



ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดตำรับยาจันทพูไทยและตำรับยาประสะจันทน์แดง

Antibacterial Activity of Extracts from Chanthaharuethai
and Prasachandaeng Formulationsพัทธินันท์ วาริชนันท์^{1*}, ดาลัด ศิริวัน¹ และสาวิตรี ดือราแม²Patthinan Varichanan^{1*}, Dalad Siriwan¹ and Sawitree Dueramea²¹สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900²สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90112¹Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, Thailand, 10900²Division of Biological Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112

*Corresponding author, e-mail: ifrptn@ku.ac.th

(Received: Mar 13, 2023; Revised: Aug 4, 2023; Accepted: Aug 16, 2023)

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่เกิดจากการติดเชื้อเพิ่มสูงขึ้นทุกปี สมุนไพรไทยจึงเป็นทางเลือกในการป้องกันและรักษาโรคที่กำลังเป็นที่นิยมของผู้บริโภค ตำรับยาจันทพูไทยและตำรับยาประสะจันทน์แดง เป็นตำรับยาแผนโบราณของไทยที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อจากจุลินทรีย์มาเป็นเวลานาน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากตำรับยาทั้ง 2 ตำรับในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นกลุ่มตัวแทนของแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแกรมลบ ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดทั้ง 2 ตำรับที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 100 ถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบซึ่งสูงกว่าสารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่น และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดตำรับยาจันทพูไทยที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีที่สุด ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดจึงมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคซึ่งฤทธิ์ในการยับยั้งจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและความเข้มข้นของสารสกัด ทั้งนี้ควรมีการศึกษาผลของสารสกัดต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์เพิ่มเติมเพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่จะช่วยสนับสนุนการใช้ตำรับยาสมุนไพรไทยต่อไป

คำสำคัญ : ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย สารสกัดตำรับยาจันทพูไทย สารสกัดตำรับยาประสะจันทน์แดง ยาสมุนไพรไทย

Abstract

Nowadays, there are new diseases caused by bacterial infections increasing every year. Thai herbal medicine is a popular choice for the prevention and treatment of infectious diseases. Chanthaharuethai and Prasachandang formulations are traditional Thai medicine used to treat microbial infections for a long time. This research aimed to study the antibacterial activities of extracts from Chanthaharuethai and Prasachandang formulations extracted using distilled water and 95% ethanol as solvents. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 are standard strains of pathogenic bacteria and were used as representative groups of gram-positive and gram-negative bacteria, respectively. The result of antibacterial activities found that both extracts that extraction with 95% ethanol solvent at dilute concentrations of 100-500 µg/ml effectively inhibited both gram-positive and gram-negative pathogens higher than that of distilled water. The extract of Prasachandang formulation

that was extracted with 95% ethanol at a dilute concentration of 500 µg/ml gave the highest inhibition to *S. aureus* ATCC 25923. While the extract of Chanthaharuethai formulation extracted with 95% ethanol at a dilute concentration of 500 µg/ml gave the highest inhibition to *E. coli* ATCC 25922. The antimicrobial activity of the extract from Chanthaharuethai and Prasachandang formulations depends on the type of solvent used in the extraction and the concentration of the extract. However, further studies on the effects of extracts on probiotic microorganisms should be conducted to provide scientific information to support Thai herbal formulations in the future.

Keywords: Antibacterial activity, Chanthaharuethai extracts, Prasachandaeng extracts, Traditional Thai medicine

บทนำ

ปัจจุบันสมุนไพรเป็นทางเลือกในการป้องกันและรักษาโรคที่กำลังเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากมีโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่เกิดจากการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้นทุกปี (Chusrihong *et al.*, 2022) ประเทศไทยมีการใช้สมุนไพรตามตำรับยาแผนโบราณในการรักษาโรคติดเชื้อจากจุลชีพมาเป็นเวลานาน กลุ่มอุตสาหกรรมยาจึงให้ความสนใจในการพัฒนายาต้านจุลชีพจากสมุนไพรมากขึ้น (Temsiririrkkul *et al.*, 2012) โดยตำรับยาจันทพฤษภนั้นเป็นตำรับยาในคัมภีร์ตักศิลาในกลุ่มของตำรับยาครอบงำที่ช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อโรคแทรกซ้อนเข้าสู่อวัยวะภายในและไม่กลับไปเป็นซ้ำอีก (Thongkam, 2016) ตำรับยาจันทพฤษภ ประกอบด้วยสมุนไพร 27 ชนิดได้แก่ จันทน์แดง จันทน์ขาว จันทน์เทศ กระลำพัก ขอนดอก มวกแดง ไคร้เครือ แก่นพรม หัวหมากพาด ชะเอมเทศ เนระพูสี หวายตะคร้ำ โศภสอ โกรฐจุฬาลัมพา โกรฐพุงปลา มะลิ โกรฐก้านพร้าว โกรฐหัวบัว พิกุล บุนนาค สารภี เกสรบัวหลวง หวายตะมอย พืชนาคน ลำพัน ชะมด และพิมเสน ส่วนตำรับยาประสะจันทน์แดง เป็นตำรับยาที่ถูกจัดไว้ในบัญชียาจากสมุนไพรมีสรรพคุณแก้ไข้ ตัวร้อน แก้อ่อนใน กระหายน้ำ โดยเฉพาะอาการตัวร้อน มีไข้สูง โดยไม่มีอาการหวัด ซึ่งอยู่ในกลุ่มตำรับยากระทุ้งพิษไข้ ตำรับยาประสะจันทน์แดง ประกอบด้วยสมุนไพร 12 ชนิด ได้แก่ จันทน์แดง โกรฐหัวบัว จันทน์เทศ เปราะหอม ผางเสน มะนาว มะปรางหวาน เหมือดคน บัวหลวง บุนนาค มะลิ และสารภี ซึ่งตำรับยาทั้ง 2 ตำรับนี้ มีสมุนไพรที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย เช่น แก่นจันทน์แดง ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Diphtheria bacilli* และ *Bacillus anthracis* (Jia-Yi *et al.*, 2014) และ ดอกบุนนาค มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* *Bacillus* spp. *Salmonella* spp. *Pseudomonas* spp. และ *Streptococcus pneumonia* (Adiana *et al.*, 2019) โดยสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจะมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีกลไกในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ATPase บนไซโทพลาสมิกเมมเบรนของเชื้อแบคทีเรียทำให้กระบวนการส่งผ่านอาหาร โดยสารประกอบฟีนอลิกจะแทรกตัวเข้าไปในส่วนของไขมันที่อยู่ในส่วนของผนังเซลล์ชั้นใน ส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของส่วนประกอบภายในเซลล์อย่างรวดเร็ว (Jingru *et al.*, 2022) นอกจากนี้การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่แตกต่างกัน ดังนั้นฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการสกัด (Ekaiko *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตามตำรับยาทั้ง 2 ตำรับนี้ ยังมีการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคและมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนค่อนข้างน้อย ดังนั้นเพื่อให้มีข้อมูลสนับสนุนการใช้ตำรับยาสมุนไพรอย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น การศึกษาวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบของสารสกัดจากตำรับยาจันทพฤษภและตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลจากการศึกษาวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการส่งเสริมการใช้ตำรับยาสมุนไพรในการรักษาโรคและสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคในวงกว้างต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมสารสกัดจากตำรับยาจันทพฤษภและตำรับยาประสะจันทน์แดง

นำตำรับยาจันทพฤษภและตำรับยาประสะจันทน์แดงมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนตัวอย่าง 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าบน Water bath



shaker เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ 37 องศาเซลเซียส โดยดัดแปลงจากวิธีการสกัดของ Zhang *et al.* (2018) จากนั้นนำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และเก็บตัวอย่างสารสกัดไว้ในขวดสีชาปิดสนิทที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง จากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดที่ได้มาเจือจางโดยใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นตัวทำละลาย ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต้านยาต้านจุลชีพและต้านยาประสะจันทน์แดง ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคต่อไป

2. เตรียมแบคทีเรียก่อโรค

เตรียมแบคทีเรียก่อโรคสำหรับการใช้ในการทดลองโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Mounyr *et al.* (2016) โดยใช้แบคทีเรียก่อโรคจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923 และ *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคนานาพันธุ์มาตรฐานที่ใช้เป็นกลุ่มตัวแทนของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ที่ได้จาก American Type Culture Collection โดยนำเชื้อจากตู้เก็บเชื้อแบคทีเรียที่ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส มาเพาะลงเลี้ยงในอาหารเหลว Muller Hinton broth แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เซลล์แขวนลอยอยู่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โดยปรับความหนาแน่นของเซลล์เทียบกับ 0.5 McFarland standard โดยใช้ตาเปล่า จะได้ปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. ศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดต้านยาต้านจุลชีพและต้านยาประสะจันทน์แดงที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี Agar well diffusion

การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากตำรับยาต้านจุลชีพและต้านยาประสะจันทน์แดงดัดแปลงจากวิธีการของ Mounyr *et al.* (2016) โดยนำแบคทีเรียก่อโรคที่เตรียมไว้มาทำการเกลี่ยให้ทั่วบนอาหารแข็ง Muller Hinton Agar ด้วยไม้พินสำลีที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นเจาะหลุมด้วยชุดที่ปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร เติมสารสกัดความเข้มข้น 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นคว่ำเพลาแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง ทั้งนี้ในการทดลองได้ใช้ยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และ DMSO เป็นชุดควบคุมเชิงลบ

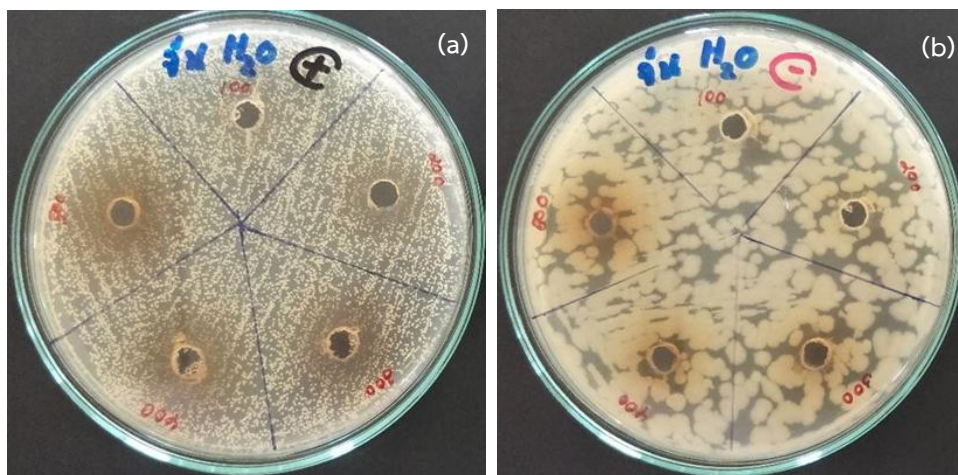
4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ Least Significant Difference (LSD) โดยโปรแกรม SPSS (IBM version 25)

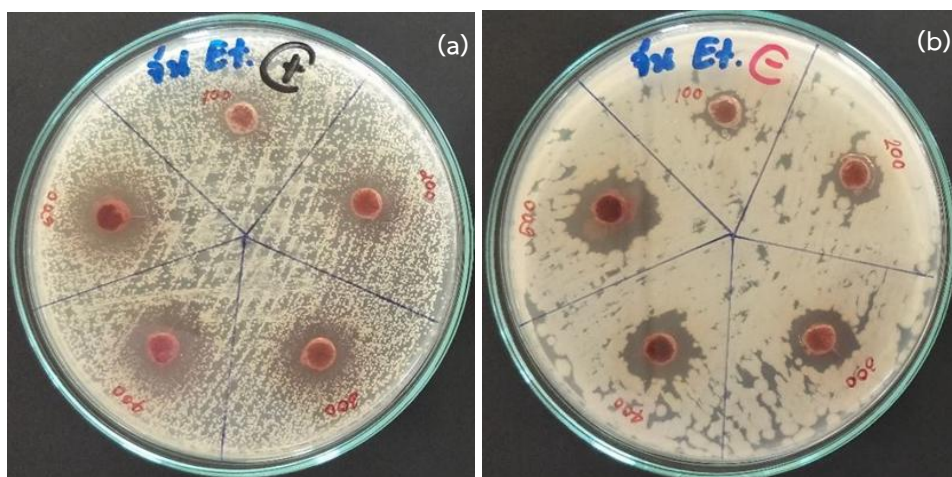
ผลการวิจัย

การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดต้านยาต้านจุลชีพและต้านยาประสะจันทน์แดง

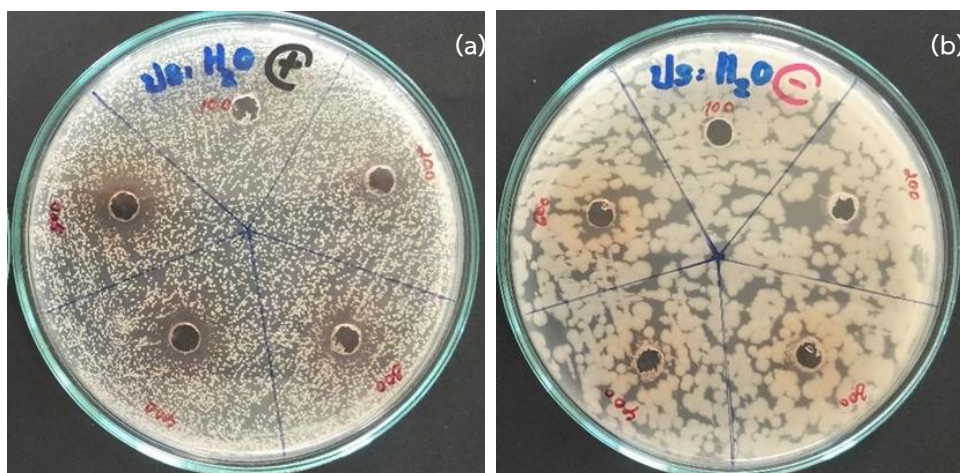
จากการนำสารสกัดของตำรับยา 2 ตำรับ ได้แก่ ตำรับยาต้านจุลชีพและต้านยาประสะจันทน์แดงที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มาเจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต้านยาต้านจุลชีพ และต้านยาประสะจันทน์แดงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคนานาพันธุ์มาตรฐาน มาใช้เป็นกลุ่มตัวแทนของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923 และ *E. coli* ATCC 25922 ตามลำดับ ด้วยวิธี Agar well diffusion ดังแสดงภาพที่ 1 2 3 และ 4 ซึ่งในการทดลองใช้ยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และ DMSO เป็นชุดควบคุมเชิงลบ โดยยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยให้ขนาดบริเวณยับยั้งเป็น 24.25 ± 0.05 และ 24.50 ± 0.24 มิลลิเมตร



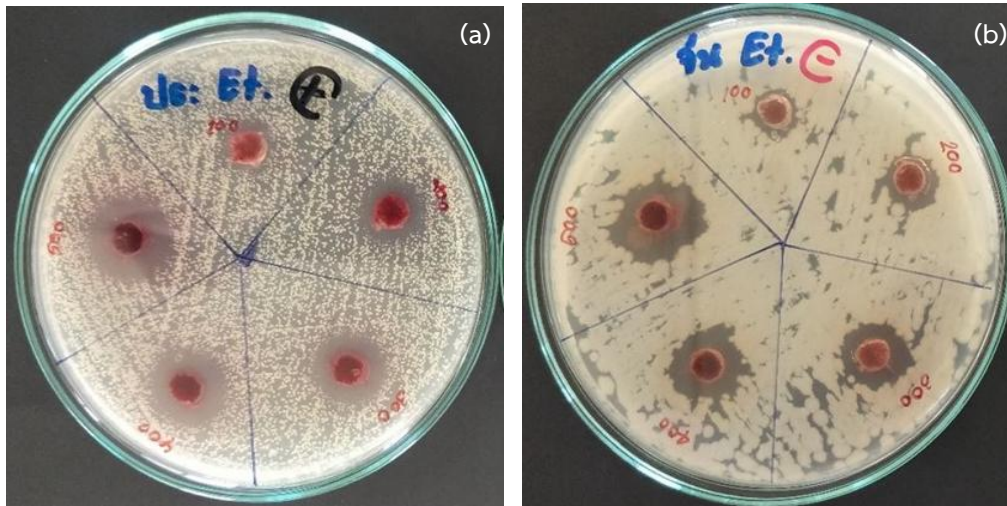
ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ (a) แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 และ (b) แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ของสารสกัดตำรับยาจันทพฤษกัณฑ์สกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ (a) แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 และ (b) แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ของสารสกัดตำรับยาจันทพฤษกัณฑ์สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ (a) แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 และ (b) แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ของสารสกัดตำรับยาประสะจันทน์แดงสกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ (a) แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 และ (b) แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ของสารสกัดตำรับยาประสะจันทน์แดง สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองพบว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (ดังแสดงในภาพที่ 2 (a),(b) และภาพที่ 4 (a),(b)) ในขณะที่ตำรับยาจันทฤทธิ์ และตำรับยาประสะจันทน์แดงสกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ (ดังแสดงในภาพที่ 1(a),(b) และภาพที่ 3(a),(b)) ซึ่งผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดตำรับยาจันทฤทธิ์ และตำรับยาประสะจันทน์แดงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคนาน 2 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 พบว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ในขณะที่ตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารสกัดตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี Agar well diffusion

ตำรับยา	วิธีการสกัด	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก <i>S. aureus</i> ATCC 25923 (มิลลิเมตร)				
		(Mean±SD)				
		ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		100	200	300	400	500
จันทฤทธิ์	น้ำกลั่น	-	13.46±0.96 ^{ab}	14.94±0.40 ^{aAB}	15.30±0.70 ^{abAB}	17.30±1.01 ^{abA}
	เอทานอล 95%	10.63±0.27 ^{bc}	12.67±0.47 ^{ab}	13.43±0.03 ^{abAB}	15.37±0.81 ^{abA}	15.14±0.76 ^{abA}
ประสะจันทน์แดง	น้ำกลั่น	-	10.80±1.02 ^{ab}	11.50±0.30 ^{bAB}	12.65±0.59 ^{bAB}	13.75±0.77 ^{bA}
	เอทานอล 95%	11.18±0.02 ^{ac}	13.78±0.92 ^{abC}	15.25±0.85 ^{aAB}	16.41±0.81 ^{aAB}	17.62±0.88 ^{aA}

หมายเหตุ อักษร a และ b ที่แสดงในแนวนตั้ง และอักษร A และ B ที่แสดงในแนวนอน หมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของสารสกัด 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของตำรับยาทั้ง 2 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ; -, ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 200-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของตำรับยาจันทฤทธิ์ที่สกัดด้วยน้ำกลั่นอยู่ระหว่าง 13.46 ± 0.96 ถึง 17.30 ± 1.01 มิลลิเมตร และมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของตำรับยาจันทฤทธิ์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ อยู่ระหว่าง 12.67 ± 0.47 ถึง 15.14 ± 0.76 มิลลิเมตร ในขณะที่ตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งที่สูงที่สุด (17.62 ± 0.88 มิลลิเมตร) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นพบว่ามีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเป็น 13.75 ± 0.77 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตามพบว่า ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกของตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 300-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเป็น 15.25 ± 0.85 และ 16.41 ± 0.81 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากผลการทดลองสรุปได้ว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก *S. aureus* ได้กว้างขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น และพบว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดตำรับยาจันทฤทธิ์ และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ด้วยวิธี Agar well diffusion

ตำรับยา	วิธีการสกัด	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ <i>E. coli</i> ATCC 25922 (มิลลิเมตร)				
		(mean $\pm$ SD)				
		ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		100	200	300	400	500
จันทฤทธิ์	น้ำกลั่น	-	10.60 ± 0.66^{bA}	10.50 ± 0.50^{bA}	10.56 ± 0.26^{cA}	10.69 ± 0.13^{bA}
	เอทานอล 95%	11.14 ± 0.86^{aB}	12.55 ± 0.09^{aB}	13.55 ± 0.41^{aB}	14.61 ± 0.01^{bAB}	17.72 ± 1.84^{aA}
ประสะจันทน์แดง	น้ำกลั่น	-	-	10.04 ± 0.38^{bB}	10.45 ± 0.15^{cB}	11.48 ± 0.10^{bA}
	เอทานอล 95%	10.65 ± 0.45^{aD}	13.94 ± 0.26^{aC}	14.85 ± 0.65^{aBC}	15.81 ± 0.01^{aAB}	16.63 ± 0.27^{aA}

หมายเหตุ อักษร a และ b ที่แสดงในแนวนตั้ง และอักษร A และ B ที่แสดงในแนวนอน หมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของสารสกัด 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของตำรับยาทั้ง 2 ตำรับที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ; -, ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ

จากผลการทดลองในตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีที่สุด ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งที่สูงที่สุด (17.72 ± 1.84 มิลลิเมตร) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นพบว่ามีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของความเข้มข้น 200-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ระหว่าง 10.60 ± 0.66 ถึง 10.69 ± 0.13 มิลลิเมตร และ 10.04 ± 0.38 ถึง 11.48 ± 0.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองดังกล่าว สรุปได้ว่า ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย



แกรมลบของตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ *E. coli* ได้กว้างขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 11.14 ± 0.86 ถึง 17.72 ± 1.84 และ 10.65 ± 0.45 ถึง 16.63 ± 0.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่า ตำรับยาจันทฤทธิ์ที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางความเข้มข้น 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดจากตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแกรมลบ แสดงให้เห็นว่า การใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดสารนั้นมีผลทำให้ได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดของตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ที่ใช้ทดสอบได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบสูงกว่าสารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่น โดยตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ที่เจือจางความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด และตำรับยาจันทฤทธิ์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดของทั้งสองตำรับยาที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่เจือจางความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 และแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sangphum *et al.* (2017) ที่ได้ศึกษาผลของสารสกัดตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และน้ำกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* DMST 20651 ได้ โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 10.00 ± 1.00 และ 11.67 ± 0.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยสกัดด้วยน้ำกลั่น ที่ความเข้มข้น 100 mg/ml ไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ใช้ในการศึกษาได้ อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นถึงดัชนีความมีขี้้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ส่งผลต่อการสกัดสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดที่ไม่มีขี้้วนั้น จะได้สารสกัดที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อหรือมีฤทธิ์ค่อนข้างน้อย เนื่องจากสารสกัดชนิดที่ไม่มีขี้้วจะไม่พบสารกลุ่มฟิโตรกลูซินอล (Phloroglucinol) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Phuphanee & Thongekkaew (2022) ที่ได้ทำการสกัดสารจากปลีกล้วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกัน และวิธีการสกัดต่างกัน พบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบที่มีในปลีกล้วยมีหลายชนิดที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายที่ไม่มีขี้้ว เช่น เฮกเซน จะไม่พบสารที่ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีขี้้วสูง เช่น เอทานอล และน้ำ พบว่า สารสกัดที่ได้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยจะพบสารประกอบฟีนอลิกหรือสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขี้้ว โดยการมีปริมาณฟีนอลิกที่สูงนั้นจะบ่งชี้ถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่สูงตามไปด้วย (Ekaiko *et al.*, 2016) และจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าตำรับยาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าตำรับยาที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เนื่องจากเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกหลากหลายชนิดกว่าไม่เฉพาะสารที่มีขี้้ว มีขี้้วอ่อน ๆ และไม่มีขี้้วบางส่วนออกมาได้ด้วย (Kaenu & Kongkham, 2020) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากกลไกการดื้อยาของแบคทีเรียแกรมลบที่สร้าง Efflux pump เพื่อขับสารสกัดออกจากเซลล์ ทำให้ปริมาณสารสกัดในเซลล์แบคทีเรียลดลง และหากพิจารณาจากขนาดของบริเวณยับยั้งจะพบว่าบริเวณยับยั้งของแบคทีเรียแกรมบวกที่สูงกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้เป็นผลมาจากแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบมีองค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน โดยในแบคทีเรีย แกรมบวกมีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่เป็นเปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ และมีกรดไทโคอิก (Teichoic acid) ที่เชื่อมกับเปปติโดไกลแคนด้วยพันธะโควาเลนต์ที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงของผนังเซลล์ ซึ่งเปปติโดไกลแคนของแบคทีเรียแกรมบวกจะหนากว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกไม่มีประสิทธิภาพในการเลือกการผ่านเข้าออกของสาร ส่งผลให้แบคทีเรียแกรมบวก

มีความไวต่อสารสกัดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบที่มีโครงสร้างผนังเซลล์ที่ซับซ้อนกว่า (Mohammadi *et al.*, 2014) โดยแบคทีเรียแกรมลบจะมีไลโปโปรตีน (Lipoprotein) และไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharides) ที่มีความสามารถในการต่อต้านสารยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวกทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบยอมให้สารผ่านผนังเซลล์ได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก สารสกัดจึงเข้าไปทำลายหรือรบกวนการทำงานของบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Koohsari *et al.*, 2015) นอกจากนี้ยังมีการวิจัยสมุนไพรที่ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยได้ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบพบว่า ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในสารสกัดสมุนไพรและพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรบางชนิดที่ทำการศึกษามีการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Tantipaibulvut *et al.*, 2012)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแกรมลบ แสดงให้เห็นว่า การใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดสารมีผลทำให้ได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้แตกต่างกัน ผลจากการทดลองนี้ พบว่า สารสกัดของตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบสูงกว่าสารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำกลั่น ซึ่งฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการสกัดและความเข้มข้นของสารสกัด โดยตำรับยาประสะจันทน์แดงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดตำรับยาจันทฤทธิ์ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาวินิจฉัยผลของสารสกัดที่มีผลต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์เนื่องจากฤทธิ์ของสารสกัดของตำรับยาจันทฤทธิ์และตำรับยาประสะจันทน์แดงอาจส่งผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ด้วยและควรศึกษาชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตำรับยาทั้งสองชนิดเพิ่มเติมเพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้สนับสนุนการใช้ตำรับยาสมุนไพรไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย จากสำนักงานวิจัยและพัฒนาการเกษตร องค์การมหาชน (สวก.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ภายใต้โครงการ การศึกษาประสิทธิภาพของตำรับยาสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในการเสริมภูมิคุ้มกันและยับยั้งกลไกการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ (COVID-19) เพื่อนำประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหาร และขอขอบคุณฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์เพื่อใช้ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Adiana, A., Nurhanan, Y. & Chee, J. (2019). Anti-cancer, antimicrobial, and antioxidative potentials of *Mesua ferrea* L. and its phytochemical constituents: a review. *Asian Journal of Pharmacognosy*, 3(3), 5-19.
- Chusurithong, R., Thipsut, T. & Manluan, K. (2022). Important herbs in the era of covid for the public. *Journal of Social Science for Local Rajabhat Mahasarakham University*, 6(1), 293-300. (in Thai)
- Ekaiko, M. U., Ajuga, M. U., Okeke, I. M., Arinze, A. G. & Ndulaka, J. C. (2016). Antimicrobial effect of *Chromolaena Odorata* (L.) and *Vernonia Amygdalina* Del. leaf extract on clinical isolates from infected wound. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 11(3), 83-86.
- Jingru, L., Xuan, H. & Guo, M. (2022). Antimicrobial activities and mechanisms of extract and components of herbs in East Asia. *Royal Society of Chemistry*, 12, 29197-29213.



- Jia-Yi, F., Tao, Y., Chui-Mei, S., Lin, Z., Wan-Ling, P., Ya-Zhou, Z., *et al.* (2014). A systematic review of the botanical, phytochemical and pharmacological profile of *Dracaena cochinchinensis*, a plant source of the ethnomedicine “Dragon’s Blood”. *Molecules*, 19,10650-10669.
- Kaenu, I. & Kongkham, S. (2020). Effect of ethanolic extraction and partial purification on phenolic compounds content and antioxidant capacities of *Caesalpinia sappan* Heartwood. *Thai Journal of Science and Technology*, 10(1), 96-108. (in Thai)
- Koohsari, H., Ghaemi, E., Sheshpoli, M., Jahedi, M. & Zahiri, M. (2015). The investigation of antibacterial activity of selected native plants from North of Iran. *Journal of Medicine and Life*, 8(2), 38-42.
- Mohammadi, A., Amrollahi, H., Malek, F. & Nazari, H. (2014). In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(3), 186-194.
- Mounyr, B., Moulay, S. & Saad, K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6,71-79.
- Phuphanee, W. & Thongekkaew, J. (2022). Antibacterial activity of banana blossom extract against pathogenic bacteria. *The 16th Research and Innovation for SDGs in the Next Normal Conference*, July 11-12, 2022. Ubon Ratchathani: Ubon Ratchathani University. (in Thai)
- Sangphum, A., Chaipayatthanananthn, P. & Itharat, A. (2017). Antibacterial Activity of Extracts from a Thai Traditional Remedy Called Prasachandaeng and Its Plant Components. *J Med Assoc Thai*, 100(5), 58-66.
- Tantipaibulvut, S., Nuamsetti, T. & Dechayuenyong, P. (2012). Antibacterial activity of some fruit-peel extracts. *KKU Research Journal*, 17(6), 880-894.
- Temsiririrkkul, R., Prathantharuk, S., Suakul, W. & Keawwongchan, J. (2012). *Thai herbs and medicinal formulas: selection based on academic principles* (1st ed). Bangkok: Samlada Co., Ltd. (in Thai)
- Thongkam, A. (2016). Ya Ha Rak. *SanNakhonsithammarat*, 46(3), 91-95. (in Thai)
- Zhang, Q. W., Lin, L. G. & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 1-26.