Research Article
Journal of Advanced Development in Engineering and Science
Vol.15 ● No.44 • September – December 2025

ศักยภาพของสารสกัดจากใบของพืชสมุนไพรที่รับประทานได้ในการต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ

The Potential of Extracts Derived from Leaves of Edible Medicinal Plants for Their Antimicrobial and Antioxidant Activities

กรพินท์ นาภูมิ[1], อรสา สุขสุวรรณ์[1] และ พฤทธิภร ศุภพล[1*]
Korapin Napum[1], Orasa Suksuwan[1] and Preuttiporn Supaphon[1*]

Received: 26 August 2025
Revised: 7 November 2025
Accepted: 2 December 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบของพืชสมุนไพรที่รับประทานได้จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Clerodendrum disparifolium* (ข่อยดำ), *Ehretia acuminate* (พญาล้างไต), *Blumea balsamifera* (หนาดใหญ่) และ *Strobilanthes crispa* (หินฟ้าแลบ) เตรียมตัวอย่างสารสกัดจากส่วนใบของพืชทั้ง 4 ชนิด ด้วยการแช่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans* NCPF3153 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 โดยใช้วิธี Colorimetric broth microdilution จากนั้นประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดโดยใช้วิธี DPPH radical scavenging และวิธี Folin-Ciocalteuตามลำดับ นอกจากนี้วิเคราะห์ส่วนประกอบของสาระสำคัญที่พบด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

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

ของสารสกัดพบว่าสารสกัดจากใบของ *B. balsamifera* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, S. epidermidis* และ MRSA (MIC เท่ากับ1.024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้สารสกัดจากใบของ *B. balsamifera* ยังแสดงประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.178 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และตรวจพบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเท่ากับ 88.769 ± 10.33 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดจากการศึกษาส่วนประกอบของสารสำคัญในสารสกัดโดยใช้เทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ตรวจพบไฟทอล (phytol) มีปริมาณสูงที่สุด จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากสมุนไพรเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจและสามารถยืนยันประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรเหล่านี้ อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆในอนาคต

คำสำคัญ: สารสกัด สมุนไพร จุลินทรีย์ก่อโรค อนุมูลอิสระ

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antimicrobial and antioxidant activities of ethanolic leaf extracts from four edible medicinal plants: *Clerodendrum disparifolium*, *Ehretia acuminata, Blumea balsamifera*, and *Strobilanthes crispa*. Leaf samples from the four plant species were extracted using ethanol as the solvent. The extracts were tested for antimicrobial activity against eight strains of pathogenic microorganisms: *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans* NCPF3153 and *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 using the colorimetric broth microdilution method. Antioxidant activity and total phenolic content of the extracts were assessed using the DPPH radical scavenging assay and the Folin-Ciocalteu method, respectively. In addition, the chemical composition of bioactive compounds in the extracts was analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).Among the extracts tested, the leaf extract of *B. balsamifera* exhibited the highest antimicrobial activity, effectively inhibiting the growth of *S. aureus, S. epidermidis*, and MRSA with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 1.024 mg/mL. The extract from *B. balsamifera* demonstrated the strongest antioxidant activity, with an IC_{50} value of 0.178 ± 0.10 mg/mL in the DPPH assay. Moreover, it contained the highest total phenolic content, measured at 88.769 ± 10.33 mg gallic acid equivalent/g extract. GC-MS analysis revealed that phytol was the most abundant compound in the extract. These findings indicate that herbal extracts are promising sources of bioactive compounds and provide scientific support for the traditional use of these plants. The results also offer a basis for future investigations into their other biological activities.

Keywords: Extract; Medicinal Plants; Pathogenic Microorganisms; Free Radical

บทนำ

ปัญหาด้านสุขภาพไม่เพียงแต่ก่อให้เกิดความเจ็บป่วยและการเสียชีวิตของประชากร แต่ยังสะท้อนถึงสภาพเศรษฐกิจและสังคมโดยรวม ซึ่งเห็นได้ว่าในปัจจุบันจำนวนผู้ป่วยทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี [1] จากสถานการณ์ดังกล่าวส่งผลให้มีความจำเป็นในการหาแหล่งทางเลือกใหม่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อใช้ในการพัฒนายารักษาโรคหรือเพื่อนำมาใช้บรรเทาอาการต่าง ๆ โดยเฉพาะพืชสมุนไพรซึ่งเห็นได้ว่ามีแนวโน้มการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อและโรคติดต่อในมนุษย์เพิ่มมากขึ้น [2-4] มีรายงานการศึกษาศักยภาพของพืชสมุนไพรในที่เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะในประเทศไทยซึ่งมีการใช้พืชสมุนไพรในการรักษาโรคโดยอาศัยความรู้ดั้งเดิมที่สืบทอดจากบรรพบุรุษ พืชสมุนไพรเหล่านี้ถูกนำมาใช้รักษาโรคทั้งชนิดที่เป็นโรคติดต่อและโรคไม่ติดต่อ โดยส่วนใหญ่อยู่ในรูปของพืชแห้งที่นำมาต้มดื่มหรือบดพอกและปรากฏอยู่ในในตำรับพื้นบ้าน อย่างไรก็ตามยังมีพืชสมุนไพรจำนวนมากที่ขาดการศึกษาเชิงวิทยาศาสตร์อย่างเป็นระบบ โดยเฉพาะด้านความปลอดภัยและประสิทธิภาพของสมุนไพรเหล่านั้น ซึ่งเป็นประเด็นที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการพัฒนาไปสู่การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ [2, 5]

จุลินทรีย์ก่อโรคสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ และอากาศ และสามารถแพร่กระจายสู่มนุษย์ผ่านช่องทางต่าง ๆ ก่อให้เกิดการติดเชื้อ ซึ่งในปัจจุบันปัญหาสำคัญที่ท้าทายระบบสาธารณสุขคือการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อก่อโรคฉวยโอกาสในโรงพยาบาล ซึ่งมีผลกระทบรุนแรงต่อผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือพักรักษาตัวเป็นเวลานาน ในกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคติดเชื้อ พบว่ามีแบคทีเรียก่อโรคจำนวนกว่า 30 ชนิด ที่มีความเกี่ยวข้องกับอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยทั่วโลก โดยเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในหลายประเทศ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacte rbaumannii*, *Enterobacter* spp., *Streptococcus* sp., *Enterococcus faecalis* และ*Enterococcus faecium* ซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคหลากหลาย เช่น อุจจาระร่วง ไทฟอยด์ ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด และฝีหนอง [6] นอกจากนี้ความเครียดที่เกิดจากการรักษาในโรงพยาบาลยังอาจกระตุ้นการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ซึ่งมีรายงานจำนวนมากระบุว่าอนุมูลอิสระเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง โดยในปี ค.ศ. 2022 มีการคาดการณ์ว่าจะมีผู้ป่วยโรคมะเร็งรายใหม่ถึง 20 ล้านคนทั่วโลก [7-10]

พืชสมุนไพรถือเป็นแหล่งของสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ โดยในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาพืชสมุนไพรที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในประเทศไทย จำนวน 4 สปีชีส์ ซึ่งเป็นกลุ่มพืชที่มีการใช้ในรูปแบบการรับประทาน ได้แก่ *Clerodendrum disparifolium*, *Ehretia acuminata*, *Blumea balsamifera* และ *Strobilanthes crispa* ซึ่งแต่ละชนิดจัดอยู่ในวงศ์พฤกษศาสตร์ที่แตกต่างกันและมีรายงานว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย *C. disparifolium* (วงศ์ Lamiaceae) มีสรรพคุณลดอาการแมลงกัดต่อย ลดระดับน้ำตาลในเลือด และต้านการอักเสบ *E. acuminata* (วงศ์ Boraginaceae) พบทั่วไปในทวีปเอเชีย แอฟริกา และอเมริกาเหนือ มีฤทธิ์ขับปัสสาวะและต้านเบาหวาน *B. balsamifera* (วงศ์ Asteraceae) พบในประเทศไทยและจีน มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย และต้านอนุมูลอิสระ ส่วน *S. crispa* (วงศ์ Acanthaceae) มีองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ เทอร์พีน และฟีนอลิก ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านอนุมูลอิสระ [12-16]

อย่างไรก็ตามจากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ายังมีงานวิจัยที่มุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรทั้งสี่ชนิดดังกล่าวไม่มากนัก โดยเฉพาะฤทธิ์ของสารสกัด ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากใบของพืชสมุนไพรทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *C.disparifolium*, *E.acuminata*, *B.balsamifera* และ *S.crispa* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ จำนวน 8 สายพันธุ์ ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และยีสต์ รวมถึงศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลรวมและองค์ประกอบของสารสำคัญที่มีศักยภาพ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาและพัฒนาเพื่อประโยชน์ทางการใช้ประโยชน์ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมพืชและสารสกัด

นำส่วนใบของตัวอย่างพืชสมุนไพร ได้แก่ *C. disparifolium* (ข่อยดำ), *E. acuminate* (พญาล้างไต), *B. balsamifera* (หนาดใหญ่) และ *S.crispa* (หินฟ้าแลบ) มาล้างและตัดเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักพืชแต่ละชนิด ชนิดละ 16.50 กรัม บรรจุในภาชนะและเติมเอทานอล ในอัตราส่วน 1:1 ปิดฝาและวางไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดกรองเพื่อแยกสารละลายออกจากตัวอย่างพืช จากนั้นนำของเหลวไประเหยสารละลายด้วยเครื่องหมุนระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบและคำนวณปริมาณผลผลิตโดยใช้สูตร:

$$\% \text{ yield} = [A/B] \times 100$$

A = น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (กรัม)

B = น้ำหนักวัตถุดิบสมุนไพรตั้งต้นที่ใช้ (กรัม)

2. การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบดัดแปลงตามวิธีของ [9, 10]

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และ *Acinetobacter baumannii* ตามวิธีมาตรฐาน [16, 17] โดยเพาะแบคทีเรียบนอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวจำนวน 5 โคโลนีไปเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton Broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อโดยเทียบกับความขุ่นของ 0.5 McFarland เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL สำหรับการเตรียมยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC90028 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 โดยเพาะเชื้อบนอาหาร Sabouraud Dextrose Agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เขี่ยโคโลนีเดี่ยวจำนวน 5 โคโลนีลงในอาหาร Sabouraud Dextrose Broth (SDB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ 2.0 McFarland ซึ่งมีเชื้อประมาณ 6×10^8 CFU/mL

3.การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรด้วยวิธี colorimetric broth microdilution ดัดแปลงตามวิธีของ [11, 12]

3.1 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ (The minimum inhibitory concentrations ; MICs) [18]

เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 32.8 มิลิกรัมกรัมต่อมิลลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในหลุมแรกของ 96 well plate จากนั้นเจือจาง 2-fold dilution ด้วยอาหาร MHB ให้ได้ทั้งหมด 10 ความเข้มข้น จะได้ความเข้มข้นในช่วง 32.80-0.064 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดย 1 ความเข้มข้นทำทั้งหมด 3 ซ้ำ จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ลงใน 96 well plate และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 ชั่วโมงสำหรับ *C. albicans* และ *C. neoformans* เมื่อครบกำหนดหยดสี resazurin ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ลงไปทุกหลุม นำไปบ่มต่อที่สภาวะเดิมอีก 3 ชั่วโมง และอ่านผลการทดสอบ โดยสังเกตสีของ resazurin หากยังคงเห็นเป็นสีน้ำเงินแสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อได้ และหากเห็นเป็นสีชมพูหรือไม่มีสีแสดงว่าสารสกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ให้บันทึกผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้เป็นค่า MIC

3.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ (The minimum bactericidal concentration; MBCs และ minimum fungicidal concentration; MFCs)

หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ (MBCs/MFCs) โดยนำผลที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในการทดสอบ MICs มา streak บนอาหาร MHA สำหรับแบคทีเรีย และ streak บนอาหาร SDA สำหรับยีสต์ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์ อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เป็นค่า MBCs และอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อยีสต์ได้เป็นค่า MFCs

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2 diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) ดัดแปลงจากวิธีของ Ghafar และคณะ (2010) [19]

4.1 การศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH assay โดยผสมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ และสารสกัดลงใน 96 well plate ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด เมื่อครบกำหนดวัดดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด (Total Phenolic Content, TPC) ดัดแปลงจากวิธีของ Ghafar และคณะ (2010) [19]

ในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก และรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างหนัก 1 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g extract) เตรียมสารละลายของสารสกัดให้ได้ในช่วงความเข้มข้น 10-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

6. การวิเคราะห์องค์ประกอบสารด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) [20]

ส่งวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยใช้เครื่อง Agilent 7890B เชื่อมต่อกับแมสสเปกโตรมิเตอร์ 5977B คอลัมน์ VF-WAXms ขนาด 30 เมตร × 0.25 มิลลิเมตร ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะที่อัตราไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ตั้งค่าอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียสและเพิ่มขึ้นถึง 340 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบสเปกตรัมกับฐานข้อมูล Wiley Library

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมด้วย One-way ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากตัวอย่างพืช

ปริมาณร้อยละผลผลิตที่สกัดได้จากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด คือ ใบข่อยดำ ใบพญาล้างไต ใบหนาดใหญ่ และใบหินฟ้าแลบ พบว่าใบข่อยดำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดสุด รองลงมาคือใบหนาดใหญ่ ใบหินฟ้าแลบ และพญาล้างไต มีค่าเท่ากับ 11.46 8.44 6.69 และ 4.36 ตามลำดับ

2. ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่รับประทานได้จำนวน 4 สายพันธุ์ ในการยับยั้งเชื้อทดสอบรวม 8 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ (*S.aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* clinical isolate, Methicillin-Resistant *S.aureus* (MRSA) SK1, *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922 และ *A. baumannii* clinical isolate) และยีสต์ 2 สายพันธุ์ (*C. albicans* NCPF3153 และ *C. neoformans* ATCC90112) พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบหนาด (*B. balsamifera*) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย แกรมบวกทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ MRSA โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากใบหินฟ้าแลบสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* ให้ค่า MIC 32.8 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามสารสกัดจากใบข่อยดำและพญาล้างไตไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 8 สายพันธุ์ (Table1)

Table 1 The potential of extracts from four medicinal plant species against eight pathogenic microorganisms at MIC concentrations that ranged from 32.8-0.064 mg/mL

Plant species	MIC/MBC or MFC (mg/mL)							
	SA	MRSA	SE	EC	PA	AB	CA	CN
C. disparifolium	-	-	-	-	-	-	-	-
E. acuminata	-	-	-	-	-	-	-	-
B. balsamifera	1.024/-	1.024/-	1.024/-	-	-	-	-	-
S. crispa	-	-	-	-	32.8/-	-	-	-
Antibiotics	MIC/MBC or MFC (μg/mL)							
Vancomycin	0.25/1	0.5/1	4/8					
Gentamicin				1/2	1/2	-		
Amphotericin B							2/4	2/4

Remark:- no activity at concentration range from 32.8-0.064 mg/mL, SA: *Staphylococcus aureus* ATCC25923, MRSA: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* SK1; SE; *Staphylococcus epidermidis*clinical isolate; EC: *Escherichia coli* ATCC25922; PA: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853; AB: *Acinetobacter baumanni* clinical isolate; CA: *Candida albicans* NCPF3153, CN: *Cryptococcus neoformans* ATCC90112

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH และวัดปริมาณสารฟีนอลรวมในสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบว่าสารสกัดจากใบหนาดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดและมีปริมาณสารฟีนอลรวมสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.178±0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณสารฟีนอลรวม 88.770±10.337 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และสารมาตรฐาน Ascorbic acid มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.005±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 2)

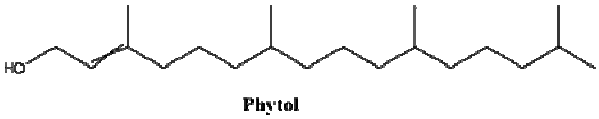
Table 2 Antioxidant activity of active extract and its total phenolic content.

Extracts	Total phenolic compound (mg GAE/g DW)	IC_{50} (mg/mL)
C. disparifolium	23.793 ± 5.007[b]	1.286±0.02[c]
E. acuminata	74.173 ± 13.931[a]	0.222±0.11[a]
B. balsamifera	88.770± 10.337[a]	0.178±0.10[a]
S. crispa	37.130 ± 6.541[b]	0.596±0.02[b]
Control		
Ascorbic acid		0.005±0.01

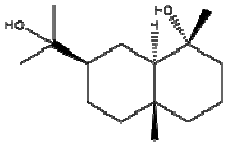
Remark: [a b and c]indicate significant differences in the data within the column ($P < 0.05$)

4. องค์ประกอบของสารสำคัญของสารสกัดหยาบ

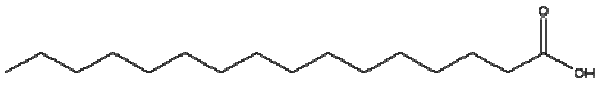
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดเอทานอลจากใบหนาดด้วยเทคนิค GC-MS เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของสเปกตรัมพบสารประกอบ 9 ชนิด ในสารสกัด โดยสารประกอบหลักที่พบสูงสุดคือ Phytol รองลงมาคือ n-Hexadecanoic และ (1R,4aR,7R,8aR)-7-(2-Hydroxypropan-2-yl)-1,4a-dimethyldecahydronaphthalen-1-ol ตามลำดับ (Figure 1)



Phytol



(1R,4aR,7R,8aR)-7-(2-Hydroxypropan-2-yl)-1,4a-dimethyldecahydronaphthalen-1-ol



n-Hexadecanoic acid

Figure 1 Structures of three major compounds of ethanolic extract from *B. balsamifera* leaves

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของพืชสมุนไพรทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบหนาดแสดงฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังนี้ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ MRSA (MIC เท่ากับ 1.024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nurul และคณะ [21] ที่รายงานว่าสารสกัดหยาบจาก *B. balsamifera* มีฤทธิ์ต้านทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *S. aureus* และ *P. aeruginosa* โดยมีขนาดวงใส (clear zone) ในการยับยั้งตั้งแต่ 7.8±0.41 ถึง 10.5±0.71 มิลลิเมตร เช่นเดียวกับรายงานของ Sakee และคณะ [22] ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจาก *B. balsamifera* พบว่าสามารถยับยั้ง *S. aureus* ให้ค่า MIC เท่ากับ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้จากผลการศึกษาของ Yuan-Hui Wang และคณะ [23] ที่วิเคราะห์องค์ประกอบและฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจาก *B. balsamifera* ในประเทศไทย พบว่าน้ำมันหอมระเหยของใบหนาดมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ให้ค่า MIC เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษานี้ อีกทั้งยังสอดคล้องกับรายงานของ Hui Yang และคณะ [24] ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *B. balsamifera* มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 9.77 และ 19.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารประกอบใน *B. balsamifera* สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีนใน *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก การศึกษาทางชีวเคมีเพิ่มเติมพบว่าสารสกัดจาก *B. balsamifera* ส่งผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนและกิจกรรมของเอนไซม์ รวมถึงกระบวนการขนส่งสารในเซลล์แบคทีเรีย แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจาก *B. balsamifera* มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้สารสกัดยังสามารถยับยั้ง *S. epidermidis* และ MRSA ได้ดีอีกด้วย ขณะที่ผลการศึกษาของใบหินฟ้าแลบ (*Strobilanthes crispa*) ที่สกัดด้วยเอทานอลในการศึกษานี้ไม่สอดคล้องกับรายงานการวิจัยก่อนหน้า โดย Chow และ Yoke Chan [25] รายงานว่าสารสกัดจาก *S. crispa* สามารถยับยั้ง *S. aureus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 37.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแต่ผลการศึกษาจากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากใบ *S. crispa* สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 32.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hanafiah และคณะ [26] ที่พบว่าอนุภาคนาโนเงินสังเคราะห์จาก *S. crispa* สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* ได้ที่ MIC และ MBC เท่ากับ 1.25 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่การศึกษาโดย Ting [27] พบว่าสารสกัดจาก *S. crispa* ไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus* และ *E. coli* ที่ความเข้มข้น 50-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้ จากข้อมูลนี้อาจเป็นไปได้ว่าแหล่งของพืชตัวอย่าง อายุ และวิธีการสกัดสาร รวมทั้งวิธีการทดสอบอาจมีความแตกต่างกัน จึงทำให้ผลของสารสกัดจากพืชชนิดเดียวกันมีความแตกต่างกันได้ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษานี้จึงช่วยเพิ่มฐานข้อมูลเกี่ยวกับศักยภาพของสมุนไพรไทยในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ

จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบหนาดมีศักยภาพสูงสุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากพืชอีก 3 ชนิดที่ศึกษา เนื่องจากสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระโดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.178±0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณสารฟีนอลรวม 88.770±10.337 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jirakitticharoen [28] ที่รายงานว่าสารสกัดจากใบ *B. balsamifera* เป็นแหล่งสำคัญของควอร์เซทินและมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และรายงานผลการศึกษาของ Thach และคณะ [29] ที่พบว่าสารสกัดจากใบหนาด

มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.021 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Sari และคณะ [30] ได้ศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *B. balsamifera* พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์และแทนนินซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 17.59 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Septi และคณะ [31] ได้รายงานว่า *B. balsamifera* เป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพสูงเนื่องจากเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ มีสรรพคุณสามารถใช้ในการรักษาแผล ต้านแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ต่อต้านมาลาเรียรวมถึงยับยั้งเอนไซม์ xanthine oxidase ได้อีกด้วย และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสำคัญของสารสกัดหยาบจากใบหนาด ในงานวิจัยนี้พบ phytol เป็นองค์ประกอบหลักโดย phytol เป็นสารประกอบที่พบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ โดยงานวิจัยก่อนหน้าพบว่า phytol มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis*, *S. aureus, E. coli, P. aeruginosa, Clostridium sporogenes, Sarcinalutea* และ *Enterococcus faecalis* นอกจากนี้ phytol ยังแสดงความคงตัวและความเป็นพิษต่ำอีกด้วย [32-34]

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ข่อยดำ *(C. disparifolium),* พญาล้างไต *(E. acuminata),* หนาด *(B. balsamifera)* และหินฟ้าแลบ *(S. crispa)* รวมถึงการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบและองค์ประกอบของสารสำคัญ พบว่าสารสกัดเอทานอลจาก *B. balsamifera* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus, MRSA* และ *S. epidermidis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดจากใบหนาดยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.178 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงสุดและยังพบสาร phytol มีปริมาณสูง ซึ่งจากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสมุนไพรที่นำมาศึกษาเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ

References

[1] Thun, M. J., et al. (2009). The Global Burden of Cancer: Priorities for Prevention. *Carcinogenesis*, 31(1), 100–110.

[2] Khan, M. S. A., & Ahmad, I. (2019). Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. In Khan, M. S. A et al. (Eds.). *New Look to Phytomedicine: Advancements in Herbal Products as Novel Drug Leads* (p. 3–13). Academic Press. doi: 10.1016/C2017-0-01165-5

[3] Salmerón-Manzano, E., et al. (2020). Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10), 3376.

[4] Cero, M. D., et al. (2023). Trends of Medicinal Plant Use Over the Last 2000 Years in Central Europe. *Plants*, 12(1), 13.

[5] Phumthum, M., et al. (2019). Important Medicinal Plant Families in Thailand. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1125.

[6] Guo, Y., et al. (2020). Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 107.

[7] Hazam, K., et al. (2019). Global Mortality Associated with 33 Bacterial Pathogens in 2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*, 400(10369), 2221–2248.

[8] Baker, R. E., et al. (2021). Infectious Disease in an Era of Global Change. *Nature Reviews Microbiology*, 20, 193–205.

[9] Huang, J., et al. (2023). Global Infectious Diseases in August 2023: A Monthly Analysis. *Zoonoses*, 3, 40.

[10] Bray, F., et al. (2024). Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263.

[11] Ghasemzadeh, A., et al. (2015). Phytochemical Constituents and Biological Activities of Different Extracts of *Strobilanthes crispus* (L.) Bremek Leaves Grown in Different Locations of Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 422.

[12] Phosrithong, N., & Nuchtavorn, N. (2016). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Clerodendrum* Leaf Extracts Collected in Thailand. *European Journal of Integrative Medicine*, 8(3), 281–285.

[13] Jan, H. U., et al. (2023). Pharmacognostic Study of *Ehretia acuminata* R. Br. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences*, 60(2), 267–272.

[14] Wang, J., et al. (2023). Chemical Constituents and Bioactivities of *Blumea balsamifera* (Sembung): A Systematic Review. *Food Science and Technology*, 43, e132322.

[15] Chee-Shien, C., et al. (2023). Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Strobilanthes crispa* (L.) Blume. *Records of Natural Products*, 17(5), 743–792.

[16] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2022). *Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically* (Approved Standard M7-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute.

[17] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002). *Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing of Yeasts* (Approved Standard M27-A2). Clinical and Laboratory Standards Institute.

[18] Sarker, S. D., et al. (2007). Microtiter Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth, and Its Application in the *in vitro* antibacterial Screening of Phytochemicals. *Methods*, 42(4), 321–324.

[19] 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.

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

[21] Nurul, A. I., et al. (2022). Antimicrobial Activities and Phytochemical Properties of *Blumea balsamifera* Against Pathogenic Microorganisms. *Journal of Medicine and Life*, 15(8), 951–954.

[22] Sakee, U., et al. (2011). Antimicrobial Activity of *Blumea balsamifera* (Lin.) DC. Extracts

and Essential Oil. *Natural Product Research*, 25(19), 1849–1856.

[23] Wang, Y.-H., & Yu, X.-Y. (2018). Biological Activities and Chemical Compositions of Volatile Oil and Essential Oil from the Leaves of *Blumea balsamifera*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(6), 1511–1531.

[24] Hui, Y., et al. (2021). Antibacterial Effect of *Blumea balsamifera* (L.) DC. Essential Oil Against *Staphylococcus aureus*. *Archives of Microbiology*, 203, 3981–3988.

[25] Chow, Y. C. (2018). *In Vitro Antimicrobial Activities of Strobilanthes crispus and Clinacanthus nutans on Urinary Tract Infection (UTI) Causing Bacteria*, (Bachelor's project, Tunku Abdul Rahman University College).

[26] Hanafiah, R. M., et al. (2023). Green Synthesis, Characterization and Antibacterial Activities of *Strobilanthes crispa*-Mediated Silver Nanoparticles (SC-AGNPS) Against Selected Bacteria. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 51(1), 549–559.

[27] Ting, H. T. (2024). *Phytochemical Study of Strobilanthes crispus Leaves and Its Antioxidant and Antibacterial Properties,* (Bachelor's project, Tunku Abdul Rahman University of Management and Technology).

[28] Jirakitticharoen, S., et al. (2022). Phenolics, Antioxidant and Antibacterial Activities of Immature and Mature *Blumea balsamifera* Leaf Extracts Eluted with Different Solvents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 7794227.

[29] Thach, B. D., et al. (2017). Antioxidant and Antityrosinase Activities of Flavonoid from *Blumea balsamifera* (L.) DC. Leaves Extract. *European Journal of Research in Medical Sciences*, 5(1), 2056–2061.

[30] Sari, N. M., et al. (2023). Phytochemical and Antioxidant Activities of *Blumea balsamifera* and *Cordyline fruticosa* Based on Ethnopharmacology Knowledge of Muara Tae Tribe, East Kalimantan. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 12(1), 273–280.

[31] Septi, D. P. R., & Ridho, A. (2020). Antioxidant Activities of Sembung Leaves (*Blumea balsamifera* (L.) DC). *EAS Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(5), 166–172.

[32] Islam, M. T., et al. (2020). Anti-Diarrheal Activities of Phytol and Its Possible Mechanism of Action Through In-Vivo and In-Silico Models. *Cellular and Molecular Biology*, 66(4), 243–249.

[33] Ghaneian, M. T., et al. (2015). Antimicrobial Activity, Toxicity and Stability of Phytol as a Novel Surface Disinfectant. *Environmental Health Engineering and Management Journal*, 2(1), 13–16.

[34] Islam, M. T., et al. (2018). Phytol: A Review of Biomedical Activities. *Food and Chemical Toxicology*, 121, 82–94