# ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับโรคผิวหนังอักเสบจากสารสกัดกรุงเขมา
# Antibacterial Activity for dermatitis from Krung khamao extract

นฤวัตร ภักดี[1], ปราณี ศรีราช[2],
กนกวรรณ แสนสุภา[3], กันธิมา เผือกเจริญ[4],
เพ็ญศิริ จันทร์แอ[5], วรินท์ โอนอ่อน[6],
ปราณี แสนวงค์[7], อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม[8],
ภานิชา พงศ์นราทร[9*]

**บทคัดย่อx**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับโรคผิวหนังอักเสบจากสารสกัดกรุงเขมา โดยวิธีการทดลองนำลำต้นและใบกรุงเขมาต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น รวมทั้งทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบ 3 ชนิด คือ *P. aeruginosa, S. aureus* และ *S. epidermidis* จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกรุงเขมามีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นทั้งหมด 4 ชนิด โดยมีแทนนินมากที่สุด รองลงมาคือคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์ปินอยด์และซาโปนิน ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้วิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดกรุงเขมาสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 3 ชนิด คือ *P. aeruginosa, S. aureus* และ *S. epidermidis* โดยมี *inhibition zone* คือ 11.31±0.42, 7.37±0.46 และ 7.33±0.45 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนยา clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 3 ชนิด มี inhibition zone คือ 9.92±0.08, 20.40±0.52 และ 24.50±0.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี broth dilution method นำมาใช้เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (minimum inhibitory concentration: MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration: MBC) พบประสิทธิภาพของสารสกัดกรุงเขมาต่อเชื้อ *P. aeruginosa* มีค่า MIC ที่ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ MBC ที่ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนผลการยับยั้งต่อเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ค่าเท่ากันคือ MIC ที่ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC ที่ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สรุปได้ว่า สารสกัดกรุงเขมาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนังได้ดีที่สุดคือเชื้อ *P. aeruginosa*

**คำสำคัญ:** กรุงเขมา, ยับยั้งแบคทีเรีย, โรคผิวหนังอักเสบ, แทนนิน

**Abstract**

The objective of this research was to study the antibacterial activity for dermatitis from Krung khamao extract. The experimental method used stems and leaves of Krung khamao extract was boiled in hot water at 100 degrees Celsius for 30 minutes. They were analyzed for preliminary phytochemicals. Moreover, the determination of inhibit bacteria activity that caused dermatitis for 3 types including

[1-6,8-9]สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร จังหวัดสกลนคร 47160
[7]สาขาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร จังหวัดสกลนคร 47160

*P. aeruginosa, S. aureus* and *S. epidermidis*. The result showed that the extract of Krung khamao contained preliminary phytochemicals for 4 types. The majority chemical compounds of extract as tannins followed by cardiac glycosides, terpenoids and saponins, respectively. The study of antibacterial activity used disc diffusion method was found that Krung khamao extract can inhibit all tested of bacteria including *P. aeruginosa, S. aureus* and *S. epidermidis* had inhibition zone was 11.31±0.42, 7.37±0.46 and 7.33±0.45 millimeter, respectively. Furthermore, clindamycin inhibits all three types of bacteria with inhibition zone of 9.92±0.08, 20.40±0.52 and 24.50±0.53 millimeter, respectively. Antibacterial activity was tested by broth dilution method used for analyzed minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The study of Krung khamao extract showed that *P. aeruginosa* had MIC was 125 milligrams/milliliter and MBC was 250 milligrams/milliliter. Moreover, the results of *S. aureus* and *S. epidermidis* were found to be similarly that MIC was 250 milligrams/milliliter and MBC was 500 milligrams/milliliter. Summary was concluded that Krung khamao extract can be used to inhibit bacteria that cause skin disease with the best is *P. aeruginosa.*

**Keywords:** Krung khamao, antibacterial, dermatitis, tannin

**1. บทนำ**

โรคผิวหนังอักเสบ (dermatitis) เกิดจากการติดเชื้อจากแบคทีเรียในกลุ่มที่พบบ่อย ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus (S. aureus), Staphylococcus epidermidis (S. epidermidis), Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa)* (จันจิรา สวัสดิพงษ์, 2559) ยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคผิวหนังอักเสบที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ penicillin, erythromycin, clindamycin, chloramphenicol (Bonamonte, 2020) การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดอาการการดื้อยา เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีการพัฒนาตัวเองจนสามารถต่อต้านยาปฏิชีวนะ ทำให้ยาปฏิชีวนะบางตัวไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่ในปัจจุบันมีการใช้ยาสมุนไพรซึ่งมีสารสำคัญประเภทฟีนอลิค แทนนิน แอลคาลอยด์ ซึ่งสารสำคัญกลุ่มนี้สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ จากการศึกษาข้อมูลพบว่ามีสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้แก่ เม่า มะขามป้อม สมอไทย ฟ้าทะลายโจร เป็นต้น (Panda, 2017) ส่วนกรุงเขมาหรือ หมาน้อย (*Cissampelos pareira* L.) เป็นพืชที่มีลักษณะเป็นไม้เถา กิ่ง ใบ และช่อดอก มีขนอ่อนนุ่มปกคลุมอยู่อย่างหนาแน่น ใบมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจ สีเขียวอมเหลืองหรือสีเหลืองอ่อน เป็นพืชพื้นเมืองแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เป็นสมุนไพรรสเย็น ซึ่งในจังหวัดสกลนครมีรายงานทางด้านการแพทย์พื้นบ้านพบว่าการนำใบมาต้มดื่มเพื่อใช้รักษาอาการไข้ทับฤดู (อรทัย เนียมสุวรรณ และศรายุทธ ตันเถียร, 2558) และยังนิยมนำมาบริโภคเป็นอาหาร เรียกว่า วุ้นหมาน้อย (ราตรี พระนคร, 2550) นอกจากนั้นยังมีสารเพคตินสูง จึงช่วยสร้างมอยส์เจอไรเซอร์ ลดผดผื่นคันบนผิวหน้าและระคายเคืองได้ (กมลรัตน์ ณ หนองคาย, 2552) ซึ่งคุณสมบัติของของเพคตินเป็นสารที่มีความหนืดสูง ดูดซับน้ำและอุ้มน้ำได้ดีสามารถทำให้เกิดแผ่นฟิล์มที่ติดบนผิวหนังได้ดี และมีสมบัติเป็นมิวโคพอลิแซกคาไรด์ช่วยเร่งกระบวนการหายของแผลได้ โดยเพิ่มการไหลเวียนของเส้นเลือดในบริเวณที่ทา ช่วยส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของคอลลาเจนและเส้นใยอีลาสตินในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเพิ่มความสามารถในการให้ความชุ่มชื้นต่อผิวหนัง โดยเพิ่มปริมาณของกรดไฮยาลูโรนิก ลดอาการบวมและอักเสบของผิวหนัง (เถวียน บัวตุ่ม, 2549)

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิคในเครือกรุงเขมา ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ากรุงเขมามีสารฟีนอลิคสูง (รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, 2554) และจากการศึกษาของ ภานิชา พงศ์นราทร (2561) ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกรุงเขมาที่สกัดด้วยเอทานอล 95% สามารถยับยั้ง เชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes (P. acnes)* เท่ากับ 25.6±0.4 มิลลิเมตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (MBC) เท่ากันคือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากข้อมูลดังกล่าวผู้วิจัยจึงมีความสนใจเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังอักเสบจากสารสกัดกรุงเขมา ด้วยวิธี disc diffusion และ broth dilution เพื่อนำองค์ความรู้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไปในอนาคต

**2. รูปแบบ**

2.1 การเตรียมสารสกัดลำต้นและใบกรุงเขมา

นำลำต้นและใบกรุงเขมา โดยใช้อัตราส่วน 1:1 นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดโดยผสมกับน้ำ DI (deionized water) ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลาย โดยใช้อัตราส่วน 1:10 จากนั้นต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และนำไปปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ เป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนใสใส่ขวด นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนสารสกัดแห้ง แล้วนำไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้งาน (ดัดแปลงจาก สมศักดิ์ นวลแก้ว, 2553)

2.2 การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening)

2.2.1 การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Borntrager’s reaction)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมสารละลายคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่า 3-5 นาที นำไปอังความร้อนบนเครื่อง water bath เป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายด้วยกระดาษกรองสาร จากนั้นปล่อยให้เย็นในอุณหภูมิห้อง แล้วเติมแอมโมเนีย ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเขย่า 3-5 นาที สังเกตสารละลายจะมีสีชมพูแดง แสดงว่ามีแอนทราควิโนน (Bhuiyan, 2015)

2.2.2 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Shibita’s reaction test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมสารละลายเมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปอังความร้อนบนเครื่อง water bath เป็นเวลา 3-5 นาที นำโลหะแมกนีเซียมมาเติมใส่ในหลอดทดลอง 3-5 ชิ้น แล้วหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ปริมาตร 5-6 หยด สังเกตสีถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีแดง แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์ (Bhuiyan, 2015)

2.2.3 การตรวจสอบคูมาริน (coumarin’s test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมสารละลายเอทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำกระดาษกรองตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ชุบด้วย 10% NaOH นำไปอุ่นบนเครื่อง water bath เป็นเวลา 2-3 นาที แล้วนำไปตรวจสอบด้วยรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร สังเกตถ้ากระดาษกรองเรืองแสง สีเหลือง สีเขียว และสีน้ำเงิน แสดงว่าพบคูมาริน (Zohra, 2012)

2.2.4 การตรวจสอบแทนนิน (ferric chloride’s test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติม 10% ferric chloride ($FeCl_3$) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่านาน 3-5 นาที สังเกตผลถ้าสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือ น้ำเงินดำ แสดงว่าพบแทนนิน (Kumar, 2013)

2.2.5 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ (Salkowski's test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออกด้วยกระดาษกรอง จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. $H_2SO_4$) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร สังเกต ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์ (Kumar, 2013)

2.2.6 การตรวจสอบสเตียรอยด์ (Liebermann-Burchard's test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร กรองส่วนที่ไม่ละลายออกด้วยกระดาษกรอง แล้วแยกสารที่กรองได้เป็นสองส่วน หลอดที่ 1 เติม glacial acetic acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ $H_2SO_4$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (หลอดทดลองที่ 2 ใช้เป็นหลอดควบคุม ซึ่งจะไม่มีการเติมกรด) สังเกตปฏิกิริยาในหลอดทดลองจะปรากฏสีเขียว แสดงว่าพบสเตียรอยด์ (Bhuiyan, 2015)

2.2.7 การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Keller-Killiani's test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า 2-3 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออกด้วยกระดาษกรอง เติม 1% $FeCl_3$ จำนวน 5 หยด เขย่า 2 นาที จากนั้นเติม glacial acetic acid จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับชั้นกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Kumar, 2013)

2.2.8 การตรวจสอบซาโปนิน (frothing test)

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำไปอังความร้อนบนเครื่อง water bath เป็นเวลา 5 นาที เขย่าอย่างแรง 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ถ้ายังปรากฏฟองคล้ายวงแหวนรังผึ้ง ในหลอดทดลอง แสดงว่าพบซาโปนิน (Irulandi, 2016)

2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกรุงเขมาในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยวิธี disc diffusion

การเตรียมสารสกัดโดยชั่งสารสกัดกรุงเขมาจำนวน 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ละลาย ด้วยน้ำ DI นำไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (sterile cotton swab) จุ่มเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบคือ *P. aeruginosa, S. aureus, S. epidermidis* ปรับค่าความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ 0.5 McFarland แล้วนำไปเกลี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่ว โดยใช้น้ำ DI เป็น negative control และใช้ยา clindamycin เป็น positive control จากนั้นจึงจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น

2.4 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration, MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (minimum bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัด โดยวิธี broth dilution

การทดสอบ MIC และ MBC โดยการนำสารสกัดกรุงเขมาที่เตรียมผสมกับเชื้อที่ใช้ทดสอบโดยใช้เทคนิค two fold dilution จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยการใช้ nutrient broth ที่ปราศจากเชื้อเป็น positive control และ nutrient broth ที่มีเชื้อแบคทีเรียเป็น negative control เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ทำการสังเกตการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและบันทึกผลค่า MIC และ MBC โดยการสังเกตความเข้มข้นสุดท้ายที่มีเชื้อเจริญเติบโต คือค่า MIC และความเข้มข้นแรกสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญเติบโต คือค่า MBC

2.5 ระยะเวลาในการศึกษา

การศึกษานี้มีระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินการทดลองคือภายในปี พ.ศ. 2564

**3. ผลการวิจัย**

3.1 การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น

จากการทดสอบสารสกัดลำต้นและ ใบกรุงเขมาพบว่ามีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น 4 ชนิด โดยมีแทนนินในสารสกัดมากที่สุด รองลงมาคือ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์ปินอยด์ และซาโปนิน ตามลำดับ ดังแสดงใน**ตารางที่ 1**

**ตารางที่ 1** การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดกรุงเขมา

| องค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น | สารสกัด |
|---|---|
| แอนทราควิโนน | - |
| ฟลาโวนอยด์ | - |
| คูมาริน | - |
| แทนนิน | +++ |
| เทอร์ปีนอยด์ | + |
| สเตียรอยด์ | - |
| คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ | ++ |
| ซาโปนิน | + |

**หมายเหตุ:** – หมายถึงไม่พบ, + หมายถึงพบน้อย, ++ หมายถึงพบมาก, +++ หมายถึงพบมากที่สุด

3.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกรุงเขมาในการยับยั้งแบคทีเรีย

ผลการทดลองสารสกัดจากกรุงเขมา สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 3 ชนิด คือ *P. aeruginosa, S. aureus* และ *S. epidermidis* มี inhibition zone คือ 11.31±0.42, 7.37±0.46 และ 7.33±0.45 มิลลิเมตร ส่วนยา clindamycin สามารถยับยั้งชื้อแบคทีเรียได้ ทั้ง 3 ชนิดเช่นเดียวกัน โดยมี inhibition zone คือ 9.92±0.08, 20.40±0.52 และ 24.50±0.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยสารสกัดกรุงเขมาสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้มากกว่า clindamycin ที่เป็นยาปฏิชีวนะ ซึ่งต่างจาก *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่สามารถยับยั้งได้น้อยกว่า clindamycin ดังแสดงใน**ตารางที่ 2**

**ตารางที่ 2** การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกรุงเขมาในการยับยั้งแบคทีเรีย

| ตัวอย่าง | inhibition zone (มิลลิเมตร) | | |
|---|---|---|---|
| | *P. aeruginosa* | *S. aureus* | *S. epidermidis* |
| clindamycin | 9.92±0.08 | 20.40±0.52 | 24.50±0.53 |
| กรุงเขมา | 11.31±0.42 | 7.37±0.46 | 7.33±0.45 |

3.3 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ของสารสกัดกรุงเขมา โดยวิธี broth dilution

ผลการศึกษาของสารสกัดกรุงเขมาต่อเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) คือ ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) คือ ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* พบว่า ให้ผลการศึกษาที่เหมือนกัน คือ ค่า MIC ที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC คือ ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงใน**ตารางที่ 3**

**ตารางที่ 3** การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ของสารสกัดกรุงเขมา

| แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ | ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | |
|---|---|---|
| | MIC | MBC |
| *P. aeruginosa* | 125 | 250 |
| *S. aureus* | 250 | 500 |
| *S. epidermidis* | 250 | 500 |

**4. อภิปรายผล**

กรุงเขมาเป็นพืชสมุนไพร ซึ่งมีรายงานทางด้านการแพทย์พื้นบ้าน โดยนำมาใช้รักษาอาการไข้ทับฤดู นำมาบริโภคเป็นอาหาร นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาพบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ให้เกิดสิวได้ จากการศึกษาครั้งนี้ผลการทดสอบหาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น พบสารสกัด ลำต้นและใบกรุงเขมา ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ แทนนิน เทอร์ปินอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และซาโปนิน จากการศึกษาของ Prabha, (2014) พบว่าใบกรุงเขมามีสารกลุ่ม โปรตีน ฟลาโวนอยด์ แทนนิน แอลคาลอยด์ และ ลิปิด จากรายงานวิจัยของ Shrestha (2019) ทำการศึกษาพฤกษเคมีของรากกรุงเขมาที่สกัดด้วยเมทานอล พบสารพฤกษเคมี เช่น แอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ ฟิกออยด์ คาร์โบไฮเดรต ฟลาโวนอยด์ และคาร์ดิแอก ไกลโคไซด์ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Seetharaman (2018) ผลการทดลองหาพฤกษเคมีที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบกรุงเขมา พบว่าใบกรุงเขมาที่สกัดด้วยเมทานอล มีสารพฤกษเคมี ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอล แทนนิน แอลคาลอยด์ เทอร์ปินอยด์ ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ พบสารแอลคาลอยด์ เทอปินอยด์และไกลโคไซด์ จากการศึกษาครั้งนี้ให้ผลที่แตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ เนื่องจากมีวิธีการสกัดสารที่แตกต่างกัน โดยการสกัดครั้งนี้ใช้วิธีการต้ม ซึ่งเป็นวิธีการสกัดตามภูมิปัญญาหมอพื้นบ้าน (อรทัย เนียมสุวรรณ และศรายุทธ ตันเถียร, 2558)

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพจากสารสกัดกรุงเขมา พบว่าสารสกัดกรุงเขมา สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ทั้ง 3 ชนิด คือ *P. aeruginosa, S. aureus และ S. epidermidis* โดยสามารถยับยั้งเชื้อ. *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด จากการศึกษาของ Begum (2012) ประเมินฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดกรุงเขมา โดยใช้เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำในการสกัดลำต้นและใบของกรุงเขมา และนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยวิธี disc diffusion กับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคคือ *S. aureus, Escherichia coli (E. coli)* และ *P. aeruginosa* มีความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ คือ 400 ไมโครกรัม โดยทำการเปรียบเทียบกับยา cephradine ที่ใช้เป็นยาต้านจุลชีพมาตรฐาน จากการศึกษาพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด คือ สารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ตามลำดับ และงานวิจัยของ Ngoci (2014) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของรากสารสกัดที่สกัดจากเมทานอล แล้วนำสารสกัดมาทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยวิธี disc diffusion จากการทดสอบพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้สูงสุด คือ *S. aureus* (20 มิลลิเมตร) และ *E. coli* (9 มิลลิเมตร) นอกจากนี้งานวิจัยของ Seetharaman (2018) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดใบกรุงเขมาที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 5 ชนิด โดยสามารถยับยั้ง S. aureus ได้มากที่สุด รองลงมาคือ *E. coli, Bacillus subtilis, Salmonella typhi* และ *Klebsiella pneumoniae* ตามลำดับ

จากผลการศึกษาก่อนหน้านี้สอดคล้องกันกับงานวิจัยครั้งนี้ โดยสารสกัดกรุงเขมามีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิค เช่น แทนนิน ซึ่งพบมากที่สุดในสารสกัด ส่งผลให้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ได้มากกว่า clindamycin เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Trentin (2013) พบว่าแทนนิน ส่งผลต่อการยึดเกาะของแบคทีเรีย *P. aeruginosa* และลดการสร้างไบโอฟิล์ม

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่าสาร ฟีนอลิคเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านแบคทีเรีย เนื่องจากสามารถทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ได้ โดยความเข้มข้นที่สูงจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตกและทำให้โปรตีนเสียสภาพได้ (วรรณพร ศรีสุคนธรัตน์, 2558) สอดคล้องงานวิจัยของ Walsh (2019) พบว่ากลไกการออกฤทธิ์ของฟีนอลิคที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติเกี่ยวข้องกับเซลล์แบคทีเรียโดยทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ ไซโตพลาสซึม ทำให้เกิดความเสียหายของโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์และทำให้การสังเคราะห์ ATP ลดลง เพิ่มการซึมผ่านของสารที่เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane permeability) รวมทั้งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากคุณสมบัติการไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ซึ่งมีส่วนช่วยในการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยทำหน้าที่ช่วยขัดขวางการทำงานที่เยื่อหุ้มเซลล์ (lipid bilayer) ของเซลล์แบคทีเรีย

**5. สรุป**

สารสกัดลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วยวิธีการต้มน้ำ DI ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น โดยมีสารแทนนินมากที่สุด และสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด ซึ่งสารสกัดกรุงเขมามีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบ ดังนั้นน่าจะสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้ในอนาคต การศึกษาต่อไปควรทำการศึกษาด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) เพื่อทดสอบชนิดและปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดกรุงเขมา

**6. กิตติกรรมประกาศ**

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตรกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสานที่ให้การส่งเสริมและสนับสนุนจนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

**7. เอกสารอ้างอิง**

กมลรัตน์ ณ หนองคาย. (2552). ทำเจลสมุนไพรมาส์คหน้ากรุงเขมา (หมาน้อย). **วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ,** 12(6): 5-7.

จันจิรา สวัสดิพงษ์. (2559). ผื่นผิวหนังอักเสบที่มือ และการป้องกัน. **วารสารหัวหินสุขใจไกลกังวล,** 1(2) : 1-8.

เถวียน บัวตุ่ม, สมฤทัย จิตภักดีบดิน และ อมราวดี จางวาง. (2549). **การศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในรูปแผ่นแปะผิวหนังจากเปคติน.** รายงานโครงการวิจัยและถ่าย ทอดเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา เครือข่ายวิจัยภาคใต้ตอนล่าง: 1-58.

ภานิชา พงศ์นราทร, จุฑามาศ พิลาลักษ์, รัชฎาวรรณ อรรคนิมาตย์, ปราณี ศรีราช, ศิรนันท์ วิเศษการ, นฤวัตร ภักดี และธันณิภา พงศ์นราทร. (2561). **การพัฒนาเวชสำอางค์เจลล้างหน้ารักษาสิวจากสารสกัดกรุงเขมา.** การประชุมวิชาการระดับชาติราชมงคลสุรินทร์ ครั้งที่ 9, สุรินทร์, ประเทศไทย, 29-31 สิงหาคม: 55-56.

ราตรี พระนคร. (2550). กรุงเขมา พืชป่ามหัศจรรย์ ณ แดนถิ่นอีสาน. **วารสารมติชนเทคโนโลยีการเกษตร,** 20: 417.

รัฐฎาพร อุ่นศิวิไลย์. (2554). **ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อยและ รางจืด**. รายงานการวิจัย คณะวิชาการเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี: 1-45.

วรรณพร ศรีสุคนธรัตน์. (2558). **สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุข.** กลุ่มพัฒนาระบบวัตถุอันตราย สำนักควบคุมเครื่องสาอางและวัตถุอันตราย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี, หน้า 12-15.

สมศักด์ นวลแก้ว. (2553). การเปรียบเทียบวิธีการผลิตยาน้ำด้วยวิธีทางการแพทย์แผนไทย 4 วิธี การฝน การชง การต้มแบบจีน และการต้มแบบไทย. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม,** 29(1): 44-51.

อรทัย เนียมสุวรรณ และ ศรายุทธ ตันเถียร. (2558). พืชสมุนไพรที่ใช้ดูแลสุขภาพสตรีจากอุทยานแห่งชาติเขาพนมเบญจา จังหวัดกระบี่. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา,** 20(1): 118-132.

Bhuiyan, M.S.A., Rana, S. and Rahmatullah, M. (2015). Preliminary phytochemical screening of five plant parts used in Bangladesh for treatment of rheumatoid arthritis. **Advances in Natural and Applied Sciences,** 9(13): 15-22.

Bonamonte, D., De Marco, A., Giuffrida, R., Conforti, C., Barlusconi, C., Foti, C. and Romita, P. (2020). Topical antibiotics in the dermatological clinical practice: Indications, efficacy, and adverse effects. **Dermatologic Therapy,** 33(6): e13824.

Begum, K. (2012). **Evaluation of In-Vitro Antimicrobial activity of *Cissampelos pareira***. East West University. 135-463.

Kumar, R.S., Venkateshwar, C., Sameul, G. and GS Rao. (2013). Phytochemical Screening of some compounds from plant leaf extracts of Holoptelea integrifolia (Planch.) and Celestrus emarginata (Grah.) used by Gondu tribes at Adilabad District, Andhrapradesh, **India. International Journal of Engineering Science Invention,** 2(8): 65-70.

Irulandi, K., Geetha, S., Suresh, M., Siva, V., Nirmalkumar, N. and Mehalingam, P. (2016). Antimicrobial and Phytochemical analysis of different solvent extracts of barks of Syzygium laetum (Buch.-Ham.) Gandhi. **Journal of Natural Product and Plant Resources,** 6 (4): 15-19.

Ngoci, N.S., Ramadhan, M., Ngari, M.S. and Leonard, O.P. (2014). Screening for antimicrobial activity of Cissampelos pareira L. methanol root extract. **European Journal of Medicinal Plants,** 4(1): 45-51.

Panda, S. K., Padhi, L., Leyssen, P., Liu, M., Neyts, J. and Luyten, W. (2017). Antimicrobial, anthelmintic, and antiviral activity of plants traditionally used for treating infectious disease in the Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. **Frontiers in pharmacology,** 8: 658.

Prabha, B. and Savithramma, N. (2014). Screening of phytochemical constituents of the leaves of Clinacanthus siamensis Bremek and Cissampelos pareira L used as antidote for snake bite in indigenous medicine. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,** 6(8): 180-182.

Shrestha, L. and Gupta, S. P. (2019)**.** Phytochemical analysis and antibacterial activity of Cissampelos papeira Lin. rhizome extract against some bacterial strain. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,** 8(4): 1330-1342.

Seetharaman, S., Indra, V., Durairasu, M. and Sangeetha, B. (2018). Phytochemical profiling Antibacterial and Antioxidant potential of *Cissampelos pareira* L. leave extracts. **International Journal of Chemistry Studies,** 2(2): 88-90.

Trentin, D.S., Silva, D.B., Amaral, M.W., Zimmer, K.R., Silva, M.V., Lopes, N.P. and Macedo, A.J. (2013). Tannins possessing bacteriostatic effect impair *Pseudomonas aeruginosa* adhesion and biofilm formation**. PloS one,** 8(6): e66257.

Walsh, D.J., Livinghouse, T., Goeres, D. M., Mettler, M. and Stewart, P.S. (2019). Antimicrobial activity of naturally occurring phenols and derivatives against biofilm and planktonic bacteria. **Frontiers in chemistry,** 7: 653.

Zohra, S.F., Meriem, B., Samira, S. and Muneer, M. (2012). Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. **Journal of Natural Product and Plant Resources,** 2(4): 512-516.