ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากปรงทะเลที่พบบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Antibacterial Activities of the Crude Extract of*Acrostichumaureum* L. Growing at RajamangalaUniversity of Technology Srivijaya, Trang Campus

สุนันทา ข้องสาย[1*] และ ชาคริยา ฉลาด[2]

[1]อาจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ [2]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดตรัง 92150

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนใบ ลำต้น หัว และรากของปรงทะเลด้วยตัวทำละลายเฮกเซน นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion โดยใช้เชื้อทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR687, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Escherichia coli* TISTR780 และ *Salmonella typhimurium* TISTR292 ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีประสิทธิภาพต้านการเจริญของเชื้อทดสอบทั้ง 4 ชนิด วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งได้ 9.20 $\pm$ 0.37, 8.92 $\pm$ 0.09, 6.62 $\pm$ 0.48 และ 7.82 $\pm$ 0.56 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากลำต้น หัว และรากมีประสิทธิภาพต้านการเจริญของ *B. cereus* เพียงชนิดเดียว วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งได้ 8.02 $\pm$ 0.25, 8.51 $\pm$ 0.21 และ 10.87 $\pm$ 0.13 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำส่วนต่างๆ ของปรงทะเลไปพัฒนาเพื่อเป็นสมุนไพรบำบัดการก่อโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย

Abstract

The aim of this research was to study the antibacterial activities of crude extract, with hexane, from the leaves, stems, corms and roots of *Acrostichumaureum* L. by disc diffusion method against the pathogens viz., *Bacillus cereus* TISTR687, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Escherichia coli* TISTR780 and *Salmonella typhimurium* TISTR292**.** The results revealed that the leaves extracts showed antibacterial activity onall of fourtested pathogenic bacteria with the inhibition zone of 9.20 $\pm$ 0.37, 8.92 $\pm$ 0.09, 6.62 $\pm$ 0.48 and7.82 $\pm$ 0.56 mm.respectively. While the stems, corms and roots extracts showed antibacterial activity ononly *B. cereus* with the inhibition zone of 8.02 $\pm$ 0.25, 8.51 $\pm$ 0.21 and 10.87 $\pm$ 0.13 mm. respectively. This preliminary screening results demonstrated the potential of the extracts from various parts of *Acrostichumaureum* L. to be used as antibacterial agent and to be further researched and developed into innovative pharmaceutical and cosmetic products.

คำสำคัญ : ปรงทะเล ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

Keywords : Acrostichumaureum L., antibacterial activities

[*]*ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ Ta047@hotmail.com โทร. 0 7520 4063*

1. บทนำ

ป่าชายเลนเป็นป่าที่ปกคลุมอยู่บนดินเลนริมฝั่งทะเลในแถบน้ำกร่อยหรือน้ำทะเลเข้าถึงพืชกินได้ในพื้นที่ป่าชายเลนเป็นแหล่งทรัพยากรอาหารและสมุนไพรที่มีคุณค่า (นันทวัน,2545) ซึ่งในปัจจุบันประชาชนได้หันมาสนใจและให้ความสำคัญกับพืชสมุนไพรมากขึ้น (รัตนา, 2547) สารออกฤทธิ์ที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรเป็นทางเลือกใหม่ในการเลือกวัตถุดิบทางธรรมชาติสำหรับผู้ประกอบการธุรกิจอาหาร ยา และเครื่องสำอาง สามารถนำไปประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์ที่นำไปใช้อุตสาหกรรมผลิตยา อุตสาหกรรมผลิตอาหาร และอุตสาหกรรมผลิตเครื่องสำอางเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์

ปรงทะเล (*Acrostichumaureum* L.) เป็นพืชป่าชายเลนที่ขึ้นเป็นกลุ่มบริเวณดินเลนที่มีน้ำขัง มีลำต้นเป็นเหง้ามีเกล็ดใหญ่สีน้ำตาลคล้ำอยู่ใต้ดิน ชูส่วนของใบขึ้นมาเป็นกอ โคนต้นมีรากค้ำยันใบมีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก (Bonde, 2002) มีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นเบตา – สเตียรอยด์, แอลคาลอยด์, ฟลาโวนอยด์, สารประกอบฟีนอลิก (Cambieand Ash, 1994),คาเทชิน, ซาโปนิน และแทนนิน (Jesudass*et al*., 2003) ด้วยความรู้จากภูมิปัญญาชาวบ้านที่สามารถนำส่วนต่างๆ ของปรงทะเลมาใช้ประโยชน์อาทิเช่น ในหมู่เกาะมูเรีย ประเทศเฟรนช์โปลินีเซียใช้ปรงทะเลในการรักษาโรคทางระบบทางเดินหายใจ รักษาอาการไซนัสอักเสบเจ็บคอการติดเชื้อทางระบบผิวหนัง ช่วยรักษาบาดแผล ช่วยรักษาอาการท้องเดินในระบบทางเดินอาหารแล้วยังใช้ในการรักษาโรคเท้าช้าง เป็นยาลดไข้ รักษาอาการเจ็บหน้าอก อาการติดเชื้อในกระแสเลือด (Cambie and Ash, 1994) สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย มีฤทธิ์ต้านการฝังตัวของตัวอ่อนในมดลูกในหนู (Prakash*et al*., 1985) ชาวกัมพูชาใช้ลำต้นของปรงทะเลเป็นสมุนไพรพื้นบ้านรักษาโรคมาลาเรีย (Hout*et al.* 2006) ในประเทศไทยมีการนำยางจากต้นใช้ทาแผลหรือฝีเพื่อดูดหนองและดับพิษ ส่วนหัวนำไปฝนผสมน้ำข้าวสารทาแก้เริมหรือนำไปต้มพอกแผลที่มีอาการบวมฟกช้ำดำเขียวส่วนหัวของปรงทะเลผสมกับหัวว่าวและหัวจากตำเข้าด้วยกันใส่น้ำใช้ทาแผลแก้เริมงูสวัดใบอ่อนสีแดงใช้เป็นอาหาร ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของปรงทะเลที่เก็บในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสารสกัดจากพื้นท้องถิ่นเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อไป

2. วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่างและการเตรียมสารสกัด

เก็บตัวอย่างใบ ลำต้น หัว และรากของปรงทะเลบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในช่วงเดือนมีนาคม – เมษายน 2555 นำมาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า ทำการสกัดตัวอย่างพืชโดยชั่งตัวอย่างพืชแต่ละส่วนหนัก 50 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอทดสอบต่อไป

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากปรงทะเล

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี disc diffusion (NCCLS, 1999) โดยใช้เชื้อทดสอบจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR687*, Staphylococcus aureus* TISTR1466*, Escherichia coli* TISTR780 และ *Salmonella typhimurium* TISTR292

เลือก isolated colony จำนวน 3 – 5 โคโลนี โดยใช้ loop แตะใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) หลอดละ 2 มิลลิลิตรบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 – 6 ชั่วโมงตรวจสอบเชื้อให้มีความขุ่นมาตรฐาน McFarland No. 0.5 โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร จะได้ค่า OD อยู่ในช่วง 0.08 – 0.10 (ถ้าเชื้อขุ่นมากกว่าความขุ่นมาตรฐานให้เจือจางด้วยอาหาร TSB เชื้อที่มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐานนี้จะมีจำนวนเชื้อประมาณ $1.5x10^8$ CFU/ml) ใช้ sterile cotton swab จุ่มลงในเชื้อที่อยู่ในอาหาร

TSB นำมา swab เป็น 3 ระนาบ (Three dimension swab)ให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ปล่อยให้ผิวอาหาร TSA แห้ง (3 – 5 นาที) ใช้ forceps ที่ปราศจากเชื้อคีบแผ่น Disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร วางบนผิวของอาหาร TSA กดเบาๆ ให้แผ่น Disc ติดกับวุ้นฉีดสิ่งสกัดหยาบลงไปตำแหน่งละ 20 ไมโครลิตร โดยใช้เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติที่ปราศจากเชื้อ และใช้เฮกเซนเป็นสารควบคุมทำการทดสอบ 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสของการยับยั้งเชื้อเป็นมิลลิเมตร (mm.)

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

การเตรียมสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของปรงทะเลโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน

จากการเตรียมสารสกัดหยาบของปรงทะเลด้วยตัวทำละลายเฮกเซน พบว่าสารสกัดที่ได้จากส่วนใบ ลำต้น หัว และราก มีลักษณะเป็นสารเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม ของแข็งสีเขียวเข้ม ของแข็งสีส้ม และของแข็งสีเหลือง ตามลำดับ สารสกัดที่ได้จากส่วนลำต้นมีปริมาณของสารสกัดมากที่สุด รองลงมาคือส่วนใบ หัว และราก ตามลำดับ การคำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัดแสดงดังตารางที่ 1

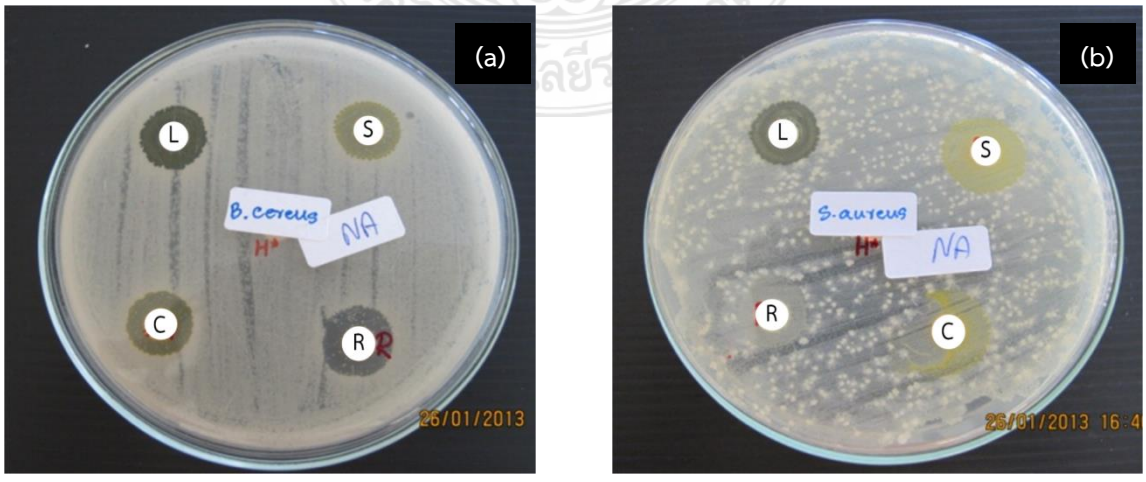
ตารางที่ 1 ปริมาณและร้อยละผลได้ของสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของปรงทะเลเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

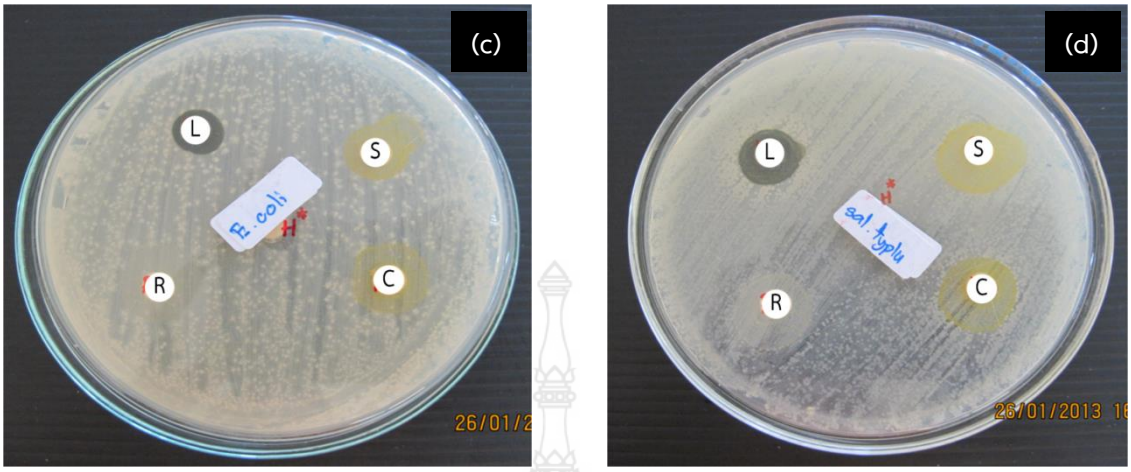
ส่วนต่างๆ ของปรงทะเล	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลได้*
ใบ	1.52	3.04
ลำต้น	3.49	6.98
หัว	0.09	0.18
ราก	0.06	0.12

$$\text{* ร้อยละผลได้ (\% yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของพืชบดละเอียดที่ใช้ในการสกัด}}$$

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากปรงทะเล

จากการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนใบ ลำต้น หัว และรากของปรงทะเลด้วยตัวทำละลายเฮกเซนด้วยวิธี disc diffusion โดยใช้เชื้อทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR687, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Escherichia coli* TISTR780 และ *Salmonella typhimurium* TISTR292 โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนเป็นสารควบคุม ให้ผลการทดสอบดังแสดงในรูปที่ 1





รูปที่ 1 ผลการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของปรงทะเลในการยับยั้งเชื้อ (a) *B. cereus,* (b) *S. aureus,* (c) *E. coli* และ (d) *S. typhimurium* ตามลำดับ

หมายเหตุ : L = Leaves S = Stems C = Corms R = Roots

เมื่อวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งในหน่วยมิลลิเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีประสิทธิภาพต้านการเจริญของเชื้อทดสอบทั้ง 4 ชนิด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง 9.20 ± 0.37, 8.92 ± 0.09, 6.62 ± 0.48 และ 7.82 ± 0.56 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากส่วนลำต้น หัว และรากมีประสิทธิภาพต้านการเจริญของ *B. cereus* เพียงชนิดเดียว วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งได้ 8.02 ± 0.25, 8.51 ± 0.21 และ 10.87 ± 0.13 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของปรงทะเลในตัวทำละลายเฮกเซน

แบคทีเรีย	ขนาดเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง (mm)				
	Control	สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของปรงทะเล			
		ใบ	ลำต้น	หัว	ราก
B. cereus TISTR 687	-	9.20 ± 0.37	8.02 ± 0.25	8.51 ± 0.21	10.87 ± 0.13
S. aureus TISTR 1466	-	8.92 ± 0.09	-	-	-
E. coli TISTR 780	-	6.62 ± 0.48	-	-	-
S. typhimurium TISTR 292	-	7.82 ± 0.56	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่เกิดวงใสของการยับยั้งการเจริญ

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากส่วนรากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียดีที่สุด สารสกัดจากส่วนลำต้นให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดแต่สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* เพียงชนิดเดียว ในขณะที่สารสกัดจากใบให้ปริมาณสารสกัดมากเป็นอันดับ 2 แต่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิด โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *B. cereus* มากที่สุด รองลงมาคือ *S. aureus*, *S. typhimurium* และ *E. coli* ตามลำดับ สารสกัดจากทุกส่วนของปรงทะเลสามารถยับยั้งการเจริญของ*B. cereus*ซึ่ง

เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษชนิด intoxication (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, ม.ป.ป.) ที่สามารถนำไปพัฒนาใช้เป็นสารถนอมอาหารธรรมชาติเช่นเดียวกับการใช้น้ำมันหอมระเหยของอบเชยในน้ำแครอท (ดาวริน, ม.ป.ป.) น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดในข้าวหุงสุก (นวลจันทร์ และ สุภาพร, 2549) ยับยั้งการเกิดโรคในมะม่วง (ศิริลาภาและคณะ, 2545) ทั้งนี้การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของปรงทะเลในตัวทำละลายอื่นๆ ยังเป็นประเด็นที่น่าสนใจเนื่องจากการเลือกตัวทำละลายในการสกัดมีผลทำให้ความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดแตกต่างกัน (ตรีชฎา, 2548) เช่นเดียวกับสารสกัดกานพลูในตัวทำละลายเฮกเซนและน้ำมันหอมระเหยที่มีสาระสำคัญสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอยู่ในกลุ่มสารไม่มีขั้วจึงสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิดในชั้นตัวทำละลายเฮกเซน ในขณะที่สมอเปลือกทับทิมและเมล็ดมะรุมสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าเช่น เอทานอล (วรยุทธและคณะ, 2555)

4. สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากส่วนใบ ลำต้น หัว และรากของปรงทะเลในตัวทำละลายเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จึงมีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นแนวทางพัฒนาสมุนไพรไทยหรือหารูปแบบผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้ในยาทาภายนอก เครื่องสำอาง สารถนอมอาหาร และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เหมาะสมต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณสาขาวิทยาศาสตร์กายภาพและสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมงมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยวิทยาเขตตรังที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยและขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง ที่ได้สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

ดาวริน สุขเกษม. ม.ป.ป.**สมุนไพรกับการถนอมอาหาร.**[ออนไลน์].เข้าถึงได้จาก : http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/suratthani/herbs.htm (15 พฤษภาคม 2556).

ตรีชฎา ศิริรักษ์. 2548. **ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคกลุ่ม Gram – negative rods ของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นวลจันทร์ ใจใส และสุภาพร ล้ำเลิศธน. 2549. ผลการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดต่อ *B. cereus*ในข้าวหุงสุก. **วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร**. 15(3) : 195 – 203.

นันทวันบุณยะประภัศร. 2545. ผักพื้นบ้านในป่าชายเลน.**วารสารสมุนไพร**.9 (1) : 1 – 12.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และ นิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Bacillus / บาซิลลัส. [ออนไลน์].เข้าถึงได้จาก : **http://www.foodnetworksolution.com** (15 พฤษภาคม 2556).

รัตนาอินทรานุปกรณ์.2547.**การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศิริลาภาสมานมิตร และคณะ. 2545. ผลการยับยั้งของแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตไคติเนส*Bacillus cereus* H11 ต่อเชื้อราก่อโรคในมะม่วง *Colletotrichumgloeosporiodes*. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 33(6) พิเศษ: 75 – 78.

วรยุทธยอดบุญและคณะ. 2555.ผลของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. **ในเรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**.50 : 228 – 237.

Bonde S.D.and Kumaran, K.P.N. 2002. A permineralized species of mangrove fern *Acrostichum* L. from Deccan Intertrappean beds of India. **Review of Palaeobotany and Palynology**.120 : 285 – 299.

Cambie, R.C. and Ash, J. 1994. **Fijian medicinal Plants**.Australia :CSIRO.

Hout, S. et al.2006.Screening of selected indigenous plants of Cambodia for antiplasmodial activity.**Journal of Ethnopharmacology**.107 : 12 – 18.

Jesudass, L. Louis. et al.2003. Preliminary phytochemical screening of the family Pteridaceae of the Western Ghats-South India.**Journal of Economic and Taxonomic Botany**. 27(4) : 922 – 924.

National Committe for Clinical Laboratory Standards.1999.**Performance Standards for Antimicrobial SusceptbilityTesting ;Eighth Informational Supplement**. NCCLS document M100 – S9. NCCLS, Wayne, PA.

Prakash, A. O. et al.1985. Anti – implantation activity of some indigenous plants in rats. **Acta Europaeafertilitatis**. 16(6) : 441 – 448.