

ผลของสารสกัดหยาบจากลำต้นของสาบแร้งสาบกาที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ

Staphylococcus aureus และการต้านอนุมูลอิสระEffect of Crude Extract from Goat Weed (*Ageratum conyzoides* L.)Stem on Inhibition *Staphylococcus aureus* and Antioxidant Activityอาริสสา แซ่ลี¹, ธีนิดา อินตา¹, ภรภัทร สำอางค์¹, มนตรา ศรีษะแยม¹, วราภรณ์ ภาลี¹ และ อรุณลักษณ์ โชตินาครินทร์^{1*}Arisa Saelee¹, Teenida Inta¹, Pornpat Sam-ang¹, Montra Srisayam¹, Waraporn Phalee¹and Arunluk Chodnakarin^{1*}¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงครามพิษณุโลก 65000¹Faculty of Science and Technology, PibulsongkramRajabhat University

*Corresponding author: siriangkanakun@psru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของต้นสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) ที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำเดือด และเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 30, 60 และ 95 ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยใช้วิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 60 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด ซึ่งเกิดวงใสที่มีขนาด 8.52 ± 0.84 มิลลิเมตร เมื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimum inhibitory concentration) ด้วยวิธี broth dilution และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (minimum bactericidal concentration) ด้วยวิธี agar dilution พบว่า มีค่าเท่ากับ 20.83 และ 166.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่า สารสกัดจากส่วนลำต้นที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดโดยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ถึงร้อยละ 88.46

คำสำคัญ: สาบแร้งสาบกา, *Staphylococcus aureus*, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate effect of crude extracts from the stem of goat weed (*Ageratum conyzoides* L.) extracted with different solvents including distilled water, boiled water and 30, 60 and 95% ethanol on inhibition *Staphylococcus aureus* and antioxidant activity. The result found that goat weed stem extracted with 60% ethanol by agar disc diffusion method exhibited the highest antimicrobial activity against *S. aureus* with the inhibition zone of 8.52 ± 0.84 mm. The 60% ethanol extracts of goat weed stem had the values of minimum inhibitory concentration using broth dilution method and minimum bactericidal concentration using agar dilution method as 20.83 and 166.67 mg/ml,

respectively. In addition, the stem extracted with 95% ethanol showed the highest antioxidant activities of 88.46% based on DPPH radical scavenging method.

Keywords: goat weed, *Staphylococcus aureus*, antioxidant activity

บทนำ

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม ติดสีแกรมบวก พบตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ผิวหนัง จมูก คอ และเส้นผม เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วง แผลอักเสบ แผลผ่าตัดติดเชื้อ ปอดบวม และเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ ปัจจุบันพบว่าเชื้อ *S. aureus* มีการดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มมากขึ้น (Pesewu et al., 2008) ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้นักวิจัยจำนวนมากพยายามหาสารสกัดจากพืชทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้แล้วยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วย ซึ่งอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคข้ออักเสบ โรคอัลไซเมอร์ รวมถึงทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์ในร่างกายจนอาจพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ ดังนั้นการหาสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) เป็นพรรณไม้ล้มลุก พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย สารสกัดจากสาบแร้งสาบกา มีสรรพคุณมากมาย เช่น กระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวของพลาสมา และมีสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยคือ precocene I และ precocene II ที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ (Liu and Liu, 2014) รวมทั้งยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมจุลินทรีย์จากโรคพืชหลายชนิด เช่น *Rhizoctonia solani* และ *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* (Shabana et al., 1990) อย่างไรก็ตาม การใช้สารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของสาบแร้งสาบกาที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระยังคงมีการศึกษาไม่มากนัก ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทำวิจัยคือเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนลำต้นของสาบแร้งสาบกาที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากสาบแร้งสาบกา

นำลำต้นสาบแร้งสาบกาที่เก็บรวบรวมมาจากหมู่บ้านห้วยน้ำไซ อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลกในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2561 มาล้างทำความสะอาดและอบให้แห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปปั่นจนเป็นผงละเอียดและแช่ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำเดือด และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 30, 60 และ 95 (ลำต้นพืช 10 กรัม : ตัวทำละลาย 150 มิลลิลิตร) เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เก็บสารสกัดไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมเชื้อ *S. aureus*

เลี้ยง *S. aureus* ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร นำมาเจือจางให้ได้แบคทีเรียที่มีความเข้มข้น 1.5×10^8 colony forming unit (CFU) ต่อ มิลลิลิตร โดยเทียบกับ McFarland's standard No 0.5

3. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และฤทธิ์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ทำการ swap เชื้อ *S. aureus* ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร nutrient agar (NA) อยู่ จากนั้นวาง paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ดูดสารสกัดจากลำต้นสาบแร้งสาบกาที่มีความเข้มข้น

166.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงบน paper disc ตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตร ใช้ น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็น negative control และ chloramphenicol เป็น positive control บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (clear zone) จากนั้นเลือกตัวทำละลายที่มีความสามารถในการยับยั้งดีที่สุดที่ศึกษา ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration, MIC) และหา ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (minimal bactericidal concentration, MBC) ตามวิธีของ Pojanaukij and Kajorncheappunngam (2010) และศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging โดยใช้สารสกัดจากส่วนของลำต้นสาบแร้งสาบกาที่ละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำเดือด และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 30, 60 และ 95 ที่มีความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยศึกษาตามวิธีของ Sánchez-Moreno *et al.* (1998) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปในการคำนวณทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่าส่วนของลำต้นสาบแร้งสาบกาที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอื่น ๆ ($p < 0.05$) (Table 1) โดยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสมีขนาด 8.52 มิลลิเมตร แต่สารสกัดหยาบที่ใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ การที่สารสกัดจากส่วนลำต้นของสาบแร้งสาบกาสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้อาจเนื่องมาจากส่วนลำต้นของสาบแร้งสาบกา มีสารอัลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย (Amadi *et al.*, 2012) เมื่อนำสารสกัดจากส่วนลำต้นของสาบแร้งสาบกาที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 มาหาค่า MIC และ MBC พบว่ามีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 20.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 166.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Table 2)

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของลำต้นสาบแร้งสาบกา พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นทำให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Figure 1) และสารสกัดที่มีความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและผ่านการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุด ($p < 0.05$) โดยสามารถยับยั้งได้ถึงร้อยละ 88.46 ขณะที่งานวิจัยของ Aladdin *et al.* (2017) รายงานว่าสารสกัดจากใบสาบแร้งสาบกาที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 86.85 และ Shekhar and Anju (2014) พบว่าสารสกัดจากใบและดอกสาบแร้งสาบกาที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและผ่านการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 59.53 การที่สารสกัดจากลำต้นสาบแร้งสาบกา มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระอาจเป็นเพราะลำต้นสาบแร้งสาบกา มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบ (Amadi *et al.*, 2012) ซึ่งสารประกอบฟีนอลเป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลมีโครงสร้างทางเคมีที่เป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีนและมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ (Moeiklang and Ruangviriyachai, 2014) จึงทำให้สารประกอบฟีนอลถูกสกัดได้ดีเมื่อมีตัวทำละลายเป็นสารจำพวกแอลกอฮอล์

สรุป

สารสกัดหยาบจากส่วนของลำต้นสาบแร้งสาบกาที่ละลายในเอทานอลร้อยละ 60 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด นอกจากนี้การละลายสารสกัดในเอทานอลร้อยละ 95 ยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ดังนั้น สารสกัดจากส่วนของลำต้นสาบแร้งสาบกา น่าจะมีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคและยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงครามที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- Aladdin, A., E. Yarar, T. Batool, H.I.M. Al-Astal, M. AlMatar and E.A. Makky. 2017. Antiulcerogenic activity of *Ageratum conyzoides*: A review. *Journal of Biotechnology Science Research*. 4(3): 204 – 213.
- Amadi, B.A., M.K.C. Duru and E.N. Agomuo. 2012. Chemical profiles of leaf, stem, root and flower of *Ageratum conyzoides*. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2: 428 – 432.
- Liu, X.C. and Z.L. Liu. 2014. Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. aerial parts and its major constituents against *Aedes albopictus*. *J. Entomol Zool Stud*. 2: 345 – 350.
- Moeiklang, N. and C. Ruangviriyachai. 2014. Determination of phenolic compounds and antioxidant potential in fruit beverages. *KKU Res. J*. 14: 69 – 79. (in Thai)
- Pesewu, G.A, R.R. Cutler and D.P. Humber. 2008. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *J. Ethnopharmacol*. 116: 102 – 111.
- Pojanaukij, N. and S. Kajorncheappunngam. 2010. Comparison of antimicrobial activity of mangosteen crude, turmeric and gotu kola extract. *J. Naresuan University*. 18: 1 – 9. (in Thai)
- Sánchez-Moreno, C., J.A. Larrauri and F. Saura-Calixto.(1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric*. 76: 270 – 276.
- Shabana, N., S.I. Husain and S. Nisar. 1990. Allelopathic effects of some plants on the larval emergence of *Meloidogyne incognita*. *J. Indian Appl. Pure Biol*. 5: 129 – 130.
- Shekhar, T.C. and G. Anju. 2014. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* Linn. leaves. *AJEthno*. 4: 244 – 249.

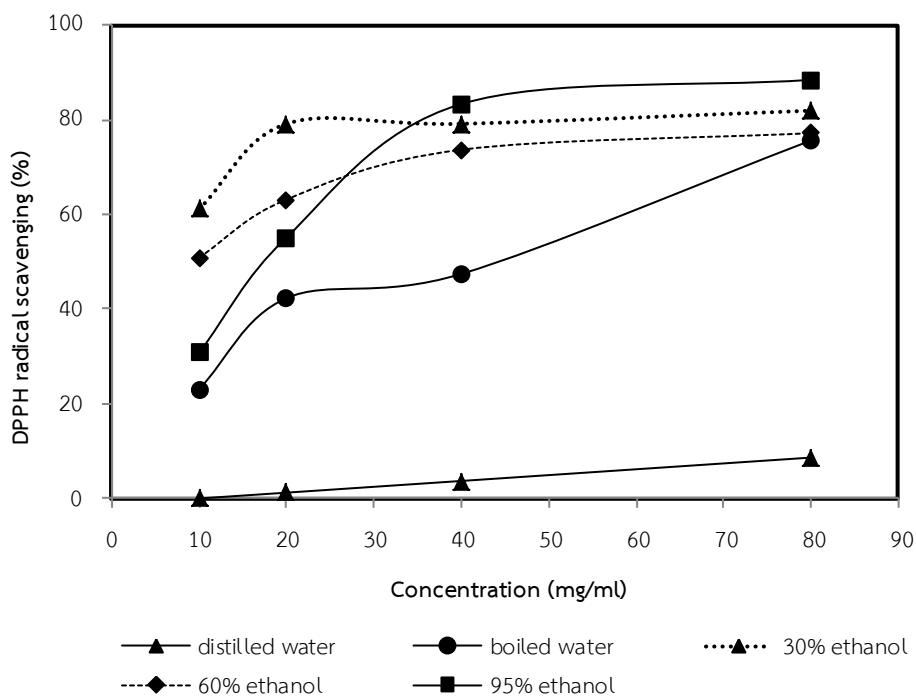


Figure 1 Antioxidant activity of crude extracts from the stem of goat weed extracted with different solvents.

Table 1 Inhibition zone against *Staphylococcus aureus* by the stem of goat weed extracted with different solvents.

Solvents	Diameter of inhibition zone (mm. ± SD)
distilled water	6.50±0.25 ^b
boiled water	6.58±0.14 ^b
30% ethanol	6.67±0.38 ^b
60% ethanol	8.52±0.84 ^a
95% ethanol	NI

NI means no inhibition zone.

Different letters indicate statistical difference ($p \leq 0.05$).

Table 2 Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of goat weed stem extracted with 60% ethanol.

Solvent	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
60% ethanol	20.83	166.67