

ฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* จากสารสกัดมะเเ

Antimicrobial Activity of Mao Berry Extract Against *Staphylococcus aureus* And *Propionibacterium acnes*

หฤทัย ฐานันท์^{1*} และ นิสารัตน์ สัตว์นาโค²

Haruthai Thananant^{1*} and Nisarut Satnako²

^{1*}อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ หลักสูตรเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

²นักศึกษานิพนธ์หลักสูตรเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

^{1*} Lecturer of Chemistry Department, Science Faculty, Rangsit University, Phahonyothin Rd. Lakhok, Phatumthanee, Thailand 12000

² Student in Bachelor of Science (Applied Chemistry), Science Faculty, Rangsit University,

Phahonyothin Rd. Lakhok, Phatumthanee, Thailand 12000

*Corresponding author, E mail: haruthai.t@rsu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากผลมะเเดิบ ผลมะเเกิ่งสุก ผลมะเเสุก ใบมะเเ และเปลือกต้นมะเเ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายคือ 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล นำสารสกัดมะเเที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* โดยวิธี agar disc diffusion ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะเเที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะเเที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) จากการศึกษา พบว่าสารสกัดใบมะเเที่สกัดด้วย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ด้านการเจริญของ *S.aureus* มากที่สุด โดยค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone เท่ากับ 11±1.2 และ 11±1.0 mm ตามลำดับ ค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกต้นมะเเที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีค่าต่ำสุดเท่ากัน คือ 6.25 mg/mL ขณะที่ค่า MBC ของสารสกัดทั้งสองมีค่าเท่ากับ 25.0 และ 12.5 mg/mL ตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ในการด้านการเจริญของสารสกัดต่อเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* พบว่า สารสกัดจากใบมะเเที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอลมีฤทธิ์ด้านการเจริญของ *P.acnes* มากที่สุด โดยให้ค่า inhibition zone เท่ากับ 11±2.0 และ 10±1.2 mm ตามลำดับ และมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 6.25mg/mL

คำสำคัญ: มะเเ, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*

Abstract

This research aimed to study the antimicrobial activities of mao berry extracts. The raw fruit, the semi-mature fruit, the mature fruit, the leaves and the bark of mao berry were extracted using various solvents such as 95% ethanol and 98% methanol. The extracts were tested for antimicrobial activities against the growth of *S.aureus* and *P.acnes* by agar disc diffusion method. The minimum inhibition concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the extracts were also determined. The result showed that the 95% ethanol and 98% methanol extracts of mao berry leaves have antimicrobial activities against *S. aureus* with the inhibition zone of 11 ± 1.2 mm and 11 ± 1.0 mm, respectively. The MIC of both extracts were 6.25 mg/mL and the MBC of mao berry bark extracts were 25 mg/mL and 12.5mg/mL, respectively. The results of the antimicrobial activities against *P.acnes* showed that the diameter of inhibition zone of 95% ethanol and 98%methanol extracts of mao berry's leaves were 11 ± 2.0 and 10 ± 1.2 mm, respectively. The MBCMIC of 95% ethanol and 98% methanol extracts of mao berry leaves were equaled to 6.25 mg/mL.

Keywords: Mao berry, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*

1. บทนำ

การเป็นสิวเป็นปัญหาที่พบมากในช่วงวัยรุ่น กว่า 85% และพบบ้างในผู้ใหญ่ วัยรุ่นเป็นวัยที่ให้ความสำคัญต่อความสวยความงามเป็นพิเศษ การเป็นสิวจึงทำให้เกิดความกังวล ทำให้อาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ที่เป็นสิว ยาแผนปัจจุบันที่ใช้ในการรักษาสิวหลายขนานก่อให้เกิดผลข้างเคียง และราคาค่อนข้างแพง การนำสมุนไพรที่มีฤทธิ์รักษาสิวจึงนำมาใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบัน ซึ่งเป็นผลดีทั้งในด้านของราคาและความปลอดภัย (อ่ำไพ พฤติวรพงษ์, 2550)

สมุนไพรไทยหลายชนิดมีฤทธิ์ในการรักษาสิว ซึ่งสามารถนำมาใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบันได้ ซึ่งคุ้มค่าทั้งในด้านของราคาและความปลอดภัย ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น กระเทียม หัวหอมแดง ขมิ้นชัน ว่านหางจระเข้ เปลือกมังคุด เปลือก ซึ่งสมุนไพรเหล่านี้ช่วยในการควบคุมความมันของผิว ช่วยให้เซลล์หลุดลอกจากต่อมท่อไขมัน และระงับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดตุ่มหนองสิว (ญานี พงษ์ไพบูลย์,

2549) มีรายงานการวิจัยพบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุด เปลือกทับทิม และผลมะเมี๊ว มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว (วาริษา ไกลแก้ว, 2552)

เนื่องจากมะเมี๊ว เป็นพืชสมุนไพรและผลไม้ป่าของไทย ซึ่งเป็นพืชที่มีประโยชน์ทั้งต้น ตลอดทั้งปี มะเมี๊วจะออกผลปีละครั้ง ในปริมาณที่มาก และเป็นผลไม้ที่ไม่ค่อยนิยมรับประทาน เกษตรกรส่วนใหญ่ จึงนำผลมะเมี๊วมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ไวน์มะเมี๊ว และแยมมะเมี๊ว (พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ และคณะ, 2549)

ผู้วิจัยมีความสนใจในการนำส่วนต่างๆ ของมะเมี๊ว เช่น ผลมะเมี๊ว ใบมะเมี๊ว และเปลือกต้นมะเมี๊วมาทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes*

2. วัตถุประสงค์

2.1 ศึกษาตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัดส่วนต่างๆ ของมะเเฒ่า

2.2 ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* ของสารสกัดจากมะเเฒ่า โดยวิธี Agar disc diffusion

2.3 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* (Minimum Inhibition Concentration, MIC)

2.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

Staphylococcus aureus (ATCC 25923)

Propionibacterium acnes (DMST 1491)

3.2 พืชตัวอย่าง

ผลมะเเฒ่า (ตำบลบึงกาสาม อำเภอนองเสื่อ จังหวัดปทุมธานี)

ใบมะเเฒ่า และเปลือกมะเเฒ่า (ตำบลคงพลับ อำเภอบ้านหมี่ จังหวัดลพบุรี)

3.3 การทำพืชตัวอย่างให้แห้ง

ล้างใบมะเเฒ่า เปลือกมะเเฒ่า แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนผลมะเเฒ่าตัดจากก้านขั้ว อย่างละ 1 กิโลกรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4 การสกัดสารจากพืชตัวอย่าง

สกัดสารสำคัญจากพืชตัวอย่างด้วยวิธี maceration โดยการชั่งพืชตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้ว ได้แก่ ใบมะเเฒ่า เปลือกมะเเฒ่า และผลมะเเฒ่าอย่างละ 30 กรัม แช่ในตัวทำละลายได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 วัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำกากที่ได้ทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทุกวันเป็นเวลา 5 วัน รวมสารละลายที่สกัดได้ทั้งหมด ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารสกัดที่ได้เก็บในภาชนะปิดสนิท ป้องกันแสงที่อุณหภูมิ 2-8°C

3.5 การเตรียมสารละลายสารสกัดจากพืชตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดจากผลมะเเฒ่า 2.5 กรัม เติมน้ำ 5.0 % DMSO ปรับปริมาตรให้เป็น 5 มิลลิลิตร ได้สารละลายสกัดเข้มข้น 500 mg/mL สำหรับสารสกัดใบมะเเฒ่า และเปลือกต้นมะเเฒ่า ชั่งอย่างละ 1 กรัม แล้วเติมตัวทำละลาย 25 % DMSO ปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ได้สารละลายสกัดเข้มข้น 200 mg/mL

3.6 การหาค่าความเข้มข้นสูงสุดของ DMSO ที่เชื้อ *S.aureus* และ *P.acnes* เจริญเติบโตได้

ทำการทดลองใน Sterile microtiter plate 96 หลุม โดยปีปเอาอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth (TSB) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมที่ 2 ถึงหลุมที่ 12 ปีปเอาสารละลาย DMSO 100 % ลงในหลุมที่ 1 และ 11 (reagent control) หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นจึงทำการเจือจาง DMSO แบบ 2-fold serial dilution จนถึงหลุมที่ 10 จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ปริมาตร 100 µl ในหลุมที่ 1-10 และ 12 (growth control) แล้วนำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 18-

24 ชั่วโมง เปรียบเทียบความขุ่นกับ reagent control (หลุมที่ 11) และ growth control (หลุมที่ 12) โดยหลุมที่มีความขุ่นมากกว่า reagent control แสดงว่าการเจริญของแบคทีเรีย ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ทำการทดสอบเช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็น Brain heart infusion broth (BHI) และบ่มไว้ใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน anaerobic jar ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

3.7 การตรวจกรองฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.aureus* และ *P.acnes* ของสารสกัด ด้วยวิธี Disc diffusion

ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบสารละลายเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ที่ปรับความขุ่นให้มีปริมาณเชื้อประมาณ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วบิดให้แห้งพอหมาดๆ กับข้างหลอดทดลอง ทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น TSB ด้วยวิธี 3-way swab technique ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารแห้ง ใช้ปากคีบ หนึบกระดาษกรองปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จุ่มสารละลายสกัดจากมะเมี๊วที่เตรียมไว้วางบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้น แล้วกดเบาๆ ตรงตำแหน่งที่กำหนดไว้ รวมทั้งตัวทำละลาย 5%DMSO และ 25%DMSO ซึ่งใช้เป็นตัว Control นำจานเพาะเชื้อบ่มไว้ใน Incubator 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ทำการทดสอบเช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็น Brain heart infusion agar และบ่มไว้ใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน anaerobic jar วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ที่เกิดขึ้น

3.8 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* และ *P.acnes* โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method)

ทำการทดลองใน Sterile microtiter plate 96 หลุม ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมที่ 2 ถึงหลุมที่ 12 ปิเปตสารละลายสกัดจากมะเมี๊ว ลงในหลุมที่ 1 2 และ 11 (reagent control) หลุมละ 100 ไมโครลิตร แล้วทำการเจือจางสารละลายสกัดจากมะเมี๊วแบบ 2-fold serial dilution จนถึงหลุมที่ 10 จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในหลุมที่ 1-10 และ 12 (growth control) แล้วนำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เปรียบเทียบความขุ่นกับ reagent control (หลุมที่ 11) และ growth control (หลุมที่ 12) โดยหลุมที่มีความขุ่นมากกว่า reagent control แสดงว่ามีความเจริญของแบคทีเรีย ค่าความเข้มข้นของสารละลายที่น้อยที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบถือเป็นค่า MIC

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ทำการทดสอบเช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็น BHI และบ่มไว้ใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน anaerobic jar ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

3.9 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S.aureus* และ *P.acnes*

ใช้ loop แตะสารละลายในหลุมที่ไม่ขุ่นทุกหลุมจากการทดลองที่ 3.8 มา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สำหรับเชื้อ *S.aureus* บ่มเชื้อไว้ใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ทำการทดสอบเช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็น Brain heart infusion agar และบ่มไว้ใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ใน anaerobic jar อ่านผล โดยดูการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเพาะเชื้อ ความเข้มข้นของสารละลายที่น้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียถือเป็นค่า MBC

4. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

4.1 ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารจากพืชตัวอย่าง

ตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญจากมะเเฒ่าโดยวิธี Maceration ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล ได้สารสกัดหยาบมีค่าร้อยละของผลผลิตดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละของสารสกัดหยาบจากมะเเฒ่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

มะเเฒ่า	ร้อยละของสารสกัดหยาบ (% yield)			
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	95% เอทานอล	98% เมทานอล
ผลดิบ	2.47	2.82	28.62	30.85
ผลกึ่งสุก	2.06	2.62	53.92	34.02
ผลสุก	1.29	1.34	44.18	50.78
ใบ	3.03	6.19	32.4	34.07
เปลือก	1.87	1.57	28.75	37.41

ตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารจากมะเเฒ่าแล้วให้ร้อยละของสารสกัดหยาบจากมะเเฒ่าสูงคือ 95% เอทานอลและ 98% เมทานอล ดังนั้นจึงนำสารสกัดหยาบที่ได้ในตัวทำละลายทั้งสองไปทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* ต่อไป

4.2 การหาค่าความเข้มข้นสูงสุดของ DMSO ที่เชื้อ *S. aureus* และ *P. acnes* เจริญเติบโตได้

การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของตัวทำละลาย DMSO ที่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P. acnes* เพื่อนำไปใช้ในการ

ละลายสารสกัดจากมะเเฒ่าที่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำจากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย DMSO สูงสุดที่เชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* เจริญเติบโตได้ เท่ากับ 12.5 และ 1.56 %v/v ตามลำดับ ซึ่งจะนำไปใช้เป็นตัวทำละลายสารสกัดจากมะเเฒ่าในการทดลองต่อไป

4.3 การตรวจกรองฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* ของสารละลายสกัดจากมะเเฒ่า ด้วย Disc diffusion method

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* โดยวิธี Agar disc diffusion ของสารสกัดโดยละลายใน 5% DMSO ให้มีความเข้มข้นของสารสกัดคือ สารสกัดจากผลดิบ กึ่งสุก และสุก ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 500 mg/mL ส่วนสารสกัดจากใบและเปลือกละลายใน 25% DMSO ให้มีความเข้มข้น 250 mg/mL ทั้งนี้ความเข้มข้นของ DMSO ที่ใช้สูงกว่าความเข้มข้นสูงสุดของ DMSO ที่เชื้อ *S. aureus* และ *P.acnes* เจริญเติบโตเนื่องจากสารสกัดไม่ละลายที่ความเข้มข้นนี้ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* พบว่ามี inhibition zone ดังตารางที่ 2

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ของสารละลายสกัดจากมะเเฒ่าในตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าสารที่ได้จากการสกัดด้วย 95%เอทานอลและ 98% เมทานอล จากส่วนต่างๆของมะเเฒ่าให้ผลในการเกิด inhibition zone ต่อเชื้อ *S.aureus* ในลำดับจากมากไปน้อยได้แก่ สารสกัดจากใบ ผลดิบ เปลือก ผลกึ่งสุก และ ผลสุก ตามลำดับ

ในการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *P.acnes* ของสารสกัดจากมะเเฒ่า ตัวทำละลายที่ใช้เป็น DMSO ที่มีความเข้มข้นมีผลต่อการยับยั้ง และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ดังนั้นการพิจารณาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ

P.acnes จะเปรียบเทียบกับ inhibition zone ของ DMSO ถ้ามีค่ามากกว่า DMSO ที่เป็นตัวทำลายของ สารสกัดมะเมี แสดงว่าส่วนที่เกิด inhibition zone เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากสารสกัดของมะเมี

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone ต่อเชื้อ *S.aureus* และ *P.acnes* ของสารละลายสกัดจากมะเมีที่ความเข้มข้นต่างๆ

มะเมี	เส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean $\pm$ SD; มิลลิเมตร)			
	สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล		สกัดด้วยตัวทำละลาย 98% เมทานอล	
	<i>S.aureus</i>	<i>P.acnes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.acnes</i>
ผลดิบ* (500mg/mL)	9 $\pm$ 0.6	9.6 $\pm$ 0.6	9 $\pm$ 0.0	9 $\pm$ 0.6
ผลกิ่งสุก* 500mg/mL	8 $\pm$ 0.7	9 $\pm$ 1.0	8 $\pm$ 0.0	8 $\pm$ 0.6
ผลสุก* 500mg/mL	8 $\pm$ 1.4	10 $\pm$ 1.5	8 $\pm$ 0.7	9 $\pm$ 0.6
ใบ** 200 mg/mL	11 $\pm$ 1.2	11 $\pm$ 2	11 $\pm$ 1.0	10 $\pm$ 1.2
เปลือก** 200mg/mL	9 $\pm$ 0.6	9 $\pm$ 0.6	9 $\pm$ 0.6	9 $\pm$ 0.0
DMSO 5.0%v/v	ไม่เกิด	8 $\pm$ 0.6	ไม่เกิด	8 $\pm$ 0.6
DMSO 25 %v/v	ไม่เกิด	10 $\pm$ 1.0	ไม่เกิด	10 $\pm$ 1.0

*ใช้ DMSO 5.0%v/v เป็นตัวทำลาย

**ใช้ DMSO 25.0%v/v เป็นตัวทำลาย

จากการทดลอง พบว่าสารสกัดของมะเมีที่สกัดด้วย 95% เอทานอลมีเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone มากกว่า 5 หรือ 25 %v/v DMSO(ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ละลายสารสกัด) แสดงว่าสารสกัดของมะเมีน่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P.acnes* โดยสารสกัดจากใบมะเมีมีค่า inhibition zone มาก

ที่สุด รองลงมาคือผลสุก ,ดิบและกิ่งสุกตามลำดับ ส่วนเปลือกมีค่า inhibition zone ต่ำกว่า 5% DMSO แสดงว่าเปลือกมะเมีไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P.acnes*

4.4 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเมี (MIC) ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method)

หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเมีที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes* ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า MIC ของสารละลายสกัดมะเมีที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P. acnes*

มะเมี	ค่า MIC (% w/v)			
	ใน 95% เอทานอล		ใน 98% เมทานอล	
	<i>Saureus</i>	<i>P.acnes</i>	<i>Saureus</i>	<i>P.acnes</i>
ผลดิบ	15.7	7.8	15.7	7.8
ผลกิ่งสุก	125	31.3	31.3	15.7
ผลสุก	62.5	62.5	62.5	62.5
ใบ	12.5	6.25	12.5	6.25
เปลือก	6.25	-	6.25	-

จากผลทดลองความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกต้นมะเมี ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25 mg/mL เมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกับเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* พบว่าสารสกัดจากใบมะเมีที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25 mg/mL

4.6 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายสกัดจากมะเเฒ่า (MBC) ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes*

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า MBC ของสารละลายสกัดมะเเฒ่าที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes*

มะเเฒ่า	ค่าMBC (%mg/mL)			
	ใน95% เอทานอล		ใน98% เมทานอล	
	<i>S.aureus</i>	<i>P.acnes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.acnes</i>
ผลดิบ	31.3	7.8	31.3	7.8
ผลกึ่งสุก	125	31.3	62.5	15.7
ผลสุก	125	62.5	125	62.5
ใบ	25	6.25	50	6.25
เปลือก	25	-	12.5	-

จากผลการทดลอง สารสกัดจากเปลือกต้นมะเเฒ่า ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 25 และ 12.5 mg/mL ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากใบมะเเฒ่า ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากันคือ 6.25 mg/mL

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่สามารถยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกต้นมะเเฒ่าที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 6.25 และ 12.5 mg/mL ตามลำดับ ในงานวิจัยของพิมพร ลิลาพรพิสิฐและคณะ (2549) พบว่าค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด มีค่าเท่ากัน คือ 15.6 mg/ml และ งานวิจัย

ของวาริษา ไกล้แก้ว(2552) พบว่าค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า มีค่าเท่ากัน คือ 31.3 mg/ml ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่ได้จากงานวิจัยนี้

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่สามารถยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากใบมะเเฒ่า ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 6.25 mg/mL ในงานวิจัยของพิมพร ลิลาพรพิสิฐและคณะ, 2549 มีค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด มีค่าเท่ากัน คือ 62.5 mg/mL ส่วนงานวิจัยของวาริษา ไกล้แก้ว, 2552 มีค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า มีค่าเท่ากัน คือ 31.3 mg/mL ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่ได้จากงานวิจัยนี้

5. บทสรุป

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมะเเฒ่าที่ดีที่สุด คือ 95% เอทานอลและ 98% เมทานอล และความเข้มข้นของ DMSO ที่ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P. S.aureus* เท่ากับ 12.5 และ 1.56 %v/v ตามลำดับ

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่สามารถยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกต้นมะเเฒ่าที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 6.25 mg/mL ตามลำดับ

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเเฒ่าที่สามารถยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากใบมะเเฒ่า ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และ 98% เมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 6.25 mg/mL

6. ข้อเสนอแนะ

ควรหากกลุ่มสาระสำคัญในสารสกัดจากมะเมี และทดสอบหาสารที่ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *P.acnes*

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ร.ต.ท หญิง ผศ.ดร อัจฉราวรรณ ทองมี ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้คำแนะนำในการตรวจสอบฤทธิ์ด้านแบคทีเรียและแก้ไขต้นฉบับ

8. เอกสารอ้างอิง

ญานี พงษ์ไพบูลย์ และคณะ. (2549). การตั้งสูตรเจลดรักษาผิวจากธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่. เชียงใหม่.

ฐรวีตร ผดุงการ และคณะ. (2553). แผ่นแปะด้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ประภัสสร รักษาถาวร. (2548). การสกัดและออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่. เชียงใหม่.

พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ และคณะ. (2549). การศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิของสารสกัดและน้ำมันกของพืชไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่. เชียงใหม่.

วาริษา ไกล่แก้ว. (2552). ฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* จากสารสกัดเปลือกมังคุด เปลือกทับทิม และผลมะเมี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต. ปทุมธานี.

อำไพ พฤติพงษ์ และคณะ. (2550). การศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิ *P.acnes* และ *S.aureus* ของเมล็ดมะเมี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่. เชียงใหม่.