การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดต้นขลู่เพื่อพัฒนาตำรับยาสีฟันสมุนไพร

Study on Antibacterial Activity in Bacterial Cavity of the Extraction from *Pluchea indica* (Linn.) for Development of Herbal Toothpaste Formulation

ดวงสุรีย์ แสนสีระ*

Duangsuree Sanseera*

*สาขาวิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ, กรุงเทพฯ 10120, ประเทศไทย

*Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep, Bangkok 10120, Thailand.

*Corresponding Author E-mail: duangsuree.s@mail.rmutk.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดต้นขลู่เพื่อพัฒนาตำรับยาสีฟันสมุนไพร โดยศึกษาสารสกัดส่วนเหนือพื้นดินของต้นขลู่ด้วยเอทานอล ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ด้วยวิธี Disk diffusion method และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) *Streptococcus mutans* โดยวิธี Broth microdillution ของสารสกัดตัวอย่าง ศึกษาการประเมินคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพร และศึกษาความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครด้วยแบบสอบถาม พบว่า ผลการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นขลู่ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% Yield) ได้เท่ากับ 1.82 % (w/w) ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ 1,000 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 7.10 ± 0.20 mm เมื่อเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin พบว่ายามาตรฐาน Erythromycin ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.15 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 23.90 ± 0.36 mm ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดขลู่เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin โดยวิธี Broth microdillution พบว่าสารสกัดขลู่ไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ ส่วนยามาตรฐาน Erythromycin สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้เท่ากับ 10.94 μg/mL ผลการประเมินคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพ เมื่อทดสอบที่สภาวะเร่ง พบว่า ความเป็นเนื้อเดียวกัน, กลิ่นของยาสีฟันสมุนไพรทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลง ส่วนสีของยาสีฟันสมุนไพรทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงโดยสีจางลงจากเดิมเล็กน้อย การทดสอบค่าความเป็นกรด - เบส) ของผลิตภัณฑ์ ทั้ง 2 กลุ่ม มีการเปลี่ยนแปลง โดยมีค่า pH ลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ผลการ

Received 22-8-2023
Accepted 27-9-2023
Accepted 27-12-2023

ประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครผู้ใช้ยาสีฟันสมุนไพร พบว่า ผู้ใช้มีความพึงพอใจในด้านลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ และในด้านคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์หลังทดลองใช้พบว่า ผู้ใช้มีความพึงพอใจยาสีฟันสมุนไพรขลู่มากกว่ายาสีฟันสมุนไพรพื้นฐาน

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปาก, สารสกัดต้นขลู่, ตำรับยาสีฟันสมุนไพร

ABSTRACT

This research, Study on antibacterial activity in bacterial cavity of the extraction from *Pluchea indica* (Linn.) for development of herbal toothpaste formulation. The extraction of aerial parts of *P. indica* with ethanol were studied. The antibacterial activity of *Streptococcus mutans* by disk diffusion method, the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts that can inhibit for *S. mutans* was studied by broth microdillution method. The chemical and physical quality assessment of herbal toothpaste products and survey of satisfaction with the products from volunteers by the questionnaire were studied. The results showed, the percentage yields of the extracts from aerial parts of *P. indica* were calculated based on a fresh weight. The extracts of this plants gave the percentage yields with 1.82 % (w/w). The antibacterial activity of *S. mutans* of the extracts when compared to the standard drug Erythromycin by disc diffusion method found that the concentration of sample extracts at 1,000 mg/mL could inhibit *S. mutans.* The inhibition zone for inhibit bacteria of sample extracts was measured at 7.10 ± 0.20 mm. When compared to the standard drug Erythromycin found that the concentration of standard drug Erythromycin at 0.15 mg/mL could inhibit *S. mutans.* The inhibition zone of standard drug Erythromycin was measured at 23.90 ± 0.36 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts compared to the standard drug Erythromycin that can inhibit for *S. mutans* was studied by broth microdillution method showed that the extracts could not show value of the minimum inhibitory concentration (MIC) for inhibit *S. mutans*. While the standard drug Erythromycin was able to find value of the minimum inhibitory concentration (MIC) for inhibit *S. mutans* at concentration equal to 10.94 μg/mL. The chemical and physical quality assessment of herbal toothpaste products when test at stress condition showed that the homogeneity, the smell of both groups from herbal toothpaste did not changes. While the color of both groups of herbal toothpaste was found to have been slightly altered by a slightly lighter color. The pH (acidity - base) test of both groups of products has changed, with a slight decrease in pH, which is still not changed in standard. The product satisfaction assessment of volunteers when test herbal toothpaste showed that volunteers

were satisfied with the physical characteristics of the products and in terms of product properties. Moreover, the volunteers satisfied with herbal toothpaste from the extracts of *P. indica* more than the base herbal toothpaste.

Keywords: Antibacterial activity in bacterial cavity, Extraction from *Pluchea indica* (Linn.), Herbal toothpaste formulation

1. บทนำ

ภายในช่องปากของมนุษย์ พบว่ามีจุลินทรีย์มากมายที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดอันตรายต่อเหงือกและฟัน พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาการของโรคในช่องปาก ได้แก่ ฟันผุ เหงือกอักเสบ ภาวะมีกลิ่นปาก โดยเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด เป็นสาเหตุของโรคในช่องปาก ซึ่งอยู่ในคราบจุลินทรีย์ ที่เป็นสาเหตุเริ่มต้นของการเกิดฟันผุ และเหงือกอักเสบ เชื้อจุลินทรีย์ในคราบจุลินทรีย์นี้ก่อให้เกิดอันตรายต่อช่องปาก โดยจะเจริญเติบโตและย่อยสลายสารอาหารประเภทน้ำตาลและแป้ง ให้เป็นกรดแลคติกและสารพิษ ซึ่งทำให้เกิดการทำลายฟันเป็นฟันผุ เหงือกอักเสบ และภาวะกลิ่นปาก เป็นต้น โดยแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* เป็นแบคทีเรียที่พบบ่อยในช่องปากที่สำคัญชนิดหนึ่ง [1] ยาสีฟันเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในชีวิตประจำ วัน โดยใช้ทำความสะอาดช่องปาก ทำให้สดชื่น มีผลทำให้เกิดฤทธิ์ต้านการอักเสบในช่องปาก และช่วยในการระงับกลิ่นปาก เป็นต้น ยาสีฟันได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง และมีการนำสมุนไพรมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ยาสีฟัน โดยสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบค ทีเรียในช่องปาก ได้แก่ กานพลู, ครอบฟันสี, ฟ้าทะลายโจร เป็นต้น [2] ขลู่ (Khlu) เป็นพืชสมุนไพรชนิดไม้พุ่ม มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Pluchea indica* (Linn.) พบมากแถบป่าชายเลนเขตร้อน ได้แก่ ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย อินเดีย และออสเตรเลีย เป็นต้น [3] ใบขลู่สดมีรสหวานปนฝาดเล็กน้อย จึงมักนิยมนำไปลวกกินกับน้ำพริก และยังใช้ปรุงอาหารประเภทแกงคั่วและยำ ส่วนในด้านโภชนาการ พบว่าใบขลู่สดมีองค์ประกอบของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แคลเซียม เบต้าแคโรทีน และใยอาหาร เป็นต้น สรรพคุณทางยาของใบขลู่เมื่อนำมาทำเป็นชา ช่วยขับปัสสาวะรักษาอาการนิ่วในไต รักษาอาการอักเสบ อาการปวดหลัง และอาการตกขาว [4] ในด้านของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบขลู่มีกลุ่มสารที่สำคัญ คือ ฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก, กรดคาเฟอิก, และเคอร์ซิติน มีรายงานการใช้น้ำต้มใบขลู่เป็นยาต้านจุลชีพ ยาแก้ท้องเสีย และยาบรรเทาอาการไอ และใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ช่วยทำให้ผิวนุ่ม [5] มีรายงานวิจัยสารสกัดจากใบขลู่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่นของลิปิดได้ดีมาก พบว่าสารสกัดจากใบขลู่ ที่ทำการสกัดด้วยการแช่ในเอทานอลเข้มข้น 70% เป็นเวลา 2 วัน มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และลดอาการปวดในสัตว์ทดลอง [6] นอกจากนี้ยังพบว่า ใบขลู่ต้มมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งสมอง และเซลล์มะเร็งปากมดลูก [7-8] มีรายงานการวิจัยมาก มายเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของใบขลู่ แต่ไม่พบรายงานวิจัยด้านการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดจากต้นขลู่ โครงการวิจัยนี้ ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดต้นขลู่ เพื่อพัฒนาตำ รับยาสีฟันสมุนไพรในระดับอุตสาหกรรม

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมสารสกัดเอทานอลจากต้นขลู่

ต้นขลู่ที่ใช้ในการทดลอง นำมาจากตำบลคลองด่าน อำเภอบางบ่อ จังหวัดสมุทรปราการ ทำการตรวจสอบลักษณะพันธุ์ไม้ ที่ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยมีหมายเลขตัวอย่างพรรณไม้ คือ QBG No. 53850

นำส่วนเหนือพื้นดินของต้นขลู่มาล้างทำความสะอาด แล้วนำมาทำให้แห้ง โดยตู้อบความร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดปั่นตัวอย่าง (blender) นำมากรองผ่านตะแกรงร่อนที่มีความละเอียด 40 เมช (mesh) แล้วนำไปสกัดโดยวิธีการแช่ในตัวทำละลายด้วยเอทานอล (ethanol) 95 % ในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย 1 กิโลกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 วัน นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จะได้สารสกัดเอทานอล นำสารสกัดเอทานอลที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยภายใต้สุญญากาศ (evaporator) คำนวณปริมาณโดยน้ำหนักแห้ง ด้วยสูตร

$$\% \text{ Yield} = [A / B] \times 100$$

โดย A = น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (กรัม)

B = น้ำหนักวัตถุดิบสมุนไพรตั้งต้นที่ใช้ (กรัม)

2.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดเอทานอลต้นขลู่

2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดตัวอย่าง

ทำการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* โดยนำมาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion agar (BHI agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 แล้วนำเชื้อที่ได้มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Brain Heart Infusion broth) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยก่อนทำการทดลองจะปรับเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับค่าความขุ่นมาตรฐาน 0.5 แม็คฟาร์แลนด์ (McFarland Standard) หรือมีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตรเท่ากับ 0.1 ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. mutans* ด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชัน (Disk diffusion method) โดยนำไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (sterile cotton swap) มาจุ่มเชื้อที่ปรับค่าความขุ่นแล้ว กดไม้พันสำลีให้หมาดๆ กับข้างหลอด แล้วนำมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มูลเลอร์-ฮินตัน (Müller-Hinton agar) ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมาวางแผ่น ดิสก์ปราศจากเชื้อ (sterile disc) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร โดยใช้ปากคีบ (forceps) ที่ปราศจากเชื้อคีบแผ่นดิสก์วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการป้ายเชื้อโดยทั่วแล้ว หยดสารสกัดตัวอย่างที่ละลายด้วย 95% เอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 10, 100 และ 1,000 mg/mL ปริมาณ 10 μL ลงบนดิสก์ นำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาอ่านค่าความกว้างของโซนยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง ในหน่วยมิลลิเมตร ทำการทดลอง 3 ครั้ง [9] โดยทำการทดสอบเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน คือ Erythromycin ที่ระดับความเข้มข้น 0.15 mg/mL

2.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) *Streptococcus mutans* ด้วยวิธี Broth microdillution ของสารสกัดตัวอย่าง โดยการนำสารสกัดตัวอย่างมาทำการละลายด้วย 95% เอทานอลให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 mg/mL แล้วนำมาทำให้ปราศจากเชื้อ โดยการกรองผ่านเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.2 μm ทำการปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวลงใน 96 Well Microplate หลุมละ 100 μL ปิเปตตัวอย่างที่เตรียมใส่หลุมที่ 1 ปริมาตร 100 μL ผสมสารตัวอย่างให้เข้ากัน แล้วปิเปตสารละลายในหลุมที่ 1 มาใส่ในหลุมที่ 2 และทำเช่นเดียวกันจนถึงหลุมที่ 12 โดยในหลุมที่ 12 ทำการปิเปตสารผสมทิ้ง 100 μL ทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ที่ได้ทำการปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ McFarland Standard ใส่ลงในทุกหลุม หลุมละ 100 μL โดยทดสอบเปรียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 350 μg/mL แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วอ่านผลค่าเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimum inhibition concentration : MIC) โดยการสังเกตหลุมสุดท้ายที่มีลักษณะใสไม่มีสีและไม่มีตะกอนของเชื้อที่ก้นหลุม

2.3 การศึกษาและการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพรตัวอย่าง

โดยทำการดัดแปลงจากสูตรของ ภทรพรรณ และสิริรัตน์, 2549 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของยาสีฟันสมุนไพร

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม, g)
Herbal extract	0.4
Glycerin	45.0
Sorbitol	15.5
Sodium lauryl sulfate	3.0
Carboxymethyl cellulose	1.0
Menthol	1.5
Peppermint oil	5.0
Sodium benzoate	0.1
Sodium saccharin	0.5
DI Water	28.0

วิธีการเตรียมยาสีฟันสมุนไพร ดังนี้

(1) นำ Carboxymethyl cellulose มากระจายตัวในน้ำจำนวน ¾ ของน้ำทั้งหมดในตำรับ

(2) นำ Glycerin และ Sorbitol เติมลงในข้อ (1) คนผสมในโกร่งให้เข้ากัน

(3) ละลาย Sodium benzoate และ Sodium saccharin ในน้ำจำนวนหนึ่ง

(4) นำสารในข้อ (3) เติมลงในข้อ (2) ผสมให้เข้ากัน

(5) นำสารสกัดเอทานอลจากต้นขลู่ มาละลายใน Peppermint oil

(6) นำสารจากข้อ (5) เติมลงในข้อ (4)

(7) นำ Sodium lauryl sulfate โปรยลงในสารข้อ (6) ผสมให้เข้ากัน

(8) นำยาสีฟันสมุนไพรบรรจุหลอด

2.3.1 การประเมินคุณภาพทางเคมี และทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพร [2]

โดยประเมินคุณภาพดังต่อไปนี้

(1) ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenicity)

ประเมินด้วยตาเปล่า โดยการสังเกตการแยกชั้น หรือ การตกตะกอนของยาสีฟันสมุนไพร

(2) สี (color)

ประเมินด้วยตาเปล่าโดยการสังเกตว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีหรือไม่ เช่น สีเข้มขึ้น หรือ สีจาง

(3) กลิ่น (odor)

ประเมินโดยการดม โดยประเมินว่ากลิ่นมีการเปปลี่ยนแปลงหรือไม่ เช่น กลิ่นฉุน หรือ กลิ่นอ่อน

(4) ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) มาละลายในน้ำกลั่น 4 ส่วน แล้วนำไปวัด pH โดยใช้เครื่องวัด pH (pH meter)

(5) การทดสอบความคงตัว (stability test)

โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของยาสีฟันที่ตั้งวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง กับยาสีฟันที่เก็บไว้ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์

2.3.2 การศึกษาความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครด้วยแบบสอบถาม

ทำการประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัคร ด้วยแบบสอบถาม เพื่อประเมินความพึงพอใจเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 สารสกัดตัวอย่าง

3.1.1 การสกัดสารตัวอย่าง

ผลการศึกษาการสกัดสารตัวอย่างของส่วนเหนือพื้นดินต้นขลู่ โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (%Yield) ได้เท่ากับร้อยละ 1.82 โดยน้ำหนัก แสดงดังตารางที่ 2 และลักษณะของสารสกัดที่ได้จากส่วนเหนือพื้นดินต้นขลู่ มีลักษณะหนืดสีเขียวเข้ม และมีกลิ่นเฉพาะตัว แสดงดังภาพที่ 1

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% Yield) ของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่าง	% Yield (w/w)
สารสกัดตัวอย่าง	1.82 %

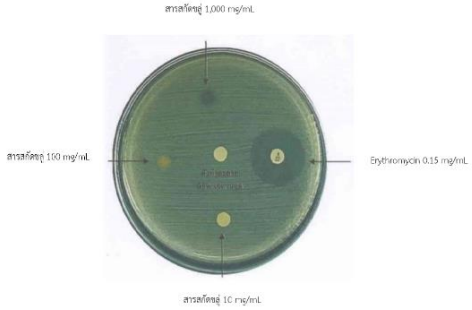
โดยการนำยาสีฟันสมุนไพร 1 ส่วน

ภาพที่ 1 ลักษณะของสารสกัดส่วนเหนือพื้นดินต้นขลู่

3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดตัวอย่าง

3.2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดตัวอย่าง

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ 10 และ 100 mg/mL ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับ 95% เอทานอล ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ 1,000 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 7.10 ± 0.20 mm เมื่อเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin พบว่ายามาตรฐาน Erythromycin ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.15 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อ แบคทีเรีย *S. mutans* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 23.90 ± 0.36 mm แสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดขลู่เปรียบ เทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion

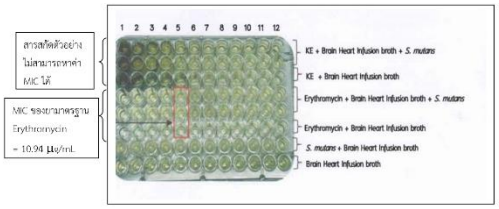
3.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย

ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดเอทานอลจากต้นขลู่ เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin โดยวิธี Broth microdillution พบว่าสารสกัดขลู่ ไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ ส่วนยามาตรฐาน Erythromycin สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้เท่ากับ 10.94 μg/mL แสดงดังตารางที่ 4 และภาพที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดเอทานอลจากต้นขลู่

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/mL)	ขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* (mm)*			
		Plate 1	Plate 2	Plate 3	ค่าเฉลี่ย ± SD
สารสกัดเอทานอลจากต้นขลู่	10.00	ND	ND	ND	ND
	100.00	ND	ND	ND	ND
	1,000.00	7.30	6.90	7.10	7.10 ± 0.20
95% เอทานอล (Negative Control)	10.00	ND	ND	ND	ND
Erythromycin (Positive Control)	0.15	23.80	24.30	23.60	23.90 ± 0.36

หมายเหตุ : ND คือ Not detected, * แสดงค่าเฉลี่ย ± SD จากผลการทดลอง 3 ซ้ำ



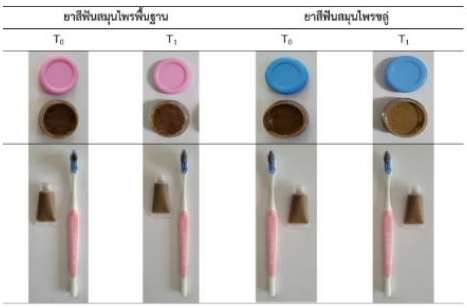
ภาพที่ 3 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดขลู่ เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin โดยวิธี Broth microdillution

3.3 การศึกษาและการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพรตัวอย่าง

3.3.1 การศึกษาการประเมินคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพร

การประเมินคุณภาพทางเคมี และทางกายภาพ เป็นการศึกษาความคงตัว (stability) ของผลิต ภัณฑ์ แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มทดลองจะทดสอบ

ภายใต้สภาวะเร่ง คือ เก็บยาสีฟันไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ ส่วนกลุ่มควบคุมนั้นจะแยกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (อุณภูมิห้อง) เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำยาสีฟันทั้ง 2 กลุ่ม มาทำการเปรียบเทียบ พบว่า ความเป็นเนื้อเดียวกัน, กลิ่นของยาสีฟันสมุนไพรทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลง ส่วนสีของยาสีฟันสมุนไพรทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงโดยสีจางลงจากเดิมเล็กน้อย คือ ยาสีฟันสมุนไพรเบสเดิมมีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อหลังทดสอบภาย ใต้สภาวะเร่งมีสีน้ำตาลจางลงเล็กน้อย และยาสีฟันสมุนไพรขลู่เดิมมีสีน้ำตาลแกมเขียว เมื่อหลังทดสอบภายใต้สภาวะเร่งมีสีน้ำตาลแกมเขียวจางลงเล็กน้อย สำหรับการทดสอบค่า pH (ความเป็นกรด - เบส) ของผลิตภัณฑ์ ทั้ง 2 กลุ่ม มีการเปลี่ยนแปลง โดยมีค่า pH ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งค่าที่ได้ถืออยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แสดงดังตารางที่ 5 และภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพรก่อนและหลังทดสอบสภาวะเร่ง

หมายเหตุ : T_0 = ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส

T_1 = หลังทดสอบสภาวะเร่ง (สภาวะเร่ง คือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3.3.2 การศึกษาความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครด้วยแบบสอบถาม

โดยทำการประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างอาสาสมัคร 30 คน ทางด้านลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ (สังเกตด้วยตาเปล่า) โดยศึกษาในเรื่องลักษณะความเนียนของเนื้อยาสีฟัน กลิ่นของผลิตภัณฑ์ และสีของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งทำการประเมินความพึงพอใจ ของกลุ่มตัวอย่างอาสาสมัครทางด้านคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ หลังทดลองใช้จริง โดยศึกษาในเรื่องความรู้สึกขณะแปรง คือ รสชาติ ความเย็นสดชื่น ปริมาณฟอง ไม่รู้สึกระคายเคือง ความหนืดขณะแปรง และศึกษาในเรื่องความรู้สึกหลังแปรง คือ ลมหายใจสดชื่น ช่วยระงับกลิ่นปาก รู้สึกปากสะอาด และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ แสดงดังตารางที่ 6 และตารางที่ 7

ตารางที่ 6 ผลข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างที่ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพร

ตอนที่ 1 : ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างที่ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพร

ข้อมูลสำรวจ	ความถี่ (จำนวนคน)	ร้อยละ
1. เพศ		
1.1 ชาย	21	70.00
1.2 หญิง	9	30.00
2. อายุ		
2.1 ต่ำกว่า 18 ปี	1	3.33
2.2 อายุ 18 – 30 ปี	4	13.33
2.3 อายุ 31 – 40 ปี	3	10.00
2.4 อายุ 41 – 50 ปี	3	10.00
2.5 มากกว่า 50 ปี	19	63.33
3. ประสบการณ์ในการใช้ยาสีฟันสมุนไพร		
3.1 เคย	29	96.67
3.2 ไม่เคย	1	3.33

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดขลู่เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin โดยวิธี Broth microdillution

สารทดสอบ	ความเข้มข้นของตัวอย่างในหลุมที่ 1 – 12 (mg/mL)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
สารสกัดขลู่ (mg/mL)	500.00	250.00	125.00	62.50	31.25	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24
Erythromycin (µg/mL)	175.00	87.50	43.75	21.88	10.94	5.47	2.74	1.37	0.68	0.34	0.17	0.09

ตารางที่ 5 แสดงผลการการประเมินคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพรก่อนและหลังทดสอบสภาวะเร่ง

คุณสมบัติที่ประเมิน	ยาสีฟันสมุนไพรพื้นฐาน		ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	
	T_0	T_1	T_0	T_1
ความเป็นเนื้อเดียวกัน	เป็นเนื้อเดียวกัน	ไม่เปลี่ยนแปลง	เป็นเนื้อเดียวกัน	ไม่เปลี่ยนแปลง
สี	สีน้ำตาลเข้ม	สีน้ำตาลจางลงเล็กน้อย	สีน้ำตาลแกมเขียว	สีน้ำตาลแกมเขียวจางลงเล็กน้อย
กลิ่น	สมุนไพร + หอมเย็นสดชื่น	ไม่เปลี่ยนแปลง	สมุนไพร + หอมเย็นสดชื่น	ไม่เปลี่ยนแปลง
ค่าความเป็นกรด - ด่าง	7.35	7.34	7.33	7.31
ความคงตัว	เป็นเนื้อเดียวกัน	ไม่เปลี่ยนแปลง	เป็นเนื้อเดียวกัน	ไม่เปลี่ยนแปลง

หมายเหตุ : T_0 = ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส

T_1 = หลังทดสอบสภาวะเร่ง (สภาวะเร่ง คือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์)

ตารางที่ 7 ผลข้อมูลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ ยาสีฟันสมุนไพรของกลุ่มตัวอย่างที่ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์

ตอนที่ 2 : ข้อมูลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพร

ข้อมูลสำรวจ	จำนวนคน (%) ที่ระดับความพึงพอใจ				
	5	4	3	2	1
1. ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ (สังเกตด้วยตาเปล่า)					
1.1 ความเนียนของเนื้อยาสีฟัน					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	4 (13.33%)	18 (60.00%)	7 (23.33%)	1 (3.33%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	8 (26.67%)	18 (60.00%)	4 (13.33%)	0 (0%)	0 (0%)
1.2 กลิ่นของผลิตภัณฑ์					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	3 (10.00%)	24 (80.00%)	3 (10.00%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	12 (40.00%)	18 (60.00%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
1.3 สีของผลิตภัณฑ์					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	2 (6.67%)	22 (73.33%)	6 (20.00%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	12 (40.00%)	15 (50.00%)	3 (10.00%)	0 (0%)	0 (0%)
2. คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์หลังทดลองใช้จริง					
2.1 ความรู้สึกขณะแปรง					
2.1.1 รสชาติ					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	9 (30.00%)	18 (60.00%)	3 (10.00%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	20 (66.67%)	8 (26.67%)	2 (6.67%)	0 (0%)	0 (0%)
2.1.2 ความเย็นสดชื่น					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	3 (10.00%)	23 (76.67%)	4 (13.33%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	12 (40.00%)	16 (53.33%)	2 (6.67%)	0 (0%)	0 (0%)
2.1.3 ปริมาณฟอง					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	7 (23.33%)	20 (66.67%)	3 (10.00%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	15 (50.00%)	13 (43.33%)	2 (6.67%)	0 (0%)	0 (0%)
2.1.4 ไม่รู้สึกระคายเคือง					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	4 (13.33%)	24 (80.00%)	1 (3.33%)	1 (3.33%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	13 (43.33%)	15 (50.00%)	1 (3.33%)	1 (3.33%)	0 (0%)
2.1.5 ความหนืดขณะแปรง					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	2 (6.67%)	22 (73.33%)	4 (13.33%)	2 (6.67%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	4 (13.33%)	20 (66.67%)	4 (13.33%)	2 (6.67%)	0 (0%)
2.2 ความรู้สึกหลังแปรง					
2.2.1 ลมหายใจสดชื่น					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	8 (26.67%)	21 (70.00%)	1 (3.33%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	17 (56.67%)	12 (40.00%)	1 (3.33%)	0 (0%)	0 (0%)
2.2.2 ชวยระงับกลิ่นปาก					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	8 (26.67%)	20 (66.67%)	2 (6.67%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	20 (66.67%)	9 (30.00%)	1 (3.33%)	0 (0%)	0 (0%)
2.2.3 รู้สึกปากสะอาด					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	8 (26.67%)	21 (70.00%)	1 (3.33%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	23 (76.67%)	7 (23.33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2.3 ความพึงพอใจโดยรวม					
(A) ยาสีฟันสมุนไพรเบส	3 (10.00%)	26 (86.67%)	1 (3.33%)	0 (0%)	0 (0%)
(B) ยาสีฟันสมุนไพรขลู่	23 (76.67%)	7 (23.33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

4. สรุปผลการทดลอง

4.1 การสกัดสารตัวอย่าง ผลการศึกษาการสกัดสารตัวอย่างส่วนเหนือพื้นดินต้นขลู่ โดยการคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% Yield) ได้เท่ากับร้อยละ 1.82 โดยน้ำหนัก

4.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากของสารสกัดตัวอย่าง

4.2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดตัวอย่าง

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อแบคที เรีย *Streptococcus mutans* ของสารสกัดตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าที่ระดับความเข้มข้น

ของสารละลายตัวอย่างที่ 1,000 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 7.10 ± 0.20 mm เมื่อเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin พบว่ายามาตรฐาน Erythromycin ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.15 mg/mL สามารถยับยั้งเชื้อ แบคทีเรีย *S. mutans* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 23.90 ± 0.36 mm

4.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย

ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง (MIC) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดขลู่เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Erythromycin โดยวิธี Broth microdillution พบว่าสารสกัดขลู่ไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ ส่วนยามาตรฐาน Erythromycin สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้เท่ากับ 10.94 μg/mL

4.3 การศึกษาและการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุนไพรตัวอย่าง

4.3.1 การศึกษาการประเมินคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันสมุน ไพร

ผลการประเมินคุณภาพทางเคมี และทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มทดลองจะทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง คือ เก็บยาสีฟันไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ และกลุ่มควบคุมจะทดสอบโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (อุณภูมิห้อง) เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำยาสีฟันทั้ง 2 กลุ่ม มาทำการเปรียบเทียบ พบว่า ความเป็นเนื้อเดียวกัน, กลิ่นของยาสีฟันสมุนไพรทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลง ส่วนสีของยาสีฟันสมุนไพรทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงโดยสีจางลงจากเดิมเล็กน้อยคือ ยาสีฟันสมุนไพรเบสเดิมมีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อหลังทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง มีสีน้ำตาลจางลงเล็กน้อย และยาสีฟันสมุนไพรขลู่เดิม มีสีน้ำตาลแกมเขียว เมื่อหลังทดสอบภายใต้สภาวะเร่งมีสีน้ำตาลแกมเขียวจางลงเล็กน้อย สำหรับการทดสอบค่า pH (ความเป็นกรด - เบส) ของผลิตภัณฑ์ ทั้ง 2 กลุ่ม มีการเปลี่ยนแปลง โดยมีค่า pH ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งค่าที่ได้ถืออยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

4.3.2 การศึกษาความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครด้วยแบบสอบถาม

ผลการประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างอาสาสมัครทางด้านลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์(สังเกตด้วยตาเปล่า) โดย ศึกษาในเรื่องลักษณะความเนียนของเนื้อยาสีฟัน กลิ่นของผลิตภัณฑ์ และสีของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งทำการประเมินความพึงพอใจของกลุ่มอาสาสมัคร ทาง ด้านคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์หลังทดลองใช้จริง โดยศึกษาในเรื่องความรู้สึกขณะแปรง คือ รสชาติ ความเย็นสดชื่น ปริมาณฟอง ไม่รู้สึกระคายเคือง ความหนืดขณะแปรง และศึกษาในเรื่องความรู้สึกหลังแปรง คือ ลมหายใจสดชื่น ช่วยระงับกลิ่นปาก รู้สึกปากสะอาด และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ พบว่าผู้ใช้มีความพึงพอใจ ในด้านลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ และในด้านคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์หลังทดลองใช้คือ ผู้ใช้มีความพึงพอใจยาสี

ฟันสมุนไพรขลู่มากกว่ายาสีฟันสมุนไพรพื้น

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้ พบว่า สารสกัดส่วนเหนือพื้นดินต้นขลู่ด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ได้เล็กน้อย โดยวัดขอบเขตการยับยั้งได้เท่ากับ 7.10 ± 0.20 mm อาจเนื่องด้วยสารสำคัญที่มีในสารสกัดส่วนเหนือพื้นดินต้นขลู่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% สามารถยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ไม่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานสารสกัดใบขลู่ด้วยเอทานอล 95% สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยวัดขอบเขตการยับยั้งเท่ากับ 10.5 ± 0.20 mm [10] การพัฒนาในขั้นต่อไป อาจสกัดส่วนเหนือพื้นดินของต้นขลู่ด้วยตัวทำละลายอื่น หรืออาจทำการทดสอบกับแบคทีเรียที่มักพบในช่องปากชนิดอื่น

5. กิตติกรรมประกาศ

ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำ ปี 2564 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ที่ให้ความอนุเคราะห์

6. อ้างอิง

[1] ปิยะวดี โพธิรักษานนท์. การดูแลสุขภาพช่องปากทำให้สุขภาพกายแข็งแรงจริงหรือ. พันดีชีวีมีสุข. เข้าถึงเมื่อ 19 มิถุนายน 2562. จาก : http://www.dentistry.kku.ac.th/dt2008/book life/51.pdf

[2] ภทรพรรณ อุณาภาค และสิริรัตน์ ราษฎร์ดุษดี. การพัฒนาตำรับยาสีฟันสมุนไพร.โครงการปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต.คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2549; 66 หน้า.

[3] ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ขลู่ (Khlu) [อินเทอร์เน็ต].(ม.ป.ป.) เข้าถึงเมื่อ 19 ก.ย. 2557. จาก :http://www.phargarden.com/main.php? Action= viewpage&pid=24

[4] Ahem SA, Kamel EM. Phenolic constituents and biological activity of the genus pluchea. 2013. Der Pharma Chemica [Internet] 2013 [cited 2014 Sep 7]; 5(5): 109-114. Available from:http://derpharmachemica.com/vol5-iss5/DPC-2013-5-5-109-114.pdf

[5] Andarwulan N, Kurniasih D, Apriady RA, Rahmat H, Roto AV, Bolling BW, Poly phenols, carotenoids and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. J Funct Foods. 2012; 4 : 339-347.

[6] Rosilda AH, Erazuliana AK, Zuraini N,Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the ethanolic extract of *Pluchea indica* (L) Less. Leaf. 2008. Pharmacogyonline [Internet] [cited 2014 Sep 8] ; 2 : 349-360.Available from http: // pharmaco logyonline. silae. it/ files/ archives/ 2008/vol2/ 31_Hamid.pdf

[7] Mohamad S, Zin NM, Wahab HA, Ibrahim P, Sulaiman SF, Zuhariluddin ASM. Antituberculosis potential of some ethanobotanically selected

Malaysian plants J Enthamopharmacol. 2011; 133 : 1021-1026.

[8] Cho JJ, Cho CL, Kao CL, Chen CM, Tseng CN, Lee YZ. Crude aqueous extracts of *Pluchea indica* (L.) Less. inhibit proliferation and migration of cancer cells through induction of p53-dependent cell death. 2014. BMC Complement Altern Med [Internet] [cited 2014 Sep 8] ; 12 : 265- 276. Available from http: / / www. Biomed central.com/1472- 6882/12/265

[9] Teanpaisan R. Bacteria and common infectious diseases in the oral cavity. 1st ed. Songkhla: IQ media. 2009; 313 p.

[10] พิมพา สมอุราสุข. การประยุกต์ใช้สารสกัดจากใบขลู่ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. ปัญหาพิเศษ. สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2551; 86 หน้า.