การศึกษาฤทธิ์ของเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงาต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

The study of anti-acne gel from *Clerodendrum inerme* (L.) extract on inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*

ฟาตีฮะ วาโซ๊ะ[1] นันทพงศ์ ขำทอง[2] และ วาลุกา พลายงาม[2*]

Fateehah Wasoh[1], Nanthaphong Khamthong[2], and Waluga Plaingam[2*]

[1]นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ปทุมธานี

[2]อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ปทุมธานี

[1]Graduate student in Master of Science in Oriental Medicine Program, College of Oriental Medicine, Rangsit University, Pathum Thani

[2]Lecturer in Master of Science in Oriental Medicine Program, College of Oriental Medicine, Rangsit University, Pathum Thani

[*]Corresponding author, E-mail: waluga.p@rsu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบสำมะงาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิดได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล ที่ความเข้มข้น 60 µg/mL สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 21.33±2.08 mm ในขณะที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งของสารสกัด เฮกเซนเท่ากับ 23.00±0.00 mm ไดคลอโรมีเทนเท่ากับ 21.00±2.64 mm เอทิลอะซิเตทเท่ากับ 28.33±2.88 mm และยาอะม็อกซี่ซิลลินที่ใช้เป็นสารควบคุมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 22.00±0.00 mm ส่วนสารสกัดน้ำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ สำหรับการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี broth microdilution พบว่า ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลเท่ากับ 7.5 และ 15 µg/mL ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และยาอะม็อกซี่ซิลลินมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 15.625 และ 31.25 µg/mL ตามลำดับ เมื่อนำเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงามาทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าเจลต้านสิวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 8 mm ในขณะที่ยาเจลต้านสิว clindamycin จากท้องตลาด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 15 mm จากผลการทดลองพบว่า เจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ลดลงเมื่ออยู่ในรูปแบบเจล และยาเจลต้านสิว clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงา

คำสำคัญ: ฤทธิ์ทางชีวภาพ เชื้อแบคทีเรีย เจลต้านสิว

Abstract

The study involved the biological activity of *Clerodendrum inerme* extracts on the inhibition of *S. aureus* and *S. epidermidis* bacteria extracted with five solvents: hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol, and water using the agar disc diffusion method. It was found that the ethanol extract with a concentration of 60 µg/mL provided an antibacterial effect on *S. epidermidis* better than the other extracts. The diameter of inhibition of the ethanol extract was 21.33±2.08 mm, while those of the hexane, dichloromethane, and ethyl acetate extracts were 23.00±0.00, 21.00±2.64, and 28.33±2.88 mm, respectively. Amoxicillin used as a control gave the diameter of inhibition of 22.00±0.00 mm. The water extract was unable to inhibit *S. epidermidis*. MIC and MBC values were determined by a broth microdilution method. The results showed that the MIC and MBC values of the ethanol extract were 7.5 and 15 µg/mL, respectively, while those of the hexane, dichloromethane, and ethyl acetate extracts as well as amoxicillin were the

same at 15.625 and 31.25 μg/mL, respectively. The test of anti-acne gel from *C. inerme* extract by using the agar disc diffusion method showed that the anti-acne gel had a lesser inhibition diameter of 8 mm than clindamycin, a commercially available anti-acne gel which had the inhibition diameter of 15 mm. The results of the experiment revealed that the anti-acne gel derived from *C. inerme* extract had a lower inhibitory effect on *S. epidermidis* while in a gel form. The clindamycin could inhibit *S. epidermidis* better than the anti-acne gel from *C. inerme* extract.

Keywords: Bioactivity, Bacteria, Anti-acne gel

1. บทนำ

สิว (acne) จัดเป็นโรคผิวหนังที่พบได้บ่อย โดยเฉพาะในเด็กวัยรุ่นทั้งชายและหญิง การเป็นสิวมีผลต่อคุณภาพชีวิตทั้งด้านอารมณ์ จิตใจ และสังคม ทำให้สูญเสียความมั่นใจในตนเอง ทำให้เกิดความเครียดและวิตกกังวล ไม่สามารถเข้าสังคมได้ อีกทั้งความเข้าใจของคนส่วนใหญ่เกี่ยวกับสิวมักจะเป็นเรื่องของความสวยงาม ทำให้หลายคนพยายามซื้อยามารักษาด้วยตนเอง ซึ่งแท้จริงแล้วการรักษาสิวจำเป็นต้องได้รับการดูแลจากแพทย์ผิวหนังอย่างเหมาะสม การใช้ยาโดยไม่จำเป็นหรือไม่เหมาะสมกับอาการ เป็นการเพิ่มความเสี่ยงในการได้รับอันตรายจากยาได้ (คณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2553)

สิวเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ได้หลายปัจจัย เช่น ผนังท่อต่อมไขมันแบ่งตัวมากกว่าปกติและไม่หลุดลอกออก ต่อมไขมันหลั่งไขมันมากกว่าปกติ ปฏิกิริยาการอักเสบและมีเชื้อแบคทีเรียอาศัยอยู่บริเวณต่อมไขมัน แบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุของสิวเช่น *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีกลไกที่ทำให้เกิดสิว โดยการหลั่งเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น lipase, phosphatase, hyaluronidase และ protease และสารที่ไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งสารเหล่านี้ก่อให้เกิดการระคายเคือง กระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวมารวมกันมากขึ้นและเกิดการอักเสบตามมา การรักษาสิวชนิดไม่รุนแรงจะเลือกใช้ยาปฏิชีวนะสำหรับทาภายนอก เช่น clindamycin solution 1% และ erythromycin solution 2-4% แต่ในปัจจุบันพบว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุของสิวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *P. acne* มักดื้อต่อยา (Ross et al., 2003)

จากการศึกษางานวิจัยพบว่าสารสกัดจากสำมะงาที่สกัด isoamyl alcohol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* และ *S. aureus* (Prasad, Sushant, & Chikkaswamy, 2012) และพบว่าสารสกัดจากใบและรากสำมะงาซึ่งประกอบด้วยสารในกลุ่ม steroids เช่น 4α-methylsterol, 24β-ethyl-25-dehydrolophenol และ stigmasta-5,22,25-trien-3-β-ol (ดิสไทย, ม.ป.ป.) terpenoids เช่น friedelin, β-amyrin และ lupine-type triterpene glucoside (Parveen, Khanam, Ali, & Rahman, 2010) และ flavonoids เช่น acacetin, hispidulin และ diosmetin (Srisook et al., 2015) โดยพบว่าสารในกลุ่ม steroids ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดี (สิริกร ก่ออานันต์, 2557)

การใช้สมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ เป็นภูมิปัญญาของชาวไทยแต่โบราณ สมุนไพรไทยหลายชนิดมีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนัง แต่ยังขาดข้อมูล หรือข้อมูลไม่เพียงพอที่จะยืนยันตามหลักการทางวิทยาศาสตร์ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำสมุนไพรบางชนิดที่มีข้อมูลในตำรายาแพทย์แผนไทย ที่มีสรรพคุณรักษาโรคผิวหนังมาทำการศึกษาถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลรักษาสิวจากสารสกัดใบสำมะงา โดยคำนึงถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรตลอดจนเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อสกัดและแยกส่วนสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันและศึกษาสูตรฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

2.2 เพื่อพัฒนาเจลที่ผสมสารสกัดจากส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องมือ ได้แก่ rotary evaporator (IKA, Germany), water bath (DR-instument, Thailand), กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman, USA), เครื่องชั่ง (Sartorius, Germany) อุปกรณ์ ได้แก่ micropipette 500, 1,000 µL (Accumax, India), pipette tips 200, 1,000 µL (Accumax, India), beaker ขนาด 50, 100, 500, 1,000 mL (Pyrex-Comning, Japan), ถ้วยขนาดเล็กสำหรับใส่สารตัวอย่าง, test tube (Pyrex-Corning, Japan), cylinder 100 mL (Pyrex-Corning, Japan), flask 250, 1,000, 3,000 mL (Pyrex-Corning, Japan) สารเคมี ได้แก่ ethanol (Namsiang, Thailand), hexane (Namsiang, Thailand), dichloromethane (Namsiang, Thailand), ethyl acetate (Namsiang, Thailand), carbopol 940 (Chemipan, Thailand), propylene glycol (Chemipan, Thailand), triethanolamine (Chemipan, Thailand), normal saline solution (ANB, Thailand), sterile water (ANB, Thailand), resazurin (Jiangsu, China), amoxicillin 500 mg (Amoxil, USA) อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Mueller Hinton agar (Himedia, USA), Mueller Hinton broth (Himedia, USA), tryptic soy broth (Diffco, USA), tryptic soy agar (Diffco, USA)

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่ใช้ในการวิจัยได้รับความอนุเคราะห์จากวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต นำเชื้อที่ได้เลี้ยงในอาหาร TSB แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการถ่ายเชื้อจาก TSB ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4-5 ชั่วโมง และนำมาปรับความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย 0.85% NaCl ให้เท่ากับความขุ่นของสารละลาย McFarland No. 0.5 จะได้ปริมาณเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL และนำไปทดสอบในวิธี agar disc diffusion และ broth microdilution

3.2.2 การเตรียมสกัดสารสกัดจากพืช

ใบสำมะงาสดถูกซื้อมาจากสวนเมล็ดพันธุ์ดี เกษตรวิถีไทย ต.ทับมา อ.เมือง จ.ระยอง จำนวน 1 kg นำมาล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C ประมาณ 3-4 วัน จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดและนำไปแช่ 95% เอทานอล ปริมาตร 2 L นาน 3 วัน ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45-48 °C จากนั้นจึงนำระเหยแห้งบน water bath ที่อุณหภูมิ 90 °C จนกว่าน้ำหนักสารสกัดจะคงที่ จึงชั่งน้ำหนักและบันทึกข้อมูล เก็บใส่ไว้ในขวดที่มีฝาปิดมิดชิด

3.2.3 การสกัดแยกสาร

นำสารสกัดเอทานอลมาสกัดแยกส่วนโดยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) ตัวทำละลายที่ใช้ คือ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane, CH_2Cl_2) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate, EtOAc) และน้ำ (H_2O) จะได้ส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2 fraction) ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท (EtOAc fraction) และส่วนสกัดน้ำ (H_2O fraction) จากนั้นนำส่วนสกัดมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียต่อไป

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเบื้องต้นด้วยวิธี agar disc diffusion

สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ถูกนำมาตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion โดยทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton broth (MHB) แล้วนำไปบ่ม

ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับค่าความขุ่นของแบคทีเรียให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ $1.5x10^8$ CFU/mL หรือเทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงไปในสารละลายของเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้กดและบิด cotton swab กับข้างหลอด แล้วกระจายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี three dimension swab ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที ให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จากนั้นเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย sterile cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm แล้วปิเปตสารสกัดใบสำมะงาความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 50 µL ต่อหลุม ลงไปในหลุมที่เจาะเอาไว้ ใช้ 0.5% DMSO เป็น negative control และใช้ยาอะม็อกซี่ซิลลิน ความเข้มข้น 500 µg/mL เป็น positive control จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดบริเวณการยับยั้ง (inhibition zone) แต่ละการทดลองทำ 3 ครั้งและนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.2.5 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (minimum inhibitory concentration, MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสาสกัดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration, MBC)

การหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดใบสำมะงาต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี broth microdilution นำสารสกัดเจือจางด้วยน้ำกลั่นด้วยวิธี serial 2-fold dilution ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 7.8-500 µg/mL และเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร TSA แล้วนำไปบ่มใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อที่เป็น colony เดี่ยวจำนวน 3-5 colony เพาะเลี้ยงในอาหาร TSB เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาปรับความขุ่นด้วย NSS จนได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard จากนั้นนำมาทดสอบใน 96 well plate โดยหลุมที่เป็นชุดทดสอบจะประกอบด้วยสารสกัดหรือยาที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 20 µL ต่อหลุม และเชื้อ *S. epidermidis* ปริมาตร 80 µL ต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง แล้วนำมาเติมสี resazurin ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1% ปริมาตร 20 µL ต่อหลุม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วอ่านค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (สีม่วง) และทดสอบหาค่า MBC โดยนำ loop มาจุ่มสารที่อยู่ในหลุมที่ไม่มีเชื้อเจริญทั้งหมด (สีม่วง) มา streak บนอาหาร TSA จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง โดยอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (ไม่มีเชื้อเจริญบนอาหาร) เป็นค่า MBC การทดลองดังกล่าวใช้ DMSO เป็น negative control ยาอะม็อกซี่ซิลลิน เป็น positive control

3.2.6 การเตรียมเจล

การเตรียมเจลมีวิธีการเตรียมดังนี้คือ ชั่งน้ำ น้ำหนัก 98 g โปรยสารก่อเจลเพื่อกระจาย carbopol 940 น้ำหนัก 1 g ใช้แท่งแก้วคนจนสารก่อเจลกระจายตัวในน้ำและพองตัวจนหมด หลังจากนั้นนำสารสกัดจากใบสำมะงาน้ำหนัก 2 g ละลายใน propylene glycol น้ำหนัก 2 g ใส่สารละลายเจลที่เตรียมก่อนหน้านี้ คนให้เข้ากัน และเติม triethanolamine น้ำหนัก 1 g แล้วคนให้เข้ากัน รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1 แบ่งเจลที่ได้ใส่ขวดแก้วปิดฝาสนิทจากนั้นนำไปตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 1 สูตรส่วนผสมและส่วนประกอบของเจล

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (g)	หน้าที่ในตำรับ
สารสกัดจากใบสำมะงา	2	Anti-acne
Carbopol 940	1	Gelling agent
Triethanolamine	1	pH
Propylene glycol	2	Humectant, solvent
Water q.s. to*	98	Vehicle

*q.s. to = ปรับให้ได้ปริมาตร

4. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากพืช

ปริมาณสารสกัดของใบสำมะงาที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 8.53 จากสารสกัดด้วยเฮกเซนได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 20.11 จากสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 21.42 จากสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 4.21 และจากสารสกัดด้วยน้ำได้ร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 38.25 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ร้อยละของสารสกัดของใบสำมะงา

ชนิดของสารสกัด	ร้อยละของสารสกัด
สารสกัดเอทานอล	8.53
ส่วนสกัดเฮกเซน	20.11
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	21.42
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	4.21
ส่วนสกัดน้ำ	38.25

4.2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสำมะงา

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* จากสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ด้วยวิธี agar disc diffusion (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ด้วยวิธี agar disc diffusion ของเชื้อ *S. epidermidis*

พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 60 μg/mL สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 21.33±2.08 mm ในขณะที่ตัวทำละลายเฮกเซน

ที่ความเข้มข้น 500 μg/mL ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 23.00±0.00 mm ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 500 μg/mL ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 21.00±2.64 mm ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ที่ความเข้มข้น 250 μg/mL ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 28.33±2.88 mm และยาอะม็อกซี่ซิลลินที่ใช้เป็นสารควบคุม ที่ความเข้มข้น 500 μg/mL มีขนาดการยับยั้งแบคทีเรียเท่ากับ 22.00±0.00 mm นอกจากนี้สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำที่ความเข้มข้น 500 μg/mL ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (ตารางที่ 3) จากผลการทดสอบนี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบว่า สารสกัดสำมะงาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีฤทธิ์ต้านอาการปวดในสัตว์ทดลอง ซึ่งสารสำคัญที่แยกได้จากชั้นเอทานอลได้แก่ *n*-octacosane, friedelin, β-amyrin และ lupine-type triterpene glucoside (Parveen et al., 2010) และงานวิจัยที่พบว่า สารสกัดสำมะงาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Srisook et al., 2015; Ibrahim et al., 2014; Somasundaram & Sadique, 1986)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ด้วยวิธี agar disc diffusion

ตัวอย่างทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง (mm)
สารสกัดเอทานอล	21.33±2.08
ส่วนสกัดเฮกเซน	23.00±0.00
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	21.00±2.64
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	28.33±2.88
ส่วนสกัดน้ำ	0.00±0.00
ยาอะม็อกซี่ซิลลิน	22.00±0.00

ในส่วนผลการทดสอบการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ ซึ่งจะแตกต่างจากงานวิจัยของ (สิริกร ก่ออานันต์, 2557) ที่พบว่าสารสกัดจากใบและรากสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ อย่างไรก็ตามผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับภูมิปัญญาท้องถิ่น และข้อมูลตำรายาแพทย์แผนไทยที่ใช้ใบสำมะงา ในการรักษาโรคผิวหนัง

ผลการตรวจสอบฤทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธี agar disc diffusion แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบสำมะงาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ดีที่สุด โดยการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี broth microdilution ผลการทดลองพบว่า ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเท่ากับ 7.5 และ 15 μg/mL ในขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และยาอะม็อกซี่ซิลลินมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 15.625 และ 31.25 μg/mL

ตารางที่ 4 ค่า MIC และค่า MBC ของสารสกัดของใบสำมะงา

ตัวอย่างทดสอบ	MIC/MBC (µg/mL)
สารสกัดเอทานอล	7.5/15
ส่วนสกัดเฮกเซน	15.625/31.25
ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน	15.625/31.25
ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	15.625/31.25
ยาอะม็อกซี่ซิลลิน	15.625/31.25

4.3 ผลการเตรียมเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงา

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้มีการเตรียมเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงาโดยสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล ในตำรับจะมี carbopol 940 เป็นสารก่อเจล ลักษณะของเจลมีสารสกัดเป็นผงไม่ละลายน้ำ สีเขียวเข้ม ดังแสดงในภาพที่ 2

ภาพที่ 2 ผลการเตรียมเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงา

ผลการประเมินทางชีวภาพของเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงา จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ของเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงาโดยวิธี agar disc diffusion พบว่าเจลต้านสิวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 8 mm ในขณะที่ยาเจลต้านสิวจากท้องตลาด clindamycin 1% มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 15 mm จากผลการทดลองพบว่าเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้น้อยกว่าเมื่ออยู่ในรูปแบบเจล และยาเจลต้านสิวจากท้องตลาด clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงา ซึ่งก็ถือว่าเป็นข้อมูลฤทธิ์ทางชีวภาพที่เพิ่มเติมซึ่งได้จากผลการทดลองนี้

การสกัดสารจากใบสำมะงาด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันโดยอาศัยหลักการที่ว่าตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายสารที่ไม่มีขั้ว และตัวทำละลายที่มีขั้วจะละลายสารที่มีขั้วออกจากสมุนไพร ในงานวิจัยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ซึ่งเรียงลำดับจากความไม่มีขั้วจึนถึงมีขั้ว ผลการทดสอบฤทธิ์จากสารสกัดใบสำมะงา พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นสารที่มีขั้ว

5. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบสำมะงาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *S. aureus* สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิดได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

อื่น ๆ ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ในส่วนผลการทดสอบการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้

ผลการตรวจสอบฤทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธี agar disc diffusion แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบสำมะงาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ดีที่สุด โดยการหาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี broth microdilution พบว่า ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลน้อยที่สุด จึงนำสารสกัดในส่วนของเอทานอลมาพัฒนาเป็น เจลต้านสิว จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ของเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงาโดยวิธี agar disc diffusion พบว่าเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ลดลงเมื่ออยู่ในรูปแบบเจล และยาเจลต้านสิวจากท้องตลาด clindamycin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงา

ข้อเสนอแนะ

1) ควรพัฒนาสูตรตำรับยาดีกว่าการใช้สารสกัดสมุนไพรเพียงหนึ่งชนิด

2) ควรนำสารสกัดสมุนไพรไปใช้เป็นส่วนประกอบในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่น ๆ

6. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาฤทธิ์ของเจลต้านสิวจากสารสกัดใบสำมะงาต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ฉบับนี้ สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์ของผู้มีพระคุณคือ ดร.วาลุกา พรายงาม และ ดร.นันทพงศ์ ขำทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งเป็นผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ สอนเทคนิคการปฏิบัติการในห้องทดลอง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน และการทำวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ จึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

7. เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์คณะเภสัชสาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2553). *ยารักษาสิว isotretinoin อันตรายที่ไม่ควรมองข้าม*. เข้าถึงเมื่อ 26 สิงหาคม 2566 จาก https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/13/ยารักษาสิว isotretinoin อันตรายที่ไม่ควรมองข้าม/

ดิสไทย. (ม.ป.ป.). *สำมะงา ประโยชน์ดีๆ สรรพคุณเด่นๆ และข้อมูลงานวิจัย*. เข้าถึงเมื่อ 8 พฤษภาคม 2567 จาก www.disthai.com/17425332/สำมะงา

สิริกร ก่ออานันต์. (2557). *สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากและใบของต้นสำมะงา* (ปริญญานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต). กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Ibrahim, S. R. M., Alshali, K. Z., Fouad, M. A., Elkhayat, E. S., Al Haidari, R. A., & Mohamed, G. A. (2014). Chemical constituents and biological investigations of the aerial parts of Egyptian *Clerodendrum inerme*. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, *52*(2), 165-170.

Parveen, M., Khanam, Z., Ali, M., & Rahman, S. Z. (2010). A novel lupine-type triterpenic glucoside from the leaves of *Clerodendrum inerme*. *Natural Product Research*, *24*(2), 167-176.

Prasad, M. P., Sushant, S., & Chikkaswamy B. K. (2012). Phytochemical analysis, antioxidant potential, antibacterial activity and molecular characterization of *Clerodendrum species*. *International Journal of Molecular Biology*, *3*(3), 71-76.

Ross, J. I., Snelling, A. M., Carnegie, E., Coates, P., Cunliffe, W. J., Bettoli, V., . . . Cove, J. H. (2003). Antibiotic-resistant acne: lessons from Europe. *British Journal of Dermatology*, *148*, 467-478.

Somasundaram, S., & Sadique, J. (1986). The role of mitochondrial calcium transport during Inflammation and the effect of anti-inflammatory drugs. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, *36*(2):220-230.

Srisook, K., Srisook, E., Nachaiyo, W., Chan-ln, M., Thongbai, J., Wongyoo, K., . . . Watcharanawee, K. (2015). Bioassay-guided isolation and mechanistic action of anti-inflammatory agents from *Clerodendrum inerme* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, *165*, 94-102.