

การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดโดยใช้สารสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน Growth Inhibition of Some Pathogenic Bacteria by Local Medicinal Plant Extracts

อัฐญาพร ชัยชมภู¹ และนฤมล ทองไว¹

Auttayaporn Chaichompoo¹ and Narumol Thongwai¹

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคบนผิวหนัง 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* O157:H7, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* โดยนำสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลมาทดสอบกับเชื้อก่อโรคด้วยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution พบว่ามะยมที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้ง การเจริญของ *E. coli* O157:H7 โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มะยม กลอย และมะเนียงน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC เท่ากับ 500, >500 และ >500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส้อมที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* และ MRSA โดยมีค่า MIC เท่ากับ 31.2, 3.9 และ 7.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า MBC เท่ากับ 62.5, 15.6 และ 31.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส้อมและกระดังงาให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* โดยมีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 31.2 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่ามะเนียงน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลมีความเป็นพิษสูงที่สุด รองมาคือบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอลโดยมีค่า CD_{50} เท่ากับ 0.04 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : พืชสมุนไพร ความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง, disc diffusion, broth dilution

ABSTRACT

Ten medicinal plants were extracted by water and ethanol. All medicinal plant extracts were tested their growth inhibitory effect on 6 pathogenic bacteria i.e. *Escherichia coli* O157:H7, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* by an agar disc diffusion and a broth dilution methods. It was found that the ethanolic extract of *Phyllanthus acidus* showed the highest activity against *E. coli* O157:H7 with MIC value of 250 mg/ml and MBC value of 500 mg/ml whereas *P. acnes* showed the highest sensitivity to ethanolic extracts of *Aesculus assamica*, *Dioscorea hispida* and *Ph. acidus* with the MIC value of 250 mg/ml and the MBC values of >500, >500 and 500 mg/ml,

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

respectively. Moreover, the ethanolic extract of *Baphicacanthus cusia* showed the highest activity against *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* and MRSA with MIC values of 31.2, 3.9 and 7.8 mg/ml and MBC values of 62.5, 15.6 and 31.2 mg/ml, respectively. Ethanolic extracts of *B. cusia* and *Cananga odorata* showed the highest activity against *S. epidermidis* with MIC value of 31.2 mg/ml and MBC value of 62.5 mg/ml. Cytotoxicity of extracts were tested on Vero cells. It was found that ethanolic extracts of *A. assamica* showed the highest toxicity followed by *Gnetum montanum* with CD_{50} of 0.04 and 0.16 mg/ml.

Key Words : medicinal plant, Cytotoxicity, agar disc diffusion, broth dilution

E-mail : chaichompoo@hotmail.com

คำนำ

ปัจจุบันพืชสมุนไพรมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากยาที่ใช้อยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เมื่อใช้เป็นเวลานานจะทำให้เกิดการสะสมของสารพิษ และเชื้อก่อโรคสามารถปรับตัวทำให้เกิดการดื้อยา การที่เชื้อโรคมีการพัฒนาสายพันธุ์เพื่อการอยู่รอดตลอดเวลา ก่อให้เกิดความรุนแรงและการดื้อยามากขึ้นเป็นลำดับ ยาที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ที่สามารถต้านการดื้อยาและรักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ มักมีราคาแพงเพราะต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นด้วยความอุดมสมบูรณ์และความหลากหลายทางชีวภาพของพืชในประเทศไทย ภูมิปัญญาในการนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นยาตั้งแต่สมัยโบราณ และความก้าวหน้าด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงมีผู้นำสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์มากขึ้น เพราะหาได้ตามธรรมชาติทั่วไป มีผลข้างเคียงต่อร่างกายของผู้ใช้น้อยและราคาค่อนข้างถูก สามารถนำมาใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบันที่มีราคาแพง อีกทั้งยาที่ได้จากพืชสมุนไพรนี้อาจช่วยแก้ปัญหาเรื่องการดื้อยาของเชื้อก่อโรคได้

โรคติดเชื้อทางผิวหนังเป็นโรคที่พบได้บ่อยในผู้คนทุกเพศทุกวัย ทั้งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา ไวรัส และแบคทีเรีย โดยเชื้อก่อโรคแต่ละสายพันธุ์จะก่อความรุนแรงของโรคที่แตกต่างกันไป ในส่วนของเชื้อแบคทีเรียที่พบทั่วไป เช่น *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* อาจก่อให้เกิดแผลพุพอง ฝีหนอง หรือสิว ซึ่งสามารถรักษาได้โดยใช้ยาต้านจุลชีพทั่วไป แต่ถ้าเป็นเชื้อดื้อยาจะมีความรุนแรงในการก่อโรคสูงและยากต่อการรักษา จะต้องใช้ยาต้านจุลชีพหลายขนานร่วมกันในการรักษา ซึ่งมีราคาแพงและมีฤทธิ์ข้างเคียงสูงในการรักษา ดังนั้นพืชสมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจและถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาพบว่าสมุนไพรหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคและฆ่าเชื้อก่อโรคได้ เช่น *P. acnes* ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารสกัดจาก rose (*Rosa damascene* Mill.) duzhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) และ yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) ซึ่งนอกจากจะยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคแล้วยังมีผลต่อการหลั่งสารที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบให้มีปริมาณที่น้อยลงได้อีกด้วย (Tsai et al., 2010) *S. epidermidis* สามารถถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยหลายชนิด เช่น กระชาย เทพทาโร เนียมหูเสือ ผักชีฝรั่ง ผักไผ่ ส้มโอ เสม็ดขาว มหาหงส์ มะมุด และไม้หอมอินเดีย (กนกวรรณ และ กัญญา, 2552) *S. aureus* สามารถถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสาร vernolide และ vernodalol ที่สกัดได้จากใบของต้น bitter (*Vernonia amygdalina* Delile.) (Erasto et al., 2006) รากของต้นไผ่แมกซิกัน

(*Polygonum cuspidatum* Siebold & Zucc.) (Shan *et al.*, 2007) และรากและใบของพืชตระกูล Cistaceae (Barrajon-Catalan *et al.*, 2010) *E. coli* ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารสกัดจากพืชหลายชนิดเช่น goraka (*Garcinia quaesita* Pierre.), galanga root (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.) และ lemon iron bark (*Eucalyptus staigerana* F. Muell.) (Weerakkody *et al.*, 2010) ส่วน MRSA ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ evergreen dogwood (*Cornus angustata* Chun.), pinyin (*Elsholtzia rugulosa* Hemsl.) และ nauhri (*Elsholtzia blanda* Benth.) (Zuo *et al.*, 2008) เป็นต้น

จะเห็นว่าพืชสมุนไพรหลายชนิด มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนังได้ และยังมีพืชสมุนไพรอีกหลายชนิดที่ยังไม่เคยมีการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค นอกจากนี้ยาหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสารสกัดสมุนไพรยังต้องการการพัฒนาและปรับปรุง โดยเฉพาะการผลิตเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคทดแทนยาที่ได้จากสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ในปัจจุบัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดที่พบบนผิวหนังเพื่อใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ยาหรือผลิตภัณฑ์ต่างๆ ทดแทนการใช้สารเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

เก็บรวบรวมพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กลอย กระดังงา กุ่มบก เตย นางแย้ม บัวบก มะยม มะเนียงน้ำ หญ้าถอดปล้อง และ ฮ่อม โดยแยกเป็นส่วนต่างๆ ของพืชตามรายงานการใช้ประโยชน์ (ตารางที่ 1) ล้างให้สะอาด อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 °C สกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเอทานอล 95% และน้ำกลั่น โดยใช้อัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1: 10 กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ก่อนทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer

Table 1 List of medicinal plants used in the experimental

Medicinal plant	Part used
<i>Aesculus assamica</i> (มะเนียงน้ำ)	Leaf
<i>Baphicacanthus cusia</i> (ฮ่อม)	Leaf
<i>Cananga odorata</i> (กระดังงา)	Leaf
<i>Centella asiatica</i> (บัวบก)	Aerial part
<i>Clerodendrum chinense</i> (นางแย้ม)	Leaf
<i>Crateva adansonii</i> (กุ่มบก)	Bark
<i>Dioscorea hispida</i> (กลอย)	Tuber
<i>Equisetum debile</i> (หญ้าถอดปล้อง)	Trunk
<i>Pandanus amaryllifolius</i> (เตย)	Leaf
<i>Phyllanthus acidus</i> (มะยม)	Leaf

2. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี agar disc diffusion

แบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ทดสอบได้แก่ *E. coli* O157:H7, *P. acnes*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบในอาหารเหลว Mueller Hinton broth (MHB) บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ส่วน *P. acnes* เลี้ยงในอาหาร Brain Heart Infusion (BHI) broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นของแบคทีเรียให้เทียบเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 0.5 ใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในหลอดเพาะเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบแต่ละชนิดนำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) ยกเว้น *P. acnes* นำมาเกลี่ยบนอาหาร BHI agar นำ paper disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จุ่มลงในสารสกัดสมุนไพรรักษาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผึ่งให้แห้ง ก่อนนำไปวางบนผิวหน้าอาหารที่เกลี่ยเชื้อไว้ จากนั้นใช้ paper disc ชุบยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางเป็นชุดควบคุมผลบวก และชุดตัวทำลายซึ่งได้แก่ น้ำกลั่น และ dimethyl sulfoxide (DMSO) วางเป็นชุดควบคุมผลลบ นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnes* บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง คัดเลือกสารสกัดสมุนไพรรักษาที่ให้ผลบวก เพื่อทดสอบหาค่า MIC และ MBC ต่อไป

3. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ (MBC)

เชื้อจางสารสกัดสมุนไพรรักษาที่ให้ผลบวกจากข้อ 2 และยาปฏิชีวนะ gentamicin แบบลำดับส่วน 2 เท่า โดยความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 500 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำแบคทีเรียทดสอบที่ปรับความขุ่นแล้ว (ดังข้อ 2) เติมน้ำลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnes* บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง อ่านผลการเกิดความขุ่นของแบคทีเรียทดสอบในหลอดทดลองด้วยตาเปล่าเทียบกับหลอดควบคุม ค่า MIC คือค่าความเข้มข้นของสารทดสอบ ในหลอดทดลองที่ไม่เกิดความขุ่นขึ้นนำหลอดทดสอบที่ไม่พบการเจริญของเชื้อมา streak plate บนอาหาร MHA บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnes* ให้นำมา streak บนอาหาร BHI agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ แปลค่าที่ได้โดยความเข้มข้นที่อ่านเป็นค่า MBC ซึ่งสามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ 100%

4. การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง

เติมสารสกัดสมุนไพรรักษาในแต่ละความเจือจางลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมเซลล์เพาะเลี้ยง (Vero cell) ลงในทุกหลุม นำไปบ่มที่ 37 °C ใน 5% CO₂ incubator เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ย้อมสีเซลล์ด้วย 0.1% crystal violet ในเอทานอล 1% ทิ้งไว้ 15 นาที และล้างสีย้อมออก คำนวณค่าความเข้มข้นของสารละลายที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ 50% (50% cytotoxic dose, CD₅₀) โดยวิธีของ Reed and Muench (1938)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหายาจากพืชสมุนไพรรักษา 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* O157:H7, *P. acnes*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* โดยใช้สารสกัดความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามะยมที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้ง 6 ชนิด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ที่

8.3, 8.0, 9.2, 15.7, 16.0 และ 9.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส้อมและนางแย้มที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.7-8.5, 12.2-12.7, 13.7-14.1 และ 10.3-14.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ มะเนียงน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ 4 ชนิด คือ *P. acnes*, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งเป็น 11.5, 13.3, 13.3 และ 11.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ กลอยที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ 4 ชนิด คือ *P. acnes*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* และ MRSA โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ที่ 15.3, 8.0, 8.3 และ 10.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ กุ่มบก กระดังงาที่สกัดด้วยเอทานอลและมะยมที่สกัดด้วยน้ำกลั่นสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ 3 ชนิด คือ *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.2-13.5, 9.0-19.0 และ 7.8-13.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ บัวบกและหญ้าถอดปล้องที่สกัดด้วยเอทานอล กลอย กระดังงาและนางแย้มที่สกัดด้วยน้ำกลั่นสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ 1 ชนิด คือ MRSA โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.7-19.3 มิลลิเมตร เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้ง 6 ชนิด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ที่ 25.0, 25.7, 25.3, 26.0, 8.0 และ 29.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการวิจัยพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบเนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก ไม่มี outer membrane จึงทำให้สารสกัดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Parekh and Chanda, 2007) ส่วนเตยที่สกัดด้วยเอทานอล และเตย บัวบก กุ่มบก มะเนียงน้ำ หญ้าถอดปล้อง และส้อมที่สกัดด้วยน้ำกลั่นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น ในพืชสมุนไพรอาจไม่สารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย วิธีการสกัดสารออกจากสมุนไพรไม่เหมาะสม หรือ ตัวทำละลายที่ใช้ไม่สามารถละลายสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียออกมาได้ สำหรับตัวทำละลายน้ำกลั่นและ DMSO ไม่มีผลต่อการทดสอบ

เมื่อนำสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบมาหาค่า MIC และ MBC โดยใช้สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นเริ่มต้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และยาปฏิชีวนะ gentamicin 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในการทดสอบ ทำการเจือจางแบบลำดับส่วน 2 เท่า พบว่ามะยมที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7 โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ มะยม กลอย และมะเนียงน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร มีค่า MBC เท่ากับ 500, >500 และ >500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ ส้อมที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* และ MRSA โดยมีค่า MIC เท่ากับ 31.2, 3.9 และ 7.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ค่า MBC เท่ากับ 62.5, 15.6 และ 31.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ ส้อมและกระดังงาให้ค่า MIC ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* โดยมีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 31.2 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ gentamicin พบว่ามีค่า MIC ของแบคทีเรียก่อโรค

ทั้ง 6 ชนิด เท่ากับ 0.32, 0.08, 0.16, 0.08, 0.31 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า MBC เท่ากับ 1.25, 2.5, 0.16, 0.16, >2.5 และ 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากสมุนไพรต่อเซลล์เพาะเลี้ยง (Vero cell) พบว่ามะเ็นียงน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลมีความเป็นพิษสูงที่สุด รองมาคือบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล โดยมีค่า CD_{50} เท่ากับ 0.04 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุดคือ กลอยที่สกัดเอทานอล ซึ่งมีค่า CD_{50} เท่ากับ 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

Table 2 Antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of local medicinal plant by an agar disc diffusion method

Extract or Control	Solvent	Zone of inhibition (mm)					
		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>P. acnes</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	MRSA	<i>S. epidermidis</i>
<i>Aesculus assamica</i> (มะเนียงน้ำ)	Ethanol	0	11.5±0	0	13.3±0.3	13.3±0.3	11.0±0.9
	Water	0	0	0	0	0	0
<i>Baphicacanthus cusia</i> (ฮ่อม)	Ethanol	0	0	8.5±0.5	12.7±0.6	13.7±0.6	14.0±0
	Water	0	0	0	0	0	0
<i>Cananga odorata</i> (กระดังงา)	Ethanol	0	0	0	9.0±0	9.0±0	7.8±0.3
	Water	0	0	0	0	15.0±0	0
<i>Centella asiatica</i> (บัวบก)	Ethanol	0	0	0	0	7.7±0.6	0
	Water	0	0	0	0	0	0
<i>Clerodendrum chinense</i> (นางแย้ม)	Ethanol	0	0	7.7±0.8	12.2±0.8	14.1±1	10.3±0.58
	Water	0	0	0	0	8.0±0	0
<i>Crateva adansonii</i> (กุ่มบก)	Ethanol	0	0	0	7.2±0.3	17.5±0	12.0±1.0
	Water	0	0	0	0	0	0
<i>Dioscorea hispida</i> (กลอย)	Ethanol	0	15.3±0.58	8.0±0	8.3±0.6	10.0±0	0
	Water	0	0	0	0	17.5±0.5	0
<i>Equisetum debile</i> (หญ้าถอดปล้อง)	Ethanol	0	0	0	0	19.3±1.2	0
	Water	0	0	0	0	0	0
<i>Pandanus amaryllifolius</i> (เตย)	Ethanol	0	0	0	0	0	0
	Water	0	0	0	0	0	0
<i>Phyllanthus acidus</i> (มะขยม)	Ethanol	8.3±0.8	8±0	9.2±0.8	15.7±0.6	16.0±1.7	9.5±0.5
	Water	0	0	0	13.5±0.3	19.0±0	13.0±0
Distilled water (Negative control)		0	0	0	0	0	0
DMSO (Negative control)		0	0	0	0	0	0
Gentamicin (Positive control)		25.0±0	25.7±0.6	25.3±0.6	26.0±0	8.0±0	29.0±0

Table 3 MIC and MBC of local medicinal plant extracts against some pathogenic bacteria by a broth dilution method

Extract or Control	Solvent	Concentration (mg/ml)											
		<i>E. coli</i> O157:H7		<i>P. acnes</i>		<i>Ps. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		MRSA		<i>S. epidermidis</i>	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Aesculus assamica</i> (มะเนียงน้ำ)	Ethanol	-	-	250	>500	-	-	125	250	250	500	250	500
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Baphicacanthus cusia</i> (ช่อม)	Ethanol	-	-	-	-	31.25	62.5	3.9	15.63	7.81	31.25	31.25	62.5
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cananga odorata</i> (กระดังงา)	Ethanol	-	-	-	-	-	-	62.5	125	31.25	62.5	31.25	125
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	31.25	125	-	-
<i>Centella asiatica</i> (บัวบก)	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	125	250	-	-
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clerodendrum chinense</i> (นางแย้ม)	Ethanol	-	-	-	-	125	250	62.5	125	125	250	125	250
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	250	500	-	-
<i>Crateva adansonii</i> (กุ่มบก)	Ethanol	-	-	-	-	-	-	31.25	125	125	250	62.5	125
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dioscorea hispida</i> (กลอย)	Ethanol	-	-	250	>500	125	250	62.5	125	31.25	62.5	-	-
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	250	>500	-	-
<i>Equisetum debile</i> (หญ้าถอดปล้อง)	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	125	250	-	-
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pandanus amaryllifolius</i> (เตย)	Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phyllanthus acidus</i> (มะขยม)	Ethanol	250	500	250	500	250	500	250	500	31.25	62.5	250	500
	Water	-	-	-	-	-	-	500	>500	500	>500	125	250
Gentamicin (Positive control)		0.31	1.25	0.08	2.5	0.16	0.16	0.08	0.16	0.31	>2.5	0.16	0.63

(-): not conducted due to its negative result on an agar disc diffusion method

Table 4 Cytotoxicity of medicinal plant extracts

Medicinal plant	CD ₅₀ (mg/ml)	
	95% Ethanol	Water
<i>Aesculus assamica</i> (มะเนียงน้ำ)	0.045	-
<i>Baphicacanthus cusia</i> (ฮ่อม)	0.179	0.357
<i>Cananga odorata</i> (กระดังงา)	0.201	0.713
<i>Centella asiatica</i> (บัวบก)	0.159	-
<i>Clerodendrum chinense</i> (นางแย้ม)	0.357	-
<i>Crateva adansonii</i> (กุ่มบก)	0.713	-
<i>Dioscorea hispida</i> (กลอย)	1.423	1.423
<i>Equisetum debile</i> (หญ้าถอดปล้อง)	0.179	-
<i>Pandanus amaryllifolius</i> (เตย)	0.800	-
<i>Phyllanthus acidus</i> (มะยม)	0.179	0.179

(-): not conducted

สรุปผลและเสนอแนะ

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* O157:H7, *P. acnes*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าพืชสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ กลอย กระดังงา กุ่มบก เตย นางแย้ม บัวบก มะยม มะเนียงน้ำ หญ้าถอดปล้อง และ ฮ่อมที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบดีกว่าสารสกัดจากน้ำกลั่น โดยมะยมที่สกัดด้วย เอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ทั้ง 6 ชนิด เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด พบว่าสารสกัดแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้แตกต่างกัน ซึ่งเมื่อพิจารณาค่า MIC และ ค่า MBC พบว่ามะยมที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7 มะยม กลอยและมะเนียงน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* ฮ่อมที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* และ MRSA ฮ่อมและกระดังงาที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis*

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากสมุนไพรต่อเซลล์เพาะเลี้ยง (Vero cell) พบว่ามะเนียงน้ำที่สกัดด้วย เอทานอลมีความเป็นพิษสูงที่สุด รองมาคือบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล โดยมีค่า CD₅₀ เท่ากับ 0.04 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงนี้เป็นค่าการชี้แนะถึงความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรที่มีต่อเซลล์เพาะเลี้ยงโดยตรง อย่างไรก็ตามในการนำไปใช้จริงนั้นสามารถใช้ความเข้มข้นของสารสกัดได้มากกว่าค่า CD₅₀ เนื่องจากร่างกายผู้ใช้นั้นมีกลไกการป้องกันและกำจัดสิ่งแปลกปลอมช่วยเหลืออีกทางหนึ่ง (ฉวีวรรณ, 2553)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุนสกว.-อุตสาหกรรม

เอกสารอ้างอิง

- กนกวรรณ เวธน์ภาคิน และ กัญญา มัชฌิมาวิวัฒน์. 2552. การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อก่อให้เกิดสิวของน้ำมันหอมระเหยจากพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ฉวีวรรณ บุญมาชัย. 2553. การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในช่องปากโดยสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Barrajon-Catalan, E., S. Fernandez-Arroyo, D. Saura, E. Guillen, A. Fernandez-Gutierrez, A. Segura-Carretero, and V. Micol. 2010. *Cistaceae* aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 2273-2282.
- Erasto, P., D.S. Grierson and A.J. Afolayan. 2006. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *J. Ethnopharmacol.* 106: 117–120.
- Parekh, J. and S. Chanda. 2007. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plant. *Afr. J. Biomed. Res.* 10: 175-181.
- Reed, J. and H. Muench. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497.
- Shan, B., Y. Cai, J.D. Brooks and H. Corke. 2007. Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* roots and their major bioactive constituents. *Food Chem.* 109: 530–537.
- Tsai, T., T. Tsai, W. Wu, J.T. Tseng and P.J. Tsai. 2010. *In vitro* antimicrobial and anti-inflammatory effects of herbs against *Propionibacterium acnes*. *Food Chem.* 119: 964–968.
- Weerakkody, N.S., N. Caffin, M.S. Turner and G.A. Dykes. 2010. *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control.* 21: 1408–1414.
- Zuo, G. Y., G.C. Wang, Y.B. Zhao, G.L. Xu, X.Y. Hao, J. Han and Q. Zhao. 2008. Screening of Chinese medicinal plants for inhibition against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Ethnopharmacol.* 120: 287-90.