

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus intermedius* ของสารสกัดจาก
พืชสมุนไพร

Anti-bacterial activity of herbal extracts against
Staphylococcus intermedius

พิมพ์ชนก โล่ห์ทองคำ¹

วณิชยา คล่องแคล่ว²

เนาวรัตน์ แจ่มใส²

มณฑล วิสุทธิ³

บทคัดย่อ

พืชสมุนไพรถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ทั้งโรคติดต่อ และโรคไม่ติดต่อ โดยเฉพาะโรคติดเชื้อแบคทีเรีย การศึกษานี้ได้นำสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า ตะไคร้ และใบมะกรูด มาเตรียมเป็นสูตรผสมของสารสกัดจากพืชทั้งหมด 4 สูตร และตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus intermedius* TISTR668 ด้วยวิธี Agar disc diffusion และวิธี Broth microdilution ผลการศึกษาพบว่า สูตรผสมที่ 2 ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสูตรผสมอื่น โดยมีขนาดยับยั้งเท่ากับ 28.02 ± 0.31 มม. และให้ค่าการยับยั้งแบคทีเรียน้อยที่สุดเท่ากับ 0.625 mg/ml และมีค่าการฆ่าแบคทีเรียน้อยที่สุดเท่ากับ 0.625 mg/ml สูตรผสมที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์สำหรับดูแล และควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียได้

คำสำคัญ: สูตรผสมสมุนไพร สารสกัดจากพืช การยับยั้งแบคทีเรีย

Staphylococcus intermedius

Abstract

Medicinal plants could be an alternative treatment for infectious and non-infectious diseases especially bacterial infections. This study has selected 4 plant extracts (*Zingiber officinale*, *Alpinia galanga*, *Cymbopogon citratus* and

Citrus hystrix) which contained antibacterial activity and prepared them for 4 recipes. Then the formulations were determined anti-bacterial activity against *Staphylococcus intermedius* TISTR668 by agar disc diffusion method and broth microdilution method. The results showed that the second recipe presented anti-bacterial activity more than other formulations with inhibitory zone as 28.02 ± 0.31 mm. In addition, the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) values for *S. intermedius* were 0.62 mg/ml. Taken together, this study presented the second recipe of plant extracts could be an alternative ingredient in skin care products for bacterial control.

Keyword : Extract formulation Plant extracts, Anti-bacterial activity
Staphylococcus intermedius

บทนำ

เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก กลุ่ม Staphylococci สามารถพบได้ตามผิวหนัง และเยื่อทางเดินหายใจของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อโรคที่มีความสำคัญในมนุษย์และสัตว์ แบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ที่สำคัญทางการแพทย์ที่ก่อโรคในมนุษย์ ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermis* สำหรับเชื้อที่พบในสัตว์ โดยเฉพาะในสัตว์เลี้ยง ที่ใกล้ชิดกับมนุษย์ ได้แก่ *S. intermedius* ซึ่งสามารถก่อโรคในมนุษย์ได้เช่นกัน แบคทีเรียกลุ่มนี้ก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนัง เกี่ยวกับการเกิดฝีหนอง และการติดเชื้อในบาดแผล (Lee, 1994; Lilenbaum *et al.*, 2000) การควบคุมเชื้อแบคทีเรียภายนอกร่างกาย นอกจากใช้สารเคมีแล้ว ยาปฏิชีวนะยังเป็นอีกตัวเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสม และในปัจจุบัน พบว่าผลิตภัณฑ์ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสำหรับใช้ภายนอกร่างกายหลายชนิดมียาปฏิชีวนะเป็นส่วนผสม ซึ่งการใช้ในลักษณะนี้ จะก่อให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย

การดื้อต่อยาปฏิชีวนะพบได้บ่อยในแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ซึ่งเกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะไม่ถูกวิธี การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้มีผลต่อการรักษาโรคทั้งในคนและในสัตว์ ส่งผลให้อาการของโรคเพิ่มขึ้น รวมถึงอัตราการตายที่เพิ่มขึ้น และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการรักษา ในสัตว์เลี้ยง เริ่มมีรายงานการตรวจพบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะในช่วงต้นปี 1999 (Tomlin *et al.*, 1999) จากตัวอย่างสุนัขในโรงพยาบาลสัตว์ จากนั้นมีรายงานการตรวจพบแบคทีเรียดื้อยาในกลุ่ม Staphylococci เพิ่มมากขึ้นทุกปี (Moon *et al.*, 2007; Wedley *et al.*, 2014; Iverson *et al.*, 2015; Worthing *et al.*, 2018) ด้วยเหตุนี้

จึงเป็นผลให้มีการวิจัยเพื่อหาทางเลือก หรือการใช้สมุนไพรสำหรับรักษาโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง เพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะลง

สารสกัดจากพืชเป็นแหล่งทางเลือกที่สำคัญ สำหรับการพัฒนาการรักษาโรคติดเชื้อ การศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ ได้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้ง และฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci (มณฑล, 2560) สารสกัดจากพืชที่เลือกมาศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale*) ข่า (*Alpinia galanga*) ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) และมะกรูด (*Citrus hystrix*) ซึ่งมีการศึกษาแล้วว่า สามารถควบคุมแบคทีเรียได้ อีกทั้งเป็นพืชที่มีการปลูกเชิงธุรกิจ และใช้เป็นอาหาร อย่างไรก็ดี ตาม สารสกัดดังกล่าวมา ยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ในรูปแบบการเตรียมเป็นสูตรผสม ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงได้นำสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด มาทำการเตรียมเป็นสูตรผสม และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. intermedius* ด้วยวิธี Agar disc diffusion และ Broth microdilution

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. intermedius* TISTR668 ของสูตรผสม สารสกัดจากขิง ข่า ตะไคร้ และใบมะกรูด ด้วยวิธี Agar disc diffusion และ Broth microdilution

วิธีการดำเนินวิจัย

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เชื้อ *S. intermedius* TISTR668 ที่ใช้ในงานวิจัยได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว-TISTR) นำเชื้อที่ได้ เลี้ยงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการถ่ายเชื้อจากอาหาร TSB ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton broth จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4-5 ชั่วโมง และนำมาปรับความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย 0.85% NaCl ให้เท่ากับความขุ่นของสารละลาย McFarland Standard No. 0.5 จะได้ปริมาณเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml และนำไปทดสอบในวิธี Agar disc diffusion และ Broth microdilution

การเตรียมสกัดสารสกัดจากพืช

ส่วนต่าง ๆ ของพืชทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เหง้าของขิง และข่า ลำต้นและใบของตะไคร้ และใบมะกรูด ถูกซื้อมาจากตลาดใน อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา อย่างละ 1 กิโลกรัม นำมาล้างทำความสะอาด พึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตัดให้มีขนาดเล็ก และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C ประมาณ 3-4 วัน ซึ่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด และนำไปแช่ใน 95% เอทานอล นาน 7 วัน จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อแยกกากออก นำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาเอทานอลออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator นำสารสกัดที่ได้ใส่ขวด แล้วนำไปชั่งน้ำหนักสาร และคำนวณหาปริมาณเนื้อสารสกัดที่ได้ และละลายสารสกัดด้วย 100% Dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น 500 mg/ml เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมสูตรผสมของสารสกัด

สารสกัดที่เตรียมได้ข้างต้น จะถูกนำมาเตรียมเป็นสูตรผสม โดยทำการผสมกันในอัตราส่วน X:X:X โดยกำหนด 1 ส่วนในปริมาตร 50 µl จะได้สูตรผสมของสารสกัดทั้งหมด 4 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 1 (Temrangsee *et al.*, 2554) จากนั้นนำไปตรวจสอบฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย

ตารางที่ 1 การเตรียมสูตรผสมของสารสกัดจากพืช 4 ชนิด

สูตรผสม และอัตราส่วน	ขิง	ข่า	ตะไคร้	มะกรูด
ผสมของสูตรผสม				
สูตรที่ 1	2	1	1	1
สูตรที่ 2	1	2	1	1
สูตรที่ 3	1	1	2	1
สูตรที่ 4	1	1	1	2

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเบื้องต้นด้วยวิธี Agar disc diffusion

สูตรผสมของสารสกัดทั้ง 4 สูตร และสารสกัดทั้ง 4 ชนิด ถูกนำมาตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disc diffusion ตามวิธีมาตรฐานที่อ้างใน CLSI (2009) และได้อธิบายไว้ในรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ (มณฑล, 2560) โดยสรุปในงานวิจัยนี้ ใช้แผ่นกระดาษกรอง Whatman No.1 ตัดให้มี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm นำมาบรรจุตัวอย่างสูตรผสม หรือสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดปริมาณ 5 mg/disc และใช้ยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin (5 µg/disc) เป็น positive control และใช้สารละลาย DMSO เป็น negative control ทำการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar ที่ป้ายเชื้อ *S. intermedius* บ่มที่อุณหภูมิ 37°C

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่นดิสก์ มีหน่วยเป็น มิลลิเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration; MIC) และ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสูตรสารสกัดจากพืชท้องถิ่นที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration; MBC)

สูตรผสมของสารสกัดจากพืชที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุดจะถูกนำมาตรวจหาค่า MIC และค่า MBC ด้วยวิธี Broth microdilution ตามวิธีมาตรฐานของ CLSI (2009) และได้อธิบายไว้ในรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ (มณฑล, 2560) ในทดลองนี้มี Positive control เป็นยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin และมี Negative control เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ละลายสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับที่ใช้ทดสอบ แต่ไม่มีการเติมเชื้อ และมี Internal control เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับ DMSO (1% v/v) และเติมเชื้อแบคทีเรีย สำหรับแสดงให้เห็นการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นปกติ ประเมินค่า MIC โดยนำ 96-well plate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 600 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบที่ได้เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของชุดที่เป็น negative control ค่า MIC ของสารสกัด จะมีค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียงหรือเท่ากับชุด negative control จากนั้นนำอาหารปริมาตร 10 μ l ในแต่ละ well ของ 96-well plate ที่มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับชุด negative control ไปหยดลงบนอาหาร Tryptic soy agar บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ให้เป็นค่า MBC

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองที่แสดงในตาราง จะถูกคำนวณทางสถิติ ด้วยการหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน รวมถึงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี ANOVA เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง และชุดควบคุม ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะวิเคราะห์ที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ปริมาณสารสกัดที่ได้จากพืช

ปริมาณสารสกัดของขิง ข่า ตะไคร้ และใบมะกรูด ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล มีร้อยละของปริมาณสารสกัดอยู่ระหว่าง 1.99-2.42 โดยสารสกัดจากขิงได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 2.12 สารสกัดจากข่าได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 2.42 สารสกัดจากตะไคร้ได้ร้อยละ

ของสารสกัดเท่ากับ 2.19 และสารสกัดจากมะกรูดได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 1.99 แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ชนิดของพืช และส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาเตรียมสารสกัด และร้อยละของสารสกัดที่สกัดได้

ชนิดของพืช	ส่วนที่ใช้ในการสกัด	ร้อยละของปริมาณ
<i>Zingiber officinale</i> (ขิง)	เหง้า	2.12
<i>Alpinia galanga</i> (ข่า)	เหง้า	2.42
<i>Cymbopogon citratus</i> (ตะไคร้)	ลำต้นและใบ	2.19
<i>Citrus hystrix</i> (มะกรูด)	ใบ	1.99

ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสูตรผสมของสารสกัดจากพืช

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *S. intermedius* ของสูตรผสมของสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด (ขิง ข่า ตะไคร้ และมะกรูด) ด้วยวิธี Agar disc diffusion (แสดงดังตารางที่ 3) พบว่า สูตรผสมที่ 2 ซึ่งมีสารสกัดจากข่าในสัดส่วนที่มากกว่าสารสกัดอื่นๆ ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสูตรผสมที่ 1 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 28.02 ± 0.31 มม. ในขณะที่ขนาดการยับยั้งของสูตรผสมอื่นๆ มีขนาดอยู่ระหว่าง 6.07-8.28 มม. และยา Enrofloxacin ที่ใช้เป็นชุดควบคุมมีขนาดการยับยั้งแบคทีเรียเท่ากับ 28.53 ± 0.67 มิลลิเมตร

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. intermedius* TISTR668 ของสารสกัดสูตรผสมจากพืช

แบคทีเรียที่ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งแบคทีเรีย (มม.)				
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	Enrofloxacin
<i>S. intermed ius</i>	8.28±0.84	28.02±0.31 *	7.98±0.58	6.07±0.10	28.53±0.67

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

สำหรับฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดแต่ละชนิดต่อแบคทีเรีย *S. intermedius* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสอยู่ระหว่าง 7.91-18.55 มม. โดยสารสกัดจากข้าวให้ฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด (18.55 ± 0.42 มม.) และสารสกัดจากมะกรูดให้ฤทธิ์ยับยั้งน้อยที่สุด (7.91 ± 0.18 มม.) แสดงดังในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. intermedius* TISTR668 ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิด

แบคทีเรียที่ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งแบคทีเรีย (มม.)			
	ขิง	ข้าว	ตะไคร้	มะกรูด
<i>S. intermedius</i>	11.33 ± 0.24	18.55 ± 0.42 *	10.24 ± 0.31	7.91 ± 0.18

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ผลการตรวจสอบฤทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธี Agar disc diffusion แสดงให้เห็นว่า สูตรผสมที่ 2 ให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดีที่สุด จึงถูกเลือกมาศึกษาความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ใช้ในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยการหาค่า MIC และค่า MBC ด้วยวิธี Broth microdilution ผลการทดลองพบว่า ค่า MIC และค่า MBC ของสูตรที่ 2 ต่อแบคทีเรีย *S. intermedius* มีค่าเท่ากับ 0.625 mg/ml ในขณะที่ ยา Enrofloxacin มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 0.125 และ 0.25 µg/ml ตามลำดับ แสดงดังในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่า MIC และค่า MBC ของสารสกัดสูตรผสมสูตรที่ 2 ต่อแบคทีเรีย *S. intermedius* TISTR668

แบคทีเรียที่ทดสอบ	ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งแบคทีเรีย และความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ฆ่าแบคทีเรีย (MIC/MBC)	
	สูตรที่ 2 (mg/ml)	Enrofloxacin (µg/ml)
<i>S. intermedius</i>	0.625/0.625	0.125/0.25

อภิปรายผลการวิจัย

การลดการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์เลี้ยง เช่น ไม่นำยาปฏิชีวนะไปเป็นส่วนผสมสำหรับ ยาใช้ภายนอกร่างกาย เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดการเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ แบคทีเรีย และอีกทางเลือกหนึ่ง สำหรับการทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะคือ การประยุกต์ใช้ สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อการควบคุมการติดเชื้อที่ผิวหนัง การศึกษาวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็น ถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด และสูตรผสมของสารสกัดดังกล่าวต่อ การยับยั้งแบคทีเรีย *S. intermedius* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ ผิวหนัง และพบได้บ่อยในสัตว์เลี้ยง โดยเฉพาะสุนัข (Wedley et al., 2014; Worthing et al., 2018) สารสกัดเชิงเดี่ยวทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดี โดยเฉพาะสารสกัดจากข่า ซึ่ง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากข่าที่สกัดด้วย ตัวทำละลายไม่มีขี้ และเอทานอล ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคลุ่มแกรมบวกได้ดี (มณฑล, 2560; Voravuthikunchai et al., 2006; Oonmetta-aree et al., 2006; Sunilson et al., 2009; Visutthi, 2016) เช่นเดียวกับสารสกัดจากขิง ที่มีรายงานการยับยั้งแบคทีเรีย (Bhargava et al., 2012; Kondo et al., 2010) และเชื้อราได้ดีเช่นกัน (Singh et al., 2008; Sasidharan & Menon, 2010)

พืชเป็นแหล่งของพฤษเคมีที่น่าสนใจ สารสกัดจากพืชหลายชนิดให้ฤทธิ์ยับยั้ง แบคทีเรียที่แตกต่างกัน การเลือกใช้สารสกัดเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งอาจให้ผลการรักษาที่ดี แต่ เพื่อการออกฤทธิ์ที่ดีกว่า ตำรับยาสมุนไพรหลายตำรับจึงได้เลือกที่จะใช้พืช หรือสมุนไพร หลาย ๆ อย่างผสมกันในตำรับยา ในผลการศึกษานี้ก็เช่นกัน นอกจากสารสกัดเชิงเดี่ยวที่มี ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. intermedius* แล้ว สูตรผสมของพืชทั้ง 4 ชนิด ที่มีอัตราส่วนผสม ที่แตกต่างกัน ให้ผลการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกันด้วยเช่นกัน สูตรผสมของสารสกัดจากขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด ที่มีอัตราส่วนผสม 1:2:1:1 ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. intermedius* ได้ดีกว่า สูตรผสมอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ และยังให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดเชิงเดี่ยว

การหาค่า MIC และ MBC ของสูตรผสมดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสูตรผสมดังกล่าวให้ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดี ซึ่งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจาก พืช ได้ระบุว่า สารสกัดจากพืชที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ดี ควรมีค่า MIC น้อยกว่า 1 mg/ml (Rios & Recio, 2005; Van Vuuren, 2008) นอกจากให้ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แล้ว สูตรผสมดังกล่าวยังให้ฤทธิ์ฆ่าเซลล์แบคทีเรียที่ความเข้มข้นเดียวกัน

สูตรผสมที่เตรียมได้ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดเพียงชนิดเดียว ซึ่งแสดง ให้เห็นในรายงานก่อนหน้านี้ สารสกัดจากขิง และข่าที่สกัดด้วยเอทานอล ให้มีค่า MIC ต่อ แบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci เท่ากับ 1.25 และ 5.0 mg/ml ตามลำดับ (มณฑล, 2560)

และค่า MIC ของสารสกัดจากตะไคร้ และมะกรูด ต่อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci เท่ากับ 2.5 และ 10 mg/ml หลายงานวิจัยได้แสดงให้เห็นว่า การใช้สารสกัดในลักษณะเป็นสูตรผสมสามารถขยายให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดดีขึ้นกว่าการใช้สารสกัดเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง (Kondo *et al.*, 2010; Rahman *et al.*, 2011; Temrangsee *et al.*, 2011; Chusri *et al.*, 2014)

ข้อเสนอแนะเพื่อนำผลการวิจัยไปใช้

สารสกัดจากขิง ข่า ตะไคร้ และมะกรูด ได้มีการศึกษาระดับความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตแล้ว และพบว่าระดับที่ใช้ยับยั้งเชื้อไม่มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (Clarke, 2009; Plengsuriyakarn, *et al.*, 2012; Abirami, *et al.*, 2015; Karunarathne, *et al.*, 2018) ดังนั้นสูตรผสมของสารสกัดที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถนำไปศึกษาวิจัยต่อ เพื่อพัฒนาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังของมนุษย์และ สัตว์ได้

เอกสารอ้างอิง

- มณฑล วิสุทธิ. (2560). “ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นบางชนิดในจังหวัดนครราชสีมา,” *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.* 45(4) 805-816.
- Clarke, S. (Ed.). (2009). *Essential Chemistry for Aromatherapy E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2015). “Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats,” *Food science and human wellness.* 4(1) : 35-41.

- Bhargava, S., Dhabhai, K., Batra, A., Sharma, A., & Malhotra, B. (2012). "*Zingiber officinale*: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities," **Journal of chemical and pharmaceutical research**. 4(1) : 360-364.
- Chusri, S., Tongrod, S., Chokpaisarn, J., Limsuwan, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2014). "Antagonistic interactions of "Ya-Sa-Marn-Phlae" ethanol extract in combination with topical antiseptics against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*," **BioMed research international**. 2014.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2009). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition. USA** : Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa.
- Iverson, S. A., Brazil, A. M., Ferguson, J. M., Nelson, K., Lautenbach, E., Rankin, S. C., Morris, D. O., Davis, M. F. (2015). "Anatomical patterns of colonization of pets with staphylococcal species in homes of people with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) skin or soft tissue infection (SSTI)," **Veterinary Microbiology**. 176(1) : 202–208.
- Karunaratne, P. U. H. S., Thammitiyagodage, M. G., & Weerakkody, N. S. (2018). "Safety evaluation of galangal (*Alpinia galanga*) extract for therapeutic use as an antimicrobial agent," **International journal of pharmaceutical sciences and research**. 9(11) : 4582-4590.
- Kondo, S., Sattaponpan, C., Phongpaichit, S., Srijan, A., & Itharat, A. (2010). "Antibacterial activity of Thai medicinal plants *Pikutbenjakul*," **Journal of the Medical Association of Thailand**. 93(7) : S131-5.
- Lee, J. (1994). "*Staphylococcus intermedius* isolated from dog-bite wounds," **Journal of Infection**. 29(1) : 105.

- Lilenbaum, W., Veras, M., Blum, E., & Souza, G. N. (2000). "Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs," **Letters in applied microbiology**. 31(1) : 42-45.
- Moon, J. S., Lee, A. R., Kang, H. M., Lee, E. S., Kim, M. N., Paik, Y. H., & Koo, H. C. (2007). "Phenotypic and genetic antibiogram of methicillin-resistant staphylococci isolated from bovine mastitis in Korea," **Journal of dairy science**, 90(3) : 1176-1185.
- Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., & Eumkeb, G. (2006). "Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*," **LWT-Food Science and Technology**. 39(10) : 1214-1220.
- Plengsuriyakarn, T., Viyanant, V., Eursitthichai, V., Tesana, S., Chaijaroenkul, W., Itharat, A., & Na-Bangchang, K. (2012). "Cytotoxicity, toxicity, and anticancer activity of *Zingiber officinale* Roscoe against cholangiocarcinoma," **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. 13(9) : 4597-4606.
- Rahman, S., Parvez, A. K., Islam, R., & Khan, M. H. (2011). **Antibacterial activity of natural spices on multiple drug resistant *Escherichia coli* isolated from drinking water, Bangladesh**. Retrieved Jan 5, 2017, from <https://doi.org/10.1186/1476-0711-10-10>
- Rios, J. L., & Recio, M. C. (2005). "Medicinal plants and antimicrobial activity," **Journal of ethnopharmacology**. 100(1-2) : 80-84.
- Sasidharan, I., & Menon, A. N. (2010). "Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe)," **International Journal of Current Pharmaceutical Research**. 2(4) : 40-43.
- Singh, G., Kapoor, I. P. S., Singh, P., de Heluani, C. S., de Lampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2008). "Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*," **Food and chemical toxicology**. 46(10) : 3295-3302.

- Sunilson, J. A. J., Suraj, R., Rejitha, G., Anandarajagopal, K., Kumari, A. V. A. G., & Promwichit, P. (2009). "In vitro antimicrobial evaluation of *Zingiber officinale*, *Curcuma longa* and *Alpinia galanga* extracts as natural food preservatives," **American Journal of Food Technology**. 4(5) : 192-200.
- Temrangsee, P., Kondo, S., & Itharat, A. (2011). "Antibacterial Activity of Extracts from Five Medicinal Plants and Their Formula Against Bacteria that Cause Chronic Wound Infection," **Journal of the Medical Association of Thailand**. 94(1) : 166-171.
- Tomlin, J., Pead, M. J., Lloyd, D. H., Howell, S., Hartmann, F., Jackson, H. A., & Muir, P. (1999). "Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* Infections in 11 Dogs," **The Veterinary Record**. 144(3) : 60-64.
- Van Vuuren, S. F. (2008). "Antimicrobial activity of South African medicinal plants," **Journal of ethnopharmacology**. 119(3) : 462-472.
- Visutthi, M. (2016). "Anti- bacterial and Anti- quorum Sensing Properties of Selected Medicinal Plants from Nakhon Ratchasima Province, Thailand," **Science and Technology RMUTT Journal**. 6(1) : 1-13.
- Voravuthikunchai, S. P., Limsuwan, S., Supapol, O., & Subhadhirasakul, S. (2006). "Antibacterial activity of extracts from family Zingiberaceae Against Foodborne Pathogens," **Journal of Food Safety**. 26(4) : 325-334.
- Wedley, A. L., Dawson, S., Maddox, T. W., Coyne, K. P., Pinchbeck, G. L., Clegg, P., & Williams, N. J. (2014). "Carriage of *Staphylococcus* species in the veterinary visiting dog population in mainland UK: Molecular characterization of resistance and virulence," **Veterinary microbiology**. 170(1) : 81-88.
- Worthing, K. A., Brown, J., Gerber, L., Trott, D. J., Abraham, S., & Norris, J. M. (2018). "Methicillin- resistant staphylococci amongst veterinary personnel, personnel- owned pets, patients and the hospital

environment of two small animal veterinary hospitals,” **Veterinary microbiology**. 223(1) : 79-85.