

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด The Study of Antibacterial Activities of Ten Zingiberaceae Extracts

ธนัญญา ทันทา¹ สิริยา ขุนมาตย์¹ พรชนก บุญลับ²
E-mail: sb6080142109@lru.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด สกัดด้วยด้วย 95% Ethanol นำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Disc Diffusion Method พบว่ามีสารสกัด 8 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ในขณะที่ *E. coli* มีเพียงสารสกัด 2 ชนิดเท่านั้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เมื่อนำไปหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimal inhibitory concentration ; MIC) ได้ พบว่า สารสกัดจากขมิ้นอ้อยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 25% V/V บริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดจากพลูเลียงมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50% V/V บริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร จากการผลการทดลองเห็นได้ว่าสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียในอนาคตต่อไป

คำสำคัญ: พืชวงศ์ขิง สารสกัด แบคทีเรีย

Abstract

This research aimed to study the efficiency of 10 species in Zingiberaceae with extracted with 95% ethanol. The five crude extracts investigated of their inhibitory effects against microorganisms, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by using Disc diffusion method. According to the findings of the eight extracts showed inhibitory activity against *S. aureus* whereas only 2 extracts for *E. coli*. The *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. extract showed the Minimal inhibitory concentration (MIC) for *S. aureus* as 25% V/V and inhibition zone as 2.00 mm. The (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Willd extract showed the Minimal inhibitory concentration (MIC) for *E. coli* as 50% V/V in inhibition zone as 2.00 mm. The results of the experiment indicated that some extracts of Zingiberaceae have the ability to inhibit bacteria and further was used as basic information for application of plant extract in bacterial infection therapy.

Keywords: zingiberaceae, extract, bacteria, antibacterial activities

ความเป็นมาของปัญหา

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการกระจายพันธุ์อยู่ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้อย่างแพร่หลาย มีลำต้นใต้ดินเรียกว่า เหง้า พืชวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษคือ ทุกส่วนจะมีสารองค์ประกอบหลักที่เป็นน้ำมันหอมระเหยให้กลิ่นเฉพาะตัวมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรและมีผลการศึกษาที่ระบุว่าพืชวงศ์ขิง เช่น ขิง ข่า กระชาย และขมิ้น สามารถช่วยควบคุมและยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* สายพันธุ์ 101 ไม่ให้เพิ่มจำนวนได้ (อาภากร และจิตศิริ, 2550) โดยปัจจุบันพบว่าสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคต่างๆ มักเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่พบได้ในร่างกายของมนุษย์ที่สามารถก่อโรคได้ เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* มักจะก่อให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ บางสายพันธุ์ยังทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ และเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนัง แผล เนื้อเยื่อ และโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อฉวยโอกาส ในผู้ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอทำให้ผู้ป่วยที่ติดเชื้อมีอาการรุนแรงขึ้น (นิติพงษ์ และเอกชัย, 2554) การกำจัดหรือยับยั้งเชื้อก่อโรคมักจะอาศัยยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีมาใช้ในการรักษา ซึ่งผู้ป่วยบางรายมีอาการแพ้และดื้อต่อยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีที่ใช้ในการรักษา ทางแพทย์จึงได้มีการหาแนวทางในการรักษาและยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรค ด้วยการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น พืช ผัก และสมุนไพรที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (กัญญา และพรพิมล, 2558) ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาพืชวงศ์ขิงในบริเวณตำบลนาดอกคำ อำเภอนาดัว จังหวัดเลย โดยพืชในกลุ่มนี้เป็นพืชในท้องถิ่นที่ปลูกและเจริญเติบโตได้ง่าย และด้วย

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย จังหวัดเลย

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย จังหวัดเลย

คุณสมบัติดังกล่าวทำให้มีความสนใจที่จะนำสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงมาใช้ เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียซึ่งจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดการใช้ยาปฏิชีวนะลงได้

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาพืชวงศ์ขิงทั้ง 10 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสารสกัดสมุนไพร และเป็นการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรที่มีอยู่ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน กระชายดำ กระทือ และเปราะหอม ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด

นำเหง้าพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe.) ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) กระเจียวแดง (*Curcuma sessilis* Gage.) กระชายแดง (*Boesenbergia* sp.) ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe.) ไพลเหลือง (*Zingiber cassumunar* Roxb.) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) กระชายดำ (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker) กระทือ (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) และเปราะหอม (*Kaempferia galanga* L.) นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หรือซอยจนละเอียด ชั่งตัวอย่างสมุนไพรที่หั่นละเอียดแล้ว ตัวอย่างละ 300 กรัม นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น แล้วใส่ลงในขวดแก้วสีชา เติมน้ำ 95% Ethanol ปริมาตร 900 มิลลิลิตร หมักไว้นานประมาณ 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ตามวิธีของอมรรัตน์ ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงชนิด โดยเป็นวิธีที่สามารถดึงสารสำคัญออกจากพืชได้ นำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 กลั่นแยกตัวทำละลายออกจากด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายที่เข้มข้นเหนียวเก็บสารสกัดสมุนไพรที่ได้ไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรที่มีต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* (รัชนิ เต๋อเอียดหยอ, 2550; ธนภพ โสทรโยม และคณะ, 2558; อมรรัตน์ สีสุทอง และคณะ, 2559)

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบ

นำเชื้อที่ Stock มาถ่ายลงบนอาหาร Nutrient Broth นำไปบ่มที่เครื่อง Shaker incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วใช้ loop จุ่มเชื้อมา Streak ลงบนผิวหน้าอาหาร Nutrient Agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการย้ายแบคทีเรีย และเลือกโคโลนีเดี่ยวๆ จำนวน 1 โคโลนี ถ่ายเชื้อแบคทีเรียทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth จากนั้นนำไปบ่มที่เครื่อง Shaker incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นปรับความเข้มข้นให้เท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland โดยใช้ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร (จิราภรณ์ บุรากร, จารวิสุขประเสริฐ และธีรดา สุขธรรม, 2554)

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของพืชวงศ์ขิง ด้วยวิธี Disc diffusion method

ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง ด้วยวิธี Disc diffusion method โดย Swab เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ที่เทียบกับสารละลาย 0.5 McFarland ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar ทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นวาง Paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หยอดสารสกัดที่จะทดสอบปริมาตร 5 ไมโครลิตร โดยใช้ 95% Ethanol (Positive control) และน้ำกลั่น (Negative Control) จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (สุภาณิ มงคลศิริรัตน์, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐฐา เลหากุลจิตต์, 2556)

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration: MIC)

ด้วยวิธี Disc diffusion method

ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง ด้วยวิธี Disc diffusion method โดย Swab เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ที่เทียบกับ 0.5 McFarland standard ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ลงอาหาร Nutrient Agar ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำสารสกัดมาเจือจาง แบบ Two-fold serial dilution จนได้ระดับความเข้มข้นที่ 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.57, 0.78, 0.39 และ 0.20 % (V/V) ตามลำดับ จากนั้นวาง Paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) หยอดสารสกัดแต่ละระดับการเจือจาง ปริมาตร 5 ไมโครลิตร โดยใช้ 95% Ethanol (Positive control) และน้ำกลั่น (Negative Control) บ่มในตู้บ่มเชื้อ

(Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หาค่า MIC โดยสังเกตที่ระดับความเจือจางที่ต่ำที่สุดที่เกิดวงใสล้อมรอบ Paper disc และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (สุณานิ มงคลศรีรัตน์, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลหาทูลจิตต์, 2556)

การหาเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย (Inhibition Zone) ขนาดของโซนใส (Inhibition Zone; มิลลิเมตร) = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Paper disc และโซนใสของเชื้อ - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Paper disc (6 มิลลิเมตร)

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

สกัดสารจากพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน กระชายดำ กระทือ และเปราะหอม เก็บจากตำบลนาดอกคำ อำเภอนาดัง จ.เลย สกัดด้วย ตัวทำละลาย 95% เอทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้มีลักษณะและปริมาตรที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1 ลักษณะสารละลายของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด

ลำดับ	สารสกัด	ลักษณะของสารสกัดจากตัวทำละลาย 95% เอทานอล	
		ลักษณะสาร	ปริมาตร (มิลลิลิตร)
1	ข่า	สีเหลืองอ่อน	300
2	ขิง	สีส้มอ่อน	200
3	กระเจียวแดง	สีเหลือง	200
4	ขมิ้นอ้อย	สีส้ม	200
5	ไพลเหลือง	ของเหลวสีเหลืองเข้ม	200
6	ขมิ้นชัน	ของเหลวสีเหลืองอมส้ม	170
7	กระชายแดง	สีเหลือง	150
8	กระชายดำ	ของเหลวสีม่วงเข้ม	150
9	เปราะหอม	ของเหลวสีเหลืองอ่อน	150
10	กระทือ	ของเหลวสีเหลืองอ่อน	100

2. การทดสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

นำเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* มาทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยการนำเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงใน Stock ไข่ มาเลี้ยงในอาหาร Nutrient Broth (NB) เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต จากนั้นย้ายเชื้อไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Nutrient Agar (NA) แล้ว นำโคโลนีเดี่ยว 1 โคโลนี มาทำการย้อมสีแกรมเพื่อตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ลักษณะโคโลนีกลมมน มีสีเหลืองอ่อน ติดสีแกรมบวก เซลล์รูปร่างกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ส่วน *Escherichia coli* โคโลนีจะกลม โค้งมน มีสีครีมหรือขาว ติดสีแกรมลบ เซลล์รูปท่อน

3. การทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion method

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน กระชายดำ กระทือ และเปราะหอม ที่ความเข้มข้น 100% V/V ทำการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า มีสารสกัดจากพืชสมุนไพร 8 ชนิด คือ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน และเปราะหอม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยสารสกัดจากขมิ้นอ้อย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร รองลงมา คือ ข่า และไพลเหลือง มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 3.00 และ 3.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในส่วนของสารสกัดขมิ้นชัน เปราะหอม ขิง กระชายแดง และกระเจียวแดง มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.83±0.24, 2.67±0.24, 2.00, 1.66±0.47 และ 1.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนกระทือและกระชายดำ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ในขณะที่ 95% เอทานอล (Positive control) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 5.00 มิลลิเมตร ส่วนน้ำกลั่น (Negative control) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (ตารางที่ 1.2) ดังนั้นจึงนำพืชทั้ง 8 ชนิด ไปหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ในขั้นตอนต่อไป

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน กระชายดำ กระเทียม และเปราะหอม ที่ความเข้มข้น 100% V/V ทำการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพียง 2 ชนิด คือ ไพลเหลือง และข่า ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ได้ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 3.00 และ 2.66 ± 0.24 มิลลิเมตร ในขณะที่ 95% เอทานอล (Positive control) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 5.70 ± 0.22 มิลลิเมตร ส่วนน้ำกลั่น (Negative control) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (ตารางที่ 2) ดังนั้นจึงนำไพลเหลือง และข่า ไปหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชวงศ์ขิง 10 ชนิดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *E. coli*

สารสกัดสมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) (มิลลิเมตร) <i>S. aureus</i>	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) (มิลลิเมตร) <i>E. coli</i>
ขิง	2.00	-
ข่า	3.00	2.66 ± 0.24
กระเจียวแดง	1.00	-
กระชายแดง	1.66 ± 0.47	-
ขมิ้นอ้อย	6.00	-
ไพลเหลือง	3.00	3.00
ขมิ้นชัน	2.83 ± 0.24	-
กระเทียม	-	-
กระชายดำ	-	-
เปราะหอม	2.67 ± 0.24	-
95% เอทานอล	5.00	5.70 ± 0.22
น้ำกลั่น	-	-

จากตารางที่ 2 เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* พบว่า สารสกัดขมิ้นอ้อย สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากไพลเหลืองสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด สารสกัดจากข่า และไพลเหลือง สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งสองชนิด และสารสกัดจากขมิ้นชัน เปราะหอม ขิง กระชายแดง และกระเจียวแดง สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* โดยสังเกตจากค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง

3.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration: MIC) ด้วยวิธี Disc Diffusion Method

จากการทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimal Inhibitory Concentration: MIC) โดยทำการเจือจางสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ให้มีความเข้มข้นลดลง ครึ่งละ 2 เท่า ทั้งหมด 10 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.57%, 0.79%, 0.40% และ 0.20% V/V พบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด คือ ขิง ข่า ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน และเปราะหอม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เท่ากัน โดยมีค่า MIC 25% V/V และสารสกัดขมิ้นอ้อยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร รองลงมาคือไพลเหลือง ที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.83 ± 0.24 มิลลิเมตร และสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นชัน และเปราะหอม มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.50, 1.00, 0.67 ± 0.24 และ 0.67 ± 0.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (Minimal inhibitory concentration: MIC)

สารสกัดสมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) (มิลลิเมตร)									
	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20
ขิง	2.00	1.33 ± 0.47	1.50	-	-	-	-	-	-	-
ข่า	2.33 ± 0.47	1.67 ± 0.47	1.00	-	-	-	-	-	-	-
กระเจียวแดง	1.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชายแดง	1.17 ± 0.62	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ขมิ้นอ้อย	2.33 ± 0.47	1.67 ± 0.47	2.00	-	-	-	-	-	-	-
ไพลเหลือง	3.00	1.83 ± 0.24	0.83 ± 0.24	-	-	-	-	-	-	-
ขมิ้นชัน	2.00	1.00	0.67 ± 0.24	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชายดำ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เปราะหอม	2.34 ± 0.47	1.00	0.67 ± 0.24	-	-	-	-	-	-	-
95% เอทานอล	6.89 ± 0.31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

และจากการทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimal Inhibitory Concentration: MIC) พบว่าสารสกัดจากไพลเหลือง และข่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ มีค่า MIC 50% V/V โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.00 และ 0.83±0.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* (Minimal inhibitory concentration: MIC)

สารสกัดสมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) (มิลลิเมตร)									
	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20
ข่า	2.67 ± 0.94	0.83 ± 0.24	-	-	-	-	-	-	-	-
ไพลเหลือง	2.17 ± 0.62	2.00	-	-	-	-	-	-	-	-
95% เอทานอล	7.60 ± 0.29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ พบว่าสารสกัดจากขมิ้นอ้อย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 25% V/V มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร ในขณะที่สารสกัดไพลเหลืองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 50% V/V มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร

อภิปรายผล

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน กระชายดำ กระเทียม และเปราะหอม โดยใช้ตัวทำละลาย 95% Ethanol ด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัด 8 ชนิด คือ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน และเปราะหอม สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ได้ และสารสกัดจากไพลเหลือง และข่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ได้ จากการรวมพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (gram-positive cocci) ได้ดีกว่า *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน (gram-negative bacilli) ซึ่งมีรายงานว่าโดยทั่วไปแล้วสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Faraja *et al.*, 2018; Koohsari *et al.*, 2015) และจากงานวิจัยของ KAUSHIK (2011) ในส่วนของขิง (*Zingiber officinale*) มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยใช้วิธี

ทดสอบ Disc diffusion และการหาค่า Minimum Bactericidal inhibition Concentration (MBC) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วยสารหลัก คือ เพปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ในขณะที่โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนกว่าโดยจะประกอบด้วยสารหลักคือเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ประมาณร้อยละ 80 และเพปติโดไกลแคนประมาณร้อยละ 20

เมื่อนำพืชทั้ง 8 ชนิด มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ Minimal inhibitory Concentration (MIC) พบว่า สารสกัดจากขมิ้นอ้อยสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 25% V/V ที่มีบริเวณยับยั้ง 2.00 มิลลิเมตร เนื่องจากสารสกัดจากขมิ้นอ้อยมีองค์ประกอบพวกสารเคอร์คูมิน (Curcumin) และสาร Curdione มากที่สุด ซึ่งเคอร์คูมินเป็นสารสีจากขมิ้นอ้อย มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ มาเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* นอกจากนี้ขมิ้นอ้อย ยังมีกระเจียวแดง ไพลเหลือง และขมิ้นชัน ที่มีองค์ประกอบของพวกสารเคอร์คูมิน (Curcumin) สอดคล้องกับงานวิจัยของ รัชชัย ศรีสุวรรณ และคณะ (2559) พบว่า สารสกัดจากไพลเหลืองพบสารกลุ่ม Curcuminoids รวมถึงรายงานของปิยะมาศ ศรีรัตน์ และคณะ (2560) พบสารกลุ่ม Curcuminoids ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Phenolic compound มีสีเหลืองส้มเป็นส่วนประกอบอยู่ในขมิ้นชัน ซึ่งสรรพคุณของสาร Curcuminoids นี้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อหรือสามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อแบคทีเรียไปเป็นแบบที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย และจากการศึกษาของชรินญา พิมพ์สอน (2561) รายงานไว้ว่าพืชเหล่านี้มีสารกลุ่ม Curcuminoids เป็นองค์ประกอบหลักจึงทำให้มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ได้

ส่วนสารสกัดจากเปราะหอม และกระชายแดง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้เช่นกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบทางเคมีของพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ มีองค์ประกอบที่เหมือนกันคือ สารกลุ่ม Flavonoids ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ (นิงศิริ เรืองรังสี, ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม และนิรันดร์ วิพันธุ์เงิน (ม.ป.ป.))

สารสกัดจากไพลเหลือง และข่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Samappito *et al.* (2016) ที่ศึกษาผลของสารสกัดจากเหง้าไพล ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวก และงานวิจัยของ วารรัตน์ หนูหิต (2557) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวสัมผัส โดยใช้ส่วนเหง้าสด 4 ชนิดของพืชตระกูลขิง พบว่าสารสกัดจากข่าจะมีสาร Eugenol และ 1'-acetoxychavicol acetate เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยจะทำลายผนังเซลล์ทั้งชั้นในและชั้นนอกของแบคทีเรียทำให้สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *E. coli* แบคทีเรียแกรมลบที่มีโครงสร้างผนังเซลล์ซับซ้อนได้

สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน กระชายดำ กระทือ และเปราะหอมโดยใช้ตัวทำละลาย 95% Ethanol ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด คือ ขิง ข่า กระเจียวแดง กระชายแดง ขมิ้นอ้อย ไพลเหลือง ขมิ้นชัน และเปราะหอม สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ได้ และสารสกัดจากไพลเหลือง และข่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ได้ และเมื่อนำสารสกัดทั้ง 8 ชนิด ไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ Minimal inhibitory Concentration (MIC) พบว่า สารสกัดจากขมิ้นอ้อย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้สูงที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 25% V/V โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดจากไพลเหลือง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC และบริเวณยับยั้งเท่ากับ 50% V/V และ 2.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของพืชสมุนไพรพื้นบ้านชนิดอื่นๆ ที่มีอยู่ในตำบลนาดอกคำ อำเภอนาดัง จังหวัดเลย
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ในเรื่องของฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นด้วย

เอกสารอ้างอิง

กัญญา แปลงโฉม และพรพิมล กาญจนวาศ. (2558). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพลูคาวกระเทียมและกระวานด้วยเอทานอล. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
จิราภรณ์ บุราคร, จารวี สุขประเสริฐ และธีรดา สุขธรรม. (2554). ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัด. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 59(187): 37-43.

- ชรินญา พิมพ์สอน, หนึ่งฤทัย ผากระกรณ, พัชรภรณ์ นันทเพชร, จิรัฐติ ธรรมศิริ, เนตรดาราร จันทร์ อุตส่าห์ และพีชานิกา ขอบจิตต์. (2561). **ฤทธิ์สารสกัดขมิ้นชันในการรักษาผิวหนังอักเสบในกระต่าย**. คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยภาพสลับ.
- ธนภพ ไสตรโยม, เกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์, นพพร สกุลยืนยงสุข, ดวงกมล ตั้งสถิตพร, ดวงรัตน์ แซ่ตั้ง และกิตติ ช้องประเสริฐ. (2558). **การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่**. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.
- ธวัชชัย ศรีสุวรรณ และคณะ. (2559). **การพัฒนาวิธีเตรียมผงโพลีที่มีคุณภาพตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย**. คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- นิจศิริ เรืองรังสี, ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม และนิรันดร์ วิพันธุ์เงิน. (ม.ป.ป). **การศึกษาวิจัยสมุนไพรประเภทย่อย เพื่อประเมินคุณค่าและความสำคัญประกอบการพิจารณาในการประกาศให้เป็นสมุนไพรควบคุมตามพระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย**. กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทย และการแพทย์ทางเลือก.
- นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์. (2554). **อุบัติการณ์ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะและโลหะซึ่งแยกได้จากโรงพยาบาลในจังหวัดเชียงรายประเทศไทย**. การประชุมวิชาการ 33rd Congress on Science and Technology of Thailand.
- ปิยะมาศ ศรีรัตน์, สิริภัทร์ พรหมณีย์, สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล, ประมุข กระจุกสุขสถิตย์ และวิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตน. (2560). **การชักนำให้เกิดแคลสของขมิ้นชันและผลของการเติมสารต้นตอในการสังเคราะห์ต่อการผลิตสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์**. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- รัชนี เต๋อียดหยอ. (2550). **การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แซ่เย็น**. บัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ (จุลชีววิทยา).
- วาริรัตน์ หนูหิต. (2557). **การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง**. สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุภาณี มงคลศรีรัตน์, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐภา เลหากุลจิตต์. (2556). **ประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดกระเทียม และหอมหัวใหญ่**. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 44(2): 437-440.
- อมรรัตน์ สีสุกอง, กัลยาภรณ์ จันตรี และศรีสุตา หาญภาคภูมิ. (2559). **การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด**. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต.
- อาภากร สุภาพิพัฒน์ และจิตศิริ ราชชนะพันธุ์. (2550). **ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยตระกูลเหง้าในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ในเนื้อไก่สดบรรจุสุญญากาศแช่เย็น**. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45**. สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ. 516-522.
- Faraja, D.G., Jiheng, L., Wenhua, M., Jinghu, X., Fedrick, C., Meiling, C. and Shaimaa, R.H. (2018). Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. Faculty of Environmental Agricultural Science, Arish University, North Sinai, Egypt.
- Kaushik, P. and GOYAL, P. (2011). Evaluation of various crude extracts Zingiber officinale rhizome for potential antibacterial activity: a study in vitro. *Advances in Microbiology*, 1(1), 7-12.
- Koohsari, H., Ghaemi, EA., Sadegh Sheshpoli, M., Jahedi, M., and Zahiri, M. (2015). The investigation of antibacterial activity of selected native plants from North of Iran. Department of Microbiology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University.
- Parekh, J., Jadeja, D. and Chanada, S. (2005). Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. *Phytochemical, Pharmacological and Microbiological Laboratory*. Department of Biosciences, Saurashtra University, Rajkot.
- Samappito, W., Samappito, S. and Butkhup, L. (2016). Antibacterial Activity of Peel Extracted from Magosteen (*Garcinia Mangostana* Linn.) and Phlai (*Zingiber Montanum* Koenig) Root Extracted and Phlai Oil. Department of Food Technology, Faculty of Technology Mahasarakham University.