Research Article
Journal of Advanced Development in Engineering and Science
Vol.15 ● No.42 • January – April 2025

การประเมินปริมาณฟีโนลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม ความสามารถต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรจากตำรับยาแผนไทย

Evaluation of Total Phenolics, Total Flavonoids, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Herbal Extracts in Thai Traditional Medicine Recipes

ณัฐธิดา ศิริสม[1] ทิพธัญญา คงภักดี[1] และ พฤทฐิภร ศุภพล[2*]
Nattida Sirisom[1], Thipthanya Khongphakdee[1]
and Preuttiporn Supaphon[2*]

Received: 4 October 2024
Revised: 25 December 2024
Accepted: 27 January 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพของสมุนไพร 6 ชนิดในตำรับยาแผนไทยในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังวิเคราะห์หาปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดด้วยวิธี Folin Ciocalteu และ colorimetric aluminum chloride ตามลำดับ โดยสกัดสารจากพืชสมุนไพร 6 ชนิด (มะคำไก่ ผักเสี้ยนผี หนาด เขยตาย ทองพันชั่งและขมิ้นอ้อย) ด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตท จากนั้นประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจำนวน 12 สารสกัดด้วยวิธี colorimetric broth microdilution และ DPPH radical scavenging assays ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยสารสกัดเอทานอลจากมะคำไก่และผักเสี้ยนผียับยั้ง *Staphylococcus epidermidis* และ *Talaromyces marneffei* ดีที่สุด ให้ค่า

[1]คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา ประเทศไทย 90000
[1]Faculty of Education, Thaksin University, Songkhla, Thailand 90000
[2]คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา ประเทศไทย 90000
[2]Faculty of Science and Digital Innovation, Songkhla, Thailand 90000
*ผู้นิพนธ์ประสานงาน (Corresponding author) e-mail: preuttiporn@tsu.ac.th

MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดเอทานอล จากมะคำไก่และผักเสี้ยนผีมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 15.32 ± 0.38 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร และ 24.75 ± 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยพบปริมาณฟีโนลิกรวมสูงสุดในสารสกัด เอทานอลจากมะคำไก่และผักเสี้ยนผีเท่ากับ 82.20 ± 0.56 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดและ 124.98 ± 0.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัม สารสกัดการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสมุนไพรแต่ละชนิดในตำรับยาแผนไทยเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพ

คำสำคัญ: สมุนไพร อนุมูลอิสระ จุลินทรีย์ก่อโรค

ABSTRACT

This research aims to assess the potential of six herbal species in Thai traditional medicine recipes for inhibiting pathogenic microorganisms and combating free radicals. Additionally, the total phenolic and total flavonoid contents of the extracts were analyzed using the Folin-Ciocalteu method and colorimetric aluminum chloride, respectively. Preparing the extracts from six herbal plants (*Drypetes roxburghii*, *Cleome viscosa, Blumea balsamifera, Glycosmis pentaphylla, Rhinacanthus nasutus* and *Curcuma zedoaria*) using ethanol and ethyl acetate as solvents. Subsequently, the effectiveness of the extracts in inhibiting microorganisms and their antioxidant activity was assessed using colorimetric broth microdilution and DPPH radical scavenging assays, respectively. The results indicated that extracts from each herbal species effectively inhibited nine pathogenic microorganisms and exhibited strong antioxidant properties. The ethanol extracts from *D. roxburghii* and *C. viscosa* showed the best inhibition against *Staphylococcus epidermidis* and *Taralomyces marneffei*, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 50 µg/mL. Furthermore, the antioxidant assays revealed that the ethanol extracts from *D. roxburghii* and *C.viscosa* had the highest DPPH inhibition values of 15.32 ± 0.38 and 24.75 ± 0.97 µg/mL. Furthermore, the highest total phenolic content was found in the ethanol extract from *D. roxburghii* and *C. viscosa* at 82.20 ± 0.56 and 124.98 ± 0.74 mg gallic acid equivalent/g extract, respectively. This study suggests that each herbal species in traditional Thai medicinal recipes is a potential sources of bioactive compounds.

Keywords: Medicinal plant; Free radical; Pathogenic microorganism

บทนำ

ประเทศไทยมีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรธรรมชาติและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยเฉพาะพืชในประเทศไทยมีจำนวนมากกว่า 10,000 ชนิด โดยกลุ่มพืชที่ได้รับความนิยมและมีการนำมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันคือกลุ่มพืชที่มีสรรพคุณและศักยภาพในการนำมาใช้ในการรักษาโรค นั่น

คือพืชสมุนไพร ซึ่งมีรายงานพบพืชสมุนไพรถึง 2,187 ชนิดจาก 206 วงศ์ในประเทศไทย [1] โดยกลุ่มสมุนไพรดังกล่าวมีสรรพคุณในการนำมาใช้ในการรักษาทั้งกลุ่มโรคติดเชื้อและโรคไม่ติดเชื้อซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพของคนทั่วโลก โดยปัญหาสุขภาพที่สำคัญและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตคือ โรคมะเร็ง โรคหัวใจหลอดลมและปอดอักเสบจากการติดเชื้อ [2]

ปัญหาการติดเชื้อเป็นปัญหาทั่วโลกที่เกิดขึ้น โดยสถานการณ์การติดเชื้อทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ปัญหาสำคัญที่หลายหน่วยงานตลอดจนนักวิจัยพยายามหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว คือปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ เช่น Enterobacteriaceae carbapenem-resistant and ESBL-producing, *Acinetobacter baumannii* carbapenem-resistant, *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem-resistant และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เป็นต้น [3] ทั้งนี้ในผู้ป่วยติดเชื้อที่นอนโรงพยาบาลเป็นระยะเวลานานอาจมีภาวะความเครียด ส่งผลให้มีปริมาณอนุมูลอิสระในร่างกายสูง ทำให้เกิดปัญหาสุขภาพอื่นๆตามมา เช่น โรคมะเร็ง โรคมะเร็งมีสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากอนุมูลอิสระซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนเดี่ยวที่ไม่เสถียรและไวต่อการทำปฏิกิริยากับอะตอมหรือโมเลกุลอื่น หากในร่างกายมีอนุมูลอิสระจะส่งผลกระทบต่อเซลล์และกลไกการทำงาน ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ส่งผลต่อการเสื่อมของเซลล์และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ได้แก่ โรคหลอดเลือดและโรคมะเร็ง เป็นต้น มะเร็งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับ 2 ของโลก โดยมีการคาดการณ์ว่าจะมีจำนวนผู้ป่วยมะเร็งสูงถึง 21.6 ล้านรายในปี พ.ศ. 2573 [4] นอกจากนี้ประเทศไทยกำลังเข้าสู่สังคมประชากรสูงวัย ซึ่งอายุมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค โดยประชากรที่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไปมีความเสี่ยงมากขึ้นจากการคาดการณ์ขององค์กรทั้งภายในและต่างประเทศ รวมทั้งสภาพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติพบว่าในปี พ.ศ. 2563 ประเทศไทยมีประชากรสูงวัยถึง 12.6 ล้านคนจากประชากรรวม 66 ล้านคนคิดเป็น 19.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลกระทบจากการเพิ่มขึ้นของประชากรสูงวัยไม่เพียงแต่มีผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจ แต่ยังมีผลต่อระบบสาธารณสุข โดยเฉพาะปัญหาสุขภาพของประชากรและการเข้าถึงการรักษาเนื่องจากรายได้ของผู้สูงอายุส่วนใหญ่ได้รับจากบุตร [2]

ปัจจุบันยาสมุนไพรถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางมากขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมการพึ่งพาตนเองด้านยา โดยรายการยาจากสมุนไพรบัญชียาหลักแห่งชาติในปี พ.ศ. 2542 มีรายการยาจำนวน 8 รายการและเมื่อปี พ.ศ. 2562 มีรายการยาเพิ่มมากขึ้นจำนวน 74 รายการ โดยยาสมุนไพรดังกล่าวที่ถูกคัดเลือกและรายงานไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติมีการประเมินในหลายมิติด้วยกัน เช่น การนำมาใช้อย่างยาวนานและมีความปลอดภัย ร่วมกับประเมินจากประสิทธิภาพของการนำมาใช้ในการรักษา เป็นต้น ตำรับยาแผนไทยมีมากกว่า 20,000 ตำรับ [5] ตำรับยาแก้ฝีจากตำรายาแผนโบราณหลวงพินิจพลนิกรเป็นตำรับยาโบราณที่มีสรรพคุณในการนำมาใช้ในการรักษาฝีซึ่งมีสาเหตุจากการติดเชื้อ ประกอบด้วยสมุนไพรทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ ใบมะคำไก่ ใบผักเสี้ยนผี ใบหนาด ใบเขยตาย ใบทองพันชั่งและขมิ้นอ้อย ซึ่งสมุนไพรแต่ละชนิดที่นำมาใช้มีสรรพคุณต่างๆ ทั้งต้านจุลินทรีย์และยับยั้งอนุมูลอิสระ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมาการรายงานศักยภาพของสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดยังคงไม่ครอบคลุมกลุ่มจุลินทรีย์ทั้งหมด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และรา

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและประเมินศักยภาพของสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 6 ชนิดในตำรับยาแผนไทยของหลวงพินิจพลนิกรในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ ซึ่งครอบคลุมจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญในมนุษย์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC27853, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* ATCC90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC90112, *Microsporum gypseum* และ *Taralomyces marneffei* นอกจากนี้ยังประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและตรวจสอบหาปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดเพื่อให้เป็นฐานข้อมูลสำคัญในการนำสมุนไพรไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด

สมุนไพรที่นำมาใช้ในงานวิจัยมีทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ ใบมะคำไก่ ใบผักเสี้ยนผี ใบหนาด ใบเขยตาย ใบทองพันชั่งและเหง้าขมิ้นอ้อย โดยนำตัวอย่างสมุนไพรแต่ละชนิดอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแต่ละชนิดแห้งสนิท จากนั้นบดให้เป็นผงละเอียด แช่ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ 95%v เอทานอล กับเอทิลอะซิเตทเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยให้อัตราส่วนของตัวอย่างพืชต่อตัวสกัดเป็น 1:1 เมื่อครบกำหนดนำไปกรองเอาเฉพาะของเหลว แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิในช่วง 40 - 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดแต่ละชนิดบรรจุใส่ขวดสีชาและเก็บที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส เพื่อรอทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

2. การเตรียมเชื้อทดสอบ

2.1 แบคทีเรีย

Streak เชื้อแบคทีเรียทดสอบลงบนอาหาร nutrient agar (NA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเตรียมเชื้อเริ่มต้นโดยเขี่ยแบคทีเรีย 3 – 5 โคโลนีลงในอาหาร nutrient broth (NB) และเขย่าที่ตู้บ่มเชื้อด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 – 5 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 % ที่ปราศจากเชื้อให้ได้ 0.5 McFarland standard (เชื้อประมาณ 1.5×10^{8} CFU/ml) และเจือจางต่อที่อัตราส่วน 1:200 ด้วยอาหารMueller-Hinton Broth (MHB)

2.2 ยีสต์

Streak เชื้อยีสต์ทดสอบลงบนอาหาร Sabouraud’s dextrose agar (SDA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สำหรับ *C. Albicans* และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับ *C. neoformans* เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อเริ่มต้นโดยเขี่ยยีสต์ 3 – 5 โคโลนีลงในอาหาร Sabouraud’s dextrose broth (SDB) และเขย่าที่ตู้บ่มเชื้อด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 - 5 ชั่วโมง สำหรับ *C. albicans* และที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 – 5 ชั่วโมง สำหรับ *C. neoformans* ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 % ที่ปราศจากเชื้อให้ได้ 2 McFarland standard และเจือจางต่อที่อัตราส่วน 1:20 ด้วยอาหาร SDB [6-7]

2.3 รา

เลี้ยงราบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 3 – 5 วันหรือจนกว่าจะสร้างโคนิเดียที่อุณหภูมิห้อง แล้วใส่ glass bead ประมาณ 10 เม็ดลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นหมุนจานไปมาเพื่อให้โคนิเดียหลุดออกจากเส้นใย เติม 0.85 % NaCl จำนวน 5 มิลลิลิตรและปิเปต conidial suspension ในจานเพาะเชื้อแล้วนำไปใส่ในหลอดทดลองเพื่อเตรียมตรวจนับจำนวนสปอร์ด้วย Hemacytometer จากนั้นปรับความเข้มข้นของโคนิเดียด้วย 0.85% NaCl ให้ได้ความเข้มข้นของของโคนิเดียเท่ากับ 4×10^{4} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

3. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทยในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ

3.1 การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น

เตรียมสารสกัดด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (stock solution) และเจือจางต่อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบให้ได้ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากนั้นหยดสารสกัดลงใน 96 well plate จำนวน 3 หลุม และหยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดที่ 25.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำ 96 well plate ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรียและยีสต์ (*C. albicans*) และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 ชั่วโมงสำหรับ *C. neoformans* เมื่อครบกำหนดเวลาหยดสี resazurin ที่เจือจาง (1:10) ลงในหลุมทดสอบปริมาตร 10 ไมโครลิตรและนำไปบ่มต่อเป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรียและยีสต์ *C. albicans* ส่วน *C. neoformans* นำไปบ่มต่ออีกเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นอ่านผลการทดสอบโดยสังเกตสีของ resazurin หากยังคงเห็นเป็นสีน้ำเงินแสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อได้ และหากเห็นเป็นสีชมพูหรือใสไม่มีสีแสดงว่าสารสกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ชุดควบคุมสำหรับการทดสอบโดยใช้ยาปฏิชีวนะ Vancomycin และ Gentamicin เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบตามลำดับและ Amphotericin B เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับยีสต์และราและใช้อาหารและเชื้อเป็นชุดควบคุมเชิงลบ

3.2 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทดสอบได้ (MBC) หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่ายีสต์และราทดสอบได้ (MFC)

นำสารสกัดที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้น 25.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบหาค่า MIC และ MBC หรือ MFC ด้วยวิธี Colorimetric broth microdilution เช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดโดยให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 0.025 - 12.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อ่านผลและบันทึกค่า MIC จากนั้นนำเชื้อจากหลุมทดสอบที่ให้ผลการยับยั้งทุกหลุมจากผลการทดสอบหาค่า MIC มา streak บนอาหาร NA และ SDA สำหรับแบคทีเรียและยีสต์กับรา ตามลำดับ บันทึกค่า MBC หรือ MFC [8-10]

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2 diphenyl - 1- picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH)

4.1 การศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นผสมสารสกัดปริมาตร 1,024 ไมโครลิตรกับ ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 976 ไมโครลิตร ลงในหลอดที่ 1 โดยที่หลอดที่ 2 ถึงหลอดที่ 6 เติม ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตรและเจือจางความเข้มข้นแบบ 2-fold ในช่วง 16 – 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระเพื่อหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สูตรดังนี้ [11]

$$\% \text{ Inhibition} = [(A0-A1)/A0] \times 100$$

เมื่อ A0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด

เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นผสมสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 2,500 ไมโครลิตรที่ผสมกับสาร Folin-Ciocalteu ในอัตราส่วน 1:9 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันและวางทิ้งไว้ 5 นาทีจากนั้นเติม 7.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ที่ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีโนลิกในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด (mg of gallic acid equivalent/g extract) ดัดแปลงจาก [12]

6. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากนั้นดูดสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตรและ 5 เปอร์เซ็นต์สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ปริมาตร 75 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาทีจากนั้นเติม 10% สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาเติม 1 โมล่าร์สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่น 775 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานเคอร์ซิตินในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด (mg of quercetin equivalent/g extract) ดัดแปลงจาก [12]

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แสดงผลในรูปแบบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ One -way Anova ด้วยระดับนัยสำคัญที่ P-values < 0.05 โดยใช้โปรแกรมสถิติวิเคราะห์สำเร็จรูป Graphpad prism version 5 (GraphPad software, San Diego, CA, USA)

ผลการวิจัย

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ ใบมะคำไก่ ใบผักเสี้ยนผี ใบหนาด ใบเขยตาย ใบทองพันชั่ง และขมิ้นอ้อย ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเอทิลอะซิเตท รวมทั้งหมด 12 สารสกัดหยาบ ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ แบคทีเรียแกรมบวก 3 สายพันธุ์ (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* SK1 (MRSA*), Staphylococcus epidermidis*) แบคทีเรียแกรมลบ 2 สายพันธุ์ (*Escherichia* coli ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853) ยีสต์ 2 สายพันธุ์ (*Candida albicans* ATCC90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC90112) และราเส้นใย 2 สายพันธุ์ (*Microsporum gypseum* และ *Taralomyces marneffei*) พบว่าสารสกัดทั้ง 12 สารสกัดสามารถยับยั้งรา *M. gypseum* ที่ก่อโรคกลากได้ทั้ง 12 สารสกัด คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดจำนวน 9 สารจาก 12 สาร คิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งรา *T.marneffei* เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่พบในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น โรคเอดส์ นอกจากนี้สารสกัดเอทานอลจากใบผักเสี้ยนผีและใบมะคำไก่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบและให้ค่าการยับยั้ง (MIC) เท่ากัน โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยสารสกัดเอทานอลจาก

ผักเสี้ยนผีสามารถยับยั้ง *T. marneffei* และสารสกัดเอทานอลจากใบมะคำไก่ สามารถยับยั้ง *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด (Table 1)

Table 1 Antimicrobial activity of extracts from six species of herbal plants at final concentration range from 12.8-0.025 mg/ml

Plant (Extract)	MIC/MBC or MFC (mg/mL)								
	EC	PA	SE	SA	MRSA	CA	CN	TM	MG
R. nasutus									
(Ethanol)	-	6.4/-	3.2/-	-	-	-	-	3.2/-	1.6/1.6
(Ethyl acetate)	-	-	-	-	12.8/-	-	-	6.4/-	3.2/-
C. viscosa									
(Ethanol)	-	-	-	-	3.2/-		-	0.05/-	3.2/3.2
(Ethyl acetate)	-	-	-	-	-		-	6.4/-	3.2/12.8
G. pentaphylla									
(Ethanol)	6.4/-	-	6.4/-	-	6.4/-	-	-	-	1.6/6.4
(Ethyl acetate)	-	-	-	-	-	-	-		3.2/-
D. roxburghii									
(Ethanol)	1.6/-	0.2/-	0.05/-	1.6/-	1.6/-	-	3.2/-	-	3.2/3.2
(Ethyl acetate)	-	-	-	-	-	-	-	-	6.4/12.8
B. balsamifera									
(Ethanol)	-	6.4/-	1.6/-	-	3.8/-	-	3.2/-	3.2/-	1.6/12.8
(Ethyl acetate)	6.4/-	6.4/-	6.4/-	6.4/-	1.6/-	12.8/-	1.6/-	6.4/-	0.8/6.4
C. zedoaria									
(Ethanol)	-	-	6.4/-	6.4/-	6.4/-	6.4/-	3.2/6.4	1.6/12.8	0.4/3.2
(Ethyl acetate)	-	-	-		-	-	-	3.2/-	3.2/-
Antibiotic drugs	MIC/MBC or MFC (µg/mL)								
Vancomycin			0.5/1	0.5/1	1/2				
Gentamicin	0.5/1	0.5/1							
Amphotericin B						0.5/1	0.25/0.5	1/2	1/2

Remark, EC; *Escherichia coli*, PA; *Pseudomonas aeruginosa* , SE*; Staphylococcus epidermidis,* SA; *Staphylococcus aureus*, MRSA; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus,* CA; *Candida albicans,* CN; *Cryptococcus neoformans,* TM*; Taralomyces marneffei,* MG; *Microsporum gypseum,* - Noactivityattestedconcentration

นอกจากนี้สารสกัด 12 สาร จากสมุนไพร 6 ชนิด ยังมีศักยภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี พบว่าสารสกัดเอาทานอลจากใบมะคำไก่มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 15.32 ± 0.38

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนขมิ้นอ้อย ผักเสี้ยนผี เขยตาย และทองพันชั่ง มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอนุมูลอิสระได้ดีรองลงมาตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพบว่าปริมาณฟีโนลิกสูงที่สุดในสารสกัดเอทานอลจากใบผักเสี้ยนผีเท่ากับ 124.98 ± 0.74 และสารสกัดเอทานอลจากใบมะคำไก่เท่ากับ 82.20 ± 0.56 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้ตรวจพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในใบมะคำไก่และใบผักเสี้ยนผีมีปริมาณสูง เท่ากับ 19.18 ± 0.67 และ 16.97 ± 0.82 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Total flavonoid content and total phenolic content of ethanolic extracts from six medicinal plants.

Plant	TFC mg quercertin/ g sample	TPC mg gallic acid/ g sample	DPPH IC_{50} (mean±SD) µg/ml
R. nasutus	5.72±0.08[a]	36.43±0.53[a]	156.33±0.53[a]
C. viscosa	16.97±0.82[b]	124.98±0.74[b]	24.75±0.97[b]
G. pentaphylla	9.68±0.14[c]	43.85±1.03[c]	96.36±0.42[c]
D. roxburghii	19.18±0.67[d]	82.20±0.56[d]	15.32±0.38[d]
B. balsamifera	6.23±0.05[a]	30.04±1.12[e]	181.17±0.63[e]
C. zedoaria	21.00±1.06[d]	69.01±1.19[f]	22.68±0.48[f]
L-ascorbic acid			3.53±0.56

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรไทยแต่ละชนิดในตำรับยาแผนไทย ในตำรับยาแก้ฝีจากตำรายาแผนโบราณหลวงพินิจพลนิกร ซึ่งใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเอทิลอะซิเตทซึ่งเอทานอลมีความปลอดภัยสูงและเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการนำมาสกัดสารจากพืช เนื่องจากมีคุณสมบัติในการละลายได้กว้าง โดยสามารถสกัดสารสำคัญหลายชนิดได้ดี เช่น แทนนิน โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ และอัลคาลอยด์ เป็นต้น สำหรับเอทิลอะซิเตทเป็นสารละลายหรือตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง สามารถสกัดสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลและฟลาโวนอยด์ได้ [13] ดังนั้นจากผลการทดสอบจึงเห็นได้ว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดจากเอทิลอะซิเตท

จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเอทานอลจากมะคำไก่และผักเสี้ยนผีมีค่า MIC ในการยับยั้ง *S. epidermidis* และ *T. marneffei* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดเอทิลอะซิเตท โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบสารสำคัญในพืชสมุนไพรหลายชนิด โดยพบสารกลุ่มไตรเทอร์ปีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกในใบเขยตาย ผักเสี้ยนผี มะคำไก่และทองพันชั่ง พบสารเคอคิวมินและเควอซิทินที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในขมิ้นอ้อยและใบหนาดตามลำดับ จากผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Howlader และคณะ [14] ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวก 12 ชนิด ของสารสกัดหยาบเอทานอลของใบและลำต้นเขยตาย พบว่าสารสกัดเอทานอลจากต้นเขยตายยับยั้ง

S. aureus ได้ดี โดยมีโซนการยับยั้งเท่ากับ 8.50 ± 0.50 มิลลิเมตร นอกจากนี้ Bose และคณะ [15] ศึกษาฤทธิ์ยาต้านจุลชีพ ความเป็นพิษ และต้านเชื้อแบคทีเรียของใบผักเสี้ยนผี พบว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion โดยใช้สารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย 7 ชนิด พบว่าโซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 10.80 มิลลิเมตร นอกจากนี้งานวิจัยของ เยี่ยมศิริ มณีพิสมัย และคณะ [16] ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบของสารสกัดจากใบหนาด ในส่วนของฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบทำการศึกษาด้วยวิธี paper disc diffusion method โดยแบคทีเรียที่ใช้ศึกษาคือ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบหนาด มีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้งานวิจัยของ ปฐมาพร ปรึกษากร และคณะ [17] ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ของสารสกัดทองพันชั่งซึ่งเป็นสมุนไพรที่ใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณของไทยเพื่อการรักษาโรคผิวหนังและผื่นคัน การทดสอบการต้านเชื้อราของพืชนี้ พบว่ามีฤทธิ์ดีต่อการต้านเชื้อราของสารสกัดจากส่วนต่างๆของทองพันชั่ง การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ของทองพันชั่งพบว่าสารสกัดจากส่วนรากมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.13, 3.13, 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้งานวิจัยของทัศนีย์ พาณิชย์กุล และคณะ [18] ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบทองพันชั่งในเมทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่ผิวหนัง ผลการทดสอบโดยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดทองพันชั่งที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *E. coli* แต่ไม่ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* เมื่อทดสอบฤทธิ์ดังกล่าวของสารสกัดทองพันชั่งโดยวิธี broth dilution พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ต่อเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียร้อยละ 90 (MIC_{90}) มีค่าเท่ากับ 9.5 ± 0.12, 9.65 ± 0.11 และ 9.8 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียร้อยละ 50 (MIC_{50}) มีค่าเท่ากับ 6.4 ± 0.05, 6.5 ± 0.06 และ 6.8 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *E. coli* ตามลำดับ พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีที่หลากหลาย เช่น แทนนิน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีโนลิก และ ซาโปนิน เป็นต้น โดยสารสำคัญในพืชมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน หรือสารบางชนิดสามารถยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์หลายกลไกด้วยกัน เช่น แทนนินยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ รบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์และยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันภายในเซลล์ อัลคาลอยด์ยับยั้งการสร้างโปรตีนและกรดนิวคลีอิกฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ในการทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย รบกวนการทำงานของโปรตีนที่ทำหน้าที่ปั๊มยาหรือสารพิษ (efflux pump) ออกจากเซลล์จุลินทรีย์ ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์สารและการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ ซาโปนินทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นต้น [19-22]

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และหาปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Folin Ciocalteu และ Colorimetric aluminum chloride พบว่าสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด (มะคำไก่ ผักเสี้ยนผี หนาด เขยตาย ทองพันชั่งและขมิ้นอ้อย) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยสารสกัดเอทานอลจากมะคำไก่และผักเสี้ยนผีมีฤทธิ์ยับยั้ง DPPH ได้ดีที่สุด (IC_{50}15.32 ± 0.38 และ 24.75 ± 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบปริมาณฟีโนลิกรวมสูงสุดเท่ากับ 82.20 ± 0.56 และ 124.98 ± 0.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ในปี พ.ศ. 2558 [23] ที่ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสกัดสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี (*C. viscosa*) ทำการหาปริมาณ

สารประกอบฟินอลิคทั้งหมดที่มีในสารสกัด พบปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดสูงที่สุดในสารสกัดใบเทียบเท่ากับ 10.41 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ พบว่าที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากส่วนใบมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2567 Afzal และคณะ [24] รวบรวมข้อมูลทางพฤกษศาสตร์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจามะคำไก่ พบว่ามะคำไก่เป็นพืชสมุนไพรในแฟมิลี Euphorbiaceae ที่พบได้ทั่วไปในเขตร้อนของประเทศอินเดีย โดยส่วนต่างๆของมะคำไก่ ได้แก่ เมล็ด ใบ ดอก กิ่ง เปลือกของผลและเปลือกไม้ มีสรรพคุณและสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia, Enterococcus faecalis, Aspergillus fumigates*, *Aspergillus niger* และ *Microporum gypseum* เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 87.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สมุนไพรอื่นๆในการศึกษานี้ยังมีรายงานศักยภาพที่น่าสนใจ ปรวุฒิ เมืองอู่ และคณะ ในปี พ.ศ. 2559 [25] ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของสารสกัดและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากใบหนาด จากการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และการยับยั้ง nitric oxide (NO) พบว่าส่วนสกัดของใบหนาดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบที่ดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.6 และ 21.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ งานวิจัยของ อรอินทุ์ และคณะ ในปี พ.ศ. 2563 [26] ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบทองพันชั่งเพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทองพันชั่ง มีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด 6.96 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เท่ากับ 10.44 ± 0.00 ไมโครกรัมสมมูลทรอรอกซ์ต่อกรัมสารสกัดและ 6.97 ± 0.00 ไมโครกรัมสมมูลทรอรอกซ์ต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ

สารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ ใบมะคำไก่ ใบผักเสี้ยนผี ใบหนาด ใบเขยตาย ใบทองพันชั่ง และขมิ้นอ้อย ในตำรับยาแผนไทยในตำรับยาแก้ฝีจากตำรายาแผนโบราณหลวงพินิจพลนิกรมีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 9 สายพันธุ์ที่ทดสอบและต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี โดยสารสกัดเอทานอลจากมะคำไก่และผักเสี้ยนผีมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. epidermidis* และ *T. marneffei* ได้ดีที่สุด (MIC 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) และสารสกัดจากใบของพืชทั้งสองชนิดที่สกัดด้วยเอทานอลยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด (IC_{50} 15.32 ± 0.38 และ 24.75 ± 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลิลิตร) พบปริมาณฟีโนลิกรวมสูงสุดเท่ากับ 82.20 ± 0.56 และ 124.98 ± 0.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดจากผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่านอกจากการนำตำรับยาสมุนไพรไปใช้ในการรักษาโรคตามสรรพคุณแล้วสมุนไพรแต่ละชนิดในตำรับยาสมุนไพรยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและสามารถต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของโรคต่างๆได้ดี

References

[1] Phumthum, M., et al. (2015). Ethnomedicinal Plant Diversity in Thailand. *Journal of Ethnopharmacology*, 214, 90-98.

[2] Phutsorn, C. & Phornsiriwacharasin, K. (2018). Solutions to the Problem of an Aging Society in Thailand. *Humanitiesand Social Science Research Promotion Network Journal*, 1(1), 25-36. (in Thai)

[3] Ammatapongphan, I. (2022). Health Care Situation and Factor Associated with Antimicrobial Resistant Bacterial Infection in the Pediatric Department Yasothon hospital. *Yasothon*

Medical Journal, 24(2), 49-60. (in Thai)

[4] Puengsook, W., et al. (2020). The factors Influencing to the Quality of Life of Cancer Patients in the End of Life Care in Chiang Rai Province. *Thai Journal of Health Education*, 43(1), 143-154. (in Thai)

[5] Werayingyong P. et al., (2021). The Preparation of the Positive List of Thai Traditional Medicine Formulas Based on Priority Setting. *Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine*, 19(2), 303-316. (in Thai)

[6] Supaphon, P., et al. (2014). Diversity and Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi Isolated from the Seagrass *Enhalus acoroides. Indian Journal of Geo - Marine Sciences*, 43(5), 785-797.

[7] Supaphon, P., et al. (2018). Isolation and Antimicrobial Activities of Fungi Derived from *Nymphaea lotus* and *Nymphaea stella*. *Mycoscience*, 59(5), 415-423.

[8] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2002). *Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically.* Wayne, Pa: CLSI.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2002). *Reference Method for broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing of Yeasts.* Wayne, Pa: CLSI.

[10] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2002). *Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing of Filamentous Fungi.* Wayne, Pa: CLSI.

[11] Thaiphanit, S. & Anprung, P. (2014). Inhibition of Browning Reaction in Pasteurized Fragrant Banana Puree. *Journal of Food Technology, Siam University*, 9(1), 39-51. (in Thai)

[12] Ghafar, M. F. A., et al. (2010). Flavonoid, Hesperidine, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities from Citrus Species. *African Journal of Biotechnology*, 9(3), 326-330.

[13] Pandey, A. & Tripathi, S. (2014). Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry,* 2(5), 115-119.

[14] Howlader, Md. A., et al. (2011). Antimicrobial, antioxidant and Cytotoxic Effects of Methanolic Extracts of Leaves and Stems of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.). *Journal of Applied Pharmaceutical Science,* 1(8), 137-140.

[15] Bose, U., et al., (2011). Antinociceptive, Cytotocxic and Antibacterial Activities of *Cleome viscosa* Leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy,* 21(1), 165-169.

[16] Maneepisamai, Y., et al., (2012). Anti-Inflammatory Activity and Anti – Dermatitis - Causing Bacterial Activity of *Blumea balsamifera* (L.) DC. Leaf Extracts. *Chandrakasem Rajabhat University Journal*, 18(35), 33-40. (in Thai)

[17] Pruksakorn, P., et al., (2018). Antifungal Activity of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz Extracts Against Dermatophyte. *Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine*, 16(2), 205-217. (in Thai)

[18] Panitkul, T., et al., (2017). Antibacterial Activity of *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz Extract Against Bacteria with Dermatologic Relevance. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science,* 10(3), 17-32. (in Thai)

[19] Wang, S., et al. (2018). Bacteriostatic Effect of Quercetin as an Antibiotic Alternative In Vivo and Its Antibacterial Mechanism In Vitro. *Journal of Food Protection*, 81(1), 68-78.

[20] Farha, A. K., et al. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751.

[21] Li, J. & Monje-Galvan, V. (2023). In Vitro and In Silico Studies of Antimicrobial Saponins: A Review. *Processes*, 11(10), 2856.

[22] Thawabteh, A. M., et al. (2024). Antibacterial activity and antifungal activity of monomeric alkaloids. *Toxins*, 16(11), 489.

[23] Srivatcharakul, S. (2015). *Study of the Effects of Extracts from Various Parts of the Ghost Plant* (*Vigna aconitifolia*) *on the Inhibition of Certain Bacterial Strains and Its Antioxidant Properties*. (Research report). Bangkok: King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. (in Thai)

[24] Afzal, M., et al. (2024). A Review on Botanical Description, Phytoconstituents, and Biological Activity of *Drypetes Roxburghii*. *Educational Administration: Theory and Practice,* 30(4), 6204-6247.

[25] Muang-ou, P., et al. (2016). Antioxidant and Anti - Inflamatory Activities of Isolated Flavonoids from *Blumea balsamifera* Leave. In *RSU National Research Conference 2016* (p.66-74). 29 April, 2016, Pathumthanee, Thailand. (in Thai)

[26] Prachaiyo, O., et al. (2020). Antioxidant Properties of Nasutas or Tohng Panchang (*Rhinacanthus nasutus*) Extract. *Agricultural Science Journal*, 51(1), 468-473. (in Thai)