแปลงจาก Ghafar et al. [13]

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบด้วยวิธีสาร Folin-ciocalteu colormetric เตรียมสารสกัดโดยละลายสารสกัดด้วย DMSO ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นผสมสารสกัดกับสาร Folin-ciocalteu ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากันใน 96 well plate และวางทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ดัดแปลงจาก Ghafar et al. [13]

วิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay และใช้เคอร์ซีตินเป็นสารมาตรฐาน เติมน้ำสกัดหยาบลงใน 96

well plate และเติมน้ำละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที เมื่อครบกำหนดเติมน้ำละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที เมื่อครบเวลาเติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด (mg QE/g extract)

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

สารสกัดของสมุนไพรในตำรายาแผนโบราณหลวงพินิจพลนิกร ทำการสกัดโดยใช้ตัวสกัด 2 ชนิด คือ เอทิลอะซิเตทและเอทานอล พบว่าตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณสารสกัดรวมเท่ากับ 12.36 ± 0.41 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สารสกัดจากเอทิลอะซิเตทมีปริมาณ 5.8 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ โดยสอดคล้องกับวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล โดยพบว่าปริมาณสารสกัดได้จากตัวทำละลายเอทานอลสูงสุด เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงและมีคุณสมบัติในการละลายได้กว้างจึงสามารถสกัดสารสำคัญในตัวอย่างพืชออกมาได้ในปริมาณสูงต่างจากตัวทำละลายเฮกเซนซึ่งไม่มีขั้ว แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารสำคัญขึ้นกับวิธีในการสกัด ปริมาณสารพฤษเคมีในพืช ตลอดจนความเข้มข้นของตัวทำละลายและอุณหภูมิที่ใช้อีกด้วย [15,16,17]

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากตำรับยาแผนไทย ที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด ประกอบด้วย เอทานอล (Ethanol) และเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate) ในการยับยั้งทั้งหมด 9 สายพันธุ์ แบ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียก่อโรค 5 สายพันธุ์ ยีสต์ 2 สายพันธุ์ และราเส้นใย 2 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 9 สายพันธุ์ โดยมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด ให้ค่า MIC เท่ากับ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร รองลงมาคือ *S. aureus*, *M. gypseum* และ *T. marneffeii* ให้ค่า MIC เท่ากับ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ขณะที่สารสกัดจากเอทิลอะซิเตทยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 8 สายพันธุ์ ยกเว้น *C. albicans* โดยยับยั้งราเส้นใย *M. gypseum* ได้ดีที่สุดให้ค่า MIC เท่ากับ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร รองลงมาคือยีสต์ *C. neoformans* ให้ค่า MIC เท่ากับ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร (Table 1)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 12.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรโดยวิธี Broth microdilution ซึ่งทดสอบด้วยจุลินทรีย์ทดสอบ 9 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากตำรับยาแก้ฝีจากตำรายาแผนโบราณ หลวงพินิจพลนิกร เมื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ (MIC) พบว่าสารสกัดจากเอทานอลมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 9 สายพันธุ์ที่ทดสอบ โดยเฉพาะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีที่สุดให้ค่า MIC เท่ากับ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร รองลงมาคือ *S. aureus* ให้ค่า MIC เท่ากับ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร โดยสอดคล้องกับรายงานของ Pradabsang et al.[17] พบว่าสารสกัดจากใบทองพันชั่งและหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. epidermidis* ได้ดีให้ค่า MIC เท่ากับ 0.0625 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ

Table 1 Antimicrobial activity of the extracts from Thai traditional medicine recipe at final concentration range 6.4-0.025 mg/mL

Extracts	MIC/MBC or MFC (mg/mL)								
	SA	MRSA	SE	EC	PA	CA	CN	MG	TM
Ethyl acetate	12.8/-	12.8/-	12.8/12.8	12.8/-	12.8/-	-/-	1.6/-	0.4/6.4	3.2/-
Ethanol	1.6/-	6.4/-	0.025/-	6.4/-	6.4/-	6.4/12.8	0.8/12.8	1.6/3.2	1.6/-
Antibiotics	MIC/MBC or MFC (µg/mL)								
	SA	MRSA	SE	EC	PA	CA	CN	MG	TM
Vancomycin	1/2	1/2	1/2						
Gentamicin				0.25/1	0.25/1				
Amphotericin B						0.5/1	0.5/1	1/2	1/2

Remark – no activity; SA = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, MRSA = methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, SE = *Staphylococcus epidermidis*, EC = *Escherichia coli* ATCC 25922, PA = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, CA = *Candida albicans* ATCC 90028, CA = *Cryptococcus neoformans* ATCC 90112, MG = *Microsporium gypseum*, TM = *Talaromyces marneffeii*

นอกจากนี้ Laohaprapanon, S. and Chanwun, T., [18] พบว่าสารสกัดจากใบหนาดที่สกัดด้วยเอทานอลตามวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) นั้นมีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดี (MIC เท่ากับ 0.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้จากผลการศึกษาในงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดยังสามารถยับยั้งยีสต์และราเส้นใย (*M. gypseum* และ *T. marneffei*) ได้อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเอทานอลจากทองพันชั่งในการยับยั้งราก่อโรคผิวหนัง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* และ *M. gypseum* พบว่าสารสกัดเอทานอลจากทองพันชั่งสามารถยับยั้งราเส้นใย *M. gypseum* ได้ดี โดยพบสารสำคัญในทองพันชั่งในการออกฤทธิ์คือ Rhinacanthins B, C, N และ Q ซึ่งสารสกัดเอทานอลจากใบทองพันชั่งให้ค่า MIC ในการยับยั้ง *M. gypseum* เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [19] อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากตำรับยานี้มาก่อน แต่พบผลการศึกษาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดในตำรับ ได้แก่ ใบมะค่าไก่ ใบผักเสี้ยนผี ใบหนาด ใบเขยตาย ใบทองพันชั่ง และเหง้าขมิ้นอ้อยพบว่าพืชเหล่านี้เคยมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มาก่อนซึ่งรายงานไว้ว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 6 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้บางสายพันธุ์ในกลุ่มแบคทีเรีย ยีสต์และราเส้นใย โดยให้ค่า MIC ในช่วง 0.025-12.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อเปรียบ

เทียบกับงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากพืชรวมทั้ง 6 ชนิดในตำรับที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ เป็นไปได้ว่าสารสกัดในตำรับจากพืชแต่ละชนิดช่วยเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าพืชเดี่ยว

3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดหยาบ โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบ พบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50}) DPPH และ ABTS เท่ากับ 37.29 ± 1.03 และ 276.65 ± 0.41 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กรดแอสคอร์บิกมีฤทธิ์ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัด นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพบว่า สารสกัดหยาบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 67.00 ± 0.51 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 15.20 ± 1.00 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ (Table 2)

นอกจากนี้ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตำรับยาหลวงพินิจพลนิกร เมื่อเปรียบกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดแต่ละชนิดในตำรับพบว่า สารสกัดจากใบมะค่าไก่ที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ให้

Table 2 Antioxidant activities, total phenolic and total flavonoid contents of active crude extracts

Samples	TPC (mg GAE/g Extract)	TFC (mg QE/g Extract)	DPPH IC_{50} (μg/ml)	ABTS IC_{50} (μg/ml)
Extract	67.00 ± 0.51	15.20 ± 1.00	37.29 ± 1.03	276.65 ± 0.41
L-ascorbic acid			3.53 ± 0.56	6.48 ± 0.62

ค่า IC_{50} เท่ากับ 15.32 ± 0.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากเหง้าขมิ้นชัน (IC_{50} เท่ากับ 22.68 ± 0.48 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดจากใบเสี้ยนผี (IC_{50} เท่ากับ 24.75 ± 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ โดยพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากใบมะค่าไถ่สูงสุดเท่ากับ 124.98 ± 0.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และฟลาโวนอยด์สูงสุดจากเหง้าขมิ้นชัน เท่ากับ 21.00 ± 1.06 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด [7] นอกจากนี้ผลการศึกษายังสอดคล้องกับรายงานของ Sirisombat et al. [21] ที่ทดสอบสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบองค์ประกอบของสารต่างๆ ทั้งสิ้น 24 ชนิดในสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี จากการตรวจสอบงานวิจัยที่มีการรายงานถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่ามี 20 ชนิดที่ถูกรายงานผลไว้แล้ว โดยสามารถแบ่งการแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาตามงานวิจัยได้เป็น 8 กลุ่ม Antioxidant, Antibacterial, Antifungal, Anti-diabetes, Analgesic, Anticancer, Antimicrobial, Anti-dermatitis, Anti-inflammatory และ Local anesthetic ตามลำดับ ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจึงแสดงให้เห็นว่าผักเสี้ยนผี หรือสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีเป็นแหล่งของพฤกษเคมีหลากหลายชนิดที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย นอกจากนี้ Teansuwan et al. [22] ศึกษาสารสกัดจากทองพันชั่งและทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากทองพันชั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 55.56 ± 7.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากรายงานที่ผ่านมาถึงศักยภาพของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดในตำรับพบว่าสารสกัดแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้แตกต่างกัน โดยเมื่อเทียบกับผลการศึกษาศาสตร์สกัดในตำรับรวมที่มีสมุนไพรดังกล่าว พบว่าสารสกัดยังคงมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระแต่ประสิทธิภาพโดยรวมอาจแตกต่างกัน สาเหตุส่วนหนึ่งอาจมาจากปัจจัยของแหล่งพืชสมุนไพรฤดูกาลเก็บเกี่ยว ตลอดจนสัดส่วนของสารสำคัญและ

กลไกการทำงานร่วมกันของสารสกัดหยาบ เช่น การเสริมฤทธิ์ (Synergism) หรือ การยับยั้ง (Antagonism) เป็นต้น [23]

4. สรุป

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากตำรับยาแผนไทย หลวงพินิจพลนิกร ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายกลุ่มทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และราเส้นใย นอกจากนี้สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลยังมีศักยภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดี ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของตำรับยาสมุนไพรเหล่านี้มาก่อน พบเพียงการศึกษาพืชแต่ละชนิด ซึ่งเป็นส่วนประกอบของตำรับยา ดังนั้นผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและแนวทางในการศึกษาต่อตลอดจนการแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของตำรับยาสมุนไพรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ สำหรับการอำนวยความสะดวกและพื้นที่ในการศึกษา นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการดำเนินการวิจัยจนสำเร็จไปด้วยดี

6. References

- [1] Sainz, R.M., Lombo, F. and Mayo, J.C., 2012, Radical decision in cancer: redox control of cell growth and death, *Cancers*. 4(2): 442-474.
- [2] Madarat, N., Khammak, W., Jantarasri, N., Buadee, S., Jiajun, K., Tasana, Buapa, S. and Phongsiri, S., 2022, *Public Health*

- Statistics A.D., 2022, Strategy and Planning Division of Office of the Permanent Secretary Ministry of Public Health, 156 p. (in Thai)
- [3] Chaitosa, R. and Maskasame, W., 2020, Study of side effects of patients receiving cisplatin in the treatment of cervical cancer by age group, RMJ. 43(4): 28-38. (in Thai)
- [4] Chungsamnukool, P., 2022, Incidence, risk factors, mortality rate, and impact of multidrug-resistant gram-negative bloodstream infections in photharam hospital, Reg 4-5 Med J. 41(1): 579-592. (in Thai)
- [5] Chaychalerm Sri, J., Pradubphongsa, P., Mitthamsiri and Sangardpawiriya, A., 2016, Diagnosis and management in patient with penicillin allergy, RTAMedJ. 69(3): 137-146. (in Thai)
- [6] Jansirisak, P., 2025, How to use herbal products safely, JOHCP. 5(1): 7-11. (in Thai)
- [7] Sirisom, N., Khongphakdee, T. and Supaphon, P., 2025, Evaluation of total phenolics, total flavonoids, antioxidant capacity and antimicrobial activity of herbal extracts in Thai traditional medicine recipes, JADES 15(42): 111-122. (in Thai)
- [8] Srithaworn, M., Thuyhun, A. and Chunhachart, O., 2015, Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts from ya-keaw formula against shrimp pathogens, SDU Res. J. 8(2): 117-132. (in Thai)
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012, Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. Approved standard M7-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. 63 p.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2002, Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard M27- A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 29 p.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2002, Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. Approved Standard M38-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 49 p.
- [12] Sarker, S.D., Nahar, L. and Kumarasamy, Y., 2007, Microtiterplate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals, Methods. 42(4): 321-324.
- [13] Ghafar, M.F.A., Prasad, K.N. Weng, K.K. and Ismail, A., 2010, Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from citrus species, Afr. J. Biotechnol. 9(3): 326-330.
- [14] Binsan, W., S. Benjakul, W. Visessanguan, S. Roytrakul, M. Tanaka and H. Kishimura.,

- 2008, Antioxidative activity of mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vanamei*), Food Chem. 106(1): 185-193.
- [15] Sam-ang, P., Phanumartwiwath, A. and Kodsueb, R., 2020, *In vitro* antibacterial and antioxidant activities of gall extracts from *Paederia pilifera*, Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci. 21(1): 78-89. (in Thai)
- [16] Kantakapun, K. and Sukpornma, Y., 2016, Optimization of total phenolics and flavonoids from ginger using response surface methodology, J. Health Sci. 20(39): 69-80. (in Thai)
- [17] Pradabsang, C., Saengwiman, S., Srisawat, S. and Yipong, I., 2024, Solvent optimization of pitang leaves (*Gynochthodes sub lanceolata* Miq.) extraction for bacterial growth inhibition, Prid. Sci. J. 2(1): 9-23. (in Thai)
- [18] Laohaprapanon, S. and Chanwun, T., 2017, Antibacterial of A Traditional Thai Herbal Recipe Against *Staphylococcus epidermidis* Isolated. Report. Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus, 74 p. (in Thai)
- [19] Maneepisamai, Y., Yasin, P. and Simarugumpai, S., 2012, Anti-inflammatory activity and anti-dermatitis-causing bacterial activity of *Blumea balsamifera* (L.) DC. leaf extracts, Chandrakasem Rajabhat Univ. J. 18(35): 33-40. (in Thai)
- [20] Pruksakorn, P., Jaima, C., Panyajai, P., Mekha, N., Autthateinchai, R. and Dhepakson, P., 2018, Antifungal activity of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz extracts against dermatophytes, J Thai Trad Alt Med. 16(2): 205-217. (in Thai)
- [21] Sirisombat, C., Thititanaapipong, P., Srithat, D. and Tongkasee., 2022, Formulation and stability testing of herbal gels with *Cleome viscosa* Linn. crude extract, J. Cannabis Res. 1(2): 1-14. (in Thai)
- [22] Teansuwan, N., Sripanidkulchai, B. and Jaipakdee, N., 2016, Effect of four herb extracts on melanin synthesis, Isan J Pharm Sci. 11(5): 33-42. (in Thai)
- [23] Chaachouay, N., 2025, Synergy, additive effect and antagonism of drugs with plant bioactive Compounds, Drugs Drug Candidates. 4(1): 4