

**ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตีปลากั้งที่พบในเขตอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์
ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด**
**Efficiency of Dee Pla Kung (*Tupistra albiflora* K. Larsen) Extracts in Khao
Kho District, Phetchabun Province Against Some Pathogenic
Microorganisms**

วิภาดา บางณรงค์* ธนกร หมวกแก้ว กานต์ แยมพงษ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง
Wipada Bangnarong* Thanakorn Muakkaew Karn Yaempongsa and Surachest Aiumsumang

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ ประเทศไทย 67000

Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University,

Phetchabun Province, Thailand 67000

*Corresponding author: wipadamaybnr@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากตีปลากั้ง (*Tupistra albiflora* K. Larsen) ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 5 ชนิด คือ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* โดยนำส่วนของราก ใบ และดอกของตีปลากั้งมาสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบประสิทธิภาพขั้นต้นของสารสกัดหยาบด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบทุกส่วนสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดได้ โดยสารสกัดหยาบจากรากมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่อ *B. subtilis*, *S. aureus* และ *E. coli*. ได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 17.53 ± 0.08 , 18.66 ± 0.69 และ 18.68 ± 0.32 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากใบมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 19.59 ± 0.61 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากดอกมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 13.13 ± 0.41 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) จากส่วนอื่น ๆ เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้งหมดมาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) จากการศึกษาพบว่าค่า MBC ของสกัดหยาบจากรากและดอกมีค่า MBC สูงที่สุดต่อ *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือต่อ *E. coli* เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดหยาบจากรากมีค่า MBC ต่อเชื้อทดสอบทุกชนิดเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าใบและดอกตีปลากั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งอาจสามารถนำไปพัฒนาเป็นยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่อไปได้

คำสำคัญ: ตีปลากั้ง สารสกัดหยาบ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

The objective of this study was to study the efficiency of Dee pla kung (*Tupistra albiflora* K. Larsen) extracts to inhibited 5 pathogenic microorganisms included *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Extracting the roots, leaves and flowers of Dee pla kung with 95% ethanol. Preliminary inhibition tested of crude extracts by agar well diffusion technique, found all of crude extracts were able to inhibit all of the pathogenic microorganisms. The result showed the crude extract from roots, had the best inhibitory activity against *B. subtilis*, *S. aureus* and *E. coli*, which had the clear zone with diameter of 17.53 ± 0.08 , 18.66 ± 0.69 and 18.68 ± 0.32 mm., respectively. Crude extracts from leaves, had the best to inhibitory activity against *S. aureus* was 19.59 ± 0.61

การประชุมวิชาการด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรม ครั้งที่ 2 ประจำปี 2563

“วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สร้างสรรค์นวัตกรรมเพื่อชุมชน”

28 กุมภาพันธ์ 2563 ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

mm. and crude extracts from flowers had the best to inhibitory activity against *P. aeruginosa* was 13.13 ± 0.41 mm., which significantly different at 95 confidence level ($p < 0.05$) The results showed that MBC of crude extracts from leaves and flowers had the highest MBC against *B. Subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* was 50 mg/ml, followed by *E. coli* was 300 mg/ml, while the crude extract from roots showed the MBC of the pathogenic microorganisms was 300 mg/ml, This research has shown that the crude extract of leaves and flowers from Dee pla kung was effective to inhibit of microorganisms which may be able to developed as an antimicrobial drug disease.

Keywords: *Tupistra albiflora* K.Larsen Crude extracts Minimum bactericidal concentration

บทนำ

พืชสมุนไพรไทยเป็นที่รู้จักโดยทั่วไปในการนำมาเป็นยารักษาโรคต่าง ๆ และมีการนำมาบริโภคเพื่อส่งเสริมสุขภาพมากขึ้นโดยนำมาเป็นองค์ประกอบในอาหาร ใช้ในการรักษาอาการป่วยเบื้องต้นและมีแนวโน้มที่จะนำไปใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งในประเทศไทยมีสมุนไพรเป็นจำนวนมากหาได้ง่ายเป็นที่คุ้นเคยของคนทั่วไป ปัจจุบันพืชสมุนไพรมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างมาก ทั้งด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยาและเครื่องสำอาง เนื่องจากเริ่มตระหนักถึงอันตรายที่เกิดจากผลข้างเคียงของสารสังเคราะห์หรือยาแผนปัจจุบันมากขึ้น ประกอบกับมีการวิจัยค้นคว้าสารสกัดจากธรรมชาติจากพืชสมุนไพรต่าง ๆ เช่น สารสกัดจากใบของหน่อไม้ฝรั่ง ลิ้นมังกร และรากสามสิบ อยู่ในวงศ์ Asparagaceae ซึ่งมีฟลาโวนอยด์ สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* และสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ คือ *Candida albicans* ได้ [1-2] สารสกัดจากพืชสมุนไพรเป็นสารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติและประโยชน์มากมายไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค จึงทำให้มีการศึกษาสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้น ซึ่งในพืชสมุนไพร มีสารประกอบทางเคมีหลายชนิด สารเหล่านี้เป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชชนิดและปริมาณของสารจะแปรไปตามพันธุ์ของสมุนไพร สภาพแวดล้อมที่ปลูกและช่วงเวลาเก็บเกี่ยว [3] ตีปลากั้ง (*Tupistra albiflora* K. Larsen) เป็นพืชที่พบในป่าลึก ชอบความชุ่มชื้น ไม่ชอบแสงแดด เป็นผักพื้นเมืองที่พบได้ในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นป่าและเนินเขาเป็นพื้นที่ที่มีความชื้นสูงมีอุณหภูมิเย็นคงที่ตลอดปี ซึ่งมีรายงานว่าพบสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต่อต้านสารก่อมะเร็งบางพื้นที่นำรากมาต้มดื่มแก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย [4] ตีปลากั้งจัดเป็นพืชในวงศ์ Asparagaceae เช่นเดียวกับหน่อไม้ฝรั่ง ลิ้นมังกรและรากสามสิบที่ได้กล่าวไปข้างต้น อาจเป็นไปได้ว่าตีปลากั้งจะสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาสารสกัดที่ได้จากราก ใบและดอกของตีปลากั้ง เพื่อศึกษาหาประสิทธิภาพของสารสกัดจากตีปลากั้งต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้อาจจะสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาที่ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ได้หรือเป็นองค์ความรู้ที่ช่วยส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากตีปลากั้งและนำไปใช้ในการศึกษาต่อยอดได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสารจากสมุนไพร

เก็บรวบรวมตีปลากั้งที่พบในเขตอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยนำส่วนของราก ใบ และดอกมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียด สกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้อัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายเป็นเวลา 3-7 วัน หลังจากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารสกัดที่ได้ไปประเหด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 ± 2 องศาเซลเซียส ความดัน 100 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที จะได้สารที่มีลักษณะข้นเหนียว นำมาละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ปรับให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเครื่องปั่นเหวี่ยง นำสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชาแล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ในการทดสอบ

2. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *B. Subtilis*, *S. Aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

เตรียม *B. Subtilis*, *S. Aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับ *C. albicans* เพาะเลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อให้มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ 1.5×10^8 CFU/มิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับสารละลาย McFarland no. 0.5

3. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี agar well diffusion

ใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิดที่ทำการปรับปริมาตรแล้วนำไปป้ายบนผิวหน้าอาหาร NA จากนั้นเจาะอาหาร NA ด้วย Cork borer (6 มิลลิเมตร) หยดสารสกัดหยาบความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารที่เกลี่ยเชื้อไว้ ผึ่งให้สารสกัดแห้งในตู้ปลอดเชื้อ (BSC Class II) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (*C. albicans*) และ 37 องศาเซลเซียส (*B. Subtilis*, *S. Aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa*) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง (Inhibition zone) ทำการเปรียบเทียบกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 14 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุม

4. การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC)

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ จากนั้นดูดอาหาร Nutrient broth (NB) สารสกัดหยาบ และเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบลงในหลอดทดลองที่ปลอดเชื้อ กำหนดให้ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายผสมเท่ากับ 1 มิลลิเมตร โดยปรับความเข้มข้นสารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดสอบให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 400 300 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้อาหาร NB ที่ไม่เติมเชื้อทดสอบใด ๆ และอาหาร NB ที่เติมเชื้อทดสอบ เป็นชุดควบคุมและบวกตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (*C. albicans*) และ 37 องศาเซลเซียส (*B. Subtilis*, *S. Aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa*) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกค่า MIC โดยตรวจสอบจากการเปลี่ยนแปลงของความขุ่นของสารผสม จากนั้นทำการทดสอบหาค่า MBC โดยการนำหลอดทดสอบค่า MIC ด้วยวิธีการหยดสารผสม ที่ผ่านการบ่มปริมาตร 50 ไมโครลิตร บนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (*C. albicans*) และ 37 องศาเซลเซียส (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa*) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าไม่พบการเจริญของแบคทีเรียแสดงว่าความเข้มข้นดังกล่าว คือค่า MBC

5. สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ข้อมูลทั้งหมดถูกนำมาประมวลผลโดยหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยศึกษาระหว่างสารสกัดจากราก ใบและดอกดีปลากั้ง โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป SPSS ทดสอบความแตกต่างโดยใช้ One-way-ANOVA และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการศึกษา

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากราก ใบ และดอกของดีปลากั้ง โดยนำส่วนต่าง ๆ ของดีปลากั้งมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 5 ชนิด คือ *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 14 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทุกชนิด สำหรับสารสกัดหยาบจากราก ใบ และดอกดีปลากั้งที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้ง 5 ชนิด (Table 1) โดยเมื่อเปรียบเทียบบริเวณการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดของสารสกัดหยาบดีปลากั้งแต่ละส่วน พบว่าสารสกัดหยาบจาก

ราก ใบและดอกตีบปลากั้ง สามารถยับยั้งเชื้อ *B. Subtilis*, *E. coli* และ *C. albicans* ได้เท่าเทียมกัน โดยไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p>0.05$) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งต่อ *B. subtilis* เท่ากับ 17.53 ± 0.08 , 16.67 ± 0.56 และ 17.03 ± 0.65 มิลลิเมตร ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งต่อ *E. coli* เท่ากับ 18.68 ± 0.32 , 17.40 ± 0.85 และ 17.55 ± 0.73 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ *C. albicans* มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 14.93 ± 0.80 , 14.90 ± 0.83 และ 15.91 ± 0.99 มิลลิเมตร ตามลำดับ ผลการยับยั้ง *S. aureus* มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 18.66 ± 0.69 , 19.59 ± 0.61 และ 16.03 ± 0.46 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบจากรากและใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากดอก และสารสกัดหยาบจากดอกตีบปลากั้งสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ดีกว่าสารสกัดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.13 ± 0.41 มิลลิเมตร รองลงมาคือใบและราก มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 12.12 ± 0.05 และ 11.94 ± 0.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากการทดสอบค่า MIC ด้วยวิธี Broth dilution พบว่าสารสกัดหยาบมีสีที่เข้ม จนไม่สามารถระบุค่า MIC ได้อย่างไรก็ตามสารผสมได้ถูกนำไปศึกษาค่า MBC ด้วยวิธี Drop plate พบว่าค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากรากต่อ *B. Subtilis*, *S. Aureus*, *E. Coli*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากใบและดอกต่อ *B. Subtilis*, *S. Aureus*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* มีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 2)

Table 1 Zone of inhibition of Dee pla kung (*Tupistra albiflora* K. Larsen) extracts against pathogenic microorganisms

Plant Extracts	Zone of inhibition (mm)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Leaves	$16.67\pm 0.56^{A,b}$	$19.59\pm 0.61^{A,a}$	$17.40\pm 0.85^{A,b}$	$12.12\pm 0.05^{AB,d}$	$14.90\pm 0.83^{A,c}$
Roots	$17.53\pm 0.08^{A,a}$	$18.66\pm 0.69^{A,a}$	$18.68\pm 0.32^{A,a}$	$11.94\pm 0.60^{B,c}$	$14.93\pm 0.80^{A,b}$
Flowers	$17.03\pm 0.65^{A,ab}$	$16.03\pm 0.46^{B,ab}$	$17.55\pm 0.73^{A,a}$	$13.13\pm 0.41^{A,c}$	$15.91\pm 0.99^{A,b}$
Ethanol	-	-	-	-	-

- = No inhibition zone

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation

Mean in the same column with letter (A-B) represent statistically significantly different ($p<0.05$)

Mean in the same row with letter (a-d) represent statistically significantly different ($p<0.05$)

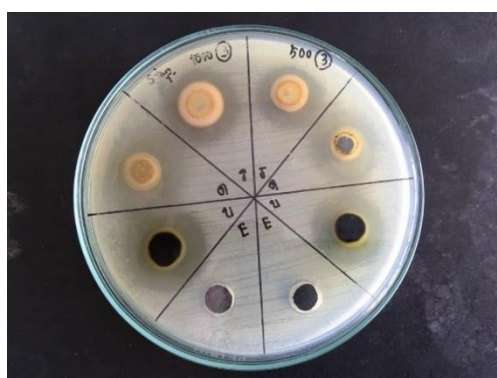
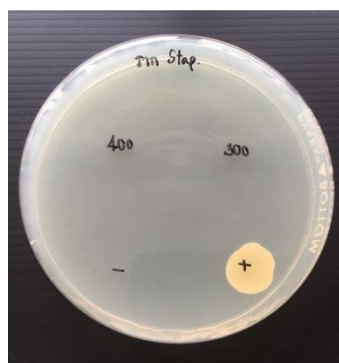


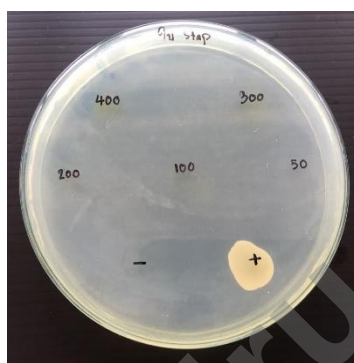
Figure 1 Example zone of inhibition of Dee pla kung (*Tupistra albiflora* K. Larsen) extracts against *S. aureus* (ร = Roots; ใบ = Leaves; ดอก = Flowers; E = Ethanol)

Table 2 The MBC of Dee pla kung (*Tupistra albiflora* K.Larsen) extracts against pathogenic microorganisms

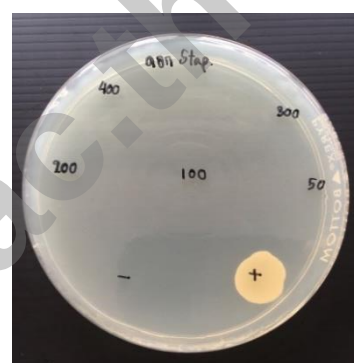
Microorganisms	MBC (mg/ml)		
	Leaves	Flowers	Roots
<i>B. subtilis</i>	50	50	300
<i>S. aureus</i>	50	50	300
<i>E. coli</i>	300	300	300
<i>P. aeruginosa</i>	50	50	300
<i>C. albicans</i>	50	50	300



(a)



(b)



(c)

Figure 2 Example the MBC of Dee pla kung (*Tupistra albiflora* K. Larsen) extracts against *S. aureus*

(a = Roots; b = Leaves; c = Flowers)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของตีปลากั้ง พบว่าสารสกัดหยาบจากราก ใบ และดอกตีปลากั้ง สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทั้งหมด เมื่อพิจารณาแยกไปตามส่วนที่นำมาสกัดพบว่าสารสกัดหยาบจากรากสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้มีรายงานว่าสารสกัดจากรากไม้ฝรั่งซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Asparagaceae เช่นเดียวกับตีปลากั้ง ที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ (*S. Aureus*, *E. coli* และ *C. albicans*) ได้ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 14.30 ± 0.20 14.00 และ 16.20 ± 0.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ [2] สารสกัดจากรากตีปลากั้งสามารถยับยั้งเชื้อ *B. Subtilis*, *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ganesan et al. [5] ที่พบว่าสารสกัดจากรากไม้ฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *Salmonella* Typhimurium โดยมีค่า MBC เท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อีกทั้งยังสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 18.00 มิลลิเมตร ที่ 4.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC เท่ากับ 0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [5-6] และสารสกัดแก่นจันทน์ผาจัดอยู่ในวงศ์ Asparagaceae เช่นกันสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ได้ที่ความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อีกด้วย [7] และสารสกัดหยาบจากดอกสามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sikder et al. [8] ที่พบว่าสารสกัดของ *Sansevieria trifasciata* ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Asparagaceae เช่นกันสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มีบริเวณการยับยั้งต่อ *B. subtilis* เท่ากับ 12.67 มิลลิเมตร *Vibrio parahemolyticus* และ *P. aeruginosa* อย่างละ 12.00 มิลลิเมตร [8] จากผลการทดลองฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่พบว่าสามารถยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาบจะสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้มากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกไม่มี

เมมเบรนชั้นนอกสารจึงเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ ส่วนแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์สองชั้นและมีเมมเบรนชั้นนอกที่มีไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide) เป็นองค์ประกอบมีหน้าที่ป้องกันสารไม่ให้เข้าสู่ภายในเซลล์ และยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตจำพวกยูคาริโอตเซลล์ซึ่งมีโครงสร้างของเซลล์ที่ซับซ้อนกว่าจึงทำให้ยับยั้งได้ยาก [9] นอกจากนี้มีรายงานการวิเคราะห์ phytochemical สารสกัดจากรากหน่อไม้ฝรั่ง ดอกติปลากั้งและใบจันทน์ผา พบว่ามีสาร Alkaloids Aminoacids Flavonoids Glycosides Phenol Steroid Tannin และ Saponin [6], [10-11] ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารในกลุ่ม Biocide สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ เชื้อวัณโรค เชื้อรา และไวรัสแต่ไม่มีฤทธิ์ฆ่าสปอร์ [12] โดยสารเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาทำลายกับโปรตีนและเอนไซม์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายสารภายในเซลล์ไหลออกนอกเซลล์นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนนำไปสู่การตายของเซลล์ [13] ซึ่งเป็นไปได้ว่าในติปลากั้งอาจมีสารสำคัญเหล่านี้อยู่จึงสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากติปลากั้งต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากราก ใบและดอกติปลากั้งสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบได้ทุกชนิด ซึ่งสารสกัดแต่ละส่วนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบแตกต่างกันไป แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบติปลากั้งที่เหมาะสมสำหรับนำมาศึกษาหรือพัฒนาต่อคือส่วนของสารสกัดหยาบจากราก เนื่องจากส่วนดอกติปลากั้งนั้นสามารถพบได้เฉพาะช่วงเดือนพฤศจิกายน - มกราคมเท่านั้น ในขณะที่ใบติปลากั้งสามารถพบได้ตลอดทั้งปีจึงง่ายต่อการนำมาทำการทดสอบ

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากราก ใบ และดอก ของติปลากั้งต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 5 ชนิด ผลการศึกษาการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากติปลากั้งที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ทั้งหมด โดยสารสกัดหยาบจากราก ใบ ดอก สามารถยับยั้ง *B. Subtilis*, *E. coli* และ *C. albicans* ได้โดยไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สารสกัดหยาบจากรากและใบสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากดอก และสารสกัดหยาบจากดอกสามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากราก และใบ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่า MBC พบว่าสารสกัดหยาบจากรากและดอกติปลากั้งมีประสิทธิภาพดีที่สุด ซึ่งมีค่า MBC ต่อ *B. subtilis* *S. aureus* *P. aeruginosa* และ *C. albicans* เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และต่อ *E. coli* เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นผลการศึกษานี้จึงอาจสามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อหาสารประกอบทางเคมีในติปลากั้งที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณนางสาวสมเพียร พักทอง และนางสาววรินทร์ ชาติสุภาพ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ ขอขอบคุณชาวบ้าน อำเภอลำทะเมนชัย ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างต้นติปลากั้งเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- [1] ฝนทิพย์ แวนน่า ปัทมา แคลสันเทียะ สุพายา ตริภมล พรธิวา โนรี และวนิดา ไทรชมพู. 2555. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงในสัตว์เคี้ยวเอื้องจากสมุนไพรพื้นบ้าน. **การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012 “Pharmacy Profession in Harmony”**, ขอนแก่น: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- [2] Battu, G.R. and Kumar, B.M. 2010. Phytochemical and Antimicrobial Activity of Leaf Extract of *Asparagus racemosus* Willd. **Pharmacognosy Journal**, 2(12): 456-463.
- [3] พรทิพ กันภัย. 2558. การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงบางชนิดในเขตจังหวัดกาญจนบุรี. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี.
- [4] องค์การการสวนพฤกษศาสตร์. 2560. ลิ้งลาว. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://hkm.hrdi.or.th/knowledge/detail/192>. (31 ธันวาคม 2562).
- [5] Ganesan, R., Latha, T. and Mangai, S. 2015. Phytochemical analysis and antibacterial activity of root of *Asparagus racemosus* Willd. **Asian Journal of Phytomedicine and Clinical Research**. 3(4): 2015, 132-139.
- [6] Thakur, K.P.N., Sunil, J.W. and Kumar, B.A. 2018. Evaluation of antimicrobial potential of root extract of *Asparagus racemosus* Willd. and bark extract of *Juglans regia* L. against pathogenic bacterial isolates. **Annals of Phytomedicine**, 7(2): 64-69.
- [7] Fan, J.Y., Yi, T., Sze-To, C.M., Zhu, L., Peng, W.L., Zhang, Y.Z., Zhao, Z.Z. and Chen, H.B. 2014. A systematic review of the botanical, phytochemical and pharmacological profile of *Dracaena cochinchinensis*, a plant source of the ethnomedicine “Dragon’s Blood”. **Molecules**, 19: 10650-10669.
- [8] Sikder, M.A.A., Hossion, A.K.M.N., Siddique, A.B.B., Ahmed, M.R., Kaiser, M.H.M.A. and Rashid, M.H.M.A. 2011. In Vitro Antimicrobial Screening of Four Reputed Bangladeshi Medicinal Plants. **Pharmacognosy Journal**, 3(24): 72-76.
- [9] Shan B., Cai Y-Z., Brooks J. D., and Corke, H. 2007. The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. **International Journal of Food Microbiology**, 117: 112-9.
- [10] Chaichana, N.T.Y. 2017. Nutritional Composition, Antioxidant Activity and Phytochemical Composition of *Tupistra albiflora* K. Larsen’s Flowers. **Walailak Journal of Science and Technology**, 15(4), 2018: 305-311.
- [11] Shankar, S.R.Y., Settu, S.G.S.N., Segaren, .G.Y.T.R., Sunder, R.J.T.D.V. and Ravi, L.K. 2018. Phytochemical constituents of *Dracaena mahatma* leaves and their anti-bacterial, anti-oxidant and anti-inflammatory significance. **Biotechnology Research and Innovation**, 2: 1-8.
- [12] วรณพร ศรีสุนทรรัตน์. 2558. สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุข. คู่มือ เรื่อง สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุข. นนทบุรี: สำนักควบคุมเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข
- [13] Gill, A. O., and Holley, R. A. 2006. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. **International Journal of Food Microbiology**, 106: 1-9.