

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากต้อยต้งในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*

The study of antibacterial activity from *Ruellia tuberosa* extracts against
Staphylococcus aureus

ศิริวัฒนา ลาภหลาย

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

บทคัดย่อ

ในการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากต้อยต้งและหัวเห็ดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 ด้วยวิธี disc diffusion พบว่า ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัดของใบต้อยต้ง ลำต้นต้อยต้ง เมล็ดต้อยต้ง ใบเห็ดเห็ดสด ใบเห็ดเห็ดแห้ง ดอกเห็ดสด และดอกเห็ดเห็ดแห้ง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 1466 ส่วนสารสกัดหัวเห็ดเห็ดสดและหัวเห็ดเห็ดแห้ง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ขนาดเฉลี่ยของพื้นที่ยับยั้งการเจริญ 6.89 ± 0.33 และ 7.89 ± 0.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหัวเห็ดเห็ดสดและหัวเห็ดเห็ดแห้งไปทดสอบต่อด้วยวิธี broth microdilution พบว่า สารสกัดหัวเห็ดเห็ดสดและหัวเห็ดเห็ดแห้งมีค่า MIC (minimum inhibitory concentration) ต่อเชื้อ *S. aureus* TISTR 146 ที่ 380 และ 42.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาความแม่นยำของวิธี resazurin MIC assay โดยการหาค่า MIC เปรียบเทียบกับวิธี broth microdilution พบว่า ค่า MIC ที่ได้จากวิธี resazurin MIC assay มีค่าสูงกว่าค่า MIC ที่ได้จากวิธี broth microdilution เพียงเล็กน้อย

บทนำ

สมุนไพร เป็นหนึ่งในทรัพยากรธรรมชาติที่มีประวัติควบคู่มาชีวิตของมนุษย์มาช้านาน โดยมนุษย์ได้นำสมุนไพรต่าง ๆ รอบตัวมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคด้วยการลองผิดลองถูก สมุนไพรชนิดใดให้ประโยชน์ด้านการรักษา ก็จะจดจำและถ่ายทอดสืบต่อกันไปเรื่อย ๆ ก่อให้เกิดเป็นยาสมุนไพรที่ใช้ภายในชุมชนขนาดเล็กหรือเป็นยาแผนโบราณที่ใช้ในชุมชนขนาดใหญ่ เมื่อกล่าวถึงสมุนไพร ผู้คนทั่วไปมักนึกถึงเฉพาะส่วนที่ได้จากพืชเท่านั้น แต่ตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ.2510 ได้ระบุว่า ยาสมุนไพร หมายถึง ยาที่ได้จากพืช สัตว์ หรือแร่ ซึ่งมีได้ผสมปรุง หรือแปรสภาพ (รัตน , 2547) วัชพืชเป็นทรัพยากรที่พบในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก มีหลายชนิดทั้งที่มีประโยชน์และโทษกับคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากวัชพืชเป็นพืชที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เกิดได้ในทุกสภาพภูมิอากาศ ทุกฤดูกาลและเป็นพืชที่ตายยาก ส่วน

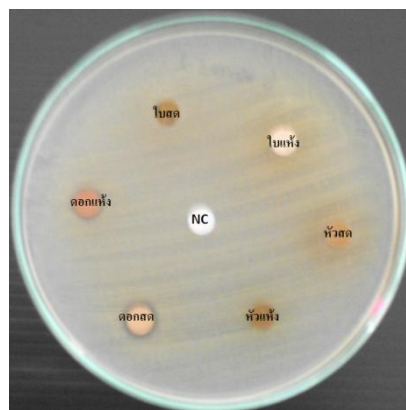
ใหญ่ไม่ค่อยเห็นคุณค่าของวัชพืชเหล่านี้ มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่รู้ว่าวัชพืชหลายชนิดมีสรรพคุณทางยา เช่นเดียวกับต้นต้อยติ่งซึ่งเป็นวัชพืชที่พบเห็นทั่วไปในบริเวณพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้น และพื้นดินทั่ว ๆ ไป ต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.) เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็กเจริญเติบโตได้ดีทั้งกลางแจ้งและในร่ม ดอกสีม่วง ใบสีเขียวเข้ม ผลแก่จะมีสีน้ำตาลและเมื่อโคนน้ำจะแตกออกเอง (วิทย์, 2542) ในอดีตหมอชาวบ้านหรือหมายากลางบ้านจะนำส่วนต่าง ๆ ของ ต้นต้อยติ่งมาใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย โดยเฉพาะโรคผิวหนังและแผลต่าง ๆ ซึ่งแต่ละส่วนของต้อยติ่งล้วนแล้วแต่มีสรรพคุณในการช่วยรักษาโรคต่างกัน เช่น ราก ใช้เป็นยารักษาโรคไต โรคไอกรน ใบ ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ หรือใช้พอกแก้ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อได้ เมล็ด ทำให้แผลหายเร็ว พอกฝีช่วยดูดหนอง และวัชพืชอีกชนิด คือ หญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) ถึงแม้ว่าหญ้าแห้วหมูจะเป็นวัชพืชที่สร้างปัญหา แต่มีตำรายาสมุนไพรได้กล่าวถึงสรรพคุณทางยาที่สามารถนำไปทำหรือเป็นองค์ประกอบของยาที่ใช้รักษาโรค เช่น นำมาเป็นยาแก้ปวดแน่นหน้าอก แก้ปวดท้อง แก้ท้องร่วง ขับลมในลำไส้ ยาพอกฝีดูดหนอง และใช้แก้อาการคันเนื่องจากโรคผิวหนัง เป็นต้น (วิทย์, 2542) แต่เนื่องด้วยในปัจจุบันความรู้ด้านการแพทย์ก้าวหน้ามากขึ้นรวมทั้งมีเทคโนโลยีทันสมัยที่ช่วยในการรักษาโรคต่าง ๆ ทำให้มีความสะดวกและรวดเร็ว อีกทั้งยังเป็นที่ยอมรับและทันสมัยอีกด้วย คนส่วนใหญ่จึงหันมานิยมใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคต่าง ๆ จึงมองข้ามประสิทธิภาพของยาสมุนไพรไทย ซึ่งละเลยภูมิปัญญาชาวบ้านที่บรรพบุรุษได้สั่งสมกันมา

Staphylococcus เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังถึง 80 % ถึงแม้ว่าจะมีการพัฒนายาปฏิชีวนะเพื่อใช้รักษาโรคและลดอัตราการตายของโรคนี้ แต่เชื้อ *Staphylococcus* ก็ยังเป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในโรงพยาบาลและในชุมชน แหล่งที่อยู่ในธรรมชาติของเชื้ออยู่ตามร่างกายของคนเป็นจำนวนมากแต่ถ้าผิวหนังเกิดรอยบาดแผลหรือถลอกหรือได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะบุกรุกเข้าเนื้อเยื่อชั้นในได้และเมื่อเข้ากระแสเลือดแล้วจะทำให้เกิดเยื่อหัวใจอักเสบปอดอักเสบและแพร่กระจายออกไป (นงลักษณ์, 2547) สปีชีส์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อได้กับทุกๆบริเวณของร่างกายรวมทั้งการติดเชื้อที่ผิวหนัง ซึ่งสามารถทำให้ติดเชื้อได้ทั้งแบบไม่รุนแรง ได้แก่ การเกิดหนอง ฝี แผลพุพอง และการติดเชื้อแบบรุนแรงเชื้อกระจายเข้าสู่กระแสเลือด (Brooks, Butel and Morse, 2001, pp. 200-201) *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่สามารถปรับตัวในการดื้อยาปฏิชีวนะได้อย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนที่จะมียาปฏิชีวนะอัตราการตายจาก bacteremia ซึ่งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *S. aureus* สูงถึงร้อยละ 80 ในช่วงของต้นปี ค.ศ.1940 มีการนำ benzyl penicillin (penicillin G) มาใช้รักษา ทำให้ลดอัตราการตายของผู้ที่เป็นโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้มาก อย่างไรก็ตาม ในปี ค.ศ.1942 เริ่มพบว่า *S. aureus* มีการดื้อต่อยา penicillin G โดยที่เชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ penicillinase (beta-lactamase) ทำให้เพิ่มอุบัติการณ์การดื้อยา penicillin ของ *S. aureus* ที่แยกจากผู้ป่วยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Cavalcanti et al., 2005) จนถึงปี ค.ศ.1948 พบว่า ไม่สามารถใช้ penicillin G รักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Japoni, Alborzi, Orafa, Rasouli and Farshad, 2005) ในปี ค.ศ.1959 มีการค้นพบ 6-

Aminopenicillanic acid ที่เป็่ penicillin precursor ในการผลิต penicillin กิ่งสังเคราะห์ (methicillin, nafcillin และ oxacillin) ซึ่งสามารถป้องกันการย่อยสลาย β -lactam ring โดยเอนไซม์ β -lactamase ได้ (Japoni et al., 2004) มีรายงานในปี ค.ศ.1961 พบว่า มีสายพันธุ์ของ *S. aureus* ที่คือยา methicillin และเรียกชื่อเหล่านี้ว่า Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งสามารถแพร่กระจายและทำให้เกิดโรครุนแรง (Enright et al., 2002) โดยที่เชื่อนี้ยังคือต่อยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นนอกเหนือจากยา กลุ่ม β -lactam เช่น กลุ่ม aminoglycosides, macrolides, tetracyclines (Tenover, Biddle and Lancaster, 2001) ทำให้มียาน้อยชนิดที่สามารถนำมาใช้รักษาได้ผลดีและยาเหล่านี้ก็มักจะมีราคาแพง อย่างไรก็ตามประโยชน์ของตัวยอดังและหญ้าเหี่ยวหมูในตำรายาสมุนไพรรักษาโรคและจากการบอกเล่าจากปราชญ์ชาวบ้านถึงสรรพคุณในการใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคนั้นยังไม่มีข้อมูลทางด้านวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนและยืนยันถึงประสิทธิภาพในการรักษาโรคดังกล่าว อีกทั้งยังเป็นแนวทางเพื่อศึกษาสมุนไพรทางเลือกใหม่ที่จะนำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus*

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

จากการทดสอบสารสกัดด้วยวิธี disc diffusion พบว่า ส่วนสกัดของตัวยอดังทั้ง 3 ส่วนสกัด ได้แก่ ส่วนสกัดของใบตัวยอดัง ส่วนสกัดของลำต้นตัวยอดังและส่วนสกัดของเมล็ดตัวยอดัง ที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และส่วนสกัดจากใบและดอกของหญ้าเหี่ยวหมูทั้งสดและแห้งไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* TISTR 1466 ได้ ส่วนสารสกัดจากส่วนหัวของหญ้าเหี่ยวหมูทั้งสดและแห้งที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 1466 ได้ ขนาดเฉลี่ยของพื้นที่ยับยั้งการเจริญ 6.89±0.33 และ 7.89±0.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ รายละเอียดขนาดของพื้นที่ยับยั้งการเจริญดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงพื้นที่ยับยั้งการเจริญของส่วนสกัดหญ้าเหี่ยวหมูต่อ *S. aureus* TISTR 1466

ตารางที่ 1 แสดงพื้นที่ยับยั้งการเจริญของสารสกัดด้อยตั้งและหญ้าเหี่ยวหมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 1466

ส่วนสกัด	ขนาด inhibition zone (มิลลิเมตร)($\pm$ SD)
ด้อยตั้ง	
ใบ	NZ
ลำต้น	NZ
เมล็ด	NZ
หญ้าเหี่ยวหม	
ใบสด	NZ
ใบแห้ง	NZ
ดอกสด	NZ
ดอกแห้ง	NZ
หัวสด	6.89 $\pm$ 0.33
หัวแห้ง	7.89 $\pm$ 0.33
Positive control	22.44 $\pm$ 0.88
Negative control	NZ

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดพื้นที่การยับยั้งการเจริญ

จากการศึกษาวิจัยของ Sharma and Singh (2011) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากหญ้าเหี่ยวหม พบว่า ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบเป็นผลมาจากสารฟลาโวนอยด์ แทนนินและอัลคาลอยด์ ที่เป็นสารสำคัญอยู่ในหญ้าเหี่ยวหม มีรายงานการศึกษาที่ยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟลาโวนอยด์ที่ใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ด้านการอักเสบเป็นต้น (ปิยะวดี, 2552) แทนนินเป็นสารที่ทำให้เกิดรสฝาดในพืชบางชนิดและมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ส่วนอัลคาลอยด์เป็นสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในพืชส่วนใหญ่ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อมนุษย์และสัตว์

เมื่อนำสารสกัดหัวหญ้าเหี่ยวหมสดและหัวหญ้าเหี่ยวหมแห้งมาหาค่า MIC ด้วยวิธี resazurin MIC assay และ broth microdilution พบว่า ค่า MIC ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี resazurin MIC assay มีค่าสูงกว่าค่า MIC ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี broth microdilution เพียง 1 dilution ของการเจือจางสารสกัดแบบ two-

fold dilution แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบด้วยวิธี resazurin MIC assay นั้นสามารถอ่านผลได้ง่ายด้วยตาเปล่าโดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของ indicator และใช้เวลาในการทดสอบน้อย ซึ่งจะเป็นผลดีในการนำมาใช้ในงานทางการแพทย์เนื่องจากทราบผลเร็ว แพทย์สามารถรักษาได้อย่างรวดเร็วและส่งผลดีต่อผู้ป่วย และการทดสอบด้วยวิธีนี้ก็ไม่จำเป็นที่จะต้องใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวช่วยในการผสมกันระหว่างอาหารกับสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Mann และ Markham (1998)

ตารางที่ 2 แสดงค่า MIC ของสารสกัดหัวเหว้าเหี่ยวเหวมุสดและหัวเหว้าเหี่ยวเหวมุแห้งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 1466 เปรียบเทียบระหว่าง 2 วิธี

วิธี	ค่า MIC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ของสารสกัด	
	หัวเหว้าเหี่ยวเหวมุสด	หัวเหว้าเหี่ยวเหวมุแห้ง
Broth microdilution	380	42.5
resazurin MIC assay	760	85

เอกสารอ้างอิง

- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). *แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: Noble print.
- ปิยะวดี เจริญวัฒนะ, สุนนา ปานสมุทร, ดำรง คงสวัสดิ์ และอำนาจ เพชรประไพ. (2552). *การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากบัวหลวง*. ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล-ธัญบุรี.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2542. *พจนานุกรมสมุนไพรไทย*. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: รวมสาส์น.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., & Morse, S.A. (2001). **Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology** (22nd ed.). New York: Appleton & Lange.
- Enright, M.C., Robinson, D.A., Randle, G., Feil, E.J., Grundmann, H., & Spratt, G. B. (2002). **The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (11), 7687-7692.
- Japoni, A., Alborzi, A., Orafa, F., Rasouli, M., & Farshad, S. (2004). **Distribution patterns of methicillin resistance genes (*mecA*) in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens**. *Iranian Biomedical Journal*, 8(4), 173-178.
- Mann, C.M. and Markham, J.L. 1998. **A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils**. *Journal of Applied Microbiology*. 84: 538-544.
- Sharma, S.K. and Singh, A.P. (2011). **Antimicrobial investigations on rhizomes of *Cyperus rotundus* Linn**. *Der Pharmacia Lettre*, 2011, 3(3):427-431.
- Tenover, F.C., Biddle, J.W., & Lancaster, M.V. (2001). **Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus***. *Emerging Infectious Disease*, 7 (2), 327-332.