การตรวจหาฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร

Screening for Anti *Staphylococcus aureus* Activity of the Ethanol Extracts of Plants from Samaesarn Island

นายเสกสรรค์ พรหมนิช

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
กุมภาพันธ์ 2543

ลิขสิทธิ์เป็นของภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิต และคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาได้พิจารณาปัญหาพิเศษฉบับนี้แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการที่ปรึกษา

..... ประธาน
(อาจารย์กาญจนา หริ่มเพ็ง)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน
(อาจารย์กาญจนา หริ่มเพ็ง)

..... กรรมการ
(อาจารย์ปริยา นุพาสันต์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์พรรนิภา ศิริเพิ่มพูล)

ภาควิชาจุลชีววิทยาอนุมัติให้รับปัญหาพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิรดี ปิลันธนภาคย์)

หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประกาศคุณูปการ

ปัญหาพิเศษทางจุลชีววิทยาฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจากอาจารย์กาญจนา หริ่มเพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาซึ่งได้แนะนำแนวทางในการศึกษาค้นคว้า อาจารย์ปริยา นุพาสันต์ และรองศาสตราจารย์พรรนิภา ศิริเพิ่มพูล คณะกรรมการสอบซึ่งได้ให้ ข้อคิดเห็นและคำแนะนำตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในการทำปัญหาพิเศษเรื่องนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่อนุญาตให้เก็บตัวอย่างพืชที่ใช้ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ขอบคุณหน่วยสงครามพิเศษทางเรือ (นสร.) กองทัพเรือ ที่อำนวยความสะดวก และให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างพืช

ขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์สมสุข มัจฉาชีพ และเพื่อนๆ ภาควิชาชีววิทยา ที่ช่วยเก็บตัวอย่างพืช

ขอบคุณ ดร. ประภาพรรณ เตชะเสาวภาคย์ อาจารย์เอกรัตน์ ศรีสุข และเพื่อนๆ ภาควิชาเคมี ที่ช่วยสกัดสาร

ขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอบคุณนางสาววาริศา ศิริประทุม ที่ให้การสนับสนุนตัวอย่างเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ รวมทั้งเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดมา

ความดีของปัญหาพิเศษทางจุลชีววิทยาฉบับนี้ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ นางสาวเสาวณิต ผิวขาว และทุกๆ คนที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนด้านการศึกษามาโดยตลอด รวมทั้งคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้การอบรมสั่งสอนข้าพเจ้าตลอดมา

เสกสรรค์ พรหมนิช

กุมภาพันธ์ 2543

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หัวข้อวิจัย	**การตรวจหาฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร**
ชื่อนิสิต	**นายเสกสรรค์ พรหมนิช**
ภาควิชา	**จุลชีววิทยา**
ปีการศึกษา	2542

บทคัดย่อ

ในการตรวจหาฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากใบและลำต้นของพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสารจำนวน 14 ชนิด ซึ่งอยู่ในวงศ์ Ebenaceae Melastomataceae Capparaceae Guttiferae และ Rutaceae โดยวิธี disc diffusion และ broth dilution พบว่า มีส่วนสกัดที่ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้จำนวน 16 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนสกัดจากพืชในสกุล *Diospyros* จำนวน 6 ชนิด สกุล *Memecylon* จำนวน 7 ชนิด สกุล *Garcinia* จำนวน 2 ชนิด และสกุล *Cratocylum* อีกจำนวน 1 ชนิด โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 400 – 1,600 μg/ml อย่างไรก็ตามพบว่า มีส่วนสกัดจากพืชเพียง 8 ตัวอย่าง ที่มีฤทธิ์ฆ่า *S. aureus* ATCC 25923 ได้ โดยมีค่า MBC อยู่ในช่วง 800 – 3,200 μg/ml จากผลการทดสอบพบว่า ส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวามีฤทธิ์ฆ่า *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 800 μg/ml เมื่อนำส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวาไปตรวจหาฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 methicillin – resistant *S. aureus* (MRSA) จำนวน 15 isolates และ methicillin - susceptible *S. aureus* (MSSA) จำนวน 5 isolates โดยวิธี agar dilution พบว่า ส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่ที่ความเข้มข้น 800 1,600 และ 3,200 μg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้จำนวน 1 3 และ 10 isolates ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 800 และ 3,200 μg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA ได้จำนวน 1 และ 3 isolates ตามลำดับ ส่วนสกัดจากใบของพะวาที่ความเข้มข้น 800 และ 1,600 μg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA ได้จำนวน 2 และ 10 isolates ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1,600 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA ได้จำนวน 4 isolates

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Title	Screening for Anti *Staphylococcus aureus* Activity of the Ethanol Extracts of Plants from Samaesarn Island
Name	Mr.Seksan Phrommanich
Department	Microbiology
Acardemic Year	1999

Abstract

Stems and leaves of 14 plants of five families, Ebenaceae, Melastomataceae, Capparaceae, Guttiferae and Rutaceae from Samaesarn island, were extracted by 95% ethanol. Twenty eight of the plant ethanol extracts were tested for antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by standard disc diffusion and broth dilution methods. The anti *S. aureus* activity of sixteen extracts, six of *Diospyros* spp., seven of *Memecylon* spp., two of *Garcinia* sp. and one of *Cratocylum* sp., were demonstrated at various minimum inhibition concentrations (MIC). The range of MIC was 400 – 1,600 μg/ml. However, only eight of them demonstrated bacteriocidal activity at various minimum bacteriocidal concentrations (MBC), the range of MBC was 800 – 3,200 μg/ml. The leaf extracts of *Diospyros* sp. and *Garcinia* sp. (PTL1003 and PTL1012) showed the highest bacteriocidal activity with the MBC of 800 μg/ml. Accordingly, they were chosen for testing the antibacterial activity against 20 clinical isolated Staphylococci, 15 isolates of methicillin - resistant *S. aureus* (MRSAs) and 5 isolates of methicillin - susceptible *S. aureus* (MSSAs), by agar dilution method. The MIC of PTL1003 against 1, 3 and 10 MRSAs were 800, 1,600 and 3,200 μg/ml, respectively. The MIC of PTL1003 against 1 and 3 MSSAs were 800 and 3,200 μg/ml, respectively. The MIC of PTL1012 against 2 and 10 MRSAs were 800 and 1,600 μg/ml, respectively. The MIC of PTL1003 against 4 MSSAs was 1,600 μg/ml.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง.....ข
สารบัญภาพ.....ค
บทที่ 1 บทนำ.....1
บทนำ.....1
ความมุ่งหมายของการศึกษา.....2
ความสำคัญของการศึกษา.....2
สมมติฐานของการศึกษา.....2
ขอบเขตของการศึกษา.....2
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....4
รายละเอียดเกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา.....4
รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ.....10
รายละเอียดเกี่ยวกับการทดสอบความไว.....14
รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....17
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง.....20
อุปกรณ์.....20
วิธีดำเนินการทดลอง.....21
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....26
บทที่ 5 บทย่อ สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....30
บทย่อวิธีดำเนินการทดลอง.....30
สรุปผลการทดลอง.....30
อภิปรายผลการทดลอง.....31
ข้อผิดพลาดในการทดลอง.....34
ข้อเสนอแนะ.....34
เอกสารอ้างอิง.....36
ภาคผนวก.....38

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion.....26
2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution และ plate count agar.....27
3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923, MRSA และ MSSA ของส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวาด้วยวิธี agar dilution.....29

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่ (PTL1003) ด้วยวิธี disc diffusion.....65
2. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากลำต้นของพลองใบเล็กหนา (PTS1007) ด้วยวิธี disc diffusion.....65
3. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของนางดำ (PTL1001) ด้วยวิธี broth dilution.....66
4. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวา (PTL1012) ด้วยวิธี broth dilution.....66
5. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA และ MSSA โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่ (PTL1003) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml) ด้วยวิธี agar dilution.....67
6. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA และ MSSA โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวา (PTL1012) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml) ด้วยวิธี agar dilution.....68
7. ลักษณะลำต้น ใบ และดอก ของต้นมะพลับใหญ่.....69

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1

บทนำ

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดโรคกับส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น การติดเชื้อบริเวณผิวหนัง ทำให้เกิดฝี หนอง แผลพุพอง การติดเชื้อในกระแสเลือดอาจทำให้เกิดลิ้นหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ และ *S. aureus* บางสายพันธุ์สร้างสารพิษปนเปื้อนในอาหารทำให้ผู้รับประทานเกิดอาการอาหารเป็นพิษได้ (นันทนา, 2537.) ในปัจจุบัน *S. aureus* มีการดื้อต่อยาปฏิชีวนะเพิ่มมากขึ้น ที่สำคัญได้แก่ สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา methicillin (methicillin – resistant *S. aureus* : MRSA) ซึ่งมักจะดื้อต่อยาในกลุ่มเบตาแลคแทม และยากลุ่มอื่นๆอีกหลายชนิด การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* โดยสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ พบว่า สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้แก่ สารประเภท diterpenes สกัดได้จากพืช *Salvia sclarea* *Podocarpus nagi* และ *Croton sonderianus* โดยใช้ acetone methanol และ hexane เป็นตัวทำละลาย (Ulubelen *et al.*, 1994., Kubo, Muroi and Himejima, 1992., McChesney, Clark and Silveila, 1991.) สารประเภท deoxyshikonin สกัดได้จากพืช *Lithospermum erythrorhizon* โดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย (Honda, Sakakibara, Yazaki and Tabata, 1988.) สารประเภท triterpenoid glycosides สกัดได้จากพืช *Cephalaria transsylvanica* โดยใช้ methanol เป็น ตัวทำละลาย (Kimizigul, Anil, Ucar and Akdemir, 1996.) สารประเภท filicinic acid สกัด ได้จากพืช *Hypericum drummondii* โดยใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย (Jayasuriya, Clark and McChesney, 1991.) สารประเภท xanthatin สกัดได้จากพืช *Xanthium spinosum* โดยใช้ dichloromethane เป็นตัวทำละลาย (Ginesta-Peris, Gracia-Breijo and Primo-Yufera, 1994.) สารประเภท polyisoprenylbenzophenone สกัดได้จากพืช *Garcinia cola* โดยใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย (Madubunyi, 1995.) สารประเภท flavonone สกัดได้จากพืช *Sophora exigua* โดยใช้ acetone เป็นตัวทำละลาย (Iinuma *et al.*, 1994.) นอกจากนี้ยังมีสารสกัดที่ยังไม่ได้วิเคราะห์ประเภทซึ่งสกัดได้จากพืช *Goniothalamus aruensis* *Celasthrus monospermpides* *Garcinia* sp. และ *Terminalia archbodiana* (Mahasneh, Abbas and El-Oglas, 1996.) นับตั้งแต่อดีตจะเห็นได้ว่าสารต้านจุลชีพจากพืชมีมีบทบาทในการรักษาโรคติดเชื้อต่างๆ ในรูปแบบของสมุนไพรพื้นบ้านซึ่งมีมากมายหลายชนิด คาดว่าในอนาคตสารต้านจุลชีพชนิดใหม่จากพืช

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อจากจุลินทรีย์ เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งปัจจุบันจุลินทรีย์มีการดื้อต่อยาเพิ่มมากขึ้น

ในการศึกษานี้ได้นำส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร 14 ชนิด ซึ่งอยู่ในวงศ์ Ebenaceae Melastomataceae Capparaceae Guttiferae และ Rutaceae โดยสกัดสารจากลำต้นและใบรวมได้ 28 ตัวอย่าง มาทดสอบหาฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยวิธี disc diffusion และ broth dilution เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* (MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า *S. aureus* (MBC) จากนั้นจะนำส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีมาทดสอบฤทธิ์ต้าน methicillin – resistant *S. aureus* (MRSA) 15 isolates และ methicillin – susceptible *S. aureus* (MSSA) 15 isolates โดยวิธี agar dilution เพื่อหาค่า MIC

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการทดสอบขั้นพื้นฐานเพื่อหาฤทธิ์ต้านจุลชีพของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปศึกษา และพัฒนาให้เกิดประโยชน์ได้ต่อไปในอนาคต

ความมุ่งหมายของการศึกษา

เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร

ความสำคัญของการศึกษา

1.เพื่อให้ทราบถึงความสามารถในการต้าน *S. aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร

2.เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสารไปใช้พัฒนาเป็นยารักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* ได้ต่อไป

สมมติฐานของการศึกษา

ตัวอย่างพืชที่เก็บได้จากบริเวณหมู่เกาะแสมสารมีสารที่ออกฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ได้

ขอบเขตของการศึกษา

1.นำส่วนสกัดเอธานอลจากใบและลำต้นของพืช 14 ชนิด จำนวน 28 ตัวอย่าง มาทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 รายงานผลเป็นค่า MIC และ MBC (μg/ml)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.นำส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีมาทดสอบฤทธิ์ต้าน methicillin – resistant *S. aureus* (MRSA) และ methicillin - susceptible *S. aureus* (MSSA) รายงานผลเป็นค่า MIC (μg/ml)

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้ 4 หัวข้อ คือ

1.รายละเอียดเกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา

2.รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

3.รายละเอียดเกี่ยวกับการทดสอบความไว

4.รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1.รายละเอียดเกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา

1.1 นางดำ (Phengklai, 1987.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diospyros castanea* (Craib) Fletcher.

ชื่ออื่น ๆ ตะโกพนม ลางดำ หมาทับหมาก

จัดอยู่ในวงศ์ Ebenaceae

<u>ลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ไม้ต้นเล็กถึงขนาดกลาง ต้นเล็กมักคดงอแต่ต้นโตค่อนข้างตรง เปลือกแตกเป็นสะเก็ดสีเทาปนดำหรือค่อนข้างดำ เปลือกในสีน้ำตาล กระพี้สีน้ำตาลอ่อน แก่นสีน้ำตาลเข้ม ตามกิ่งอ่อนมีขนนุมทั่วไป ใบเป็นชนิดใบเดี่ยวเรียงสลับกัน รูปไข่ มน หรือป้อม ฐานใบป้าน ตรง หรืออาจเว้าเข้าเล็กน้อย ปลายใบมน สอบแคบ หรือบางทีก็หยักเป็นสองลอนกว้าง ๆ เนื้อใบค่อนข้างหนา และเกลี้ยงทั้งสองด้าน เส้นแขนงใบมี 6 - 10 คู่ ช่อดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่ต่างต้นกัน กลีบดอกและกลีบรองดอกมีอย่างละ 3 กลีบ ผลมน หรือกลม ผิวหนา แข็ง เกลี้ยง หรือมีขนนุ่มตอนใกล้ ๆ โคนผล ปลายผลเป็นติ่งหนามแหลมสั้น ๆ กลีบจุกมี 3 กลีบ

นิเวศน์วิทยา พบขึ้นตามป่าแดง หรือป่าเหล่า ที่สูงจากระดับน้ำทะเลระหว่าง 20 – 400 เมตร ตามภาคต่าง ๆ ของประเทศ เว้นภาคตะวันออกเฉียงใต้และภาคใต้ และมีแพร่พันธุ์เข้าไปใน ลาว และกัมพูชา

ประโยชน์ เนื้อไม้ทำเสาเข็ม ทำด้ามเครื่องมือกสิกรรม ไม้ถือ ผลใช้ย้อมเครื่องมือประมง และย้อมผ้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 **ลำบิดดง** (Phengklai, 1987.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diospyros filipendula* Pierre ex Lec.

ชื่ออื่นๆ ก้านร่ม

จัดอยู่ในวงศ์ Ebenaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ต้นขนาดเล็ก เปลือกนอกสีดำแตกเป็นสะเก็ดเล็กๆ ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปขอบขนาน มน เนื้อใบบาง มีขนนุ่มตามเส้นกลางใบทั้งสองด้าน ดอกเป็นดอกช่อ ตัวผู้และตัวเมียอยู่ต่างต้นกัน โคนกลีบเลี้ยงเชื่อมติดเป็นรูปถ้วยปากกว้าง กลีบดอกรูปแจกันทรงสูง ผลรูปร่างมน หรือกลม มีกลีบจุกผลที่มักแยกเป็นกลีบจากโคนจุก

ความสำคัญ -

1.3 **มะพลับใหญ่** (Phengklai, 1987.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diospyros malabarica* (Desv.) Kostel.var.*siamensis* (Hochr.) Phengklai

จัดอยู่ในวงศ์ Ebenaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูงได้ถึง 15 เมตร เปลือกต้นสีเทาเข้ม ใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปวงรี แกมขอบขนาน กว้าง 2 - 10 ซม. ยาว 7 - 32 ซม. โคนใบและปลายใบมนถึงแหลม ผิวใบเกลี้ยง ก้านใบสั้น ดอกแยกเพศอยู่คนละต้น ดอกตัวผู้อยู่คนละต้น ดอกตัวผู้ออกเป็นช่อสั้น ๆ ที่ซอกใบ มีดอกย่อย 3 - 9 ดอก ดอกตัวเมียออกที่ซอกใบ มีดอกย่อย 1 - 5 ดอก กลีบดอกสีเหลือง ผลสดรูปไข่ เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 - 7.5 ซม. เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือส้ม มีกลีบเลี้ยงติดอยู่ มีเมล็ด 4 - 8 เมล็ด

สรรพคุณ

ราก	แก้ลงท้อง แก้ฝีเปื่อยพัง แก้บวม แก้ตัวพยาธิ แก้ตกโลหิต
เปลือกต้น	บำรุงธาตุ เจริญอาหาร แก้ท้องร่วง แก้โรคกามตายด้าน ขับผายลม
เนื้อไม้	บำรุงธาตุ เจริญอาหาร แก้ท้องร่วง ขับผายลม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ยาง	แก้บิด แก้ท้องร่วง แก้แผลน้ำกัดเท้า
ดอก	แก้ลงท้อง แก้ฝีเปื่อย แก้บวม แก้ตัวพยาธิ แก้ตกโลหิต
ผล	แก้ลงท้อง แก้ฝีเปื่อย แก้บวม แก้ตัวพยาธิ แก้ตกเลือด สมานแผล แก้ท้องร่วง

1.4 มะเกือกา (Phengklai, 1987.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diospyros Rubra* Lec

ชื่ออื่นๆ ไฟ สล่างตัวผู้

จัดอยู่ในวงศ์ Ebenaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ต้นขนาดเล็ก ลำต้นมักคดงอ เปลือกดำปนเขียวและแตกเป็นร่องเล็กๆ ใบเดี่ยวออกเรียงสลับ รูปขอบขนานแกมรูปไข่และรูปหอก โคนใบสอบแคบหรือโค้งมน เนื้อใบค่อนข้างหนา หลังใบเกลี้ยง เส้นใบย่อยแบบขั้นบันได ดอกเป็นดอกช่อสั้นๆ ผลป้อม โต ผลแก่จัดมีสีแดง ปลายผลมักเป็นติ่ง หนามแหลมสั้น

ความสำคัญ -

1.5 เม่าเหล็ก (Phengklai, 1987.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diospyros toposia* Ham. Var *topoia* Ham

จัดอยู่ในวงศ์ Ebenaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ต้นขนาดกลาง สูงไม่เกิน 20 เมตร เปลือกสีดำอมเขียว ค่อนข้างเรียบ เปลือกในสีเหลืองอ่อน ส่วนกระพี้สีขาว ตามกิ่งอ่อนแรก ๆ มีขนสาก ๆ ยอดอ่อนมีขนแน่น ใบรูปขอบขนานหรือขอบขนานแกมรูปหอก โคนใบทู่ มนหรือป้อม ปลายใบสอบเรียวแล้วหยักคอดเป็นติ่งทู่ ๆ เนื้อใบหนาเป็นแผ่นหนังและเกลี้ยงเป็นมันทั้งสองด้าน ใบแห้งออกสีเหลืองอ่อน เส้นแขนงใบมี 12 – 16 คู่ เส้นใบย่อยแบบร่างละเอียด ช่อดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่ต่างต้นกัน ผลรูปไข่ โต เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 – 5 ซม. มีกลีบ 4 กลีบ ไม่ติดกัน

นิเวศน์วิทยา พบขึ้นตามป่าดิบชื้นทางภาคตะวันตกเฉียงใต้และภาคใต้ของไทย ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 100 – 700 เมตร นอกจากนี้ยังแพร่พันธุ์อยู่ในอินเดีย ศรีลังกา เวียดนาม เขมร และมาเลเซีย

ประโยชน์ ผลใช้เบื่อปลา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.6 พลองใบรี

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Memecylon plebejum* Kurz. Var. *ellipsoideum* Craib.

ชื่ออื่นๆ เหมือดจี้ดง

จัดอยู่ในวงศ์ Melastomataceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น เกือบทุกส่วนค่อนข้างกลม ใบแตก 4 กิ่ง ใบย่อยแยกออกมา 4 ใบ รูปไข่หรือรูปหอก มีก้านใบสั้น ใบเด่นชัดเป็นรูปหัวใจถึงรูปปลายแหลม ก้านใบย่อยยาว มีช่อดอกแบบ umbel ก้านดอกสั้น ส่วนมากออกดอกเป็นรูประฆัง โค้งเล็กน้อยเป็น 4 หยัก เส้นกลางบาง

ความสำคัญ -

1.7 พลองใบเล็กหนา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Memecylon edule* Roxb.var.*orientale* Craib

ชื่ออื่น ๆ พลองดำ พลองเหมือด เหมียด เหมือดแอ

จัดอยู่ในวงศ์ Melastomataceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น สูง 5-10 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปวงรีแกมรูปไล่แกมขอบขนาน กว้าง 2 - 3 ซม. ยาว 3-5 ซม. ดอกช่อออกเป็นกระจุกที่ซอกใบ กลีบดอกสีม่วง ฐานรองดอกรูประฆัง ผลสด รูปทรงกลม

ยาพื้นบ้าน ใช้รากผสมกับสมุนไพรอื่น ต้มน้ำดื่ม แก้ประดง (อาการโรคผิวหนัง เป็น เม็ดผื่น คล้ายผด คันมากมักมีไข้ร่วมด้วย) ต้น ผสมกับแก่นพลับพลา ต้นกำแพง 7 ชั้น ต้นสบู่ขาว แก่นจำปา แก่นโมกหลวง ต้มน้ำดื่ม แก้หืด ต้นและใบ ต้มน้ำดื่ม ครั้งละ 1 แก้ว วันละ 2 ครั้ง หลังอาหาร เช้า เย็น ช่วยขับปัสสาวะ

1.8 พลองใบใหญ่ (เต็ม, 2535.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Memecylon ovatum* J.E.Smith

จัดอยู่ในวงศ์ Melastomataceae

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ขนาดเล็กแตกกิ่งต่ำ เปลือกนอกตกสะเก็ด เป็นแผ่นบางๆ แตกเป็นร่องตามทางยาว ใบป้อมรูปไข่ ฐานค่อนข้างกว้างหรือเป็นรูปมนกว้าง ปลายใบแหลมเป็นติ่ง ขอบใบเรียบ แผ่นใบหนาคล้ายหนัง ดอกช่อแตกกิ่งสั้นๆอยู่บนก้านช่อยาวเรียว อยู่รวมเป็นกระจุกบนกิ่ง ดอกสีม่วง สีน้ำเงิน หรือสีแดงเรื่อๆ แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม กลีบดอก 4 กลีบ ผลกลม สีชมพูอมแดง เมื่อสุกมีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ

ความสำคัญ เนื้อไม้ใช้ทำด้ามเครื่องมือเครื่องใช้ ผลเมื่อสุกรับประทานได้

1.9 **พลองใบเล็กบาง**

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Memecylon pauciflorum* Blume

จัดอยู่ในวงศ์ Melastomataceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น เกือบทุกส่วนมีลักษณะกลม ใบเป็นรูปไข่หรือรูปไข่กว้าง ปลายใบมน ใบเรียบ มีขนอ่อนปกคลุมด้านบน ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อแบบ umbel ออกตามซอกใบ

1.10 **ชิงชี่** (วุฒิ, 2540.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Capparis micracantha* A.DC.

ชื่ออื่น ๆ ชินชี่ พญาจอมปลวก แสมซอ จิงโจ้ กระดาษขาว

จัดอยู่ในวงศ์ Capparaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มหรือไม้ต้น บางทีกิ่งเลื้อย ลำต้นสีเทา กิ่งคดไปมา ที่โคนกิ่งและก้านล้อมรอบด้วยใบคล้ายเกร็ด ใบรูปไข่ ขอบขนานหรือรูปหอก ปลายใบมนกว้างหรือกลม โคนใบป้านกิ่งรูปหัวใจ หรือสอบแหลม เนื้อใบค่อนข้างมัน ดอกเรียงเป็นแถวอยู่เหนือง่ามใบ มีแหล่งน้ำหวานสีเหลือง เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม

สรรพคุณ

ใบ	แก้โรคผิวหนัง แก้ไข้ฝีกาฬ แก้ตะคิว
ดอก	แก้มะเร็ง
ลูก	แก้โรคในลำคอ
ต้น	แก้ฟกบวม
ราก	แก้โรคที่เกิดในท้อง ขับลมให้ซ่านออกมา แก้ไข้ร้อนใน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.11 **ติ้วเกลี้ยง**

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cratoxylum formosum* (Jack) Dyer.var.*formosum* (Jack.) Dyer.

ชื่ออื่นๆ ติ้วขาว

จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae

<u>ลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ไม้ยืนต้นมีหนามแข็งตามลำต้นเมื่ออายุยังน้อย เปลือกสีน้ำตาลปนแดง อ่อนเป็นสะเก็ด เปลือกใบสีน้ำตาลแดง มีน้ำยางสีเหลือง ใบรูปมน โคนใบและปลายใบสอบ หลังใบเป็นมัน สีเข้มกว่าท้องใบ ใบแก่สีแสดหรือสีแดง ดอกสีชมพูหรือสีขาว ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ หรือเป็นกระจุกตามง่ามใบ ผลรูปกระสวย ผิวแข็ง สีน้ำตาลจนถึงสีดำ แก่จัดจะแตกตามรอยประสานเป็น 3 แฉก

ความสำคัญ

1.12 **พะวา**

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Garcinia speciosa* Wall.

ชื่ออื่น ๆ สารภีป่า ชะมวง มะดะขี้นก ขวาด กวักไหม หมักกวัก

จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae

<u>ลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ไม้ยืนต้นขนาดกลาง เนื้อไม้สีน้ำตาลแดง ใบดกหนาทึบ ใบรูปมน เส้นแขนงใบถี่ ใบแห้งสีน้ำตาลแดง หลังใบขาว ดอกช่อออกตามปลายกิ่ง กลีบเลี้ยง 4 กลีบ ดอก 4 ดอกรูปไข่ ผลกลมหรือรี ผลแก่ออกสีแดงแก่ หรือแดงปนม่วง

ความสำคัญ ใช้ทำเสา เสาเข็ม กระดานพื้น

สรรพคุณ (วิทย์, 2531.)

ใบ ใช้ใบแห้งนำไปต้มน้ำกิน ใช้เป็นยาระบายอ่อนๆ

ดอก ใช้แห้งพอประมาณ นำไปต้มน้ำกินรักษาอาการไข้ ทำให้เจริญอาหาร รักษาลม และโลหิตพิการ

1.13 **มะนาวผี**

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Atalantia monophylla* Corr.

ชื่ออื่น ๆ กรูดผี กะนาวผี ขี้ติ้ว จ๊าลิว นางกาน มะลิว

จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้พุ่มขนาดใหญ่หรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีหนามแข็งออกตามซอกกิ่ง ใบเป็นใบประกอบเรียงตัวแบบสลับ ใบย่อยรูป elliptic หรือ ovate-oblong ขอบใบเรียบ ปลายใบเว้าเป็น 2 หยัก แผ่นใบหนาและเหนียว สีเขียว ก้านใบสั้น ดอกอยู่เป็นกลุ่มแบบ receme สั้นๆ ขึ้นตามซอกใบ มีขนปกคลุมในระยะแรก กลีบเลี้ยง 3 - 5 แฉก กลีบดอก 3 - 5 กลีบ รูปรีรยาว ขอบเรียบเรียงซ้อนกัน ผลสดแบบ berry ค่อนข้างกลม

ความสำคัญ -

1.14 มะกรูดผี

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Atalantia trimera* (O.Liv.)Bu.

จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้รอเลื้อยหรือไม้เลื้อย มีหนามแข็งออกตามซอกกิ่ง เป็นหนามเดี่ยวๆ ใบรูป oblong ขอบใบเรียบ แผ่นใบหนาและเหนียว ตามใบพบต่อมน้ำมันกระจายอยู่ทั่วไป ยังไม่พบดอก ผลแบบ berry ผิวค่อนข้างเกลี้ยง เปลือกหนา

ความสำคัญ -

2.รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

Staphylococcus aureus

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม อยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (บัญญัติ, 2534.) จัดอยู่ในวงศ์ Micrococcaceae เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาทุกชนิด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 4.8 – 7.4 เชื้อสร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าปกติ เจริญบนอาหารวุ้นมีลักษณะกลมนูน สีเหลืองทองเป็นมัน ขนาด 1 – 2 มม. มักพบบริเวณผิวหนังและเยื่อบุเมือก หรือบริเวณลำคอส่วน oropharynx และ nasopharynx สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อและเกิดโรคกับทุกๆ ส่วนของร่างกาย เนื่องจากสามารถสร้างสารพิษและเอนไซม์ที่สำคัญได้หลายชนิด (นันทนา, 2537.)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การทำให้เกิดโรค การสร้างสารพิษ และเอนไซม์ของ *S. aureus*

การที่ *S. aureus* สามารถทำให้เกิดโรคได้นั้นเนื่องจากเชื้อนี้สามารถสร้างสารพิษและเอ็นไซม์ได้หลายชนิด ซึ่งออกฤทธิ์แตกต่างกัน เชื้อบางสายพันธุ์อาจสร้างเพียงบางชนิดเท่านั้น สารเหล่านี้เองที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ *S. aureus* ในการทำให้เกิดโรค ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโต และทำลายเนื้อเยื่อของผู้ป่วย

สารพิษ

1.Exotoxins (Hemolysins หรือ Staphylolysins)

เป็นสารพิษที่เชื้อปล่อยออกมานอกเซลล์ ถูกทำลายด้วยความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน

Alpha hemolysin เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่าย และทำลายเกร็ดเลือด (platelets) ได้ เมื่อนำไปฉีดเข้าผิวหนังกระต่ายทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรง และทำให้เนื้อเยื่อส่วนนั้นเน่าตาย หากฉีดเข้ากระแสเลือดจะทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้ (นันทนา, 2537.) นอกจากนี้ยังทำให้เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสลายตัว ทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัวโดยเฉพาะกล้ามเนื้อของหลอดเลือดเล็กๆ ซึ่งมีผลทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเกิดการเน่าตาย ทำให้เกร็ดเลือดเกิดการจับกลุ่มและสามารถทำลายเม็ดเลือดขาว เซลล์อื่นๆ รวมทั้ง lysozome ด้วย มีผู้ให้ความเห็นว่าผู้ป่วยที่ตายจากการติดเชื้อ *S. aureus* ในกระแสเลือดนั้นมีอาการหลายอย่างที่บ่งชี้ว่าน่าจะเป็นผลมาจาก alpha hemolysin นั่นเอง (โสภณ และคณะ, 2524.)

Beta hemolysin สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงของแกะ แต่ไม่ทำลายเม็ดเลือดแดงของกระต่าย จะเห็นคุณสมบัตินี้เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อบน Sheep Blood agar เท่านั้น

Delta hemolysin เป็นพวก phospholypase มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว และเนื้อเยื่ออื่นๆ อีกหลายชนิด

Gamma hemolysin มีฤทธิ์น้อยกว่าชนิดอื่น ไม่ค่อยมีความสำคัญในการทำให้เกิดโรค (นันทนา, 2537.)

2.Leukocidin (Panton – Valentine Leukocidin)

ออกฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวของสัตว์หลายชนิด ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน ถูกทำลายด้วยความร้อนง่ายกว่า exotoxin บทบาทในการทำให้เกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด (นันทนา, 2537.)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.Enterotoxins

S. aureus บางสายพันธุ์สามารถสร้าง enterotoxin ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ เชื้อสามารถสร้างสารดังกล่าวได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งแข็งกึ่งเหลว ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ enterotoxin เป็นโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 3.5×10^4 กิโลดาลตัน ทนต่อความร้อน 100 องศาเซลเซียส ได้นานประมาณ 30 นาที ทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร เป็นสาเหตุของอาการอาหารเป็นพิษในคน

4.Exfoliatin (Epidermolysin)

เป็นสารพิษที่พบมาไม่นานนี้ ส่วนใหญ่สร้างโดย *S. aureus* phage type 2 สารพิษดังกล่าวทำให้ชั้น epidermis และชั้น dermis แยกออกจากกันเกิดการหลุดลอกของหนังกำพร้าทั่วร่างกาย (scalded skin syndrome) โรคนี้พบเฉพาะในเด็ก (นันทนา, 2537.)

เอนไซม์

1.Coagulase

เป็นเอนไซม์ที่ทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ มี 2 ชนิด คือ

bound coagulase (clumping factor) เชื่อว่าเป็น receptor ที่จะมีปฏิกิริยากับ fibrinogen ในพลาสมา ทำให้เลือดแข็งตัว

free coagulase เอนไซม์นี้จะทำให้พลาสมาแข็งตัว ทำให้ร่างกายของโฮสต์ไม่สามารถกำจัดโดยเม็ดเลือดขาวได้ โดยที่เอนไซม์จะไปจับกับ coagulase reacting factor (CRF) ในพลาสมา ทำให้โปรทรอมบิน (prothrombin) เปลี่ยนไปเป็นทรอมบิน (thrombin) และไฟบริโนเจน (fibrinogen) เปลี่ยนไปเป็นไฟบริน (fibrin) ทำให้เลือดแข็งตัว ทำให้เม็ดเลือดขาวไม่สามารถจับทำลายเชื้อได้ (นันทนา, 2537.)

2.Penicillinase (Beta – lactamase)

เป็นเอนไซม์ดื้อยากลุ่มเพนนิซิลลิน โดยที่เอนไซม์นี้จะทำลาย beta – lactam ring ของยาดังกล่าว ทำให้คุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียหมดไป (โสภณ และคณะ, 2524.)

3.Hyaluronidase

เป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการบุกรุกเซลล์เนื้อเยื่อได้ดี (spreading factor) เนื่องจากเอนไซม์นี้จะไปทำลาย hyaluronic acid ซึ่งเป็นสารเชื่อมเซลล์ให้ติดต่อกันเป็นเนื้อเยื่อ (นันทนา, 2537.)

4.Staphylokinase หรือ fibrinolysin

เป็นเอนไซม์ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบพลาสมิโนเจนในพลาสมา ซึ่งมีคุณสมบัติละลายสารไฟบรินที่แข็งตัว (โสภณ และคณะ, 2524.)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5.Lipase หรือ Esterase

เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่ค่อยพบในแบคทีเรียชนิดอื่นๆ การที่ *S. aureus* อาศัยอยู่ตามต่อมไขมันและรูขุมขนในผู้ที่เป็นพาหะมีเชื้อตามผิวหนังนั้น เป็นเพราะเชื้อสามารถใช้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้สลายสารไขมันให้เป็นแหล่งของอาหารและคาร์บอนนั่นเอง นอกจากนั้นเอนไซม์นี้ยังมีคุณสมบัติในการทำลายฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารไขมันให้หมดไปด้วย ทำให้ *S. aureus* สามารถผ่านผิวหนังที่ไม่มีบาดแผลเข้าไปทำให้เกิดโรคได้ เช่น การเป็นฝี (โสภณ และคณะ, 2524.)

6.Deoxyribonuclease (Dnase)

มีคุณสมบัติย่อย DNA ซึ่งสลายมาจากเม็ดเลือดขาว และเป็นส่วนที่ทำให้หนองมีความข้นเหนียว (โสภณ และคณะ, 2524)

Methicillin – Resistant *S. aureus* (MRSA)

ในปัจจุบัน MRSA เป็นเชื้อสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่สำคัญมากที่สุดตัวหนึ่ง เนื่องมาจาก (1) เชื้อมีอุบัติการเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ (2) เชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด (3) ยังไม่มีวิธีการที่ได้ผลในการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อ ปัจจัยทั้ง 3 ประการทำให้อัตราการป่วย อัตราการตาย และค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคสูงขึ้นเรื่อยๆ ในปัจจุบันพบว่า MRSA มีหลายชนิด และแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะแตกต่างกัน มีการควบคุมทางพันธุกรรมต่างกัน และมีการระบาดต่างกัน สามารถจำแนก MRSA ได้หลายชนิด ดังนี้

1."True" MRSA

เป็นเชื้อ MRSA ที่พบได้บ่อยที่สุดทางคลีนิค เชื้อนี้มีการดื้อต่อ methicillin โดยมี MIC > 16 μg/ml และมี MIC ของ oxacillin เป็น ≥ 4 μg/ml เชื้อ "true MRSA" แบ่งเป็น 2 แบบคือ

(1) สายพันธุ์ heterogeneous หมายถึง MRSA ที่มีการแสดงออกของการดื้อต่อ methicillin เพียง 10^{-4} ถึง 10^{-7} ตัว/cfu เท่านั้น ในระยะแรกที่มีการพบเชื้อมีการพบสายพันธุ์แบบนี้มากในธรรมชาติโดยเฉพาะในต่างประเทศ ในระยะหลัง (ค.ศ.1986 เป็นต้นมา) มีการพบสายพันธุ์แบบนี้น้อยลง แต่พบสายพันธุ์ homogeneous มากขึ้น

(2) สายพันธุ์ homogeneous หมายถึง MRSA ที่มีการแสดงออกของการดื้อต่อ methicillin อย่างสม่ำเสมอ ในระยะแรกพบสายพันธุ์เหล่านี้ไม่ค่อยบ่อย แต่ในระยะหลังพบได้บ่อย ในประเทศไทยพบสายพันธุ์นี้ได้บ่อยมากในปัจจุบัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.Borderline – resistant *S. aureus* (BORSA)

เชื้อ BORSA มี MIC ของ methicillin เป็น 4 μg/mL และ MIC ของ oxacillin เป็น ≤ 2 μg/ml เชื้อ BORSA ไม่มี PBP 2a และมีการผลิตเอนไซม์เบตาแลคตาเมสที่มากเกิน (hyperproduced betalactamase) เชื้อ BORSA มีอุบัติการทางคลีนิคต่ำและยังไม่มีปัญหาเรื่องยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาเท่ากับ "true MRSA"

3.Modified – resistant *S. aureus* (MODSA)

เชื้อ MODSA มี MIC ของ methicillin ของ oxacillin อยู่ในระดับเดียวกับ BORSA แต่ไม่ผลิตเอ็นไซม์เบตาแลคตาเมสที่มากเกินไปและไม่สร้าง PBP 2a โดยทั่วไปยังไม่ทราบอุบัติการณ์ของเชื้อ MODSA

4.Methicillin – aminoglycoside – resistant *S. aureus* (MARSA)

เชื้อ MARSA ดื้อต่อ methicillin และ aminoglycoside เชื้อ MRSA ที่ตรวจพบทางห้องปฏิบัติการบางส่วนอาจเป็น MARSA แต่ส่วนใหญ่ยังไม่ทราบอุบัติการที่แน่นอนเนื่องจากไม่ค่อยมีการทดสอบความไวต่อ aminoglycoside โดยทั่วไปเชื้อ MARSA หมายถึง *S. aureus* สายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ aminoglycoside modifying ชนิดที่เรียกว่า bifunctional enzyme โดยมีเอนไซม์ AAC (6') และ APH (2'') ร่วมกับการผลิต PBP 2a

3.รายละเอียดเกี่ยวกับการทดสอบความไว

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (นันทนา, 2537.)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (μg/ml) หรือหน่วยสากล (IU, International unit) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบ เพื่อดูความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ ในการทดสอบความไวเพื่อหาค่า MIC ยาควรได้รับการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่าไปเรื่อยๆ (2 – fold serial dilution)

Minimal Lethal Concentration (MLC) (นันทนา, 2537.)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ สำหรับกรณีที่เชื้อที่นำมาทดสอบเป็นแบคทีเรีย อาจใช้คำเฉพาะเจาะจงว่าคือ MBC (minimal bactericidal concentration) ยาต้านจุลชีพมีวิถีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย แบคทีเรียจะมีค่า MIC และ MLC เหมือน หรือใกล้เคียงกัน (ไม่เกินหนึ่งหรือสองความเข้มข้น) ยกเว้นแบคทีเรียที่ถูกฆ่าทำลายยาก เช่น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Enterococci เป็นต้น ซึ่งค่า MBC ที่ได้อาจสูงกว่า MIC มาก ส่วนยาที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นชนิดยับยั้ง จะให้ค่า MLC สูงกว่า MIC หลายๆ ความเข้มข้น อย่างไรก็ดีอัตราส่วนของ MBC/MIC มักแปรผันตามชนิดของเชื้อทดสอบ

วิธีทดสอบความไว

การทดสอบความไวของเชื้อมีหลายวิธี หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรีย สามารถทำการทดสอบได้ทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (agar medium) โดยมีวิธีการอยู่ 3 รูปแบบ คือ

1. Broth dilution susceptibility test
2. Agar dilution susceptibility test
3. Agar diffusion test

การจะเลือกใช้วิธีทดสอบรูปแบบใดขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง ในทำนองเดียวกัน วิธีการแต่ละรูปแบบก็มีปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการทดสอบด้วย กลุ่มเชื้อที่นิยมทดสอบความไวต่อยา คือ แบคทีเรีย เพราะเป็นกลุ่มที่มีปัญหาของเชื้อดื้อยาค่อนข้างมาก ขณะที่การทดสอบความไวของเชื้อราไม่นิยมทำเป็นงานประจำ นอกจากในงานวิจัย หรือรายที่มีปัญหาในการรักษาอย่างมาก

การเลือกรูปแบบวิธีทดสอบ (มาลิน, 2539.)

การจะเลือกรูปแบบใดเพื่อการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างที่สำคัญ คือ

1.ลักษณะของงาน เช่น เป็นงานวิจัย งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นประจำ หรือนาน ๆ ทำครั้ง งานที่ต้องรู้ค่า MBC ฯลฯ ตัวอย่างเช่น งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่นานๆ ทำครั้ง และแต่ละครั้งมีจำนวนเชื้อที่ทดสอบน้อยจะนิยมใช้ agar diffusion test (เพื่อตัดปัญหาต้องเตรียม และเก็บสารละลายของตัวยาที่ต้องใช้ใน dilution test) ขณะที่งานที่ต้องรู้ค่า MBC ของ ตัวยาจะนิยมใช้ broth dilution test เป็นต้น

2.ชนิดของเชื้อทดสอบ เช่น เชื้อที่เจริญช้า หรือต้องการเลือกเฟ้นใช้อาหารมาก (fastidious microorganisms) จะนิยมใช้ broth dilution test ขณะที่เชื้อซึ่งต้องเจริญบนเลือด หรือไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) มักใช้ agar dilution test หรือเชื้อที่มีอัตราการเจริญไม่คงที่ ควรเลือก dilution test

3.จำนวนเชื้อทดสอบ เช่น มีจำนวนเชื้อทดสอบมากและต้องการหาค่า MIC จะนิยมทำ agar dilution test

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.ชนิดของยาทดสอบ เช่น ตัวยาที่แพร่กระจาย (diffuse) ในวุ้นไม่ดี จะนิยมใช้ dilution test

5.จำนวนยาทดสอบ เช่น มีตัวยาจำนวนมาก แต่เชื้อมีจำนวนน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test

Dilution Susceptibility Test

ทั้ง broth และ agar dilution susceptibility test มีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ยาจะถูกเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงใน หรือบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาความเข้มข้นต่าง ๆ ภายหลังการบ่มเพาะเชื้อให้ดูค่า MIC โดยสังเกตความขุ่น หรือใสของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญขึ้นบนวุ้น

วิธี broth dilution test สามารถแบ่งเป็น macrodilution หรือ tube dilution test โดยทำในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มม. และ microdilution test ซึ่งทำใน microtiter tray (plate)

ข้อดีของ broth และ agar dilution test

ข้อดีของ broth dilution test คือ ใช้ทดสอบวิถีการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อของยาได้ อีกทั้งยังสามารถใช้เมื่อต้องการรู้ผลเร็ว ซึ่งมีกระบวนการที่ทำได้หลายรูปแบบ เช่น ภายหลังการบ่มเพาะเชื้อระยะหนึ่งแล้วอาจตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของรูปเชื้อที่เกิดจากยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หรืออาจตรวจสอบโดยการดูการเปลี่ยนแปลงของ pH ใน medium เป็นต้น

สำหรับข้อดีของ agar dilution test คือ ใช้ทดสอบเชื้อหลายชนิดได้ในเวลาเดียวกัน อีกทั้งยังใช้ดูได้ว่าเชื้อทดสอบมีเชื้ออื่นปนเปื้อนหรือไม่ รวมทั้ง medium เมื่อเติมสารเสริมอื่น ที่ทำให้ขุ่น เช่น เติมเลือด ฯลฯ ก็สามารถนำมาใช้ในการทดสอบได้ และวิธีการอาจนำมาปรับปรุงเพื่อใช้ทดสอบเชื้อที่มีคุณสมบัติพิเศษต่าง ๆ เช่น เชื้อพวกกลุ่มแอนแอโรปส์ เป็นต้น

Agar Diffusion Test (นันทนา, 2537.)

ในการทดสอบความไวของเชื้อด้วย dilution test ค่อนข้างยุ่งยาก เพราะต้องเจือจางยาแต่ละตัว ซึ่งจะเสียเวลาและเปลืองค่าใช้จ่าย จึงอาจเลือกใช้ agar diffusion test เพราะความแรงของยาที่ใช้ทดสอบนั้นสามารถใช้เพียงความเข้มข้นเดียว อีกทั้งวิธีการอย่างหลังนี้ใช้ในกรณีที่ต้องการผลเร่งด่วนได้ เช่น สามารถทดสอบกับสิ่งส่งตรวจจากคนไข้โดยตรง เป็นต้น

วิธี agar diffusion test อาศัยหลักการที่ว่า เมื่อใส่ยาต้านจุลชีพปริมาณหนึ่งไว้ภายในภาชนะบรรจุ (reservoir) ซึ่งอยู่บน agar medium ที่ได้เพาะเชื้อไว้ ภายหลังการบ่มเพาะเชื้อให้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สังเกตดูว่ารอบ reservoir ที่ตัวยาซึมไปนั้นจะมีบริเวณใสที่ไม่มีเชื้อเจริญเกิดขึ้นหรือไม่ วิธีการนี้โดยทั่วไปมักทำการทดสอบยาเพียงความเข้มข้นเดียว แล้วดูขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น เพราะขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้พบว่า เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบ

สำหรับ reservoirs ที่ใช้เมื่อดูจากพื้นผิว agar จะมีลักษณะเป็นวงกลม ซึ่งอาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้อ agar (well) ถ้วยทรงกระบอก (cylinder cup) เม็ดยา (tablet) หรือ กระดาษซับวงกลม (filter paper disc) แต่เนื่องจาก reservoir สามแบบแรกยุ่งยากในการใช้ และผลที่ได้แปรผันมาก ในปัจจุบันจึงนิยมใช้ reservoir ที่เป็นกระดาษซับวงกลม

สมัยแรก ๆ วิธีการเริ่มด้วยการเพาะเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียว แล้วใช้แท่งแก้วหรือแท่งเหล็กกลวงเจาะบนผิววุ้นให้มีช่องเติมสารละลายของยาต้านจุลชีพลงไปในช่องวุ้นเหล่านั้น ยาต้านจุลชีพจะแพร่กระจายในเนื้อวุ้น ถ้ามีความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนั้น แบคทีเรียจะไม่เจริญบริเวณรอบ ๆ ที่มียาต้านจุลชีพดังกล่าว ถ้ามีบริเวณที่ถูกยับยั้งมาก หมายถึง ยาหรือสารต้านจุลชีพชนิดนั้นมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียชนิดนั้นมาก ต่อมาได้มีการพัฒนาในปี 1947 โดยใช้แผ่นกระดาษกรอง หรือกระดาษซับวงกลม (filter paper disc) ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้มาก บางครั้งอาจเรียกวิธีการทดสอบที่ใช้แผ่นกระดาษดังกล่าวนี้ว่า disc sensitivity test

4.รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

Mahasneh Abbas และ El-Oglas (1996) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่พบในประเทศบาเรห์น คือ *Capparis spinosa Suaeda vermiculata Prosopis farcta* และ *Salsola villosa* โดยใช้ petroleum ether methanol hexane butanol และน้ำ เป็นตัวทำละลาย ทดสอบหาฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยใช้วิธี Agar diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ petroleum ether methanol butanol และน้ำ เป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli Salmonella typhimurium S. aureus Bacillus cereus Candida albicans* และ *Fusarium oxysporum* โดยจะให้ inhibition zone ขนาดต่างๆกันตั้งแต่ 7 - 14 เซนติเมตร

Kubo Muroi และ Himejima (1992) ได้สกัดสารจากส่วนหัวของพืช *Podocarpus nagi* โดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย และนำสารละลายที่ได้มาสกัดแยกสารบริสุทธิ์ จากการวิเคราะห์พบว่า มีสารประเภท diterpenes 2 ชนิด คือ Totarol และ Totaradiol เมื่อศึกษาหาฤทธิ์ต้านจุลชีพพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis Brevibacterium ammoniagenes*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

S. aureus Streptococcus mutans และ *Propionibacterium acnes* ที่ค่า MIC ต่างๆกัน โดย Totarol มีค่า MIC ตั้งแต่ 0.39 – 6.25 μg/ml และ Totaradiol มีค่า MIC ตั้งแต่ 25 – 200 μg/ml

Madubunyi (1995) ได้สกัดสารจากเมล็ดของพืช *Garcinia kola* โดยใช้ petroleum ether และ ethanol เป็นตัวทำละลาย เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดโดยวิธี broth dilution พบว่า ส่วนที่สกัดโดย petroleum ether สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ที่ค่า MIC เท่ากับ 12.2 μg/ml และส่วนที่สกัดโดย ethanol สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* ที่ค่า MIC เท่ากับ 6.3 และ 12.5 μg/ml ตามลำดับ เมื่อนำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์ พบว่า เป็นสารประเภท polyisoprenylbenzophenone (kolanone)

Iinuma และคณะ (1994) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากพืช *Sophora exigua* โดยใช้ acetone เป็นตัวทำละลาย ได้สารประเภท flavonones 2 ชนิด คือ exiguaflavonone D และ exiguaflavonone B เมื่อทดสอบหาฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยวิธี agar di.ution พบว่า exiguaflavonone D สามารถยับยั้งการเจริญของ methicillin – resistant *S. aureus* (MRSA) จำนวน 12 สายพันธุ์ และ mehticillin - sensitive *S. aureus* (MSSA) จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่ค่า MIC เท่ากับ 3.13 และ 6.25 μg/ml ส่วน exiguaflavonone B สามารถยับยั้งการเจริญของทั้ง MRSA และ MSSA ที่ค่า MIC เท่ากับ 50 μg/ml

Irobi Moo-Young และ Anderson (1996) ได้ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดจากพืช *Bixa orellana* ซึ่งใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย ทดสอบหาฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยวิธี agar diffusion และ tube dilution ผลการทดสอบด้วยวิธี agar diffusion พบว่า สารสกัดจากพืช *B. orellana* มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E. coli Serratia marcescens Candida utilis* และ *Aspergillus niger* ได้ไม่ดี แต่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี เช่น *B. subtilis S. aureus* และ *Streptococcus pneumoniae* เป็นต้น โดยให้ขนาดของ inhibition zone อยู่ในช่วง 15 – 17 มิลลิเมตร มีค่า MIC อยู่ในช่วง 4 – 16 mg/ml และ ค่า MBC อยู่ในช่วง 16 – 64 mg/ml

Honda Sakakibara Yazaki และ Tabata (1988) ได้ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสาร Deoxyshikonin ซึ่งสกัดจากพืช *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. Et Zucc. ทดสอบโดยวิธี agar dilution streak พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* 209P IFO 12732 *Micrococcus roseus* IFO 3764 *M. luteus* IFO 12708 *B. subtilis* PCI 219 IFO 3513 *Saccharomyces sake* IFO 0305 *Trichophyton rubrum* IFO 5808 *T. mentragophytes* IFO 5809 *T. tonsulans* var. sulfureum IFO 594 *Microsporum gypseum* IFO 8307 และ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Epidermophyton floccosum IFO 9045 โดยค่า MIC ของสารสกัดต่อแบคทีเรียและรา มีค่าเท่ากับ 50 – 200 μg/ml และ 6.2 – 25 μg/ml

McChesney Clark และ Silveira (1991) ได้ทำการทดสอบหาสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากรากพืช *Croton sonderianus* Muell. โดยใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารประเภท acidic diterpenes หลายชนิด เช่น hardwickic acid และ3, 4 – secotrachylobanoic acid สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis S. aureus* และ *Mycobacterium smegmatis* เป็นต้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรีย
   1.1 *S. aureus* ATCC 25923
   1.2 methicillin - resistant *S. aureus* จำนวน 15 ไอโซเลท
   1.3 methicillin - susceptible *S. aureus* จำนวน 5 ไอโซเลท
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ
   2.1 Mueller Hinton agar และ Meuller Hinton broth
   2.2 Nutrient agar และ Nutrient broth
   2.3 น้ำเกลือ 0.85%
3. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง
   3.1 McFarland เบอร์ 0.5
   3.2 เอธานอล 95%
   3.2 Oxacillin disc 1 μg/disc
4. เครื่องมือและอุปกรณ์
   4.1 disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
   4.2 ไม้พันสำลีขนาดมาตรฐาน
5. พืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดด้วยเอธานอลจากลำต้นและใบของพืช 14 ชนิด (ได้จากภาควิชาเคมี) ได้แก่

ชื่อพื้นเมือง	ชื่อพฤกษศาสตร์
- นางดำ	(*Diospyros castanea* (Craib) Fletcher.) วงศ์ Ebenaceae
- ลำบิดดง	(*Diospyros filipendula* Pierre. ex Lec.) วงศ์ Ebenaceae
- มะพลับใหญ่	(*Diospyros malabarica* (Desv) kostel.var.*siamensis* (Hochr.) Phengklai) วงศ์ Ebenaceae
- มะเกือกา	(*Diospyros Rubra* Lec.) วงศ์ Ebenaceae
- เม่าเหล็ก	(*Diospyros toposia* Ham. Var.topoia Ham) วงศ์ Ebenaceae
- พลองใบรี	(*Memecylon plebejm* Kurz.var.ellipsoideum Craib)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วงศ์ Melastomataceae

- พลองใบเล็กหนา (*Memecylon edule* Roxb.var.orientale Craib) วงศ์ Melastomataceae
- พลองใบใหญ่ (*Memecylon ovatum* J.E. Smith) วงศ์ Melastomataceae
- พลองใบเล็กบาง (*Memecylon Pauciflorum* Blume.) วงศ์ Melastomataceae
- ชิงชี่ (*Capparis micracantha* A.DC.) วงศ์ Capparaceae
- ติ้วเกลี้ยง (*Cratoxylum formosum* (Jack) Dyer.var.formosum (Jack) Dyer.) วงศ์ Guttiferae
- พะวา (*Gacinia speciosa* Wall.) วงศ์ Guttiferae
- มะนาวผี (*Atalantia monophylla* Corr.) วงศ์ Rutaceae
- มะกรูดผี (*Atalantia trimera* (O.Liv) Burkill.) วงศ์ Rutaceae

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การทดสอบหาฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยวิธี disc diffusion

1.1 การเตรียม disc ของส่วนสกัดจากพืช

1.1.1 นำส่วนสกัดของพืชซึ่งสกัดด้วยเอธานอล จำนวน 0.1 กรัม ละลายด้วยเอธานอล 95% ปริมาตร 1 ml จะได้สารสกัดความเข้มข้น 100 mg/ml และนำไปกรองด้วย แผ่นเยื่อกรอง (filter membrane) ขนาด pore size 0.45 μm

1.1.2 นำส่วนสกัดจาก ข้อ 1.1.1 ปริมาตร 0.8 ml ใส่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 1.2 ml จะได้ส่วนสกัดความเข้มข้น 40,000 μg/ml นำส่วนสกัดนี้มาทำ two – fold dilution ด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จะได้ส่วนสกัดความเข้มข้น 20,000 10,000 5,000 2,500 และ 1,250 μg/ml ตามลำดับ

1.1.3 นำส่วนสกัดแต่ละความเข้มข้น รวมทั้งส่วนสกัดความเข้มข้น 100 mg/ml ปริมาตร 20 μl หยดใส่แผ่น disc แต่ละ disc จะมีส่วนสกัดปริมาณ 2,000 800 400 200 100 และ 50 μg/disc ตามลำดับ ทิ้งไว้จน disc แห้ง

1.2 การเตรียม disc เอธานอล (negative control)

นำเอธานอล 95% ปริมาตร 20 μl หยดใส่แผ่น disc จะได้ปริมาณของเอธานอล เท่ากับเอธานอลที่อยู่ใน disc ส่วนสกัดจากพืชที่มีปริมาณสารสกัดสูงสุด คือ 2,000 μg/disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.3 การเตรียม inoculum ของเชื้อสำหรับทดสอบ

1.3.1 แยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร Mueller Hinton agar นำบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.3.2 นำเชื้อบริสุทธิ์ 4 - 5 โคโลนีมาใส่ใน Nutrient broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเทียบความขุ่นของเชื้อกับ McFarland เบอร์ 0.5 (วิธีการเตรียมดูที่ภาคผนวก) จะได้จำนวนเซลล์ประมาณ 1.5×10^8 cells/ml

1.4 วิธีทดสอบ disc diffusion

1.4.1 ใช้ไม้พันสำลีจุ่มใน suspension ของเชื้อที่เตรียมไว้ และนำมาป้ายบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton agar ให้ทั่วจานอาหาร โดยป้าย 3 ระนาบ แต่ละระนาบให้หมุนจานอาหารให้แนวของเชื้อทำมุมกัน 60 องศา

1.4.2 ทิ้งไว้จนผิวหน้าอาหารแห้งระยะหนึ่ง (3 - 5 นาที) แล้วจึงนำ disc ส่วนสกัดจากพืชความเข้มข้นต่าง ๆ ในข้อ 1.1 วางบนผิวหน้าอาหาร กดเบา ๆ ควบคุมการทดลองโดยใช้ oxacillin disc (1 μg/disc) เป็น positive control และ 95% ethanol disc เป็น negative control นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง สังเกตและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

2.การทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* โดยวิธี broth dilution

2.1 การเตรียมอาหารผสมส่วนสกัดจากพืช

2.1.1 นำส่วนสกัดของพืชที่ความเข้มข้น 100 mg/ml ปริมาตร 128 μl ใส่ใน Mueller Hinton broth ปริมาตร 1,872 μl จะได้ความเข้มข้น 6,400 μg/ml

2.1.2 ทำ two fold dilution โดยใช้ Mueller Hinton broth จะได้ความเข้มข้น 3,200 1,600 800 และ 400 μg/ml หลอดละ 1 ml

2.2 การเตรียมอาหารชุดควบคุม (negative control)

นำ 95% ethanol ปริมาตร 128 μl ใส่ ใน Mueller Hinton broth 1,872 μl จะได้ความเข้มข้นของ ethanol เท่ากับในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้น 6,400 μg/ml

2.3 การเตรียม inoculum ของเชื้อสำหรับทดสอบ

2..3.1 ขีดเชื้อ *S. aureus* บนอาหาร Mueller Hinton agar นำบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.3.2 นำเชื้อบริสุทธิ์ 4 - 5 โคโลนีมาใส่ใน Nutrient broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเทียบความขุ่นของเชื้อกับ McFarland เบอร์ 0.5 จะได้จำนวนเซลล์ประมาณ 1.5 x 10^8 cells/ml

2.3.3 เจือจางด้วย Mueller Hinton broth 100 เท่า ให้ได้จำนวนเซลล์ประมาณ 1.5 x 10^6 cells/ml

2.4 วิธีทดสอบ broth dilution

2.4.1 นำ inoculum ของเชื้อใส่ลงในอาหารที่ผสมส่วนสกัดของพืชความเข้มข้น 6,400 3,200 1,600 800 และ 400 μg/ml และอาหารชุดควบคุม (negative control) หลอดละ 1 ml จะได้ความเข้มข้นของสารสกัด 3,200 1,600 800 400 และ 200 μg/ml

2.4.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง อ่านค่า MIC โดยดูจากหลอดอาหารที่ไม่มีเชื้อเจริญ (ใส)

3.การหาค่า MBC โดยวิธี plate count agar

3.1 นำอาหารในหลอดที่ไม่มีเชื้อเจริญปริมาตร 0.1 ml มา spread บนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar

3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง อ่านค่า MBC จากจานอาหารที่ไม่มีเชื้อเจริญ

4.การทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อ methicillin - resistant *S. aureus* methicillin - susceptible *S. aureus* และ *S. aureus* ATCC 25923 โดยวิธี agar dilution

4.1 การเตรียมส่วนสกัดจากพืช

4.1.1 นำส่วนสกัดของพืชความเข้มข้น 100 mg/ml ปริมาตร 4.8 ml ใส่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 10.2 ml จะได้ส่วนสกัดความเข้มข้น 32,000 μg/ml

4.1.2 ทำ two – fold dilution โดยนำส่วนสกัดจากข้อ 2.1.1 ปริมาตร 6 ml ใส่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 6 ml จะได้ส่วนสกัดจากพืชความเข้มข้น 32,000 16,000 8,000 และ 4,000 μg/ml ตามลำดับ

4.1.3 นำส่วนสกัดแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 2 ml ผสมในอาหาร Mueller Hinton agar ปริมาตร 18 ml ซึ่งหลอมไว้ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส (ใช้สารสกัด 1 ส่วน ต่อ medium 9 ส่วน) ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm จะได้อาหาร

0430
มส
ส 588 ก
2543

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เลี้ยงเชื้อที่มีส่วนสกัดความเข้มข้น 3,200 1,600 800 และ 400 μg/ml ตามลำดับ รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งและทิ้งไว้จนผิวหน้าอาหารแห้ง

4.2 การเตรียม control plate (95% ethanol)

4.2.1 การเตรียม control plate โดยใช้ส่วนที่เป็นตัวทำละลายส่วนสกัดจากพืช คือ 95% ethanol โดยนำ 95% ethanol ปริมาตร 4.8 ml ใส่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 10.2 ml จะได้ปริมาณเอธานอลเท่ากับที่มีในส่วนสกัดความเข้มข้น 32,000 μg/ml

4.2.2 นำเอธานอล 95% ปริมาตร 2 ml ใส่ลงในอาหาร Mueller Hinton agar ที่หลอมไว้ ปริมาตร 18 ml ผสมให้เข้ากัน และเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.3 การเตรียม viability control

viability control ทำได้โดยการเลี้ยงเชื้อที่ทดสอบบนอาหาร Mueller Hinton agar ที่ไม่ผสม ethanol และสารสกัด ต้องทำไปพร้อมกับการทำการทดลอง และเชื้อทุกตัวจะต้องเจริญได้ดีบน viability control plate จึงจะเริ่มอ่านผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

4.4 การเตรียม inoculum ของเชื้อ MRSA สำหรับการทดสอบวิธี agar dilution

4.4.1 เลี้ยงเชื้อ MRSA จำนวน 15 isolates MSSA จำนวน 5 isolates และ *S. aureus* ATCC 25923 ดังข้อ 1.3 เมื่อเทียบความขุ่นกับ McFarland เบอร์ 0.5 จะได้เชื้อประมาณ 1.5×10^8 cells/ml

4.4.2 นำเชื้อมาเจือจางต่อด้วยน้ำเกลือ 0.85% จนได้จำนวนเชื้อประมาณ 1.5×10^6 cells/ml.

4.5 วิธีทดสอบ agar dilution

4.5.1 นำเชื้อ MRSA MSSA และ *S. aureus* ATCC 25923 1.5×10^6 cells/ml ปริมาตร 10 μl มาหยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยส่วนสกัดจากพืชความเข้มข้นต่าง ๆ เพลทละ 20 isolates และหยดเชื้อลงบน control plate ด้วย จะได้จำนวนเชื้อในแต่ละจุดประมาณ 1.5×10^4 cells/ml

4.5.2 ทิ้งไว้จนเชื้อแห้ง และนำมาบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

การอ่านผล

ดูการเจริญของเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของส่วนสกัด โดยอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่สามารถมองเห็นการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่อ่านได้นี้ คือ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ เรียกว่า Minimum Inhibition Concentration (MIC)

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1.ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่าง ๆ โดยวิธี disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (mean ± SDE) ของ inhibition zone (mm.)					
		ปริมาณส่วนสกัดเอธานอล (μg/disc)				Control disc	
		2,000	800	400	200	positive	negative
นางดำ	PTL1001	10±0.0	9±0.0	8±0.8	7±0.0	21±0.8	-
	PTS1001	-	-	-	-	21±0.0	-
ลำบิดดง	PTL1002	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1002	10±0.8	9±0.0	8±0.0	7±0.0	21±0.0	-
มะพลับใหญ่	PTL1003	8±0.0	7±0.0	-	-	21±0.8	-
	PTS1003	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-
มะเกือกา	PTL1004	9±0.0	8±0.0	7±0.0	-	21±0.0	-
	PTS1004	9±0.0	9±0.8	8±0.0	-	21±0.8	-
เม่าเหล็ก	PTL1005	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1005	-	-	-	-	21±0.0	-
พลองใบรี	PTL1006	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1006	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-
พลองใบเล็กหนา	PTL1007	11±0.0	9±0.0	8±0.0	7±0.0	21±0.8	-
	PTS1007	9±0.0	9±0.0	7±0.0	-	21±0.0	-
พลองใบใหญ่	PTL1008	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1008	7±0.0	-	-	-	21±0.8	-
พลองใบเล็กบาง	PTL1009	8±0.0	7±0.8	-	-	21±0.0	-
	PTS1009	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; PTL, สารสกัดจากใบ ; PTS, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg/disc) ; negative, ethanol disc ✳ ข้อมูลโดยละเอียดดูที่ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (mean ± SDE) ของ inhibition zone (mm.)					
		ปริมาณส่วนสกัดเอธานอล (μg/disc)				Control disc	
		2,000	800	400	200	positive	negative
ชิงชี่	PTL1010	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1010	-	-	-	-	21±0.0	-
ติ้วเกลี้ยง	PTL1011	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1011	-	-	-	-	21±0.8	-
พะวา	PTL1012	-	-	8±0.0	7±0.0	21±0.0	-
	PTS1012	9±0.0	7±0.0	-	-	21±0.8	-
มะนาวผี	PTL1013	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1013	-	-	-	-	21±0.0	-
มะกรูดผี	PTL1014	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1014	-	-	-	-	21±0.8	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; PTL, สารสกัดจากใบ ; PTS, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg/disc) ; negative, ethanol disc

✳ ข้อมูลโดยละเอียดดูที่ภาคผนวก

2.ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution และ plate count agar

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution และ plate count agar ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution และ plate count agar

พืช	รหัส	MIC (μg/ml)	MBC (μg/ml)
นางดำ	PTL1001	800	n
	PTS1001	n	-
ลำบิดดง	PTL1002	n	-
	PTS1002	800	n
มะพลับใหญ่	PTL1003	800	800
	PTS1003	800	n

n, not found at ≤ 3,200 μg/ml ; -, non test ✳ ข้อมูลโดยละเอียดดูที่ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2 (ต่อ)

พืช	รหัส	MIC (μg/ml)	MBC (μg/ml)
มะเกือกา	PTL1004	800	n
	PTS1004	1,600	3,200
เม่าเหล็ก	PTL1005	n	-
	PTS1005	n	-
พลองใบรี	PTL1006	n	-
	PTS1006	1,600	3,200
พลองใบเล็กหนา	PTL1007	400	n
	PTS1007	400	n
พลองใบใหญ่	PTL1008	1,600	3,200
	PTS1008	1,600	3,200
พลองใบเล็กบาง	PTL1009	1,600	3,200
	PTS1009	1,600	3,200
ชิงชี่	PTL1010	n	-
	PTS1010	n	-
ติ้วเกลี้ยง	PTL1011	400	n
	PTS1011	n	-
พะวา	PTL1012	400	800
	PTS1012	800	n
มะนาวผี	PTL1013	n	-
	PTS1013	n	-
มะกรูดผี	PTL1014	n	-
	PTS1014	n	-

n, not found at ≤ 3,200 μg/ml ; -, non test

✳ ข้อมูลโดยละเอียดดูที่ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* สายพันธุ์ MRSA จำนวน 15 isolates และ MSSA จำนวน 5 isolates ของส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่และพะวา ด้วยวิธี agar dilution

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* สายพันธุ์ MRSA และ MSSA ของส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวา ด้วยวิธี agar dilution ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 MRSA และ MSSA ของส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวา ด้วยวิธี agar dilution

พืช	รหัส	เชื้อที่ทดสอบ	ความเข้มข้นของสารสกัด (μg/ml)	จำนวนเชื้อที่ถูกยับยั้ง (isolates)
มะพลับใหญ่	PTL1003	MRSA	800	1
			1,600	3
			3,200	10
			>3,200	1
		MSSA	800	1
			1,600	-
			3,200	3
			>3,200	1
		ATCC 25923	1,600	1
พะวา	PTL1012	MRSA	800	2
			1,600	10
			3,200	-
			>3,200	3
		MSSA	800	-
			1,600	4
			3,200	-
			>3,200	1
		ATCC 25923	1,600	1

* ข้อมูลโดยละเอียดดูที่ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5

บทย่อ สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ความมุ่งหมายของการศึกษา

เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร

บทย่อวิธีดำเนินการทดลอง

จากการทดลอง ได้นำส่วนสกัดเอธานอลจากใบและลำต้นของพืช 14 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยในขั้นต้นจะทดสอบด้วยวิธี disc diffusion โดยมี oxacillin disc (1 μg/disc) เป็นตัวควบคุม จากนั้นทดสอบหาค่า MIC ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี broth dilution และหาค่า MBC ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี plate count agar จากนั้นนำส่วนสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุดมาทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา methicillin (MRSA) จำนวน 15 isolates และ methicillin - susceptible *S. aureus* (MSSA) จำนวน 5 isolates ด้วยวิธี agar dilution

สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากลำต้นและใบของพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสารจำนวน 14 ชนิด รวมทั้งหมด 28 ตัวอย่าง พบว่า มีส่วนสกัดที่ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ได้จำนวน 16 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนสกัดจากลำต้นและใบของพลองใบเล็กหนา และส่วนสกัดจากใบของติ้วเกลี้ยง มีค่า MIC เท่ากับ 400 μg/ml และค่า MBC มากกว่า 3,200 μg/ml ส่วนสกัดจากใบของพะวา มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 400 และ 800 μg/ml ตามลำดับ ส่วนสกัดจากใบของนางดำ ส่วนสกัดจากใบของมะเกือกา ส่วนสกัดจากลำต้นของลำบิดดง ส่วนสกัดจากลำต้นของมะพลับใหญ่ และส่วนสกัดจากลำต้นของพะวา มีค่า MIC เท่ากับ 800 μg/ml และค่า MBC มากกว่า 3,200 μg/ml ส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่ มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 800 μg/ml ส่วนสกัดจากลำต้นของมะเกือกา ส่วนสกัดจากลำต้นและใบของพลองใบใหญ่ ส่วนสกัดจากลำต้นและใบของพลองใบเล็กบาง และส่วนสกัดจากลำต้นของพลองใบรี มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 1,600 และ 3,200 μg/ml ตามลำดับ เมื่อนำส่วนสกัด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากใบของมะพลับใหญ่และพะวาไปทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 methicillin – resitant *S. aureus* (MRSA) จำนวน 15 isolates และ methicillin - susceptible *S. aureus* (MSSA) จำนวน 5 isolates โดยวิธี agar dilution พบว่า ส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่ที่ความเข้มข้น 800 1,600 และ 3,200 μg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ MRSA จำนวน 1 3 และ 10 isolates ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 800 และ 3,200 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MSSA ได้ 1 และ 3 isolates ตามลำดับ ส่วนสกัดจากใบของพะวาที่ความเข้มข้น 800 และ 1,600 μg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ MRSA จำนวน 2 และ 10 isolates ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1,600 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MSSA ได้ 4 isolates เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี agar dilution พบว่าส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวา มีค่า MIC เท่ากับ 1,600 μg/ml

อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้าน S. aureus ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชจำนวน 14 ชนิด ซึ่งอยู่ในวงศ์ Ebenaceae Melastomataceae Capparaceae Guttiferae และ Rutaceae จากผลการทดสอบ พบว่า มีส่วนสกัดเอธานอลจำนวน 16 ตัวอย่าง มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ เมื่อใช้ส่วนสกัดที่ความเข้มข้น 400 – 3,200 μg/ml (ตารางที่ 2) ซึ่งส่วนสกัดเอธานอลของพืชแต่ละชนิดนั้นอาจจะให้ผลการทดสอบไม่เหมือนกัน เช่น ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของลำบิดดงที่ความเข้มข้น ≤ 3,200 μg/ml ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ในขณะที่ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวาที่ความเข้มข้นเพียง 400 μg/ml มีฤทธิ์ฆ่า *S. aureus* ATCC 25923 ได้ (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า ในแต่ละส่วนของพืชชนิดเดียวกันก็อาจให้ผลการทดสอบไม่เหมือนกัน เช่น ส่วนสกัดเอนอลจากลำต้นของพะวายับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 800 μg/ml ในขณะที่ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวาใช้ความเข้มข้นเพียง 400 μg/ml ก็ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ตารางที่ 2) ผลการทดสอบที่ได้ในลักษณะนี้แสดงให้เห็นว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่พบในแต่ละส่วนของพืชชนิดเดียวกันอาจจะมีอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกันหรือมีอยู่เฉพาะในบางส่วนของพืชเท่านั้น หรือแม้แต่ในส่วนเดียวกันของพืช ถ้าเก็บที่อายุหรือระยะเวลาต่างกันก็อาจได้สารที่มีปริมาณหรือฤทธิ์ต่างกันได้ เช่น พืชที่ใช้ใบเป็นสมุนไพรมักจะเก็บใบที่ไม่อ่อนไม่แก่เกินไปที่เรียกว่า "ใบเพสลาด" หรือผลกล้วยดิบใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย แต่ผลกล้วยสุกใช้เป็นยาระบายอ่อนๆ เป็นต้น (วันดี, 2539.)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในการทดสอบส่วนสกัดเอธานอลจากพืชบางชนิด เช่น ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของติ้วเกลี้ยง พบว่า ถ้าทดสอบด้วยวิธี disc diffusion จะไม่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ทดสอบ (ตารางที่ 1) แต่เมื่อทดสอบด้วยวิธี broth dilution พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 400 μg/ml เป็นต้น (ตารางที่ 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนสกัดเอธานอลที่จะแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้นั้น ต้องเป็นส่วนของสารที่แพร่เข้าไปในเนื้ออาหาร ซึ่งไม่สามารถบอกได้ว่าในเนื้อวุ้นบริเวณรอบแผ่น disc มีความเข้มข้นของสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพเท่าไร สารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่พบในพืชชนิดนั้นๆ อาจจะมีความสามารถในการแพร่ผ่านตัวกลางที่เป็นวุ้นในอาหารที่ทดสอบได้ต่ำมาก หรือไม่สามารถแพร่กระจายได้ ทำให้ไม่สามารถแพร่ออกจาก disc ไปสู่อาหารวุ้น หรือแพร่ออกไปได้น้อยทำให้มีความเข้มข้นไม่เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติในการแพร่ผ่านตัวกลางแตกต่างกัน (มาลิน, 2539.) การทดสอบทั้งสองวิธีจึงเป็นการทดสอบเพื่อยืนยันผลซึ่งกันและกัน และไม่สามารถนำผลการทดสอบจากทั้งสองวิธีมาเปรียบเทียบกันได้

จากผลการทดสอบเบื้องต้น พบว่า มีส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพืช 2 ชนิด ที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากสามารถยับยั้งและฆ่า *S. aureus* ATCC 25923 ได้ เมื่อใช้ส่วนสกัดในความเข้มข้นต่ำๆ โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่มีค่า MIC และ MBC ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 800 μg/ml และส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวามีค่า MIC และ MBC ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 400 และ 800 μg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อนำไปทดสอบหาฤทธิ์ต้าน methicillin - resistant *S. aureus* (MRSA) จำนวน 15 isolates และ methicillin - susceptible *S. aureus* (MSSA) จำนวน 5 isolates ด้วยวิธี agar dilution พบว่า ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่ที่ความเข้มข้น 800 1,600 และ 3,200 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้ 1 3 และ 10 isolates ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 800 และ 3,200 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MSSA ได้ 1 และ 3 isolates ตามลำดับ ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวาที่ความเข้มข้น 800 และ 1,600 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้ 2 และ 10 isolates ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1,600 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MSSA ได้ 4 isolates (ตารางที่ 3) ผลการทดสอบบ่งชี้ว่า ผลการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่และพะวาไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อทดสอบในช่วงความเข้มข้น 800 – 3,200 μg/ml เนื่องจากมีค่า MIC ต่อ MRSA และ MSSA อยู่ในช่วงความเข้มข้นเดียวกัน เช่น ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่มีค่า MIC ต่อเชื้อ MRSA และ MSSA อยู่ในช่วง 800 – 3,200 μg/ml และส่วนสกัด

เอธานอลจากใบของพะวามีค่า MIC ต่อเชื้อ MRSA และ MSSA อยู่ในช่วง 800 – 1,600 μg/ml นอกจากนี้ MRSA บาง isolates ยังถูกยับยั้งด้วยความเข้มข้นของส่วนสกัดเอธานอลที่ต่ำกว่า MSSA บาง isolates เช่น ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวาที่ความเข้มข้น 1,600 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ MSSA ได้ 4 isolates ในขณะที่ใช้ความเข้มข้นเพียง 800 μg/ml ก็สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้ 2 isolates (ตารางที่ 3) ทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าการดื้อต่อยา methicillin ของ MRSA ที่ถูกควบคุมโดย R-plasmid ซึ่งมียีนที่ควบคุมการดื้อยาหลายชนิด (multiple drugs resistant) ไม่มียีนที่ควบคุมการดื้อดื้อต่อสารต้าน *S. aureus* ที่มีอยู่ในส่วนสกัดเอธานอลหรืออาจจะมีแต่ยีนนั้นๆไม่ได้อยู่ใน R-plasmid จึงไม่มีผลที่จะทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างการทดสอบฤทธิ์ต้าน MRSA และ MSSA ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชทั้งสองชนิดนี้ กลไกการดื้อต่อยา methicillin ของ MRSA มีหลายกลไก เช่น การสร้าง Penicillin Binding Protein 2a (PBP2a) ซึ่งมีการตอบสนองต่อยา methicillin ต่ำกว่าปกติ และการสร้างเอนไซม์ Betalactamase ซึ่งจะไปทำลาย betalactam ring ของยาในกลุ่มเบตาแลคแทม ทำให้เสียคุณสมบัติในการทำลายเชื้อไป

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี broth dilution และ agar dilution พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลการทดสอบแตกต่างกัน คือ เมื่อทดสอบด้วยวิธี broth dilution พบว่า ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่และพะวามีค่า MIC 800 และ 400 μg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่เมื่อทดสอบด้วยวิธี agar dilution พบว่า ส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่และพะวามีค่า MIC เท่ากับ 1,600 μg/ml (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดสอบด้วย วิธี agar dilution จะใช้อาหารวุ้นในการทดสอบ ซึ่งวุ้น (agar) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ polysaccharides ซึ่งเตรียมมาจากสาหร่ายทะเลบางชนิด ส่วนใหญ่มีประจุเป็นลบเนื่องจากมีหมู่ acidic sulfate ปรากฏอยู่ (มาลิน, 2539.) และอาจมีผลกระทบต่อการออกฤทธิ์ของสารต้าน *S. aureus* ที่มีอยู่ในส่วนสกัดเอธานอลได้ เช่น ถ้าสารต้าน *S. aureus* ที่มีอยู่ในส่วนสกัดเอธานอลมีโครงสร้างโมเลกุลเป็น cationic จะสามารถจับกับหมู่ acidic sulfate ที่มีอยู่ใน agar ซึ่งมีผลทำให้การออกฤทธิ์ของสารต้าน *S. aureus* ที่มีอยู่ในส่วนสกัดเอธานอลลดลง นอกจากนี้ในการทดสอบด้วยวิธี broth dilution เป็นการทดสอบในอาหารเหลวจึงมีการกระจายตัวของเซลล์ได้ดีและเกิดการสัมผัสระหว่างสารต้าน *S. aureus* กับเซลล์ของเชื้อได้ดีกว่าในอาหารวุ้น ซึ่งเป็นผลทำให้สารต้าน *S. aureus* ที่ทดสอบด้วยวิธี broth dilution สามารถออกฤทธิ์ได้ดีกว่า และได้ค่า MIC ต่ำกว่าการทดสอบด้วยวิธี agar dilution

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากการศึกษาพบว่า มีการใช้มะพลับใหญ่และพะวาเป็นสมุนไพรพื้นบ้านในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ในประเทศไทย ใช้ส่วนเปลือกต้น เนื้อไม้ ยาง และผลของมะพลับใหญ่ในการรักษาอาการท้องร่วง ใช้ใบและดอกของพะวา นำไปต้มน้ำกินเป็นยาระบายอ่อนๆ รักษาอาการไข้ ทำให้เจริญอาหาร รักษาลม และโลหิตพิการ (วิทย์, 2531.) ส่วนในประเทศอินเดีย ใช้ผลของมะพลับใหญ่รักษาอาการท้องร่วง แผลในช่องปาก ใช้ผลและส่วนของรากรักษาอหิวาห์ และภาวะที่มีเลือดออกมากเกินไปในระหว่างมีประจำเดือน (Mallavadhani, 1998.)

อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า พืชในตระกูล *Diospyros* มีสารต้านจุลชีพที่สำคัญ เช่น terpenoids streoids plumbagin flavonoids polyphenols และ tannins เป็นต้น (Mallavadhani, 1998.) ส่วนพืชในตระกูล *Garcinia* มีสารต้านจุลชีพที่สำคัญ เช่น tannins resin และ xanthones เป็นต้น (วันดี, 2539.) สารต้าน *S. aureus* ที่พบในการทดสอบอาจจะเป็นสารเคมีชนิดเดียวกันกับสารในกลุ่มที่กล่าวมาแล้วข้างต้นหรือเป็นสารในประเภทอื่นๆ ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่น่าจะทำการศึกษาในขั้นต่อไป

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นของส่วนสกัดเอธานอลของพืช 14 ชนิด ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์มาก่อน จึงไม่มีรายงานการวิจัยที่สนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้ และความเข้มข้นที่ทราบก็เป็นความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบ การที่จะทราบความเข้มข้นที่แน่นอนของสารต้าน *S. aureus* ที่มีอยู่ในส่วนสกัดเอธานอล ต้องทำการสกัดสารให้บริสุทธิ์ซึ่งจะเป็นการศึกษาในขั้นต่อไป ข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการทดลองนี้น่าจะมีประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจจะศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพืชทั้ง 14 ชนิดนี้ เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนายาต้านจุลชีพสำหรับการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อจุลินทรีย์ได้ต่อไป

ข้อผิดพลาดในการทดลอง

1.ปริมาณเชื้อที่ใช้ทดสอบจะใช้การเทียบความขุ่นกับสารละลาย McFarland เบอร์ 0.5 ด้วยตาเปล่า ซึ่งอาจเกิดความไม่แม่นยำในการทดสอบได้

2.การเจือจางส่วนสกัดเอธานอลด้วยวิธี two-fold dilution อาจให้ค่าความเข้มข้นของส่วนสกัดเอธานอลในช่วงที่กว้างเกินไป ซึ่งค่า MIC และ MBC ที่ได้อาจไม่ถูกต้องตามความเป็นจริง

ข้อเสนอแนะ

1.สารต้านจุลชีพที่พบในพืชแต่ละชนิด อาจจะมีอยู่เพียงบางส่วนของพืชเท่านั้น ดังนั้นควรจะทำการศึกษาในส่วนอื่นๆ ด้วย เช่น ราก ดอก และผล เป็นต้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันทน์. ชื่อพันธุ์ไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์ - ชื่อพื้นเมือง). กรุงเทพฯ : หจก. พันนี่พับบลิชชิ่ง, 2535

นันทนา อรุณฤกษ์. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์. กรุงเทพฯ : โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์, 2537

บัญญัติ สุขศรีงาม. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์, 2534

มาลิน จุลศิริ. ยาต้านจุลชีพ. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน, 2539

วันดี กฤษณะพันธ์. สมุนไพรน่ารู้. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ : โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์, 2531

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์, 2540

โสภณ คงสำราญ เชิดศักดิ์ ธีระบุตร นงนุช ศรีปฐมวัฒน์ และคณะ. แบคทีเรียทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์พิมเณศ, 2524

เอื้อมพร วีสมหมาย ทยา เจนจิตติกุล และ อรุณี วงศ์พนาสิน. พฤกษาพัน. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์เอช เอน กรุ๊ป จำกัด, 2541

Ginesta-Peris, E., Gracia-Breijo, F.J., Primo-Yufera, E. Antimicrobial Activity of Xanthatin from *Xanthium spinosum*. **J. Letters in Applied Microbiology** 1994 ; 18 : 206 – 208

Honda, G., Sagakibara, F., Yazaki, K., Tabata, M. Isolation of Deoxyshikonin, An Antidermatophytic Principle from *Lithospermum erythrorhizon* Cell Cultures. **Journal of Natural Products** 1988 ; 51 : 152 – 154

Iinuma, M., Tsushiya, H., Sato, M., Yogoyama, J. *et al*. Flavonones with Potent Antibacterial Activity Against Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Pharm. Pharmacol** 1994 ; 46 : 892 – 895

Irobi, O.N., Moo-Young, M., Anderson, W.A. Antimicrobial Activity of Annatto (*Bixa orellana*) Extract. **International Journal of Pharmacognosy** 1996 ; 34 : 87 – 90

Jayasuriya, H., Clark, A.M., McChesney, J.D. New Antimicrobial Filicinic Acid Derivatives from *Hypericum drummondii*. **Journal of Natural Products** 1991 ; 54 : 1314 – 1320

Kimizigul, S., Anil, H., Ucar, F., Akdemir, K. Antibacterial and Antifungal Activity of Three New Triterpenoid Glycosides. **Phytotherapy Research** 1996 ; 10 : 274 – 276

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Kubo, I., Muroi, H., Himejima, M. Antibacterial of Totarol and Its Potentiation. **Journal of Natural Products** 1992 ; 55 : 1436 - 1440

Madubunyi, I.I. Antimicrobial Activity of The Constituenhts of *Garcinia kola* Seeds. **International Journal of Pharmacognosy** 1995 ; 33 : 232 - 237

Mahasneh, A.M., Abbas, J.A., El-Oglas, A.A. Antimicrobial of Extracts of Herbal Plants Used in The Traditional Medicine of Bahrain. **Phytotherapy Research** 1996 ; 10 : 251 - 253

Mallavadhani, U.V., Panda, A.K., Rao, Y.R. Pharmacology and Chemotaxonomy of *Diospyros*. **Phytochemistry** 1998 ; 49 : 901 -951

McChesney, J.D., Clark, A.M., Silveira, E.R. Antimicrobial Diterpenes *of Croton sonderianus*, Hardwickic and 3, 4 - Secotrachylobanoic Acid. **Journal of natural Products** 1991 ; 54 : 1625 - 1633

Phengklai, chamlong. Thai Forest Bulletin (Botany) No. 11. Bangkok : Forest Herbarium, 1987

Ulubelen, A., Topcu, G., Eris, C., Sonmez, U. *et al.* Terpenoids from *Salvia slcarea.* **Phytochemistry** 1994 ; 36 : 971 - 974

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

แสดงผลการทดลองโดยละเอียด ของการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ของส่วนสกัดด้วยเอธานอลจากพืชที่พบบริเวณหมู่เกาะแสมสาร

1.ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ โดยวิธี disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion method

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (µg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
นางดำ	PTL1001						
	1	10	9	8	7	21	-
	2	10	9	8	7	20	-
	3	10	9	7	7	21	-
	mean±SDE.	10±0.0	9±0.0	8±0.8	7±0.0	21±0.8	-
	PTS1001						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	

- , ไม่เกิด inhibition zone ; PTL, สารสกัดจากใบ ; PTS, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 µg/disc) ; negative, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
ลำบิดดง	PTL1002						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1002						
	1	10	9	8	7	21	-
	2	10	9	8	7	21	-
	3	11	9	8	7	21	-
	mean±SDE	10±0.8	9±0.0	8±0.0	7±0.0	21±0.0	-
มะพลับใหญ่	PTL1003						
	1	8	7	-	-	21	-
	2	8	7	-	-	21	-
	3	8	7	-	-	22	-
	mean±SDE	8±0.0	7±0.0	-	-	21±0.8	-
	PTS1003						
	1	7	-	-	-	21	-
	2	7	-	-	-	21	-
	3	7	-	-	-	21	-
	mean±SDE	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; **PTL**, สารสกัดจากใบ ; **PTS**, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg/disc) ; **negative**, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (µg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
มะเกือกา	PTL1004						
	1	9	8	7	-	21	-
	2	9	8	7	-	21	-
	3	9	8	7	-	21	-
	mean±SDE	9±0.0	8±0.0	7±0.0	-	21±0.0	-
	PTS1004						
	1	9	9	8	-	21	-
	2	9	9	8	-	22	-
	3	9	8	8	-	21	-
	mean±SDE	9±0.0	9±0.8	8±0.0	-	21±0.8	-
เม่าเหล็ก	PTL1005						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1005						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; PTL, สารสกัดจากใบ ; PTS, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 µg/disc) ; negative, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
พลองใบรี	PTL1006						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1006						
	1	7	-	-	-	21	-
	2	7	-	-	-	21	-
	3	7	-	-	-	21	-
	mean±SDE	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-
พลองใบเล็กหนา	PTL1007						
	1	11	9	8	7	21	-
	2	11	9	8	7	21	-
	3	11	9	8	7	22	-
	mean±SDE	11±0.0	9±0.0	8±0.0	7±0.0	21±0.8	-
	PTS1007						
	1	9	9	7	-	21	-
	2	9	9	7	-	21	-
	3	9	9	7	-	21	-
	mean±SDE	9±0.0	9±0.0	7±0.0	-	21±0.0	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; PTL, สารสกัดจากใบ ; PTS, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg/disc) ; **negative**, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (µg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
พลองใบใหญ่	PTL1008						
	1	7	-	-	-	21	-
	2	7	-	-	-	21	-
	3	7	-	-	-	21	-
	mean±SDE	7±0.0	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1008						
	1	7	-	-	-	21	-
	2	7	-	-	-	21	-
	3	7	-	-	-	20	-
	mean±SDE	7±0.0	-	-	-	21±0.8	-
พลองใบเล็กบาง	PTL1009						
	1	8	7	-	-	21	-
	2	8	7	-	-	21	-
	3	8	7	-	-	21	-
	mean±SDE	8±0.0	7±0.0	-	-	21±0.0	-
	PTS1009						
	1	7	-	-	-	21	-
	2	7	-	-	-	21	-
	3	8	-	-	-	21	-
	mean±SDE	7±0.8	-	-	-	21±0.0	-

- . ไม่เกิด inhibition zone ; **PTL**, สารสกัดจากใบ ; **PTS**, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 µg/disc) ; **negative**, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
ชิงชี่	PTL1010						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1010						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
ติ้วเกลี้ยง	PTL1011						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1011						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	22	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.8	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; **PTL**, สารสกัดจากใบ ; **PTS**, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg/disc) ; **negative**, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
พะวา	PTL1012						
	1	-	-	8	7	21	-
	2	-	-	8	7	21	-
	3	-	-	8	7	21	-
	mean±SDE	-	-	8±0.0	7±0.0	21±0.0	-
	PTS1012						
	1	9	7	-	-	21	-
	2	9	7	-	-	21	-
	3	9	7	-	-	20	-
	mean±SDE	9±0.0	7±0.0	-	-	21±0.8	-
มะนาวผี	PTL1013						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1013						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SDE	-	-	-	-	21±0.0	-

- , ไม่เกิด inhibition zone ; **PTL**, สารสกัดจากใบ ; **PTS**, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg/disc) ; **negative**, ethanol disc

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พืช	รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone (mm.) ของส่วนสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/disc)					
		2,000	800	400	200	positive	negative
มะกรูดผี	PTL1014						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	21	-
	mean±SD.	-	-	-	-	21±0.0	-
	PTS1014						
	1	-	-	-	-	21	-
	2	-	-	-	-	21	-
	3	-	-	-	-	20	-
	mean±SD.	-	-	-	-	21±0.8	-

- , ไม่เกิด inhibition zone; PTL, สารสกัดจากใบ; PTS, สารสกัดจากลำต้น

positive, oxacillin disc (1 μg./disc); negative, ethanol disc

2.ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution

จากการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 5

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ โดยวิธี broth dilution

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml)						MIC (μg/ml)
		3,200	1,600	800	400	200	negative	
นางดำ	PTL1001							
	1	NT	NT	-	±	+	+	800
	2	NT	NT	-	±	+	+	800
	3	NT	NT	-	±	+	+	800
	PTS1001							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
ลำบิดดง	PTL1002							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
	PTS1002							
	1	NT	NT	-	+	+	+	800
	2	NT	NT	-	+	+	+	800
	3	NT	NT	-	+	+	+	800

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; +, growth ; **n**, not found ; **negative**, ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 (ต่อ)

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)						MIC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	200	negative	
มะพลับใหญ่	PTL1003							
	1	NT	NT	-	±	+	+	800
	2	NT	NT	-	±	+	+	800
	3	NT	NT	-	±	+	+	800
	PTS1003							
	1	NT	NT	-	+	+	+	800
	2	NT	NT	-	+	+	+	800
	3	NT	NT	-	+	+	+	800
มะเกือกา	PTL1004							
	1	NT	NT	-	+	+	+	800
	2	NT	NT	-	+	+	+	800
	3	NT	NT	-	+	+	+	800
	PTS1004							
	1	-	-	+	+	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	+	+	1,600

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; **+**, growth ; **n**, not found ; **negative**, ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 (ต่อ)

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)						MIC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	200	negative	
เม่าเหล็ก	PTL1005							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
	PTS1005							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
พลองใบรี	PTL1006							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
	PTS1006							
	1	-	-	+	+	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	+	+	1,600

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; +, growth ; **n**, not found ; **negative**, ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 (ต่อ)

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)						MIC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	200	negative	
พลองใบเล็กหนา	PTL1007							
	1	NT	NT	-	-	±	+	400
	2	NT	NT	-	-	±	+	400
	3	NT	NT	-	-	±	+	400
	PTS1007							
	1	NT	NT	-	-	+	+	400
	2	NT	NT	-	-	+	+	400
	3	NT	NT	-	-	+	+	400
พลองใบใหญ่	PTL1008							
	1	-	-	+	+	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	+	+	1,600
	PTS1008							
	1	-	-	+	+	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	+	+	1,600

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; +, growth ; **n**, not found ; **negative**, ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 (ต่อ)

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)						MIC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	200	negative	
พลองใบเล็กบาง	PTL1009							
	1	-	-	+	+	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	+	+	1,600
	PTS1009							
	1	-	-	+	+	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	+	+	1,600
ชิงชี่	PTL1010							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
	PTS1010							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; +, growth ; **n**, not found ; **negative**, ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 (ต่อ)

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)						MIC (µg/ml)
		3200	1600	800	400	200	negative	
ติ้วเกลี้ยง	PTL1011							
	1	NT	NT	-	-	+	+	400
	2	NT	NT	-	-	+	+	400
	3	NT	NT	-	-	+	+	400
	PTS1011							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
พะวา	PTL1012							
	1	NT	NT	-	-	±	+	400
	2	NT	NT	-	-	±	+	400
	3	NT	NT	-	-	±	+	400
	PTS1012							
	1	NT	NT	-	+	+	+	800
	2	NT	NT	-	+	+	+	800
	3	NT	NT	-	+	+	+	800

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; +, growth ; **n**, not found ; **negative**, ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 (ต่อ)

พืช	รหัส	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)						MIC (µg/ml)
		3200	1600	800	400	200	negative	
มะนาวผี	PTL1013							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
	PTS1013							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
มะกรูดผี	PTL1014							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n
	PTS1014							
	1	NT	NT	+	+	+	+	n
	2	NT	NT	+	+	+	+	n
	3	NT	NT	+	+	+	+	n

NT, none test ; -, no growth ; ±, slighly growth ; +, growth ; **n**, not found ; **negative,** ethanol control

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.ผลการทดสอบหาค่า MBC ต่อ *S. aureus* ของส่วนสกัดเอธานอลจากพืชชนิดต่างๆ ด้วยวิธี plate count agar

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบหาค่า MBC ต่อ *S. aureus* ของส่วนสกัดจากพืชชนิดต่างๆ ด้วยวิธี plate count agar

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)				MBC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
นางดำ	PTL1001					
	1	-	-	200	>300	
	2	-	-	221	>300	
	3	-	-	179	>300	
	mean±SDE	-	-	200±2.8	>300	n
	PTS1001					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
ลำบิดดง	PTL1002					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
	PTS1002					
	1	-	-	>300	-	
	2	-	-	>300	-	
	3	-	-	>300	-	
	mean±SDE	-	-	>300	-	n

- , none test ; n, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml)				MBC (μg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
มะพลับใหญ่	PTL1003					
	1	-	-	0	>300	
	2	-	-	0	>300	
	3	-	-	0	>300	
	mean±SDE	-	-	0±0.0	>300	800
	PTS1003					
	1	-	-	>300	-	
	2	-	-	>300	-	
	3	-	-	>300	-	
	mean±SDE	-	-	>300	-	n
ลำบิดดง	PTL1004					
	1	-	-	>300	-	
	2	-	-	>300	-	
	3	-	-	>300	-	
	mean±SDE	-	-	>300	-	n
	PTS1004					
	1	0	3	-	-	
	2	0	4	-	-	
	3	0	7	-	-	
	mean±SDE	0±0.0	5±1.3	-	-	3,200

- , none test ; **n**, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)				MBC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
เม่าเหล็ก	PTL1005					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
	PTS1005					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
พลองใบรี	PTL1006					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
	PTS1006					
	1	0	200	-	-	
	2	0	162	-	-	
	3	0	166	-	-	
	mean±SDE	0±0.0	176±2.7	-	-	3,200

- , none test ; **n**, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)				MBC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
พลองใบเล็กหนา	PTL1007					
	1	-	-	>300	>300	
	2	-	-	>300	>300	
	3	-	-	>300	>300	
	mean±SDE	-	-	>300	>300	n
	PTS1007					
	1	-	-	102	>300	
	2	-	-	122	>300	
	3	-	-	88	>300	
	mean±SDE	-	-	104±2.6	>300	n
พลองใบใหญ่	PTL1008					
	1	0	33	-	-	
	2	0	25	-	-	
	3	0	51	-	-	
	mean±SDE	0±0.0	36±2.4	-	-	3,200
	PTS1008					
	1	0	5	-	-	
	2	0	6	-	-	
	3	0	2	-	-	
	mean±SDE	0	4.3±1.3	-	-	3,200

- , none test ; n, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)				MBC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
พลองใบเล็ก	PTL1009					
บาง	1	0	>300	-	-	
	2	0	>300	-	-	
	3	0	>300	-	-	
	mean±SDE	0	>300	-	-	3,200
	PTS1009					
	1	0	1	-	-	
	2	0	2	-	-	
	3	0	0	-	-	
	mean±SDE	0	3±1.0	-	-	3,200
ลำบิดดง	PTL1010					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
	PTS1010					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-

- , none test ; **n**, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml)				MBC (μg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
ติ้วเกลี้ยง	PTL1011					
	1	-	-	>300	>300	
	2	-	-	>300	>300	
	3	-	-	>300	>300	
	mean±SDE	-	-	>300	>300	n
	PTS1011					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
พะวา	PTL1012					
	1	-	-	0	1	
	2	-	-	0	1	
	3	-	-	0	0	
	mean±SDE	-	-	0	1±0.8	800
	PTS1012					
	1	-	5	156	-	
	2	-	5	189	-	
	3	-	3	150	-	
	mean±SDE	-	4±1.3	165±2.8	-	n

- , none test ; **n**, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

พืช	รหัส	จำนวนโคโลนีจากอาหารเหลวที่มีส่วนสกัดความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)				MBC (µg/ml)
		3,200	1,600	800	400	
มะนาวผี	PTL1013					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
	PTS1013					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
มะกรูดผี	PYL1014					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-
	PTS1014					
	1	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
	mean±SDE	-	-	-	-	-

- , none test ; **n**, not found

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* สายพันธุ์ MRSA จำนวน 15 isolates และ MSSA จำนวน 5 isolates ของส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวา ด้วยวิธี agar dilution

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* สายพันธุ์ MRSA และ MSSA ของส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวา ด้วยวิธี agar dilution

S. aureus	เพลท	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml)									
		มะพลับใหญ่					พะวา				
		3,200	1,600	800	400	MIC (μg/ml)	3,200	1,600	800	400	MIC (μg/ml)
No.1	1	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
MRSA	2	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
No.2	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
MRSA	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.3	1	-	+	+	+	3,200	-	-	-	+	800
MRSA	2	-	+	+	+	3,200	-	-	-	+	800
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	-	+	800
No.4	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
MRSA	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.5	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
MSSA	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
NO.6	1	+	+	+	+	N	+	+	+	+	N
MRSA	2	+	+	+	+	N	+	+	+	+	N
	3	+	+	+	+	N	+	+	+	+	N

-, no growth ; +, growth ; N, ">3,200 μg/ml".

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 7 (ต่อ)

S. aureus	เพลทที่	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)									
		มะพลับใหญ่					พะวา				
		3,200	1,600	800	400	MIC (µg/ml)	3,200	1,600	800	400	MIC (µg/ml)
No.7 MRSA	1	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
No.8 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.9 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No10 MSSA	1	+	+	+	+	N	+	+	+	+	N
	2	+	+	+	+	N	+	+	+	+	N
	3	+	+	+	+	N	+	+	+	+	N
No.11 MRSA	1	-	-	-	+	800	-	-	+	+	1,600
	2	-	-	-	+	800	-	-	+	+	1,600
	3	-	-	-	+	800	-	-	+	+	1,600
No.12 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.13 MSSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600

-, no growth ; +, growth ; **N**, ">3,200 µg/ml".

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 7 (ต่อ)

S. aureus	เพลทที่	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (µg/ml)									
		มะพลับใหญ่					พะวา				
		3,200	1,600	800	400	MIC (µg/ml)	3,200	1,600	800	400	MIC (µg/ml)
No.14 MSSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.15 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.16 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	-	+	800
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	-	+	800
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	-	+	800
No.17 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	+	+	+	+	N
	2	-	+	+	+	3,200	+	+	+	+	N
	3	-	+	+	+	3,200	+	+	+	+	N
No.18 MRSA	1	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	2	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
	3	-	+	+	+	3,200	-	-	+	+	1,600
No.19 MSSA	1	-	-	-	+	800	-	-	+	+	1,600
	2	-	-	-	+	800	-	-	+	+	1,600
	3	-	-	-	+	800	-	-	+	+	1,600
No.20 MRSA	1	-	-	+	+	1,600	+	+	+	+	N
	2	-	-	+	+	1,600	+	+	+	+	N
	3	-	-	+	+	1,600	+	+	+	+	N

-, no growth ; +, growth ; **N**, ">3,200 µg/ml".

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่และพะวาโดยวิธี agar dilution

จากทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่และพะวาโดยวิธี agar dilution ได้ผลดังตารางที่ 8

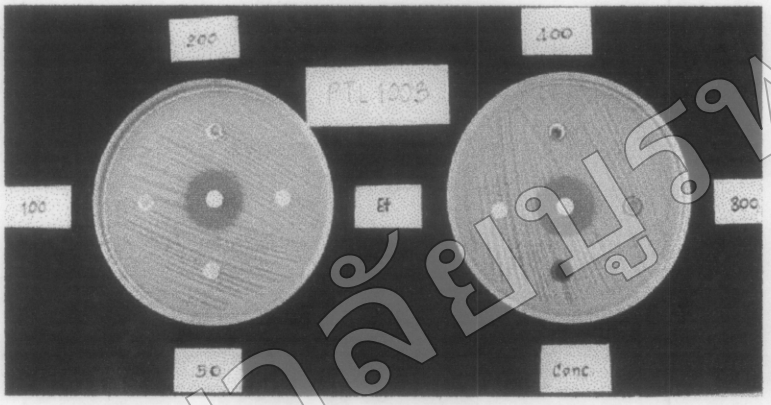
ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ของส่วนสกัดจากใบของมะพลับใหญ่และพะวาโดยวิธี agar dilution

เชื้อ	เพลทที่	การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารที่มีส่วนสกัดของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml)									
		มะพลับใหญ่					พะวา				
		3,200	1,600	800	400	MIC (μg/ml)	3,200	1,600	800	400	MIC (μg/ml)
S. aureus ATCC 25923	1	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
	2	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600
	3	-	-	+	+	1,600	-	-	+	+	1,600

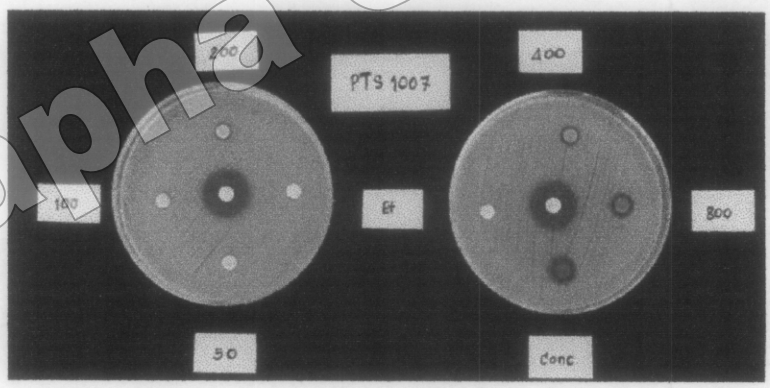
-, no growth ; +, growth ; N, ">3,200 μg/ml".

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

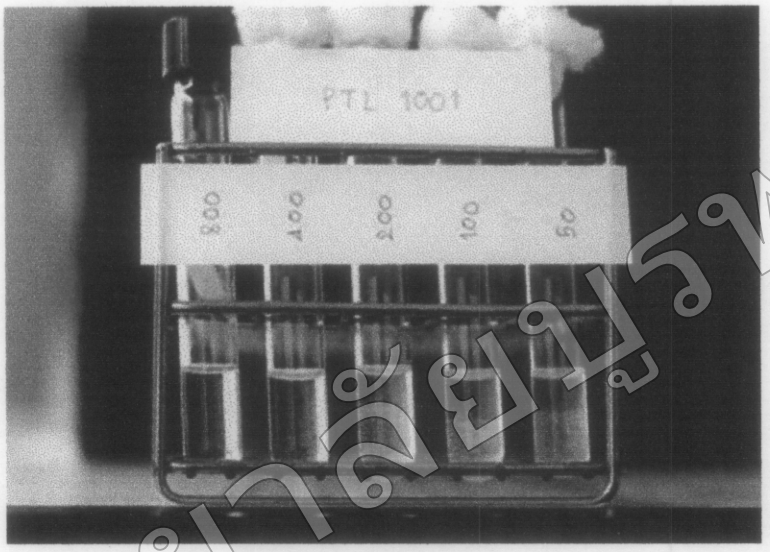


ภาพที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่ (PTL1003) ด้วยวิธี disc diffusion

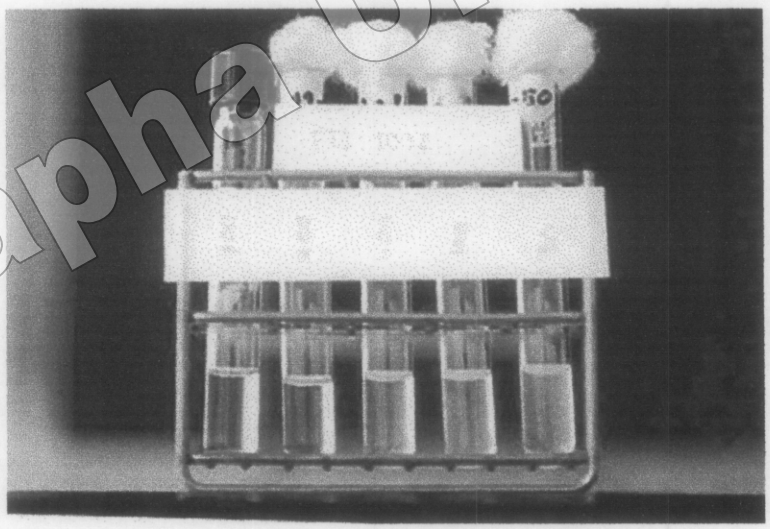


ภาพที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากลำต้นของพลองใบเล็กหนา (PTS1007) ด้วยวิธี disc diffusion

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

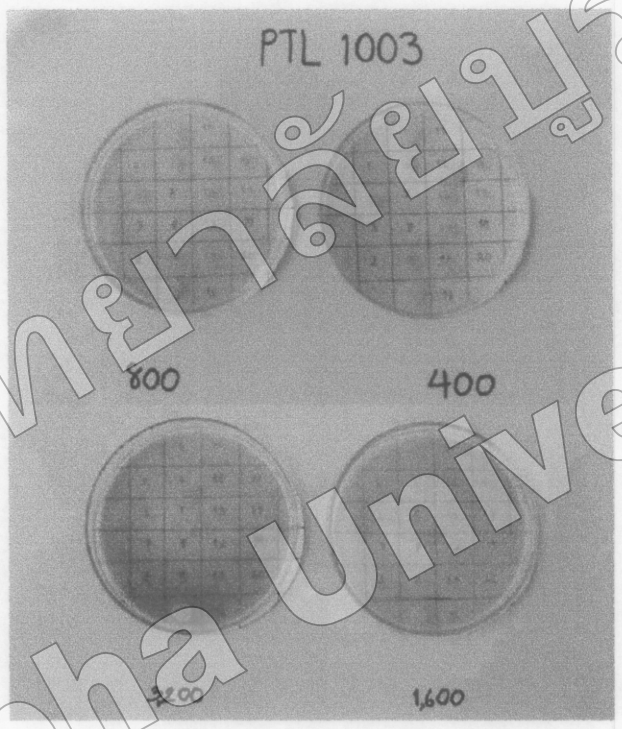


ภาพที่ 3 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของนางดำ (PTL1001) ด้วยวิธี broth dilution



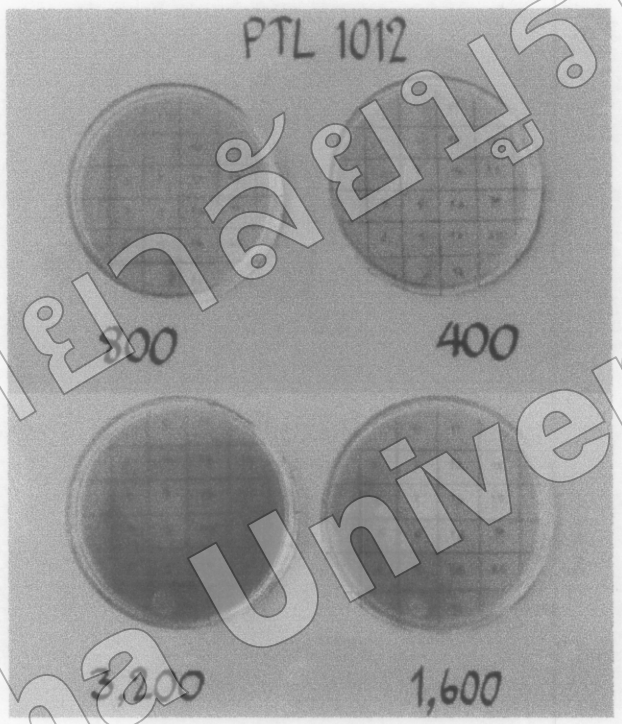
ภาพที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. aureus* ATCC 25923 โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวา (PTL1012) ด้วยวิธี broth dilution

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 5 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA และ MSSA โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของมะพลับใหญ่ (PTL1003) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml) ด้วยวิธี agar dilution

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 6 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA และ MSSA โดยส่วนสกัดเอธานอลจากใบของพะวา (PTL1012) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (μg/ml) ด้วยวิธี agar dilution

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 7 ลักษณะลำต้น ใบ และดอก ของต้นมะพลับใหญ่
(ที่มา : เอื้อมพร และคณะ, 2541.)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค

การสกัดสารจากใบและลำต้นของพืช

1.นำใบและลำต้นของพืชสด น้ำหนัก 6.2 กิโลกรัม สับให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตากแดดให้แห้ง แล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด ใส่ถุงผ้า มัดปากถุงให้เรียบร้อยแล้วชั่งน้ำหนัก

2.นำถุงผ้าที่บรรจุใบหรือลำต้นของพืชที่บดละเอียดจากข้อ 1 ใส่ในถังแช่ เติมตัวทำละลาย คือ เอธานอล 6 ลิตร ปิดฝาให้สนิท ทิ้งไว้ 6 วัน เมื่อครบกำหนด รินสารสกัดที่ได้และกรองด้วยสำลี

3.ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยแช่ทิ้งไว้ครั้งละ 6 วัน บันทึกน้ำหนักของส่วนสกัดที่ได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารละลาย McFarland เบอร์ 0.5

ส่วนประกอบ

0.048 M $BaCl_2$ (1.175% W/V $BaCl_2.2H_2O$)	0.05	mL
0.36 N H_2SO_4 (1% V/V)	9.95	mL

นำส่วนประกอบทั้งสองชนิดผสมกันในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียวปิดสนิท ห่อด้วยกระดาษฟรอยด์เพื่อไม่ให้ถูกแสงแล้วนำเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University