

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาดดาหลา (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith)
Antibacterial Activity of Torch Ginger (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.
Smith) Crude Extracts

สายใจ แก้วอ่อน^{1*}

Saichai Kaew-on^{1*}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาดดาหลาสวนรุก เหง้า ลำต้น ใบ และดอก ในปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอล ตามลำดับ ความเข้มข้นต่อแบคทีเรียก่อโรค 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* O157:H7 *E. coli* ATCC 8739 *Salmonella typhimurium* S003 *S. typhimurium* TISTR 292 *Staphylococcus aureus* TISTR 118 *Pectobacterium carotovorum* และ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าส่วนของดาหลาและชนิดของตัวทำละลายมีส่วนร่วมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ สารสกัดหยาดในเอธิลอะซิเตทและเอทานอลของดาหลาทุกส่วนยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด โดยสารสกัดหยาดราก ลำต้นและใบในเอธิลอะซิเตทเหมาะสมที่สุดต่อการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกชนิด ยกเว้น *S. typhimurium* TISTR 292 ซึ่งสารสกัดหยาดเหง้าในปิโตรเลียมอีเทอร์และรากในเอทานอลยับยั้งได้ดีกว่า ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้สารสกัดดาหลาเป็นสารต้านจุลินทรีย์สำหรับสัตว์และพืชต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดดาหลา *Etlingera elatior* ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
วิทยาเขตนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail : saijai.k@rmuts.ac.th, jump.sa@hotmail.com

Abstract

This research studied on the antibacterial activity of root, rhizome, stem, leave, and flower of torch ginger (*Etlingera elatior*) which successively extracted by petroleum ether, ethyl acetate and ethanol against seven pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* S003, *S. typhimurium* TISTR 292, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Pectobacterium carotovorum* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* by agar well diffusion method. The results showed that the antibacterial activity of crude extracts was significantly ($p < 0.05$) influenced by the interaction of part of torch ginger and the type of solvents. The ethyl acetate and ethanolic crude extracts from all parts of torch ginger inhibited the growth of all tested bacteria. The ethyl acetate crude extract of root, stem and leave of torch ginger was the most suitable for inhibition of all tested bacteria except *S. typhimurium* TISTR 292 which the petroleum ether crude extract of rhizome and the ethanolic crude extract of root provided the better inhibitory. Therefore, it is possible to use torch ginger extract as an antibacterial agent for animals and plants.

Keywords: Torch ginger extract, *Etlingera elatior*, Antibacterial activity

บทนำ

ดาหลา (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) เป็นพืชในวงศ์ Zingiberales วงศ์เดียวกับขิงและข่า เป็นพืชล้มลุกประเภทใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีดอกสวยงาม จึงนิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอก ดาหลามีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยดาหลาเป็นพืชที่มีการปลูกมานานในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ แต่การใช้ประโยชน์ยังอยู่ในวงจำกัด โดยมีการนำหน่ออ่อนและดอกมาใช้เป็นผักประกอบอาหารประเภทข้าวยา เนื่องจากดาหลาไม่ค่อยมีศัตรูพืชเข้าทำลาย การใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดศัตรูพืชจึงมีน้อย และยังไม่มียางานความเป็นพิษของดาหลาต่อผู้บริโภค ดาหลาจึงเป็นพืชที่มีความปลอดภัย และจากการศึกษาทางด้านพิษเคมีของใบ ดอก และเหง้า พบสารสำคัญในกลุ่ม phenolics และ flavonoids ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดดเด่น โดยสารสกัดจากใบมีฤทธิ์มากกว่าดอกและเหง้า ตามลำดับ มีรายงานว่าสารสกัดเมทานอลของใบดาหลามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าพืชตระกูลขิงอีก 4 ชนิด คือ *E. fulgens* *E. maingayi* *E. littoralis* และ *E. rubrostiata* (Chan *et al.*, 2007) ต่อมาพบว่าใบไม่มีสาร sesquiterpenes ถึงร้อยละ 24.5 และสารนี้ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* *Micrococcus luteus* และ *S. aureus* ด้วยความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (minimum inhibitory concentration; MIC) 25 6.3 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Chan *et al.*, 2010) นอกจากนั้นมียางานว่าน้ำมันหอมระเหยของใบยับยั้งการเจริญของ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ด้วย (Abdelwahab *et al.*, 2010) เมื่อนำ

สารสกัดใบในเมทานอลไปแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่ามีสารสกัดย่อยประเภท polymeric tannin ซึ่งมีฤทธิ์ต้าน *M. luteus* *S. aureus* และ *B. cereus* ที่ดีมาก มี minimum inhibitory dose เท่ากับ 0.16 มิลลิกรัม (Chan *et al.*, 2011) นอกจากนั้นมีรายงานการยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* *B. megaterium* และ *E. coli* ของช่อดอกดาหลาด้วย MIC 200 400 และ 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Mackeen *et al.*, 1997) และสารสกัดดอกดาหลาในเมทานอลยับยั้ง *S. aureus* และ *B. thuringiensis* ด้วย MIC 3.12-50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้ง *Salmonella* sp. *B. subtilis* *Proteus mirabilis* และ *E. coli* ด้วย MIC 12.50-50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Lachumy *et al.*, 2010)

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของดาหลามีการศึกษามาบ้างแล้วในส่วนของดอก ใบ และเหง้า ด้วยตัวทำละลายชนิดเดียว งานวิจัยนี้ศึกษาในส่วนของรากและลำต้นเพิ่มเติมด้วยชุดของสารสกัดที่มีลำดับความเข้มข้นสูงขึ้น และคัดเลือกแบคทีเรียทดสอบเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้บ่อยในอาหาร และเป็นสาเหตุของโรคที่เกิดจากอาหารที่สำคัญชนิด *E. coli* *Salmonella* sp. และ *S. aureus* ซึ่งเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารระบุให้มีการตรวจสอบด้วย (ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560) ส่วนแบคทีเรีย *P. carotovorum* ก่อโรคต้นเน่าตายกับขุ่นจำปาตะ โรคเน่าคออ้อย เป็นต้น และ *X. campestris* pv. *campestris* เป็นสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรีย โรคเน่าดำ ในพืชหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ พืชตระกูลกะหล่ำ แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสำคัญในประเทศไทยเนื่องจากประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการแพร่กระจายของเชื้อ (พัฒนา และคณะ, 2537) การกำจัดโรคส่วนใหญ่มักยังคงใช้สารเคมี และยังไม่มีการศึกษาการยับยั้งเชื้อก่อโรคกลุ่มนี้ด้วยสารสกัดจากพืชโดยเฉพาะดาหลา

ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นว่าควรนำดาหลามาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ได้แก่ ราก เหง้า ลำต้น ใบและดอก ต่อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์ คือ *E. coli* O157:H7 *E. coli* ATCC 8739 *S. typhimurium* S003 *S. typhimurium* TISTR 292 และ *S. aureus* TISTR 118 และแบคทีเรียก่อโรคในพืช ได้แก่ *P. carotovorum* และ *X. campestris* pv. *campestris* เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการนำสารสกัดจากพืชมาใช้ทดแทนสารเคมีในการควบคุมโรคในพืชและสัตว์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสารจากดาหลา

ตัวอย่างดาหลาที่ใช้ในงานวิจัยเป็นดาหลาพันธุ์ดอกสีชมพูที่เจริญเติบโตเต็มที่อยู่ในระยะขยายพันธุ์ได้ กรณีใช้ใบเลือกใบแก่ที่ไม่ห่อ นำมาจากพื้นที่ตำบลตาแกะ อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี การเตรียมดาหลาและสารสกัดจากส่วนราก เหง้า ลำต้น ใบ และดอกตัดแปลงจากวิธีการของ Jeyaseelan *et al.* (2010) โดยนำตัวอย่างมาล้างทำความสะอาดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ตากแดดให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน และใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ตามลำดับ ในอัตราส่วนตัวอย่างต่อสารสกัด 1:7 หมักแช่ในสารสกัดละ 7 วัน กรองและระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการหมุน 60 รอบต่อนาที ได้เป็นสารสกัดหยาบ ศึกษาความขึ้นของดาหลาและสารสกัดหยาบตามวิธีการของ ทศนีย์ และคณะ

(2559) โดยอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง บันทึกลักษณะทางกายภาพและ คำนวณหาร้อยละผลผลิตที่ได้ ตามสมการ

$$\text{ร้อยละผลผลิต (\% yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักแห้งของดาหลาที่ใช้ในการสกัด}} \times 100$$

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดดาหลา

2.1 การเตรียมแบคทีเรียทดสอบ

เพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 *E. coli* ATCC 8739 *S. typhimurium* S003 *S. typhimurium* TISTR 292 *S. aureus* TISTR 118 *P. carotovorum* และ *X. campestris* pv. *campestris* ในอาหารเหลว nutrient (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี agar well diffusion

นำแบคทีเรียทดสอบปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารแข็ง mueller hinton ปริมาตร 18 มิลลิลิตร เทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ เมื่ออาหารแข็งเกาะหลุมด้วย cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร สำหรับใส่สารสกัดหยาบซึ่งละลายด้วยตัวทำละลายที่ใช้สกัดความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยใช้ตัวทำละลายเป็นตัวควบคุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส ใช้สารปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (gentamicin) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารควบคุมกำจัดโรคพืชไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (ความเข้มข้นที่แนะนำให้เกษตรกรใช้ควบคุมแบคทีเรียโรคพืช) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) สำหรับทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์และพืชตามลำดับ

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียวด้วยวิธีทางสถิติของผลผลิตและการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัด และวิเคราะห์ผลความแปรปรวนแบบจำแนกสองทางสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากดาหลาส่วนต่างๆ ร่วมกับชนิดของตัวทำละลายด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารจากดาหลา

ดาหลาส่วนราก เหง้า ลำต้น ใบ และดอก เมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอล จะได้สารสกัดที่มีลักษณะทางกายภาพหลากหลาย ตั้งแต่ค่อนข้างเหลวจนถึงข้นหนืดและแข็งแห้ง มีสีแตกต่างกันไป ได้แก่ สีเหลือง เขียว และน้ำตาล ดังแสดงในตารางที่ 1 ร้อยละของสารสกัดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของตัวทำละลายในตัวอย่างส่วนเดียวกัน โดยร้อยละของสารสกัดจากตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอลมีค่าระหว่าง

0.14-3.80 0.77-4.56 และ 2.52-6.78 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงพบในส่วนของดอก (3.80-6.78) และใบ (0.93-4.10) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตในตัวทำละลายชนิดเดียวกันแต่ดาดาลาต่างกัน พบว่าดาดาลาส่วนดอกให้ผลผลิตมากกว่าใบในตัวทำละลายทุกชนิด ในขณะที่ส่วนเหง้าและลำต้นให้ผลผลิตไม่ต่างกันสำหรับตัวทำละลายปิโตรเลียม ส่วนรากและลำต้นให้ผลผลิตไม่ต่างกันในตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทและเอทานอล

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาดดาดาลาส่วนต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดหยาดดาดาลาทั้งใบ ราก ลำต้น เหง้า และดอกมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 7 ชนิด ทั้งนี้ใบ ลำต้น และรากเป็นส่วนที่เหมาะสมที่จะนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบโดยใช้เอธิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย เนื่องจากให้ผลการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 *E. coli* ATCC 8739 *S. typhimurium* S003 *S. typhimurium* TISTR 292 *S. aureus* TISTR 118 และ *P. carotovorum* ได้ดีกว่าเหง้าและดอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนั้นรากสกัดด้วยเอทานอลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* TISTR 292 และใบสกัดด้วยเอทานอลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *P. carotovorum* ได้ดีอีกด้วย ส่วนสารสกัดหยาดเหง้าดาดาลาในปิโตรเลียมให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. typhimurium* TISTR 292 ได้ดีที่สุดเพียงชนิดเดียว โดยมีบริเวณใส (18.53 ± 0.42 มิลลิเมตร) สูงกว่าตัวควบคุมเชิงบวก (17.19 ± 1.20 มิลลิเมตร) สำหรับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคพืช *X. campestris* pv. *campestris* นั้นพบว่าสารสกัดหยาดดาดาลาทั้ง 5 ส่วนในเอธิลอะซิเตทและเอทานอลให้ผลการยับยั้งที่ดี ยกเว้นเพียงลำต้นในเอธิลอะซิเตท และเหง้าในเอทานอลซึ่งให้ผลน้อยกว่า โดยเฉพาะสารสกัดหยาดลำต้นในเอทานอลแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียไม่แตกต่างจากตัวควบคุมเชิงบวก

ตารางที่ 1 ลักษณะกายภาพ และร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากผลส่วนราก เหง้า ลำต้น ใบ และดอก โดยใช้ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอล

ส่วนของดาหลา	ตัวทำละลาย	ผลผลิต (%)	ลักษณะทางกายภาพ
ราก	ปิโตรเลียมอีเทอร์	0.79 ± 0.02^{CC}	หนืด สีน้ำตาลมันวาว
	เอธิลอะซิเตท	0.89 ± 0.01^{bC}	หนืด สีน้ำตาลเข้ม
	เอทานอล	2.71 ± 0.01^{aD}	หนืด น้ำตาลไหม้
เหง้า	ปิโตรเลียมอีเทอร์	0.14 ± 0.02^{CD}	ค่อนข้างเหลว สีเหลืองทอง
	เอธิลอะซิเตท	0.77 ± 0.04^{bC}	แข็ง สีน้ำตาล
	เอทานอล	3.20 ± 0.15^{aC}	หนืด ตะกอนสีน้ำตาล
ลำต้น	ปิโตรเลียมอีเทอร์	0.15 ± 0.02^{CD}	หนืด สีเขียวเข้ม
	เอธิลอะซิเตท	0.72 ± 0.08^{bC}	แห้ง สีน้ำตาลเข้ม
	เอทานอล	2.52 ± 0.09^{aD}	ค่อนข้างเหลวคล้ายน้ำมัน สีน้ำตาล
ใบ	ปิโตรเลียมอีเทอร์	0.93 ± 0.07^{CB}	แข็ง สีเขียวเข้ม
	เอธิลอะซิเตท	2.12 ± 0.18^{bB}	แข็ง สีเขียวเข้ม
	เอทานอล	4.10 ± 0.20^{aB}	หนืด สีเขียวเข้ม
ดอก	ปิโตรเลียมอีเทอร์	3.80 ± 0.06^{CA}	หนืด สีเหลือง มันวาว
	เอธิลอะซิเตท	4.56 ± 0.22^{bA}	หนืด ตะกอนสีน้ำตาล
	เอทานอล	6.78 ± 0.14^{aA}	หนืด น้ำตาลไหม้

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของผลผลิตจากการทดลอง 3 ซ้ำ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่แสดงในดาหลาส่วนเดียวแต่ตัวทำละลายต่างกันที่มีอักษรแตกต่างกัน (a, b,...) และค่าเฉลี่ยที่แสดงในตัวทำละลายเดียวกันต่างส่วนของดาหลาที่มีอักษรแตกต่างกัน (A, B,...) แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบโดยสารสกัดหยาดจากดาหลาส่วนราก เหง้า ลำต้น ใบ และดอก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

ส่วนของ ดาหลา และตัว ควบคุม	ตัว ทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสของสารสกัดหยาดต่อแบคทีเรียทดสอบ (มิลลิเมตร)						
		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S.</i> <i>typhimurium</i> S003	<i>S.</i> <i>typhimurium</i> TISTR 292	<i>S.</i> <i>aureus</i> TISTR 118	<i>P.</i> <i>carotovorum</i>	<i>X. campestris</i> <i>pv. campestris</i>
ราก	ปิโตรเลียม อีเทอร์	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	เอธิลอะซิเตท	12.22± 0.71 ^b	11.71± 0.79 ^b	10.89± 0.82 ^c	10.11± 0.69 ^{de}	12.09± 0.79 ^b	9.94± 0.73 ^{ab}	9.79± 1.17 ^{ab}
	เอทานอล	8.49± 0.14 ^e	8.26± 0.15 ^{de}	8.52± 0.16 ^d	15.12± 1.40 ^b	8.43 ± 0.43 ^{de}	8.68± 0.34 ^{bc}	9.42± 0.37 ^{ab}
	ปิโตรเลียม อีเทอร์	nd	nd	nd	18.53± 0.42 ^a	nd	nd	nd
	เอธิลอะซิเตท	8.53± 0.10 ^e	10.02± 0.53 ^c	8.76± 0.30 ^d	9.64± 0.45 ^{ef}	8.34± 0.94 ^e	8.85± 0.86 ^c	8.85± 0.40 ^b
	เอทานอล	8.07± 0.32 ^e	8.61± 0.34 ^{cde}	8.66± 0.37 ^d	8.51± 0.18 ^f	7.87± 0.52 ^e	8.56± 0.49 ^c	nd
ลำต้น	ปิโตรเลียม อีเทอร์	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	เอธิลอะซิเตท	11.47± 1.31 ^{bc}	12.20± 1.32 ^b	12.55± 1.25 ^b	11.19± 0.26 ^d	11.81± 0.57 ^b	9.41± 0.09 ^{abc}	7.61± 0.74 ^c
	เอทานอล	8.52± 0.11 ^e	8.91± 0.79 ^{cde}	10.21± 0.61 ^{cd}	8.67± 0.15 ^f	10.03± 0.27 ^c	9.08± 0.63 ^{bc}	10.15± 0.86 ^a
ใบ	ปิโตรเลียม อีเทอร์	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	เอธิลอะซิเตท	12.55± 2.13 ^b	12.16± 0.94 ^b	10.85± 2.29 ^c	11.03± 0.20 ^d	11.85± 1.59 ^b	9.30± 0.42 ^{bc}	9.40± 0.45 ^{ab}
	เอทานอล	10.69± 0.11 ^{cd}	7.59± 1.36 ^e	9.92± 0.53 ^{cd}	7.07± 0.13 ^g	9.88± 0.32 ^{cd}	9.93± 0.86 ^{ab}	9.42± 0.37 ^{ab}
ดอก	ปิโตรเลียม อีเทอร์	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	เอธิลอะซิเตท	9.05± 0.59 ^f	9.51± 0.30 ^{cd}	9.95± 0.75 ^{cd}	10.08± 0.73 ^{de}	9.11± 0.74 ^{cde}	9.83± 0.74 ^{abc}	9.95± 0.45 ^{ab}

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ส่วนของ ดาหลา และตัว ควบคุม	ตัวทำ ละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสของสารสกัดหยาดต่อแบคทีเรียทดสอบ (มิลลิเมตร)						
		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S.</i> <i>typhimurium</i> S003	<i>S.</i> <i>typhimurium</i> TISTR 292	<i>S.</i> <i>aureus</i> TISTR 118	<i>P.</i> <i>carotovorum</i>	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>
	เอทานอล	9.43± 0.78 ^{cde}	8.93± 0.19 ^{cde}	9.22± 0.36 ^{cd}	12.47± 1.19 ^c	8.62± 0.17 ^{cde}	9.27± 0.35 ^{bc}	9.97± 0.81 ^{ab}
	เจนดาม์ซิน	16.62± 0.09 ^a	16.28± 0.61 ^a	18.38± 0.42 ^a	15.97± 0.60 ^b	16.93± 1.16 ^a	-	-
	เคสียร์	-	-	-	-	-	10.61± 1.08 ^a	10.43± 0.50 ^a

หมายเหตุ: -ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยบริเวณใสรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมจากการทดลอง 3 ซ้ำ
 -(±) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งหักลบส่วนของ negative control แล้ว
 -ค่าเฉลี่ยที่แสดงในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรแตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)
 -(nd) หมายถึงไม่เกิดบริเวณใส
 -(-) หมายถึงไม่ได้ทดสอบ

ตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าส่วนของดาหลาต่างกันมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเกือบทุกชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย *P. carotovorum* ส่วนการใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันมีผลต่อการยับยั้งของสารสกัดดาหลาต่อแบคทีเรียทุกชนิดแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาส่วนของดาหลาร่วมกับชนิดของตัวทำละลาย พบว่าทั้งสองปัจจัยมีส่วนร่วมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบโดยสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของดาหลา ชนิดของตัวทำละลาย และอิทธิพลร่วมของส่วนของดาหลาและชนิดของตัวทำละลาย

แบคทีเรียทดสอบ	ส่วนของดาหลา		ชนิดของตัวทำละลาย		ส่วนของดาหลา × ชนิดของตัวทำละลาย	
	F	P-value	F	P-value	F	P-value
<i>E. coli</i> O157:H7	11.831	0.000*	101.752	0.000*	7.099	0.000*
<i>E. coli</i> ATCC 8739	2.832	0.042*	156.856	0.000*	5.477	0.000*
<i>S. typhimurium</i> S003	6.538	0.001*	82.297	0.000*	2.908	0.016*
<i>S. typhimurium</i> TISTR 292	63.520	0.000*	17.913	0.000*	141.720	0.000*
<i>S. aureus</i> TISTR 118	17.041	0.000*	133.846	0.000*	7.741	0.000*
<i>P. carotovorum</i>	2.146	0.099	109.734	0.000*	1.964	0.087
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	8.884	0.000*	82.096	0.000*	8.838	0.000*

หมายเหตุ: (*) แสดงว่าสารสกัดมีการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

การอภิปรายผล

การสกัดสารจากใบ ดอก ลำต้น ราก และเหง้าของดาหลา โดยการหมักด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตทและเอทานอลตามลำดับความมีขี้ผึ้ง พบว่าส่วนของดาหลา ชนิดของตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณผลผลิตสารสกัดได้ ทั้งนี้เนื่องจากแต่ละส่วนของดาหลา มีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน มีการจัดเรียงตัวขององค์ประกอบที่ซับซ้อนแตกต่างกันจึงสามารถจะละลายออกมาในสารสกัดได้แตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่าทั้งส่วนของดาหลา ชนิดของตัวทำละลาย รวมถึงอิทธิพลร่วมของทั้งส่วนของดาหลาและชนิดของตัวทำละลายล้วนมีผลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทดสอบ เนื่องจากตัวทำละลายแตกต่างกันมีความสามารถในการละลายสารออกฤทธิ์สำคัญที่เป็นองค์ประกอบในดาหลาแตกต่างกัน จึงมีผลให้สารสกัดหยาบดาหลามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแตกต่างกัน โดยปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งต่ำจึงมีความสามารถในการทำละลายพฤษเคมีในดาหลาต่ำ ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียไม่หลากหลาย อย่างไรก็ตามการที่สารสกัดเหง้าในปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถยับยั้ง *S. typhimurium* TISTR 292 ได้แสดงว่าสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในกลุ่มสารที่มีขี้ผึ้งต่ำ (Nelson and Michael, 2009) ในขณะที่ตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งสูงกว่า ได้แก่ เอธิลอะซิเตทและเอทานอลนั้น โดยรวมมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหลากหลายชนิดและแสดงการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบมากกว่า เป็นไปได้ว่าตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งสูงสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ที่มีขี้ผึ้งสูงออกมาได้มาก โดยเอธิลอะซิเตทเหมาะสมที่จะใช้สกัดสารจากใบ ลำต้นและราก นอกจากนั้นเอทานอลเหมาะสมที่จะใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบเพื่อยับยั้ง *P. carotovorum* มากที่สุด สอดคล้องกับรายงานของ Ekwenye และ Elegalam (2005) ที่ว่า ขิงซึ่งสกัดโดยเอทานอล

ยับยั้งแบคทีเรียได้ดี นอกจากนั้นสารสกัดในเอทานอลและเอธิลอะซิเตทจากพืชอื่น เช่น ใบพลู ก็พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. carotovorum* ได้ดีเช่นกัน (Sottiwilaiwhong *et al.*, 2015) จากผลการทดลองนี้แม้ว่าปริมาณผลผลิตของสารสกัดในเอทานอลสูงกว่าในเอธิลอะซิเตทและปิโตรเลียมอีเทอร์ แต่ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียโดยรวมไม่ได้สูงกว่าเอธิลอะซิเตท แสดงให้เห็นว่าปริมาณผลผลิตของสารสกัดไม่ได้มีอิทธิพลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย ทั้งนี้บทบาทสำคัญในการยับยั้งมาจากสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในสารสกัดเป็นหลัก (Jeyaseelan *et al.*, 2010)

การที่สารสกัดจากหลายยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวก (*S. aureus* TISTR 118) และแกรมลบ (*E. coli* O157:H7 *E. coli* ATCC 8739 *S. typhimurium* S003 *S. typhimurium* TISTR 292 *P. carotovorum* และ *X. campestris* pv. *campestris*) แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดในเอธิลอะซิเตทและเอทานอลเป็นสารออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) เช่นเดียวกับรายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดดอกดาหลาในเอทานอลต่อ *S. aureus* *B. thuringiensis* *E. coli* *Salmonella* sp. *Micrococcus* sp. *B. subtilis* และ *P. mirabilis* (Lachumy *et al.*, 2010) และสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ต้านทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Hindi *et al.*, 2014) นอกจากนั้นยังสอดคล้องกับรายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) และแกรมลบ (*E. coli* และ *P. aeruginosa*) ของสารสกัดในเอธิลอะซิเตทและเอทานอลของพืชชนิดอื่น เช่น ผล ดอกและใบของ *Lawsonia inermis* L. (Jeyaseelan *et al.*, 2012) และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการยับยั้งการเจริญของสารสกัดจากส่วนดอกกับงานวิจัยของ Lachumy *et al.* (2010) ต่อ *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าการสามารถยับยั้งแบคทีเรียสองชนิดนี้ได้เช่นเดียวกัน โดยการศึกษาดังกล่าวแสดงโซนยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองชนิดสูงกว่าจากผลการทดลองนี้ (16 และ 23 มิลลิเมตร ตามลำดับ) หากแต่อาจเกิดเนื่องจากการทดลองนั้นใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่าที่ใช้ในการทดลองนี้ถึงสองเท่า (100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของพฤษเคมีที่พบในสารสกัด ซึ่งสารพฤษเคมีเหล่านั้นจะแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแตกต่างกันออกไป (Jeyaseelan *et al.*, 2012) แม้ว่าการทดลองนี้ไม่ได้ตรวจสอบชนิดของสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาดดาหลา แต่จากรายงานของผู้วิจัยก่อนหน้านี้ซึ่งสกัดดาหลาด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน เมทานอลและเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาดดาหลามีองค์ประกอบของสารอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอล กลัยโคไซด์ เทอร์พีนอยด์ แทนนิน และซาโปนิน ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เสริมฤทธิ์ต้านแบคทีเรียซึ่งกันและกันส่งผลให้สารสกัดหยาดดาหลาด้วยเอทานอลแสดงบริเวณการยับยั้งต่อแบคทีเรียทดสอบสูง (สายใจ และอาอีเซาะส์, 2559) สอดคล้องกับ Jeyaseelan *et al.* (2010) ซึ่งรายงานว่าสารในกลุ่มนี้เป็นผลให้สารสกัดในเอธิลอะซิเตทของดอกและผลของคนที่เขมา (*Vitex negundo*) ตลอดจนหัวของกระเทียม (*Allium sativum*) และสารสกัดในเอทานอลของดอกของคนที่เขมา ยับยั้งการเจริญของ *P. solanacearum* และ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ดี

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาดดาหลามีฟลาโวนอยด์ที่สามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายและให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย ส่วนของดาหลาตลอดจนผลร่วมกันของชนิดตัวทำละลายและส่วนของดาหลา โดยดาหลาส่นราก ลำต้น และใบ ที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตทและเอทานอล ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 *E. coli* ATCC 8739 *S. typhimurium* S003 *S. typhimurium* TISTR 292 *S. aureus* TISTR 118 *P. carotovorum* และ *X. campestris* pv. *campestris* ส่วนสารสกัดเหง้าในปิโตรเลียมอีเทอร์มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้ง *S. typhimurium* TISTR 292 ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดดาหลาซึ่งสกัดแบบต่อเนื่องในปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอลไปใช้ในการควบคุมโรคที่เกิดจากแบคทีเรียทั้งในสัตว์และพืช

เอกสารอ้างอิง

- ทัศนีย์ ปานผดุง สายใจ ปริยะวาที สายัน ชุนนุช และณฤมล บุญราศรี. (2559). การศึกษาคุณภาพของหัวดอกตัง. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 58(4), 270-282.
- ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2560). *เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3*. สืบค้นเมื่อ 30 เมษายน 2561, จาก: http://www.dmsc.moph.go.th/dmscnew/userfiles/files/1S__1286203.pdf.
- พัฒนา สนิธิ รัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัชชู บำรง และอุบล คือประโคน. (2537). *พรรณพืชในภาคไทย*. นนทบุรี: สหมิตรพรินติ้ง.
- สายใจ แก้วอ่อน และอาอีเซาะส์ เบ็ญหาวัน. (2559). *ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดดาหลา (Etlingera elatior) ต่อแบคทีเรียก่อโรคในพืช*. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา, ยะลา.
- Abdelwahab, S.I., Zaman, F.Q., Mariod, A.A., Yaacob, M., Abdelmageed, A.H.A. and Khamis, S. (2010). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of *Etlingera elatior* and *Cinnamomum pubescens* Kochummen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2682-2688.
- Chan, E.W., Lim, Y.Y. and Ali, N.A.M. (2010). Composition and antibacterial activity of essential oils from leaves of *Etlingera* species (Zingiberaceae). *International Journal for the Advancement of Science and Arts*, 1(2), 1-12.
- Chan E.W., Lim, Y.Y. and Omar, M. (2007). Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etlingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 104, 1586-1593.
- Chan, E.W., Lim, Y.Y. and Tan, S.P. (2011). Standardized herbal extract of chlorogenic acid from leaves of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae). *Pharmacognosy Research*, 3(3), 178-184.

- Ekwenye, U.N. and Elegalam, N.N. (2005). Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale*) roscoe and garlic (*Allium sativum* L.) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 1(4), 411-417.
- Hindi, N.K.K., Al-Mahdi, Z.K.A. and Chabuck, Z.A.G. (2014). Antibacterial activity of the aquatic extract of fresh, dry powder ginger, apple vinegar extract of fresh ginger and crude oil of ginger (*Zingiber officinale*) against different types of bacteria in Hilla city, Iraq. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 414-417.
- Jeyaseelan, E.C., Jenothiny, S., Pathmanathan, M.K. and Jeyadevan, J.P. (2012). Antibacterial activity of sequentially extracted organic solvent extracts of fruits, flowers and leaves of *Lawsonia inermis* L. from Jaffna. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), 798-802.
- Jeyaseelan, E.C., Pathmanathan, M.K. and Jeyadevan, J.P. (2010). Inhibitory effect of different solvent extracts of *Vitex negundo* L. and *Allium sativum* L. on phytopathogenic bacteria. *Archives of Applied Science Research*, 2(6), 325-331.
- Lachumy, S.J.T., Sasidharan, S., Sumathy, V. and Zuraini, Z. (2010). Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior* (torch ginger) flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(10), 769-774.
- Mackeen, M.M., Ali, A.M., El-Sharkawy, S.H., Manap, M.Y., Salleh, K.M. and Lajis, N.H. (1997). Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). *International Journal of Pharmacognosy*, 35(3), 174-178.
- Nelson, R.A. and Michael, A. (2009). Study on the areca nut for its antimicrobial properties. *Journal of Young Pharmacists*, 1, 42-45.
- Sottiwilaiwhong, J., Chuaboon, W. and Athinuwat, D. (2015). Plant extracts controlling soft rot disease of chinese cabbage. *Thai Journal of Science and Technology*, 4(3), 243-254.