การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด

อมรรัตน์ สีสุกอง[1*] กัลยาภรณ์ จันตรี[2] ศรีสุดา หาญภาคภูมิ[3]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของสารสกัดจากส่วนต้นและดอกของกกรังกา และส่วนรากและใบของผักตบชวา ต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* โดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่ยุ่ย (marceration) โดยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือเฮกเซน , ไดคลอโรมีเทน , เอทานอล และเมทานอล การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ของสารสกัดหยาบจากกกรังกาและผักตบชวาใช้วิธี disk diffusion techniques จากการศึกษาพบว่า สารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 12 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากต้นกกรังกาที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Staphylococcus aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 9.3 และ 8.0 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดหยาบจากผักตบชวาไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ทดสอบ การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดหยาบจากดอกกกรังกาที่สกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธี Macro broth dilution technique ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้ค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นกกรังกาที่สกัดด้วยเอทานอล ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดหยาบจากต้นกกรังกาที่สกัดด้วยเอทานอลต่อแบคทีเรียทั้ง *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย กกรังกา ผักตบชวา สารสกัดหยาบ

---

[1] กลุ่มวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
[2] หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
[3] หลักสูตรสิ่งแวดล้อมและอุตสาหกรรมเมือง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
[*]ผู้นิพนธ์หลัก e-mail : amornrats@hotmail.com

THE STUDY OF ANTIBACTERIAL IN WEED EXTRACTS

Amornrat Srisukong[1*] Kanlayaporn Jantree[2] Srisuda Hanpakphum[3]

Abstract

This research studied the effects of the crude extracts from the stems and the flowers of the *Cyperus alternifolius* L. and the roots and the leaves of the water hyacinth to inhibit the growth of three species of *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* and *Escherichia coli.* Hexane, dichloromethane, ethanol and methanol were used as the extraction solvents. Antibacterial activities on three bacteria were tested by using disk diffusion technique. Result showed that the ethanol crude extract from the flowers of *Cyperus alternifolius* L. could inhibit *Bacillus subtilis* with the inhibition zone of 12 mm. The ethanol crude extract from the stems of *Cyperus alternifolius* L. exhibited the highest activity against *Bacillus subtilis*, followed by *Staphylococcus aureus,* with the inhibition zone of 9.3 and 8.0 mm, respectively. While the extracts from the water hyacinth has no inhibited the growth of all three species. To test the MIC (Minimal Inhibitory Concentration) of the ethanol crude extracts from the flowers and the stems of *Cyperus alternifolius* L. by using Macro broth dilution technique. The result showed that the MIC of the ethanol crude extracts from the flowers of *Cyperus alternifolius* L. against Bacillus subtilis is 25 mg/ml. Where as the MIC of the ethanol crude extracts from the stems of *Cyperus alternifolius* L. against the both of *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were 6.25 mg/ml. While the MBC (Minimal bactericidal concentration) of the ethanol crude extracts from the stems of *Cyperus alternifolius* L. against the both of *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were 25 mg/ml.

Keywords : Antibacterial, *Cyperus alternifolius* L. , Water hyacinth, Crude Extracts

[1] *Biology Group , Science and Technology,Suan Dusit university*

[2] *Cosmetic Science, Science and Technology,Suan Dusit university*

[3] *Of course , environmental and industrial city, Science and Technology,Suan Dusit university*

** Corresponding author, e-mail : amornrats@hotmail.com*

บทนำ

โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียต่างๆที่มีการปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย ที่มนุษย์เป็นกันทุกวันนี้ได้เป็นปัญหาที่สำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ และเป็นปัญหาของวงการแพทย์ ในปัจจุบันจะเห็นได้ว่าแบคทีเรียที่ก่อโรคต่างๆในมนุษย์ มีความหลากหลายมากขึ้น โดยแบคทีเรียเกิดการพัฒนาตัวของมันเองเพื่อความอยู่รอด ทำให้มีแนวโน้มในการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้น ยาที่ใช้ในการควบคุมแบคทีเรียที่ก่อโรคจึงมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการควบคุมเท่าที่ควร ส่งผลให้เกิดการสูญเสียทั้งค่าใช้จ่ายในการรักษา เวลา รวมไปถึงชีวิตของผู้ป่วย โดยแบคทีเรียที่ก่อโรคได้แก่ *E.coli* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและโรคติดเชื้ออื่นๆ *E.coli* มีความสามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะสูงซึ่งเป็นปัญหามากขึ้น เนื่องจากมีการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างมากมายทั้งในคนและใช้เป็นสารการกระตุ้นการเจริญในอาหารสัตว์ ดังนั้นการหาสารที่มีผลต่อการยับยั้ง *E.coli* จึงมีความสำคัญ ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายของพืชค่อนข้างสูง มีการศึกษาถึงสารออกฤทธิ์จากพืชของไทยอยู่มากมาย และพบสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียอยู่หลายชนิด วัชพืชก็เป็นอีกตัวอย่างที่มีความน่าสนใจศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วัชพืช เป็นพืชที่สามารถพบเห็นอยู่ทั่วไปทั้งในบริเวณบ้าน ตามท้องทุ่งนา ในสวนในไร่ แม่น้ำลำคลอง จะพบเห็นวัชพืชหลายชนิดเจริญเติบโตอยู่ ทำความเสียหายให้แก่การเกษตรกรรม เป็นอุปสรรคต่อการคมนาคมทั้งทางบกและทางน้ำ การกำจัดวัชพืชโดยใช้สารเคมีอาจมีผลเสียหายต่อสิ่งแวดล้อม หากมีการศึกษานำวัชพืชมาใช้ประโยชน์ อาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดผลกระทบจากวัชพืชได้ โดยวัชพืชที่มีปริมาณมาก และน่าจะมีการศึกษาการนำมาใช้ประโยชน์ได้แก่ ผักตบชวา และกกรังกา

ผักตบชวา (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eichhomia Crassipes* ชื่อสามัญคือ water hyacinth) ซึ่งปัจจุบันนี้จะเห็นได้ว่า ผักตบชวา เป็นวัชพืชน้ำที่เจริญเติบโตอย่างหนาแน่นตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ก่อให้เกิดปัญหาแก่แหล่งน้ำในหลายท้องที่ สร้างความเดือดร้อนให้แก่ประชากรและสิ่งแวดล้อมในหลายประเทศทั่วโลกและความลำบากและรำคาญนี้ที่เป็นสาเหตุที่ผลักดันให้นักวิทยาศาสตร์ หาวิธีการต่างๆ เพื่อกำจัดผักตบชวา ที่มีอยู่อย่างแพร่หลาย มีการใช้กระบวนการหลายรูปแบบเพื่อกำจัดผักตบชวา แต่การกำจัดผักตบชวาในบางวิธีอาจมีผลเสียหายต่อสิ่งแวดล้อมได้

กกรังกา (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cyperus alternifolius L.*, ชื่อสามัญ: Umbrella plant, Flatsedge) เป็นกกขนาดใหญ่ในสกุล *Cyperus* กกรังกามีชื่อสามัญอื่น ๆ อีกคือ กกต้นกลม, กกขนาก, หญ้าลังดา, กกดอกแดง และ กกราชินี พบกระจายอยู่ทั่วโลก มีประมาณ 4,000 ชนิด ปลูกขึ้นง่ายชอบที่ชื้นแฉะ ขึ้นในที่ระดับต่ำ ตามหนอง บึง ทางระบายน้ำ มีรูปร่างลักษณะและนิเวศวิทยาเหมือนหญ้ามาก พบได้ทั่วทุกภาคในประเทศไทย ดังนั้นจากการที่ผักตบชวาและกกรังกาซึ่งมีอย่างแพร่หลายในปัจจุบันนี้ ดังนั้นหากมีการศึกษาถึงการนำผักตบชวาและกกรังกา มาใช้ให้เกิดประโยชน์ และเพิ่มมูลค่า ได้แก่ การศึกษาในเรื่องการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งอาจจะมีศักยภาพสำหรับนำมาใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการสกัดสารและตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจาก ต้น และดอก ของกกรังกา และราก และใบของผักตบชวา ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสารสกัดหยาบ

1.1 การสกัดสารสกัดหยาบจาก ลำต้น และ ดอกของกกรังกา

เก็บลำต้น และ ดอกของกกรังกา นำมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วนำมาผึ่งลมให้แห้ง ทำการหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 2 กิโลกรัม จากนั้นนำมาแช่ในตัวทำละลาย โดยแช่เรียงลำดับความมีขั้วน้อยไปหาความมีขั้วมาก ดังนี้ คือ เฮกเซน , ไดคลอโรมีเทน, เอทานอล และเมทานอล โดยมีวิธีการดังนี้ คือ เทสารละลายเฮกเซน จนท่วม ปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไปประเหยโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vaccuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิท ทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง แล้วรวมสารมาชั่งน้ำหนัก จะได้สารสกัดหยาบ (crude) ในชั้นเฮกเซน จากนั้นนำกากพืชที่เหลือมาทำแบบเดียวกัน โดยใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล ตามลำดับ ซึ่งจะได้สารสกัดหยาบใส่ในขวด vial เพื่อนำไปศึกษาหาสารออกฤทธิ์ต่อไป

1.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากราก และ ใบ ของผักตบชวา

การสกัดสารสกัดหยาบจากราก และ ใบ ของผักตบชวา ทำเช่นเดียวกับในข้อ 1.1 จะได้สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล เพื่อนำไปศึกษาหาสารออกฤทธิ์ต่อไป

2. การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกกรังกา และผักตบชวา

2.1 วิธีการเตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบ

เพาะเลี้ยง *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ในอาหารเหลว Nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 600 นาโนเมตร ให้มีค่า absorbance อยู่ระหว่าง 0.03-0.3 (จำนวนเซลล์ 10^6 CFU/ml)

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disc diffusion

ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัด ด้วยวิธี Agar disc diffusion เตรียมอาหารแข็ง Nutrient agar ในจานเพาะเลี้ยง ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นไว้โดยมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^5 – 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar จากนั้นวางแผ่น paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar หยดสารสกัดที่จะทดสอบลงบนแผ่น paper disc โดยหยดสารสกัด ตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตร รวมทั้งหยดตัวทำละลายนั้นๆ เป็น control โดยใช้ automatic pipette ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อนี้ไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 – 18 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) โดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration ,MIC)

ในการทดสอบนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว คือ Trypticase soy broth นำสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยเตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางเป็นลำดับส่วนจะได้ความเข้มข้นของสารสกัด เป็น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19 และ 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน positive control คือหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ลงไปในทุกหลอดจำนวนหลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง จากนั้นให้สังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีจุลินทรีย์เจริญหรือสังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น อ่านปริมาณของสารทดสอบของหลอดนี้เป็นค่า MIC บันทึกหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร

2.4 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC)

จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ทำให้เชื้อไม่เจริญในอาหารเหลวนั้นสามารถนำมาหาค่า MBC ได้ โดยนำหลอดที่ทำการทดสอบจากการหาค่า MIC ที่ไม่มีความขุ่นทุกหลอดไป spread plate บนอาหาร trypticase soy agar ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ถ้าเชื้อไม่ตายก็จะพบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากกกรังกา และผักตบชวา

จากการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนต้น และดอก ของกกรังกา และส่วนราก และใบของผักตบชวา ด้วยวิธีการแช่ยุ่ย ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้จะเรียงจากสารที่มีขั้วน้อยไปจนถึงสารที่มีขั้วมาก คือ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทานอล และเมทานอล ซึ่งผลของปริมาณของสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนต้น และดอก ของกกรังกา และราก และใบของผักตบชวา แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณสารสกัดหยาบจากกกและผักตบชวาที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด

ตัวอย่างพืช	ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)
ต้นกก (2 กิโลกรัม)	เฮกเซน	1.3063
	ไดคลอโรมีเทน	2.6203
	เอทานอล	3.2602
	เมทานอล	1.3053
ดอกกก (2 กิโลกรัม)	เฮกเซน	4.0032
	ไดคลอโรมีเทน	3.2031
	เอทานอล	5.0213
	เมทานอล	3.2042
รากผักตบชวา (5 กิโลกรัม)	เฮกเซน	2.7098
	ไดคลอโรมีเทน	5.2254
	เอทานอล	5.9287
	เมทานอล	3.7699
ใบผักตบชวา (5 กิโลกรัม)	เฮกเซน	1.2372
	ไดคลอโรมีเทน	8.6318
	เอทานอล	4.8476
	เมทานอล	28.2610

2. ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดกก และผักตบชวา

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* ของสารสกัดส่วนของลำต้น และ ดอก ของกกรังกา และสารสกัดส่วนของรากและใบของผักตบชวา ที่สกัดด้วยเฮกเซน , ไดคลอโรมีเทน , เอทานอล และเมทานอล โดยใช้วิธี disc diffusion techniques ที่ความเข้มข้นของสารสกัดกกและผักตบชวา 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

2.1 ผลของสารสกัดหยาบกกรังกาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ในการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 ชนิด ของสารสกัดดอกกก โดยใช้ตัวทำละลาย คือ เอทานอล เมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน พบว่า สารสกัดดอกกกที่สกัดด้วย เอทานอลมีฤทธิ์ในการยั้บยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ได้ โดยมีขนาดของวงใสเท่ากับ 12 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1) แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ส่วนสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ทั้ง 3 ชนิด

ในการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 ชนิด ของสารสกัดต้นกก โดยใช้ตัวทำละลาย คือ เอทานอล เมทานอล ไดคลอโรมีเทน และ เฮกเซน พบว่า สารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Staphylococcus aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 9.3 และ 8.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2และ3) ส่วนสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งสารสกัดหยาบในการทดลองนี้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ สอดคล้องกับรายงานของสุภาพร และ กัญญาญาภัค (2550) พบว่า สารสกัดด้วยไอน้ำของผักแขยง (*Limnophila aromatica* Merr.) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* ได้มากที่สุด โดยมีขนาดวงใส 9.5 มิลลิเมตร ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แต่ในการทดลองนี้สารสกัดหยาบทุกชนิดไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *E.coli* อาจเนื่องจากเชื้อ *E.coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีโครงสร้างของผนังเซลล์ซับซ้อนกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2541) ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์สองชั้นและเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกมีโครงสร้างที่ไม่สมมาตร โดยเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในเป็นสารฟอสโฟไลปิด ในขณะที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกประกอบด้วยสารไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) โครงสร้างที่ไม่สมมาตรดังกล่าว ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกมีประโยชน์ในการช่วยปกป้องเซลล์

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดต้นกกและดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ สอดคล้องกับรายงานของเกล้ายุคล สุจิรา (2547) ที่ศึกษาสารสกัดจากผลของธูปฤาษีต่อยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช และการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบว่า เอทานอลเป็นสารละลายที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารจากเมล็ดธูปฤาษี และยังสอดคล้องกับรายงานของ จันทนาและคณะ (2548) พบว่า สารสกัดเหง้าหน่อกะลาที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม (1 mg/disc) ทำให้เกิดวงใสขนาด 11-16 มิลลิเมตรต่อเชื้อ *S. aureus* และ *S. Typhimulium* และค่าความเข้มข้นต่ำสุดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ชนิดคือ 2.64 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้การสกัดสารจากใบกระเบากลักด้วยเอทานอลยังออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืช *Xanthomonas campestris* และ *Fusarium oxysporum* (นภัสวรรณ์ และ จันทร์เพ็ญ, 2550) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการยังยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี

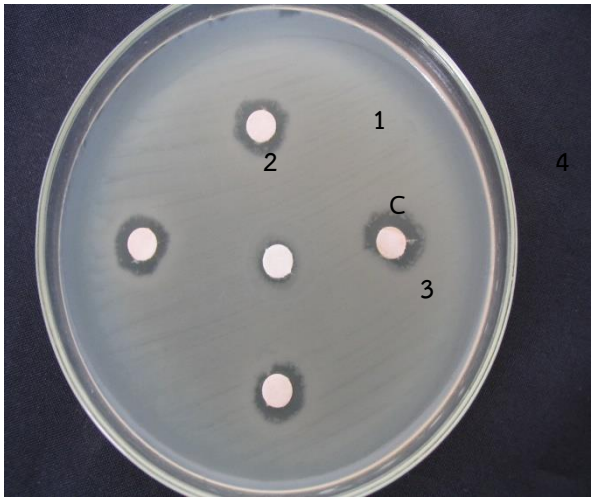
สำหรับสารสกัดหยาบจากดอกกกและต้นกกในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล นั้นพบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ สอดคล้องกับรายงานของเกษร นันทจิต และคณะ (2550) ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลชีพของสารสกัดใบขันทองพยาบาท (*Gelonium multiflorum*, A. Juss) ด้วย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซน และเมทานอล ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 90028, *A. flavus* และ *M. gypseum* ที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.5% และ 1% และรายงานของ อาริยะ ไชยสวัสดิ์และคณะ (2550) ที่ศึกษาฤทธิ์ของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบกระทิง โดยใช้ตัวทำละลาย คือ เฮกเซน เมทานอล และไดคลอโรมีเทน พบว่า สารสกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* และ

Salmonella typhi ได้ในระดับปานกลาง ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ส่วนสารสกัดอื่น ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบชนิดต่างๆ

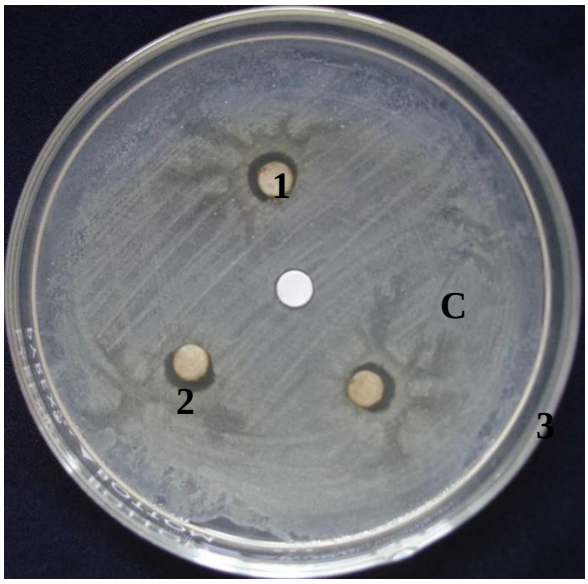
สารสกัด	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้บเชื้อ±SD (มม.)		
		Staphylococcus aureus	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*
ดอกกก	เอทานอล	7.0±0.1	12±0.15	NA
	เมทานอล	NA	NA	NA
	ไดคลอโรมีเทน	NA	NA	NA
	เฮกเซน	NA	NA	NA
ต้นกก	เอทานอล	8.0±0.15	9.3±0.1	NA
	เมทานอล	NA	NA	NA
	ไดคลอโรมีเทน	NA	NA	NA
	เฮกเซน	NA	NA	NA
ราก ผักตบชวา	เอทานอล	NA	NA	NA
	เมทานอล	NA	NA	NA
	ไดคลอโรมีเทน	NA	NA	NA
	เฮกเซน	NA	NA	NA
ใบ ผักตบชวา	เอทานอล	NA	NA	NA
	เมทานอล	NA	NA	NA
	ไดคลอโรมีเทน	NA	NA	NA
	เฮกเซน	NA	NA	NA

หมายเหตุ: NA = No Activity



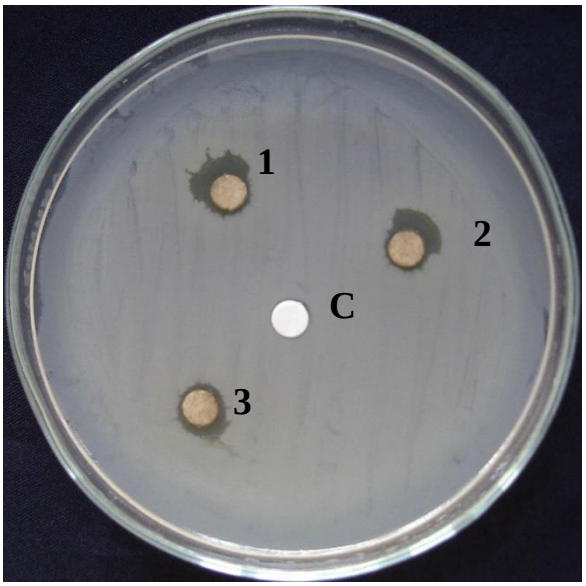
ภาพที่ 1 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอล

หมายเหตุ : C = Control (เอทานอล),
1 – 4 = สารสกัดดอกกก



ภาพที่ 2 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล

หมายเหตุ : C = Control (เอทานอล),
1– 3 = สารสกัดต้นกก



ภาพที่ 3 วงใสที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ของสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล

หมายเหตุ: C = Control (เอทานอล),
1 – 3 = สารสกัดกกรังกา

2. ผลของสารสกัดหยาบผักตบชวาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

สำหรับการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดของสารสกัดหยาบของผักตบชวาส่วนรากและใบ พบว่า สารสกัดหยาบของผักตบชวาส่วนรากและใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ นุจารีและพิศุทธิ์ (2527) ในการศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli Bacillus cereus Proteus vulgaris Staphylococcus aureus Pseudomonas fluorescene* และ *Pseudomonas auruginosa* ของสารสกัดใบผักตบชวา โดยใช้เมทานอลและน้ำเป็นตัวทำละลาย ที่ ความเข้มข้น 100 500 และ 1,000 ppm พบว่า ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด

จากการทดลองนี้ ที่ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ได้ และสารสกัดหยาบจากต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของทั้ง *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ดังนั้นจึงนำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ต่อไป

3. ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดดอกกกและต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

จากการคัดเลือกผลจากวิธี disc diffusion techniques ซึ่งพบว่าสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้ จึงทำการศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดดอกกกเท่ากับ 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการตกตะกอนของสารสกัด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่า *B. subtilis* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายขุ่นทั้งหลอด แสดงว่า *B. subtilis* สามารถเจริญได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า MIC ของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis*

ความเข้มข้นของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอล (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**การเจริญของ *Bacillus subtilis***
100	ตกตะกอน, สารละลายด้านบนใส
50	ตกตะกอน, สารละลายด้านบนใส
25	ตกตะกอน, สารละลายด้านบนใส
12.5	++
6.25	++
3.12	++
1.56	++
0.78	++
0.39	++
0.19	++
0.09	++
Positive control	++

หมายเหตุ : ++ หมายถึง จุลินทรีย์เจริญปานกลาง

การศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี macro broth dilution technique พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดต้นกก เท่ากับ 6.25 12.5 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการตกตะกอนของสารสกัด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่า *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นที่

น้อยกว่า 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายขุ่นทั้งหลอด แสดงว่า *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของทั้ง *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า MIC ของสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus*

ความเข้มข้นของสารสกัดต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**การเจริญของ *Bacillus subtilis***	**การเจริญของ *Staphylococcus aureus***
Positive control	++	++
100	ตกตะกอนเขียวเข้มดำ, สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอนเขียวเข้มดำ, สารละลายด้านบนใส
50	ตกตะกอนเขียว, สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอนเขียว, สารละลายด้านบนใส
25	ตกตะกอนเขียว, สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอนเขียว, สารละลายด้านบนใส
12.5	ตกตะกอนน้ำตาลเข้ม, สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอนน้ำตาลเข้ม, สารละลายด้านบนใส
6.25	ตกตะกอนน้ำตาลจาง, สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอนน้ำตาลจาง, สารละลายด้านบนใส
3.12	++	++
1.56	++	++
0.78	++	++
0.39	++	++
0.19	++	++
0.09	++	++

หมายเหตุ : ++ หมายถึง จุลินทรีย์เจริญปานกลาง

4. ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดหยาบต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล

เมื่อนำหลอดที่ไม่มีความขุ่นของแบคทีเรียจากการหาค่า MIC ของสารสกัดหยาบต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique ไปทำการ spread plate บนอาหาร TSA (trypticase soy agar) พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงไปนั้นแบคทีเรีย

สามารถเจริญได้ แสดงว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่า *Bacillus subtilisc* และ *Staphylococcus aureus* ได้ คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 ชนิดได้แก่ *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ของสารสกัดหยาบจากกกรังกาส่วนลำต้น และส่วนดอก และสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนรากและส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เอทานอล เมทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน โดยใช้วิธี disc diffusion techniques สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากส่วนดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ได้ และสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นกก ที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *Staphylococcus aureus*

จากการศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดหยาบจากดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ด้วยวิธี macro broth dilution technique พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดหยาบจากส่วนดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้(minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นกกที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่า ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่า *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ได้ คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากกกรังกามีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิด ดังนั้นจึงสามารถนำมาศึกษาต่อในเรื่องการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารตัวที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย และศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่ได้ ในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสวนดุสิต

เอกสารอ้างอิง

เกล้ายุคล สุจิรา. (2547). ผลของสารสกัดจากธูปฤาษี (Typha angustifolia Linn.) ตอการเจริญของพืช และการยับยั้งของเชื้อราสาเหตุโรคพืช. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร.

เกษร นันทจิต, ชนกพร เผ่าศิริ, จันทนา คำวรรณ, บรรยง คันธวะ, มนัสนันท์ บุญชู, สมพร ภูติยานันต์. (2544). ฤทธิ์ต้านจุลชีพของใบขันทองพยาบาท. กรุงเทพมหานคร : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

จันทนา กาญจน์กมล, รินรดา พรมศิริ และ รัชนก เขื้อเดชะ. (2005). การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากหน่อกะลา. 31st congress on science and technology of Thailand at Suranaree university of technology, 18-20 October 2005. [online] http://www.scisoc.or.th/stt/31/sec_b/paper/stt31_B0082.pdf.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. (2541). จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นภัสวรรณ์ หัตถกิจพาณิชกุล และ จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตรเจริญกุล. การสกัดสารจากใบกระเบาเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืช Xanthomonas campestris และ Fusarium oxysporum.
[online] http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec_o/paper/stt32_O2_O0020.pdf.

นุจารี ประสิทธิ์พันธ และพิศทุธิ์ เอกก่านตรง. (2527). การแยก การทำให้บริสุทธิ์ และการศึกษาองคประกอบทางเคมีของผกัตบชวา. รายงานผลการวิจยัประจำป 2527, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร.

สุภาพร พงษ์มณี และกัญณาญาภัค สนามพล. (2550). การสกัดสารจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 38(6), 54-57.

อาริยะ ไชยสวัสดิ์ ประสาท กิตตะคุปต์ และสุชาดา ไชยสวัสดิ์. (2550). การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรคเบื้องต้นของสารสกัดจากใบกระทิง. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33.