

การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้ง
แบคทีเรียของสารสกัดใบคนที่สอทะเล

Phytochemical Screening Test, Antioxidant Activity and Antibacterial
Activity of Crude Extract of *Vitex rotundifolia* L.f. Leaves

ณัฐชา พัฒนา^{1*}, นินนาท จันทรสุริย์², เกษม ต้นสุวรรณ³ และสาวิตรี อินทรพันธุ์⁴
Natcha Pattana^{1*}, Ninna Jansoon², Kasem Tunsuwan³ and Sawitree Intarapan⁴

บทคัดย่อ

ศึกษาสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบคนที่สอทะเล พบกลุ่มแอลคาลอยด์ และแทนนิน การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Folin - Ciocalteu และ DPPH assay ตามลำดับ พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 54.408 2.78 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรายงานเป็นค่า IC₅₀ เท่ากับ 133.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการ Disc Diffusion พบว่าสารสกัดหยาบไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่ความเข้มข้น 20, 40 และ 80 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

คำสำคัญ : คนที่สอทะเล, พฤกษเคมี, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

¹ นิสิตปริญญาตรีหลักสูตร กศ.บ.วิทยาศาสตร์ – เคมี คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

^{2,3} ผศ.ดร., สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

⁴ นักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

* Corresponding author: E-mail: Tor-ejigo@hotmail.com

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

Abstract

Phytochemical screening of the 95% ethanolic extracts from the dried leaves of *Vitex rotundifolia* L.f revealed the presence of alkaloids and tannin. The total phenolics content and antioxidant activity were evaluated according to Folin-Ciocalteu method and DPPH assay, respectively. The results showed that total phenolics content was 54.408 2.78 mg GAE/g extract. The IC₅₀ of ethanolic extracts was 133.97 µg/ml. The antibacterial activity were evaluated according to Disc Diffusion method. The results showed that extract not exhibited antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* at concentrations 20, 40 and 80 mg/ml

Keywords : *Vitex Rotundifolia* L.f., Phytochemical, Antioxidant

บทนำ

ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจกับพืชสมุนไพรเป็นอย่างมากทั้งอุตสาหกรรมยา อาหารและเครื่องสำอาง เนื่องจากเริ่มเห็นถึงผลข้างเคียงและความเป็นพิษของสารสังเคราะห์หรือยาแผนปัจจุบัน [1] ทำให้การใช้ประโยชน์จากพืชในผลิตภัณฑ์อาหารและสุขภาพได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น พืชสมุนไพรที่ใช้รักษาโรคมียากมายกระจายอยู่ทั่วไป คุณภาพจะขึ้นอยู่กับปัจจัย เช่น สภาวะแวดล้อม ฤดูกาล เป็นต้น สมุนไพรแต่ละชนิดประกอบด้วยสารเคมีซึ่งแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่างกัน การศึกษาสารออกฤทธิ์ในพืชจึงเป็นสิ่งสำคัญ จะมีประโยชน์ในการรักษาโรคและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชนั้น ๆ อีกด้วย

คนที่สอทะเล (*Vitex rotundifolia* L.f.) หรือคนที ญิง มีชื่อสามัญว่า Beach vitex [2] เป็นพืชในวงศ์ Lamiaceae (Verbenaceae) มีลักษณะไม้เถาเลื้อยตามพื้นทรายริมทะเล สูงประมาณ 50 เซนติเมตร พบทั่วไปตามชายฝั่งทะเลในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบเฉพาะทางภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงใต้ เจริญเติบโตได้ดีในดินทราย สามารถทนต่อเกลือและสิ่งรบกวนอื่น ๆ โดยมีสรรพคุณในการบำรุงธาตุ ขับเสมหะ โรคผิวหนังผื่นคัน รากใช้ฝนกับน้ำฝนทาบรรเทาอาการเจ็บปวดจากแมงกะพรุน ภูมิปัญญาของชาวบ้านนำมาใช้เป็นยาได้ทั้งต้น [3-4] และยังสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง [5] ประกอบกับมีงานวิจัยหลายงานที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดของพืชในวงศ์นี้ พบว่าพืชตัวอย่างมีฤทธิ์ยับยั้งจุลชีพ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้านเชื้อมาลาเรียได้ดีอีกด้วย สามารถต้านเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ต่าง ๆ และยังพบสารประกอบฟีนอลิกอีกด้วย [6-8] แต่ยังมีงานศึกษาวิจัยด้านเภสัชวิทยาของคนทีสอทะเลไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการตรวจสอบเบื้องต้นในใบคนที่สอทะเล เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมี วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาและใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาของคนทีสอทะเลต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

การเตรียมสารสกัดหยาบเอทานอล

นำใบคนที่สอทะเลซึ่งเก็บมาจากชายหาดสมิหลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ในเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2556 ล้างให้สะอาดหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งและนำหนักคงที่นำไปบดละเอียด สกัดด้วยเอทานอล 95% โดยการแช่หมัก (maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เขย่าเบา ๆ ทุกวัน กรอง ระบายด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน ซึ่งน้ำหนักและบันทึกสี

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

การตรวจหาสารสำคัญทางพิษเคมีเบื้องต้น

ทำการตรวจหากลุ่มสารสำคัญในพืช 8 ชนิด [9-11] ดังนี้

ตรวจหาแอลคาลอยด์ ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอลประมาณ 1.0 กรัม ทำการทดสอบ 3 ขั้นตอน โดยการตรวจสอบเบื้องต้น ตรวจสอบเพื่อยืนยันผลและตรวจหา quaternary หรือ amine oxide ใช้รีเอเจนต์ 5 ชนิด ได้แก่ Dragendorff, Kraut, Maryer, Wagner และ Marme สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น

ตรวจหาฟลาโวนอยด์ ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอลประมาณ 0.5 กรัม ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์ 15 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เทส่วนที่เป็นปิโตรเลียมอีเทอร์ออก นำส่วนที่เหลือละลายในเมทานอล 80% 10 มิลลิลิตร กรอง นำไปทดสอบไซยานิดิน และทดสอบลิวโคแอนโธไซยานิน

ตรวจหาแทนนินและสารประกอบฟีนอลิก ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอล 5.0 กรัม ละลายด้วย น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร อุ่น 10 นาที กรอง เติมนิโคเตอิมคลอไรด์ 10% 5 หยด กรอง นำสารละลายไปทดสอบกับสารละลายเจลาติน สารละลายเกลือเจลาติน เพอร์ริกคลอไรด์ 1% น้ำโบรมีน ฟอร์มาลิน-กรดไฮโดรคลอริก วานิลิน-กรดไฮโดรคลอริกและ น้ำปูนใส สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น

ตรวจหาซาโปนิน ชั่งใบคนที่สอทะเลแห้งประมาณ 0.1 กรัม สกัดด้วยน้ำร้อน 5 มิลลิลิตร กรอง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เขย่า 1 นาที ตั้งไว้ 30 นาที บันทึกผล เติมกรดซัลฟิวริกเจือจาง 1 มิลลิลิตร นำไปต้ม 5 นาที ทำให้เย็น เขย่าอย่างแรง อีกครั้ง สังเกตความสูง ลักษณะคล้ายรังผึ้งและความคงทนของฟองที่เกิดขึ้น

ตรวจหาสเตอรอยด์และไตรเทอร์ปีนอยด์ ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอล 2.0 กรัม เติมกรดซัลฟิวริกเจือจาง 10 มิลลิลิตร สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้ง ๆ 15 มิลลิลิตร ระเหยคลอโรฟอร์มออกและทดสอบ Liebermann-Burchard โดยหยดอะซิติกแอนไฮไดรด์ 3 หยด หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด หากมีสเตอรอยด์จะเกิดสีน้ำเงินหรือเขียว-น้ำเงิน ถ้ามีไตรเทอร์ปีนอยด์จะเกิดสีชมพูส้มหรือม่วงแดง

ตรวจหาคูมาริน ชั่งใบคนที่สอทะเลสดประมาณ 3.0 กรัม ปิดปากขวดด้วยกระดาษกรองที่อ้อมตัวด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ แล้วปิดทับอีกชั้นด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ อุ่นบนอ่างน้ำร้อน 30 นาที นำกระดาษกรองที่ปิดปากขวดไปฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต สังเกตการณ์เรืองแสงสีเขียวอมเหลือง

ตรวจหาแอนทราควิโนน ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอลประมาณ 0.5 กรัม เติมนิโคเตอิม ไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ 15 มิลลิลิตร และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% 1 มิลลิลิตร ต้มบนอ่าง น้ำร้อน 10 นาที กรอง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว ทำให้เป็นกรดด้วยกรดอะซิติก สกัดด้วยเบนซีน 15 มิลลิลิตร ทดสอบ Modified Borntragers test โดยหยดสารละลายแอมโมเนีย ตั้งทิ้งไว้แล้วสังเกตสีชมพูแดง

ตรวจหาคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ส่วน คือทดสอบสเตอรอยด์ ทดสอบวงแหวนแกล็กโทนไม่อ้อมตัวและทดสอบน้ำตาลดีออกซี โดยชั่งสารสกัดหยาบ 1.0 กรัม เติมสารละลายเลดอะซิเตด 10% 40 มิลลิลิตร อุ่น 15 นาที สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายเป็น 3 ส่วน ทดสอบส่วนสเตอรอยด์ ด้วยการทดสอบ Liebermann-Burchard โดยเติม อะซิติกแอนไฮไดรด์ 3 หยดและกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 หยด สังเกตสีน้ำเงินหรือสีน้ำเงินเขียว ทดสอบส่วนวงแหวนแกล็กโทนไม่อ้อมตัวด้วย Kedde' reagent จะให้สีม่วง ทดสอบส่วนน้ำตาลดีออกซีด้วย Keller-Kiliani test จะปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมตามวิธีการของ Basma [12] นำสารละลายสาร สกัดหยาบ เอทานอล 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 10% 500 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร และเติมนิโคเตอิมคาร์บอนเนต 7.5% (w/v) 800 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที สแกนหาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตัดแปลงจากวิธีการของ Bua-in et al. [13] เตรียมสารละลาย สารสกัดหยาบเอทานอลและสารละลายมาตรฐาน BHT (Butylated hydroxytoluene) ในเมทานอลที่ความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81 และ 3.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl - 1 - picrylhydrazyl) 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล นำมาผสมกับสารสกัดหยาบและสารมาตรฐานที่ ความเข้มข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 1 : 1 เขย่าและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 20 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนที่ 517 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณค่า % Radical scavenging activity และค่า IC₅₀ ใช้สูตรคำนวณ % Radical scavenging ดังนี้

$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{[A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}]}{A_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เมื่อเติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ใช้ diffusion method ตัดแปลงจาก Owais [14] โดยการเชื่อมเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ลงในอาหาร Nutrient Broth เชื้อละ 1 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาปรับความขุ่นให้ได้ปริมาณเชื้อเท่ากับ Mcfarland standard No. 0.5 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 1.2×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร จากนั้นใช้ไม้พ่นสำลีเกลี่ยเชื้อบนอาหารแข็ง Mueller Hinton Aga (HMA) ความหนา 4 มิลลิเมตร ให้ทั่วทั้งจาน นำกระดาษตาปลาที่หัดสารสกัดหยาบเอทานอลที่ความเข้มข้น 20, 40 และ 80 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรใน เมทานอล วางบนจาน ใช้เมทานอลและน้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม นำจานเพาะเชื้อ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Tetracycline 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

การเตรียมสารสกัดหยาบเอทานอล

สารสกัดหยาบที่ได้เป็นของหนืดสีเขียวน้ำตาล ได้ผลคิดเป็นร้อยละ 3.7

การตรวจหาสารสำคัญทางพิษเคมีเบื้องต้น

พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ในสารสกัดหยาบเอทานอล เนื่องจากเกิดผลบวกกับรีเอเจนต์ Dragendorff, Kraut, Mayer, Wagner และ Marime ซึ่งจากงานวิจัยสารสกัดในใบพืชสกุล (genus) เดียวกัน เช่น *V. trifolia* var. *repens* Ridl. และในใบของพืชวงศ์เดียวกัน เช่น *C. disparifolium* จะพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ [10–11] นอกจากนี้ยังพบสาร กลุ่มแทนนิน เนื่องจากเกิดผลบวกกับเฟอร์ริกคลอไรด์ได้สีน้ำเงินเข้มละเกิดผลบวกกับน้ำปูนใส บ่งชี้การมีไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin) [1, 15]

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

ตารางที่ 1 สรุปผลการทดลองเบื้องต้นทางเคมี

การทดสอบ	ผลการทดสอบ
แอลคาลอยด์	+
ฟลาโวนอยด์	-
ซาโปนิน	-
สเตอรอยด์และไตรเทอร์ปีนอยด์	-
แทนนิน	+
คูมาริน	-
แอนทราควิโนน	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-

หมายเหตุ + คือ ตรวจพบในสารสกัดหยาบ, - คือ ตรวจไม่พบในสารสกัดหยาบ

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบเอทานอลใบคนที่สอทะเลใช้วิธี Folin – Ciocalteu สแกนหาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด ได้ที่ 750 นาโนเมตร นำสารละลายสารสกัดหยาบไปวัดค่าการดูดกลืนแสง คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ความเข้มข้น 0 – 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($y = 0.0089x - 0.0071$, $R^2 = 0.9960$) พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 54.408 2.78 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ (mg GAE/g extract) ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าในใบ *V. negundo* L. พืชในสกุลเดียวกัน ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 93.7 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม [16]

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลใบคนที่สอทะเล โดยวิธีการ DPPH assay เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT พบว่าค่า % Radical scavenging activity ของสารสกัดหยาบเอทานอลและ BHT ได้ดังตารางที่ 2 หาค่า IC_{50} โดยกราฟสมการลอการิทึมของสารสกัดหยาบเอทานอล ($y = 15.723 \ln(x) - 27.005$) และ BHT ($y = 18.601 \ln(x) - 18.613$) ได้เท่ากับ 133.97 และ 39.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเอทานอลที่ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง DPPH ได้ 71.87 2.0% แต่ไม่สามารถตรวจวัด DPPH ได้ที่ความเข้มข้นของ BHT และสารสกัดหยาบเอทานอล ที่ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเกิดจากการที่ BHT และสารสกัดหยาบเอทานอลสามารถยับยั้ง DPPH ได้หมด จึงไม่มีเหลือจากการเกิดปฏิกิริยา

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

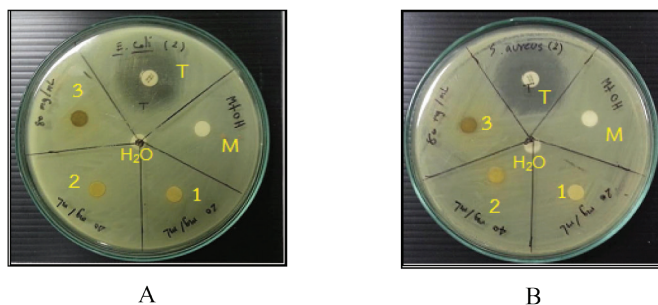
ตารางที่ 2 แสดง % Radical scavenging activity ของสารสกัดหยาบและ BHT ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสาร (µg/mL)	%Radical scavenging activity (% ± SD)	
	สารสกัดหยาบใบคนที่สอทะเล	BHT
1,000	-	-
500	71.87 ± 2.07	94.09 ± 1.30
250	69.74 ± 0.71	88.65 ± 2.07
125	49.88 ± 0.59	78.72 ± 0.76
62.5	30.97 ± 0.59	56.03 ± 1.57
31.25	16.55 ± 0.49	38.06 ± 0.98
15.62	8.98 ± 0.90	26.24 ± 0.27
7.81	7.09 ± 0.24	18.68 ± 1.44
3.91	5.44 ± 0.36	14.42 ± 0.82

แต่ Choi. [5] พบว่าในสารสกัดหยาบเมทานอล 85% ของพืชชนิดนี้ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งอนุมูล DPPH ได้เท่ากับ $71.98 \pm 2.50\%$ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับพืชสกุลเดียวกัน เช่น *V. negundo* L. สามารถยับยั้งอนุมูล DPPH ที่ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 79.82% [17]

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเกิดโซนใสของการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของยามาตรฐาน Tetracycline (ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น) เท่ากับ 21.25 ± 1.89 และ 28.42 ± 1.13 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบไม่เกิดวงใสของการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 20, 40 และ 80 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลการทดสอบต้านเชื้อแบคทีเรีย A = *E. coli*, B = *S. aureus*, 1 = สารสกัดหยาบ 20 mg/ml
 2 = สารสกัดหยาบ 40 mg/ml 3 = สารสกัดหยาบ 80 mg/ml T = Tetracycline และ M = เมทานอล

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

สารสกัดหยาบไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ แม้จะพบสารกลุ่มแทนนินที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ [1] จากงานวิจัยของ Kawazoe [18] พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตของพืชนี้สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) เท่ากับ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อาจจะเป็นผลมาจากในสารสกัดเอทานอลไม่มีสารที่ยับยั้งแบคทีเรียหรือมีน้อย และการใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบน้อยเกินไปนอกจากนี้สารสกัดหยาบเอทานอลยังไม่มีควมบริสุทธิ์เพียงพอที่จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยยา Tetracycline สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ มีวงใสของการยับยั้งอยู่ในชั้นว่องไว (≥ 19 mm) [19]

สรุปผลการวิจัย

พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์และแทนนินในสารสกัดหยาบเอทานอลใบคนที่สอทะเล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 54.408 2.78 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 133.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 20, 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมีและสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตสงขลา ที่อนุเคราะห์สารเคมี อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [2] เต็ม สมิตินันท์. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ : สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
- [3] อุทยานธรรมชาติวิทยาสีริรุกชาติ. (2553). คนที่สอทะเล (*Vitex rotundifolia* L.f.). สืบค้นเมื่อวันที่ 8 สิงหาคม 2556. จาก http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/sirimedinfo/23_th.pdf.
- [4] Shou-liang, C., and Gilbert, G. M. (1994). Verbenaceae. *Flora of China*. 17, 1-49.
- [5] Choi, J.K., Cha, D.S., Lee, Y.J., Ko, H.S., Park, H.J., Lee, S. Y., Choi, J.H. and Jeon, H. (2010). Effects of *Vitex rotundifolia* on radical scavenging and nitric oxide production. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* . 10(2), 51-58.
- [6] Nyiligira, E., Viljoenb, A.M., Van H., F.R., Van Z., R.L., Van V.S.F., and Steenkamp P.A.,. (2008). Phytochemistry and in vitro pharmacological activities of South African *Vitex* (Verbenaceae) species. *Journal of Ethnopharmacology*. 119, 680–685.
- [7] Aweng, E.R., Hanisah N., Nawi M.A.M., Murni Y.N., and Shamsul M. (2012). Antioxidant activity and phenolic compounds of *Vitex Trifolia* Var, *Simplicifolia* associated with Anticancer. *Journal of Biological Sciences*. 1(3), 65 – 68.
- [8] Tiwari, N., Luqman, S., Masood, N. and Gupta, M.M. (2012). Validated high performance thin layer chromatographic method for simultaneous quantification of major iridoids in *Vitex trifolia* and their antioxidant studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 61. 207–214.

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2557

- [9] ถนอมศรี วงศ์รัตนสถิตย์ (บก.). (2523). **การสัมมนาเชิงปฏิบัติการ พฤกษเคมี ครั้งที่ 2 เรื่อง Phytochemical Screening Techniques**. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [10] บุญธรรม ยะดินันท์ อัมพา มานพ และวารี เนื่องจำนงค์. (2529). **การทดสอบเบื้องต้นของสารอินทรีย์ที่สำคัญในพืช วัชพืชในป่าชายเลนและทะเลในภาคตะวันออกของไทย**. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.
- [11] ศรีนรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และสิริมาศ นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. **วิทยาศาสตร์ มข.** 41(3), 723-730.
- [12] Basma, A.A., Zakaria Z., Latha, L.Y., and Sasidharan, S. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 4(5), 386-390.
- [13] Bua-in, S. and Paisooksantivatana, Y. (2009). Essential Oil and Antioxidant Activity of Cassumunar Ginger Zingiberaceae: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) Collected from Various Parts of Thailand. **Kasetsart Journal (Natural Science)**. 43(3), 467-475.
- [14] Owais, M., Sharad, K.S., Shehbaz, A., and Saleemuddin, M. (2005). Antibacterial efficacy of *Withania somnifera* (ashwagandha) an indigenous medicinal plant against experimental murine salmonellosis. **Phytomedicine**. 12, 229-235.
- [15] Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., and Kaur, H. (2011). Phytochemistry screening and Extraction : A Review. **International Pharmaceutica Scientia**. 1(3), 99-106.
- [16] Rabeta, M.S. and An, N.Z. (2013). Total phenolic compounds and scavenging activity in *Clitoria ternatea* and *Vitex negundo* linn. **International Food Research Journal**. 20(1), 495-500.
- [17] Lakshmanashetty, R.H., Nagaraj, V.B., Hiremath, M.G., and Kumar, V. (2010). *In vitro* Antioxidant Activity of *Vitex negundo* L. Leaf Extracts. **Chiang Mai J. Sci.** 37(3), 489-497.
- [18] Kawazoe, K., Yutani, A., Tamemoto, K., Yuasa, S., Shibata, H., Higuti, T., and Takaishi, Y. (2001). Phenylanthracene Compounds from the Subterranean Part of *Vitex rotundifolia* and Their Antibacterial Activity Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Natural Products**. 64, 588-591.
- [19] บุษกร อุตรักษาติ. (2549). **ปฏิบัติการจุลชีววิทยา**. สงขลา : มหาวิทยาลัยทักษิณ.