



ผลของสารสกัดสมุนไพรและการพัฒนาตำรับครีมสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญ
ของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

Effects of Herbal Extracts and Herbal Cream Formula Development on the
Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth

ณัฏฐ์ ภัคที¹ จตุพร ประทุมเทศ¹ ปานิชา พงศ์นราทร¹ สุรพงศ์ รัตนะ² และ รณชัย ภูวนันนา^{1*}

¹สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร สกลนคร 47160

²สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครพนม นครพนม 48000

Naruwat Pakdee¹, Jatuporn Prathumtet¹, Panicha Pongnaratorn¹, Surapong Rattana²
and Ronnachai Poowanna^{1*}

¹Department of Thai traditional Medicine, Faculty of Natural Resources,

Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakorn Campus, Sakon Nakorn 47160

²Division of Science Education, Faculty of Education Nakhon Phanom University, Nakhon Phanom 48000

*Corresponding author: ronnachai.pw@rmuti.ac.th

Received: 11 July 2024/ Revised: 14 September 2024/ Accepted: 17 September 2024

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง *S. aureus* และพัฒนาตำรับครีมสมุนไพร จากสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ใบกุ่มบก (*Crateva adansonii* DC.) ดอกกระเจียวแดง (*Curcuma sessilis* Gage.) ใบขันทองพญาบาท (*Suregada multiflorum* Baill.) ใบตำลึงทอง หรือกระทกรก (*Passiflora foetida* L.) และใบน้อยหน่า (*Annona squamosa* Linn.) ด้วยเอทานอลร้อยละ 70, 95 และน้ำ ทดสอบการต้านเชื้อ *S. aureus* และพัฒนาตำรับครีม 4 สูตร นำสูตรที่มีค่าความคงตัวทางกายภาพและชีวภาพเหมาะสมที่สุดมาผสมสารสกัดสมุนไพรในสัดส่วนต่างกัน 4 ตำรับ และทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดใบน้อยหน่าด้วยการต้มให้ร้อยละของผลผลิตสูงสุด รองลงมาคือ ใบตำลึงทองและดอกกระเจียวแดง (ร้อยละ 10.88, 5.59 และ 4.81 ตามลำดับ) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดใบกุ่มบกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ความเข้มข้น 666.60 µg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อดีที่สุด (18.67±1.53 mm) รองลงมาคือ สารสกัดดอกกระเจียวแดงด้วยน้ำ และสารสกัดใบขันทองพญาบาทด้วยเอทานอลร้อยละ 70 (13.33±1.53 mm และ 10.67±1.15 mm) ค่า MIC ของสารสกัดใบกุ่มบกและใบขันทองพญาบาทเท่ากับ 500 µg/ml และค่า MBC มากกว่า 5 mg/ml สูตรครีมพื้นที่ 4 มีค่าความคงตัวเหมาะสมที่สุด ส่วนตำรับครีมสมุนไพรที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดใบกุ่มบกและใบขันทองพญาบาทในอัตราส่วน 1:1 (ร้อยละ 36 ในตำรับครีม) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อดีที่สุด (15.33±4.51 mm) เทียบกับยา Dicloxacillin (36.25±0.54 mm, 40 µg/ml) ดังนั้นสารสกัดใบกุ่มบกด้วยเอทานอลร้อยละ 95% และใบขันทองพญาบาทด้วยเอทานอลร้อยละ 70 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* สูงสุด และเหมาะสมที่จะพัฒนาเป็นตำรับครีมสมุนไพร

คำสำคัญ: กุ่มบก กระเจียวแดง ขันทองพญาบาท การยับยั้งแบคทีเรีย สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส



Abstract

This research aimed to study the antibacterial efficacy against *S. aureus* and develop herbal cream formulation from 5 herbs, including *Crateva adansonii* DC. (stem), *Curcuma sessilis* Gage. (flower), *Suregada multiflorum* Baill. (stem), *Passiflora foetida* L. (vine) and *Annona squamosa* Linn. (leaf) were extracted using 70% ethanol, 95% ethanol and water. The extracts were tested against *S. aureus*, and four cream base formulations were developed. The most physically and biologically stable formulation was mixed with the herbal extracts in different ratios to create four formulations, which were then tested against *S. aureus*. Results: The *Annona squamosa* extract produced the highest yield when boiled, followed by *Passiflora foetida* and *Curcuma sessilis* (10.88%, 5.59%, and 4.81%, respectively). Inhibition of *S. aureus* using the agar well diffusion method showed that *Crateva adansonii* extract with 95% ethanol at 666.60 µg/ml had the best inhibitory effect (18.67±1.53 mm), followed by *Curcuma aeruginosa* extract with water and *Suregada multiflorum* extract with 70% ethanol (13.33±1.53 mm and 10.67±1.15 mm, respectively). The MIC of *Crateva adansonii* and *Suregada multiflorum* extracts was 500 µg/ml, and the MBC was greater than 5 mg/ml. The fourth cream formulation was the most stable. Formulation 2, containing *Crateva adansonii* extract with 95% ethanol and *Suregada multiflorum* extract with 70% ethanol in a 1:1 ratio (36% in the cream formulation), showed the highest inhibitory effect against *S. aureus* (15.33±4.51 mm), compared to dicloxacillin (36.25±0.54 mm, 40 µg/ml). Therefore, *Crateva adansonii* extract with 95% ethanol and *Suregada multiflorum* extract with 70% ethanol have the highest efficacy in inhibiting *S. aureus* and are suitable for developing herbal cream formulations.

Keywords: *Crateva adansonii* DC., *Curcuma sessilis* Gage., *Suregada multiflorum* Baill., Anti-bacterial, *Staphylococcus aureus*

บทนำ

ผิวหนังเป็นอวัยวะขนาดใหญ่ที่สุดคิดเป็นร้อยละ 16 ของร่างกาย มีหน้าที่สำคัญในการป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย เป็นทางผ่านของน้ำและแร่ธาตุต่างๆ ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต [1] และมักพบการติดเชื้อบริเวณผิวหนังผ่านทางบาดแผลจากเชื้อต่างๆ เช่น *Pseudomonas aeruginosa* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เป็นต้น ซึ่งจะทำให้เกิดโรคติดเชื้อและเกิดตุ่มหนองที่ผิวหนัง (Impetigo) ฝี (Furuncle) ฝีฝักบัว (Carbuncles) บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ Exfoliative toxin ที่ทำให้เกิดโรคผิวหนังหลุดลอกที่เรียกว่า Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) [2, 3] ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสมุนไพรหลายชนิดมีสรรพคุณรักษาโรคผิวหนังดังกล่าวได้

สมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคผิวหนัง เช่น กลุ่มบก (*Crateva adansonii* DC.) โดยสารสกัดใบกลุ่มบกในชั้นเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 0.31 mg/ml [4] จากการศึกษาสารพฤกษเคมีจากการดำนจลิ้นทรีของใบกลุ่มบกพบ เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และสารสกัดอีเทอร์ มีฤทธิ์ด้านการออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ที่ 100 mg/kg การศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากดอกกระเจียวแดง (*Curcuma sessilis* Gage.) โดยใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกชนิด *S. aureus* ได้ [5] สารสกัดจากใบน้อยหน่า (*Annona squamosa* Linn.) มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ และต้านมะเร็ง [6, 7] และจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดน้อยหน่า พบว่ามีสาร Anonaine Alkaloid, Isocorydine สารกลุ่ม Acetogenin ชื่อ Annonacin A ส่วนใบน้อยหน่ามีสารสำคัญ ได้แก่ Linalool, Borneol, Eugenol, Farnesol และ Geraniol

เป็นต้น [8] และกระทกรก (*Passiflora foetida* L.) ที่สกัดจากใบพบว่ามีความเข้มข้น 0.5 - 5.0 µg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 12±0.16-21±0.08 mm ตามลำดับ [9] สารสกัดจากใบและผลของกระทกรกมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ ได้แก่ *Pseudomonas putida*, *Vibrio cholerae*, *S. flexneri* และ *S. pyogenes* เพื่อใช้รักษาโรคท้องเสีย ลำไส้อักเสบ การติดเชื้อไข และโรคผิวหนังได้ [10] นอกจากนั้นยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี [11] ซึ่งสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดได้ถูกเขียนไว้ในตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม มีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนัง [12] อีกทั้งมีรายงานว่าสรรพคุณรักษาโรคผิวหนังตามภูมิปัญญาหมอพื้นบ้าน เช่น ใบน้อยหน่ารสเผื่อนมาตำให้ละเอียดพอกแก้ฟกบวม ขมิ้นพาราธิพริก รักษากลากเกลื้อน ใบตำกับเกลือใช้เป็นยาพอกฝี แผลพุพองเป็นหนอง [13] ใบกระทกรกนำมาตำให้ละเอียดผสมกับน้ำพอสสมควร นำมาทาวนละ 3-4 ครั้ง เพื่อใช้รักษาโรคผิวหนัง แก้อาการคัน [14] เป็นต้น

จากข้อมูลข้างต้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรดังกล่าว โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยแบ่งออกเป็นทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ดอกกระเจียวแดง ใบกุ่มบก ใบขันทองพญาบาท ใบน้อยหน่า และใบตำลึงทอง หรือกระทกรก การพัฒนาตำรับครีมที่มีความคงตัวทางด้านกายภาพและชีวภาพ ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยคัดเลือกสารสกัดสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ดีที่สุด เพื่อนำไปพัฒนาเป็นครีมสมุนไพรได้อย่างเหมาะสม ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ด้านสมุนไพรและการแพทย์แผนไทยต่อไปในอนาคต

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรสดทั้ง 5 ชนิด คือ ดอกกระเจียวแดง ใบกุ่มบก ใบขันทองพญาบาท ใบน้อยหน่า และใบตำลึงทอง หรือกระทกรก (ใช้ใบพอสลาด) ซึ่งได้ตัวอย่างจากหมอพื้นบ้านในจังหวัดสกลนคร มาล้างทำความสะอาด ผึ่งลมให้แห้ง สับเป็นชิ้นเล็ก แล้วอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นบดให้ละเอียด แล้วชั่งสมุนไพร 250 กรัม มาผสมกับเอทานอลร้อยละ 70 และ 95 ในอัตราส่วน 1:5 และสกัดด้วยวิธีการต้มในน้ำในอัตราส่วน 1:5 ต้มเคี่ยวให้เหลือ 1 ใน 3 ส่วน แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำส่วนของสารละลายที่ได้ไประเหยด้วย Rotary evaporator จนตัวทำละลายแห้งสนิท และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบ

2. การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วยวิธี Agar well diffusion

ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (MHA) เติมน้ำกลั่นตามปริมาตร ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการต้มและคนด้วยแท่งแก้วตลอดเวลา นำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็น ตรวจสอบความเป็นกรดของอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีค่า pH 6.8-7.2 จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ให้มีความหนา 4 มิลลิเมตร รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว และปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำจานเพาะเชื้อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เพาะเลี้ยงเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรียที่เจริญแล้วจาก Tryptic soy broth (TSB) ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland นำไม้พินสำลีปลอดเชื้อ จุ่มลงในหลอดที่มีเชื้อแบคทีเรียที่ปรับค่าความขุ่น จากนั้นป้ายเชื้อลงบน MHA ให้ทั่ว ใช้ Cork borer เบอร์ 3 เจาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เตรียมสารสกัดหยาบโดยชั่งสารสกัด 0.6666 mg แล้วเติม DMSO ร้อยละ 1 ปริมาตร 1 ml จะได้ความเข้มข้นเท่ากับ 666.60 µg/ml จากนั้นเจือจางสารสกัดหยาบด้วยวิธี two-fold dilution จนมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 83.33 µg/ml ทดสอบการยับยั้งเชื้อโดยปิเปตสารสกัดที่ปริมาตร หลุมละ 30 µl ใช้ยา Dicloxacillin ความเข้มข้น 40 µg/ml เป็นตัวควบคุมผลบวก (Positive control) และใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) ร้อยละ 1 เป็นตัวควบคุมผลลบ (Negative control) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา



16 - 18 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกและวิเคราะห์ผลโดยการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

3. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum inhibition concentration; MIC) โดยวิธี Macro broth dilution

เตรียมสารสกัดหยาบโดยชั่งสารสกัด 0.50 mg แล้วเติม DMSO ร้อยละ 1 ปริมาตร 1 ml จะได้ความเข้มข้นเท่ากับ 500 µg/ml ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อต่อสารสกัดกุ่มบก กระเจียวแดง และชันทองพญาบาท ด้วยวิธี Macro broth dilution ในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm ที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อ ทำการเจือจางสารสกัดหยาบแบบอนุกรม (serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1 ml จำนวน 11 ความเข้มข้น (250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.91, 1.95, 0.98, 0.49 และ 0.24 µg/ml) เติมน้ำเชื้อ *S. aureus* ที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลอง จำนวนหลอดละ 1 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ทำการอ่านผลการทดสอบค่า MIC โดยสังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (อาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น) ความเข้มข้นของสารสกัดในหลอดนี้จะใช้รายงานเป็นค่า MIC

4. การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย 1) ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ โดยสังเกตลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้น การตกตะกอน และทดสอบความหนืด โดยใช้เครื่องวัดความหนืดของผลิตภัณฑ์ (Brookfield viscometer) 2) ประเมินคุณสมบัติทางเคมีโดยทำการทดสอบความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter และ 3) ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่ง โดยวิธี Heating cooling จำนวน 5 รอบ โดยนำผลิตภัณฑ์เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ให้ตั้งอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ กำหนด 5 รอบ โดยดำเนินการทดสอบ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Inhibition zone ของสารสกัดสมุนไพรกับ Negative control ใช้สถิติ t-test และการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของตำรับครีมสมุนไพรใช้สถิติ One-way analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย Bonferroni test ด้วยโปรแกรม SPSS (Version 20, SPSS Inc. Chicago, IL, USA)

ผลการวิจัย

1. ผลของสารสกัดสมุนไพร

การสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการหมักในเอทานอลร้อยละ 95 เอทานอลร้อยละ 70 และการต้มด้วยน้ำ ได้สารสกัดหยาบแต่ละชนิดมีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวหนืด พบปริมาณสารสกัดหยาบแตกต่างกันคิดเป็นร้อยละของผลผลิต (%Yield) อยู่ในช่วงร้อยละ 0.85 ถึงร้อยละ 3.36 ร้อยละ 0.88 ถึงร้อยละ 3.88 และร้อยละ 2.72 - 10.88 ตามลำดับ โดยสารสกัดจากการต้มด้วยน้ำมีปริมาณร้อยละของผลผลิตมากกว่าสารสกัดจากการหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 70 และเอทานอลร้อยละ 95 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1

2. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus*

สารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบว่าความเข้มข้น 666.60 µg/ml สารสกัดกุ่มบกและชันทองพญาบาท มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อโดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 18.67 ± 1.53 และ 8.67 ± 1.53 mm ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 333.30 µg/ml สารสกัดจากกุ่มบกมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อโดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 15.67 ± 1.53 mm ที่ความเข้มข้น 166.65 µg/ml สารสกัดจากกุ่มบกมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อโดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 13.00 ± 1.17 mm แต่ที่ความเข้มข้น 83.33 µg/ml ไม่มีสารสกัดใดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ดังตารางที่ 2



ตารางที่ 1 ร้อยละของผลผลิตพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

สมุนไพร	ส่วนของพืช	ร้อยละของผลผลิตที่สกัดได้		
		เอทานอลร้อยละ 95	เอทานอลร้อยละ 70	ต้มน้ำ
กุ่มบก (<i>Crateva adansonii</i> DC.)	ใบ	0.85	0.88	2.80
กระเจียวแดง (<i>Curcuma sessilis</i> Gage.),	ดอก	1.34	2.25	4.81
ชันทองพญาบาท (<i>Suregada multiflorum</i> Baill.),	ใบ	0.85	1.64	2.72
ตำลึงทอง (กระทกรก) (<i>Passiflora foetida</i> L.)	ใบ	2.40	3.88	5.59
น้อยหน่า (<i>Annona squamosa</i> Linn.)	ใบ	3.36	3.63	10.88

สารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอลร้อยละ 70 พบว่าที่ความเข้มข้น 666.60 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดจากชันทองพญาบาทและกระเจียวแดงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 10.67 ± 1.15 และ 11.33 ± 0.58 mm ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 333.30 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดจากกระเจียวแดงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 8.33 mm แต่ที่ความเข้มข้น 166.65 และ 83.33 $\mu\text{g/ml}$ ไม่มีสารสกัดใดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ดังตารางที่ 2

การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่สกัดจากการต้มด้วยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้น 666.60 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดจากกระเจียวแดงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 13.33 ± 1.53 mm ที่ความเข้มข้น 333.30 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 10.33 ± 2.31 mm แต่ที่ความเข้มข้น 166.65 และ 83.33 $\mu\text{g/ml}$ ไม่มีสารสกัดใดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดสมุนไพร โดยวิธี Agar well diffusion

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone (mm)			
		666.60 ($\mu\text{g/ml}$)	333.30 ($\mu\text{g/ml}$)	166.65 ($\mu\text{g/ml}$)	83.33 ($\mu\text{g/ml}$)
กุ่มบก (<i>C. adansonii</i> DC.)	เอทานอล ร้อยละ 95	$18.67 \pm 1.53^*$	$15.67 \pm 1.53^*$	$13.00 \pm 1.17^*$	NA
	เอทานอล ร้อยละ 70	NA	NA	NA	NA
	ต้มน้ำ	NA	NA	NA	NA
ชันทองพญาบาท (<i>S. multiflorum</i> Baill.)	เอทานอล ร้อยละ 95	$8.67 \pm 1.53^*$	NA	NA	NA
	เอทานอล ร้อยละ 70	$10.67 \pm 1.15^*$	NA	NA	NA
	ต้มน้ำ	NA	NA	NA	NA
ตำลึงทอง (กระทกรก) (<i>P. foetida</i> L.)	เอทานอล ร้อยละ 95	NA	NA	NA	NA
	เอทานอล ร้อยละ 70	NA	NA	NA	NA
	ต้มน้ำ	NA	NA	NA	NA



ตารางที่ 2 (ต่อ)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone (mm)			
		666.60 (µg/ml)	666.60 (µg/ml)	666.60 (µg/ml)	666.60 (µg/ml)
กระเจียวแดง (<i>C. sessilis</i> Gage.)	เอทานอล ร้อยละ 95	NA	NA	NA	NA
	เอทานอล ร้อยละ 70	11.33±0.58*	8.33±0.58*	NA	NA
	ต้มยำ	13.33±1.53*	10.33±2.31*	NA	NA
น้อยหน่า (<i>A. squamosa</i> Linn.)	เอทานอล ร้อยละ 95	NA	NA	NA	NA
	เอทานอล ร้อยละ 70	NA	NA	NA	NA
	ต้มยำ	NA	NA	NA	NA
Positive control (Dicloxacillin 40 µg/ml)		36.25±0.54	36.25±0.54	36.25±0.54	36.25±0.54
Negative control (DMSO ร้อยละ 1)		NA	NA	NA	NA

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) * $p < 0.05$ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับ Negative control ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันของสารสกัดสมุนไพรต่างชนิดกันโดยใช้สถิติ t-test (NA คือ ไม่เกิดโซนการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย)

3. การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยว ด้วยวิธี Macro broth dilution

จากการทดสอบเบื้องต้น พบว่าสารสกัดกุ่มบกจากการหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 สารสกัดชันทองพญาบาทจากการหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 70 และสารสกัดกระเจียวแดงจากการต้มด้วยน้ำ เป็นสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด จึงเลือกนำสารสกัดดังกล่าวมาทำการทดสอบเพื่อหาค่า MIC ด้วยวิธี Broth dilution โดยใช้อาหารเหลว TSB เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) พบว่าสารสกัดกุ่มบกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และสารสกัดชันทองพญาบาทที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 สามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 500 µg/ml

4. ผลการทดสอบความคงตัว และผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ของสูตรตำรับครีมสมุนไพร

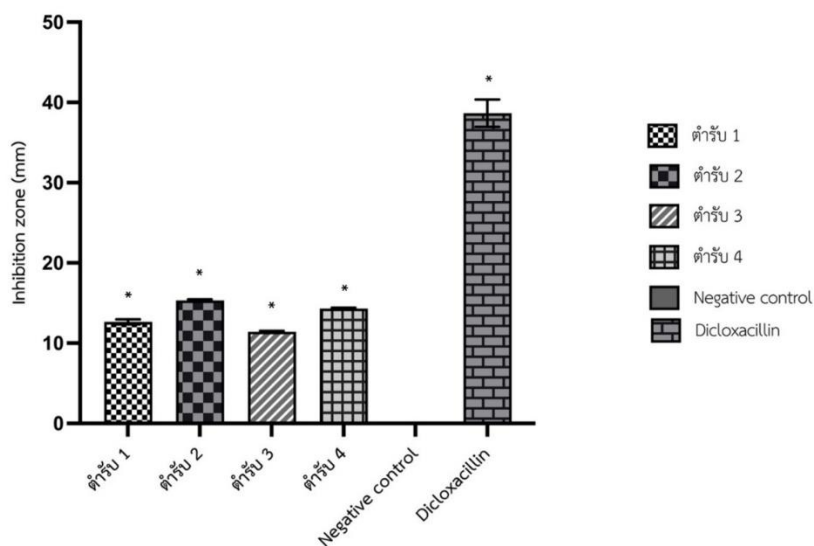
การทดสอบครีมพื้นที่จะใช้ในการทดสอบกับสารสกัดสมุนไพร โดยการทดสอบค่าความคงตัวของผลิตภัณฑ์ (Stability test by cooling heating test) พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพได้แก่ สี กลิ่น ความเนียน และการแยกชั้น ไม่แตกต่างกัน โดยค่าความหนืด เท่ากับ 4008.00 ± 799.17 cP และมีค่า pH เท่ากับ 6.23 ± 0.02 สูตรตำรับครีมสมุนไพร 4 สูตร ซึ่งมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าตำรับที่ 2 มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสูงสุด (15.33 ± 4.51 mm) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับอื่น โดยใช้สารสกัดจาก *C. adansonii* DC. และ *S. multiflorum* Baill. ในอัตราส่วน 1:1 (36% ในครีม) แสดงดังภาพที่ 1 ในขณะที่ Dicloxacillin มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสูงสุดที่ 36.25 ± 0.54 mm

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากรายงานการวิจัยของ Wutithamawech และคณะ พบว่าสารสกัดจากชันทองพญาบาทที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ของสารสกัดชันทองพญาบาทที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 ในงานวิจัยนี้ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้เช่นกันโดยสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่า Inhibition zone อยู่ในช่วง 10.67 ± 1.15 mm และจากการศึกษาข้อมูลที่ผ่านมาพบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดี ได้แก่ Diterpene lactones, Diterpenoid และ Alkaloids [15]

ตารางที่ 3 ตำรับครีมสมุนไพรที่ผสมสารสกัดสมุนไพร

Ingredient (g)	สูตรตำรับครีมสมุนไพร (%w/w)			
	ตำรับที่ 1	ตำรับที่ 2	ตำรับที่ 3	ตำรับที่ 4
Cremophor RH 40 ®	6.0	6.0	6.0	6.0
Mineral oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Cetyl alcohol	4.0	4.0	4.0	4.0
Stearyl alcohol	4.0	4.0	4.0	4.0
Hard paraffin	5.0	5.0	5.0	5.0
Isopropyl myristate	5.0	5.0	5.0	5.0
1% Carbopol940	2.0	2.0	2.0	2.0
Concentrated paraben	1.0	1.0	1.0	1.0
Glycerin	3.0	3.0	3.0	3.0
Propylene glycol	3.0	3.0	3.0	3.0
Dimethicone	4.0	4.0	4.0	4.0
<i>Suregada multiflorum</i> Baill. extract	1.0	1.5	-	1.5
<i>Curcuma sessilis</i> Gage. extract	1.0	-	1.5	1.5
<i>Crateva adansonii</i> DC. extract	1.0	1.5	1.5	-
Deionized water HDPE	100.0	100.0	100.0	100.0



ภาพที่ 1ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของตำรับครีมสมุนไพร

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) * $p < 0.05$, มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยเปรียบเทียบกับ Negative control ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันของสารสกัดสมุนไพรต่างชนิดกัน โดยใช้สถิติ One-way analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย Bonferroni test ($n=3$)

สารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ของกลุ่มภูมิฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดีที่สุดจากสมุนไพรทั้งหมด 5 ชนิดโดยมีค่า Inhibition zone อยู่ในช่วง 18.67 ± 1.53 mm ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Parekh และ Chanda [16] ในขณะที่สารสกัดกลุ่มภูมิฤทธิ์สกัดด้วยน้ำไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Agboke และคณะ



ซึ่งสามารถหาค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) เท่ากับ 1.5 mg/ml และค่า MBC (Minimal Bactericidal Concentration) เท่ากับ >10 mg/ml [17] และจากการศึกษาข้อมูลที่ผ่านมาพบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดี ได้แก่ Flavonoids, Glycosides, Phenols, Terpenoids, Alkaloids, Anthraquinone, Saponins, Tannins และ Steroids [18, 19]

สารสกัดด้วยน้ำของกระเจียวแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 13.33 ± 1.53 mm ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jose และ Thomas ที่ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยใช้ความเข้มข้นมากที่สุดที่ 5 mg/ml ซึ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ [20] และจากการศึกษาข้อมูลที่ผ่านมาพบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดี ได้แก่ Phenols และ Flavonoids [21]

จากรายงานการวิจัยของ Al-Nemari และคณะ พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลของใบน้อยหน่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยมี Inhibition zone เท่ากับ 16.5 ± 0.5 mm ส่วนสารสกัดด้วยน้ำ อะซิโตน และ DMSO ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ [7] ซึ่งมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ทำการทดลองโดยใช้สารสกัดใบน้อยหน่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 666.60 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และจากการศึกษาข้อมูลที่ผ่านมาพบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดี ได้แก่ Alkaloids, Flavonoids, Terpenoids และ Acetogenins [22]

จากการศึกษาของ Emelda และคณะ พบว่าผลของสารสกัดใบกระทกรกในชั้นเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้โดยใช้ความเข้มข้นที่ 4.00 mg/ml ซึ่งมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ทำการทดลองโดยใช้สารสกัดกระทกรกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นอยู่ที่ 666.60 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และจากการศึกษาข้อมูลที่ผ่านมาพบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดี ได้แก่ Steroids, Tannins, Polyphenols และ Flavonoids [23]

เมื่อนำสารสกัดที่ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี Agar well diffusion แล้วมาทำการทดสอบหาค่า MIC ด้วยวิธี Broth dilution technique พบว่าในสารสกัดใบกุ่มบกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 500 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดใบขันทองพยาบาทด้วยเอทานอลร้อยละ 70 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 500 $\mu\text{g/ml}$ ในขณะที่สารสกัดดอกกระเจียวด้วยน้ำไม่สามารถหาค่า MIC ได้เนื่องจากกำหนดค่าความเข้มข้นของสารในปริมาณที่น้อยเกินไปคือ 500 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียยังสามารถเจริญเติบโตได้

ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพของสูตรครีมพื้นทั้ง 4 สูตร มาทดสอบความคงตัวทางกายภาพโดยการทำการ Heating cooling cycle จำนวน 5 รอบ พบว่าครีมพื้นสูตรที่ 4 มีความคงตัวทางกายภาพดีที่สุด ไม่มีการแยกชั้นของเนื้อครีม ทั้งนี้เนื่องจากสาร Dimethicone ซึ่งเป็นสารที่สามารถคงสภาพได้ทั้งในอุณหภูมิต่ำและสูง เมื่อผ่านสภาวะเร่งทำให้ครีมพื้นทั้ง 4 สูตร สามารถคงสภาพได้ทั้งในอุณหภูมิต่ำและสูงในปริมาณที่เท่ากัน แต่ในสูตรที่ 3 และ 4 มีการปรับลดปริมาณ Hard paraffin, Cetyl alcohol และ Stearyl alcohol ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเพิ่มความหนืดและการเพิ่มการคงตัวในสูตรครีม จึงทำให้สูตรที่ 4 มีเนื้อครีมที่ไม่เหนียวข้นเกินไป ซึมซาบได้เร็วขึ้น เนื้อครีมมีความมันเล็กน้อย เนื่องจากสารเคมีบางตัวที่ใช้ในการทำครีมมีการเปลี่ยนแปลงไปจากสูตรเดิม ผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวภาพ พบว่าหลังการทดสอบตำรับครีมที่ 4 มีค่า pH 6.23 ± 0.02 ซึ่งไม่เหมาะกับการใช้ที่ผิวหนัง [24]

ผลการวิจัยนี้สามารถนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรไทย ได้แก่ กุ่มบก กระเจียวแดง และขันทองพยาบาท ซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์ดูแลผิวและยารักษาโรคผิวหนัง สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ โดยสามารถช่วยส่งเสริมการใช้สมุนไพรท้องถิ่นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและความงาม ซึ่งเป็นการสร้างรายได้ให้กับชุมชนที่ปลูกและเก็บเกี่ยวสมุนไพร รวมถึงเป็นการอนุรักษ์และส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่น อย่างไรก็ตามควรศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ รวมทั้งควรมีการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับสมุนไพรแต่ละชนิด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ และลดการสูญเสียสารสำคัญในกระบวนการผลิต ซึ่งอาจนำไปสู่ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงขึ้น



กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลืออุปกรณ์และสถานที่ในการดำเนินงาน จาก โรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยหลวงปู่เทสก์ เทษก์ และคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

เอกสารอ้างอิง

1. Ro BI, Dawson TL. The role of sebaceous gland activity and scalp microfloral metabolism in the etiology of seborrheic dermatitis and dandruff. J Investig Dermatol Symp Proc 2005;10(3):194-7.
2. Brewer JD, Hundley MD, Meves A, Hargreaves J, McEvoy MT, Pittelkow MR. Staphylococcal scalded skin syndrome and toxic shock syndrome after tooth extraction. J Am Acad Dermatol 2008;59(2):342-6.
3. Iwatsuki K, Yamasaki O, Morizane S, Oono T. Staphylococcal cutaneous infections: invasion, evasion and aggression. J Dermatol Sci 2006;42(3):203-14.
4. Lagnika L, Anago E, Atindehou M, Adjahoutonon B, Dramane K, Sanni A. Antimicrobial activity of *Crataeva religiosa* Forst against bacteria isolated from *Thryonomys swinderianus* Temminck. Afr J Biotechnol 2011;10(49):10034-9.
5. Rajamma AG, Bai V, Nambisan B. Antioxidant and antibacterial activities of oleoresins isolated from nine *Curcuma* species. Phytopharmacology 2012;2(2):312-7.
6. Jayshree P, Kumar V. *Annona squamosa* L.: phytochemical analysis and antimicrobial screening. J Pharm Res 2008;1(1):34-8.
7. Al-Nemari R, Al-Senaidy A, Semlali A, Ismael M, Badjah-Hadj-Ahmed AY, Ben Bacha A. GC-MS profiling and assessment of antioxidant, antibacterial, and anticancer properties of extracts of *Annona squamosa* L. leaves. BMC Complement Med Ther 2020;20(1):296.
8. Patel JD, Kumar V. *Annona squamosa* L.: phytochemical analysis and antimicrobial screening. J Pharm Res 2008;1(1):34-8.
9. Patil A, Paikrao H. Bioassay Guided Phytometabolites Extraction for Screening of Potent Antimicrobials in *Passiflora foetida* L. J App Pharm Sci 2012;2(9):137.
10. Mohanasundari C, Natarajan D, Srinivasan K, Umamaheswari S, Ramachandran A. Antibacterial properties of *Passiflora foetida* L.–a common exotic medicinal plant. Afr J Biotechnol 2007;6(23):2650-3.
11. Song Y, Wei XQ, Li MY, Duan XW, Sun YM, Yang RL, et al. Nutritional Composition and Antioxidant Properties of the Fruits of a Chinese Wild *Passiflora foetida*. Molecules 2018;23(2):459.
12. กองการประกอบโรคศิลปะ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม นนทบุรี: ม.ป.พ.; 2541.
13. รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, พร้อมจิต ศรีลัมพ์, วงศ์สถิต ฉั่วกุล, วิชิต เปานิล, สมภาพ ประธานธูราษฎร์, นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. สมุนไพรไทยที่ควรรู้. กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน); 2542.
14. นิจศิริ เรืองรังษี, ธวัชชัย มังคละคุปต์. สมุนไพรไทย เล่ม 1. กรุงเทพฯ: บี เฮลท์ดี; 2547.
15. Wutithamawe W, Tantirungkij M, Liangsakul P. Antibacterial potential of some Thai medicinal plants. Int J Pharm Bio Sci 2014;5(1):412-21.
16. Parekh J, Chanda S. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. Afr J Biomed Res 2007;10(2):175-81.



17. Agboke AA, Attama AA, Momoh MA. Evaluation of the antimicrobial activities of crude extract of *Cryptolepis sanguinolenta* and *Crateva adansonii* leaves and their interactions. J App Pharm Sci 2011;1(10):85-9.
18. Thirumalaisamy R, Ammashi S, Muthusamy G. Screening of anti-inflammatory phytocompounds from *Crateva adansonii* leaf extracts and its validation by in silico modeling. J Genet Eng Biotechnol 2018;16(2):711-9.
19. Pervaiz I, Hasnat M, Ahmad S, Khurshid U, Saleem H, Alshammari F, et al. Phytochemical composition, biological propensities, and in-silico studies of *Crateva adansonii* DC.: A natural source of bioactive compounds. Food Bioscience 2022;49:101890.
20. Jose S, Thomas TD. High-frequency callus organogenesis, large-scale cultivation and assessment of clonal fidelity of regenerated plants of *Curcuma caesia* Roxb., an important source of camphor. Agroforest Syst 2015;89(5):779-88.
21. อัญชลี ศรีจำเริญ. การสกัดดอกกระเจียวแดงและประเมินกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ เปรียบเทียบสภาวะก่อนและหลังการเลียนแบบกระบวนการย่อยอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์ มข 2560;45(4):844-57.
22. Al Kazman BSM, Harnett JE, Hanrahan JR. Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities of Annonaceae. Molecules 2022;27(11):3462.
23. Emelda A, Arman, Yuliana D, Amin A. Antimicrobial Potency of *Passiflora Foetida* Linn from South Sulawesi Indonesia Against Bacteria In Vitro. Int J Pharm Technol 2015;7(3):9562-6.
24. Lukić M, Pantelić I, Savić SD. Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. Cosmetics 2021;8(3):69.