



ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสะระแหน่
โดยตัวทำละลายเอทานอล
Antibacterial activity from leaf extracts of
Mentha cordifolia Opiz. by ethanol extraction

รองเดช ตั้งตระการพงษ์^{1*} และ จุลจิตร ตั้งตระการพงษ์²

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

²ภาควิชาทัศนมาตรศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

*Corresponding Author, E-mail: rongdejt@nu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบสะระแหน่ (*Mentha cordifolia* Opiz.) โดยวิธีการสกัดด้วยเอทานอล ที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* โดยวิธี agar disc diffusion ผลการศึกษาพบว่าใบสะระแหน่ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhi* ได้ดีที่สุดในรองลงมาคือ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus pyogenes* โดยมีขนาดค่าเฉลี่ยของ Clear zone คือ 13.17 ± 0.05 , 12.50 ± 0.05 , 12.00 ± 0.07 , 11.67 ± 0.06 , 11.00 ± 0.03 และ 10.50 ± 0.02 มิลลิเมตร ตามลำดับและผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) ซึ่งการที่ใบสะระแหน่ มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีเป็นผลมาจากส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดนี้คือ eugenol phenol และ thymol ซึ่งออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด ผลที่ได้แสดงให้เห็นศักยภาพที่สำคัญในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่มีอยู่โดยทั่วไปและสามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันโรคติดเชื้อในระบบต่างๆ ของร่างกายได้ ทั้งเป็นการส่งเสริมให้มีการนำพืชสมุนไพรไทยมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น

ABSTRACT

This study intended to investigate the antibacterial activity of *Mentha cordifolia* Opiz. extract, which was extracted by ethanol, inhibiting *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* by the agar disc diffusion method. It was found that *Mentha cordifolia* Opiz. extract highly inhibited *Salmonella Typhi* more effectively than *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus pyogenes* with a mean clear zone of 13.17 ± 0.05 , 12.50 ± 0.05 , 12.00 ± 0.07 , 11.67 ± 0.06 , 11.00 ± 0.03 and 10.50 ± 0.02 mm., respectively. These results were statistically significant difference at the confidence level of 95% ($P < 0.05$). *Mentha cordifolia* Opiz. extract can give highly antibacterial activity because of the two major components of essential oil of this plant which are eugenol phenol and thymol. These two components are widely used to inhibit a great number of pathogenic bacteria. The results of this study also reveal the potential uses of the extracts of native medicinal plants in inhibiting pathogenic bacteria and can be developed for use as prevention for bacterial infections.

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สระระแห่น Lamiaceae

Keywords: Antibacterial activity, *Mentha cordifolia* Opiz., Lamiaceae

บทนำ

มนุษย์รู้จักนำเอาพืชสมุนไพรมาใช้ในชีวิตประจำวันตั้งแต่สมัยโบราณกาล ซึ่งความต้องการพืชสมุนไพรได้พัฒนาควบคู่ไปกับการเจริญรุ่งเรืองทางด้านวัฒนธรรม ความเป็นอยู่ในสังคม เศรษฐกิจ และการเมือง วิธีเลือกใช้พืชสมุนไพรในการรักษาโรคของบรรพบุรุษนั้นถือได้ว่าเป็นศาสตร์ที่ล้ำลึก และเป็นมรดกทางวัฒนธรรมที่มีคุณค่าอย่างยิ่ง โดยได้นำพืชสมุนไพรมาใช้รักษาโรคในรูปแบบต่างๆ เช่นยาหม้อ ยา ลูกกลอน โดยใช้บำบัดโรคที่มีอาการไม่รุนแรงมาก นอกจากนั้นยังนำมาใช้เป็นเครื่องเทศ เครื่องปรุงประกอบอาหารได้ ปัจจุบันโรงพยาบาลหลายแห่งในประเทศไทยได้นำสมุนไพรไทยมาพัฒนาเป็นตำรับยาสำหรับแพทย์แผนไทยเพื่อรักษาโรคต่างๆ

(Chotchoung-chatchaia et al, 2012) เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่ายาแผนปัจจุบันที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี และมีแนวโน้มการนำไปใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งในประเทศไทยมีสมุนไพรเป็นจำนวนมาก หาได้ง่าย ราคาถูก สามารถปลูกใช้ตัวเองภายในครัวเรือน การใช้สมุนไพรจึงมีความปลอดภัยและช่วยประหยัดรายจ่ายของครอบครัว ตลอดจนช่วยลดการขาดดุลการค้าของประเทศในการสั่งซื้อยาได้เป็นจำนวนมากอีกด้วย นอกจากนี้ที่กล่าวมาแล้วสมุนไพรยังมีฤทธิ์อีกด้านหนึ่งที่สำคัญคือ สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobials) ที่สามารถพบอยู่ในพืชสมุนไพรหลายชนิดในประเทศไทย และยังได้มีการนำมาพัฒนาเป็นส่วนประกอบสำคัญในยาหยอดตาสูตรสมุนไพรอีกด้วย พืชสมุนไพรไทยที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในยา

หยอดตาสมุนไพรคือพืชวงศ์ Lamiaceae ซึ่งได้แก่ กะเพรา (Mitra et al., 2000) นอกจากนี้ยังมีพืชวงศ์ Lamiaceae ที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งคือสะระแหน่ (*Mentha cordifolia* Opiz.) ซึ่งมีสรรพคุณ แก้ปวดท้อง แก้จุกเสียด ขับผายลม ขับเหงื่อ ขับลม ถอนพิษไข้ แก้แน่น แก้ไอ ขับเสมหะ แก้ปวดศีรษะ ตมแก้ลม ทาแก้ฟกบวม กลิ่นหอมเย็นของใบสะระแหน่ช่วยให้สดชื่นปลอดโปร่ง สมองแจ่มใส แก้ปวดหัวและเป็นหวัดเป็นไข้ได้ โดยนำใบสะระแหน่มาชยี้แล้วทาขมับ กลิ่นของสะระแหน่ซึ่งจะช่วยให้รู้สึกผ่อนคลาย หายเครียดได้ นอกจากนี้สะระแหน่มาารับประทาน หรือนำมาชงน้ำดื่มเพื่อช่วยย่อยอาหาร และยังใช้โรคในเด็ก เช่น ชางซึก และช่วยให้ผายลมได้ดี ลดอาการท้องขึ้นท้องเฟ้อ (Chotchoungchatchaia et al., 2012)

พืชวงศ์ Lamiaceae เป็นพืชสมุนไพร ที่คนส่วนใหญ่รู้จักกันดี หาได้ง่าย และสามารถปลูกได้ตามครัวเรือนทั่วไป ลักษณะเด่นคือ เป็นไม้พุ่มหรือไม้เถา ลำต้นเหลี่ยม ดอกออกเป็นช่อยกสูงคล้ายฉัตร หรือบ้างก็ไม่ยกสูงมาก เป็นวงศ์ของ กะเพรา โหระพา แมงลัก สะระแหน่ ยี่ห่วย ลาเวนเดอร์ โรสแมรี่ บลูซัลเวีย ซัลเวียฮัมมิงเบิร์ดแดง ออริกานา ในหลายประเทศมักนิยมนำพืชวงศ์ Lamiaceae มาใช้ประกอบอาหาร เพื่อเพิ่มรสชาติให้กับอาหารและทำให้อาหารน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น อีกทั้งพืชวงศ์นี้ยังมีสรรพคุณทางยามากมาย และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Janssen และคณะ ในปี ค.ศ. 1989 ที่ประเทศสวีเดนพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ Lamiaceae ที่สำคัญคือ ยี่ห่วย แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี ซึ่งเป็นผลมาจากส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดนี้คือ eugenol phenol และ thymol ซึ่งพบว่า eugenol เป็นสารออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรหลายชนิด เช่น

โหระพา และกะเพรา เป็นต้น จากการวิจัยในปี ค.ศ. 2002 โดย Ponce และคณะได้วิจัยศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย native microflora ของ Swiss chard (*Beta vulgaris* L. var cicla) โดยวิธี agar diffusion method และหาค่า minimum bactericidal concentration (MBC) และ minimum inhibitory concentration (MIC) ของน้ำมันหอมระเหย จากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยของโหระพามีขนาด inhibition zone 10.00 ± 1.00 ml และมีค่า MIC และ MBC 1.5 ml/100 ml และ 0.06 ml/100 ml ตามลำดับ ต่อมาในปี ค.ศ. 2005 Moreira และคณะได้วิจัยศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา ทดสอบฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* 4 สายพันธุ์ จากการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยของโหระพามีขนาด inhibition zone ระหว่าง 9-14 ml และมีค่า MIC และ MBC 1.9 ml/100 ml และ 2.00 ml/100 ml ตามลำดับ รวมทั้งรายงานการวิจัยที่ใช้ น้ำมันหอมระเหยของยี่ห่วย ทดสอบการต่อต้านเชื้อราในกลุ่ม *Candida* spp. โดย Celso Vataru Nakamura และคณะในปี ค.ศ. 2004 ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยของยี่ห่วยจะทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์ของเชื้อราทำให้เกิดการรบกวนการแลกเปลี่ยนสารของเซลล์กับสิ่งแวดล้อมภายนอกเป็นผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ซึ่งให้ผลเทียบเท่ากับยาต่อต้านเชื้อราที่ใช้โดยทั่วไป นอกจากนี้ยังพบการศึกษาสารสกัดใน กะเพรา (*Ocimum sanctum* L.) โดย Kothari และคณะในปี ค.ศ. 2004 พบว่าเมื่อป้อนสารสกัดกะเพราด้วยแอลกอฮอล์ 70% ทางท่อเข้าที่กระเพาะหนูขาว ในขนาด 100 mg/kg ต่อน้ำหนักตัว 1 kg มีผลรักษาแผลในกระเพาะอาหารที่เกิดจาก aspirin วิธี Shay-

induced ulcers หรือการใช้ความเย็น (Specific repeated cold stress animals) สารสกัดผงใบกะเพราด้วยเอทานอล ขนาด 100 mg/kg เมื่อป้อนให้กับหนูขาวทางปาก วันละ 1 ครั้ง หรือฉีดน้ำมัน fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 1-3 ml/kg เข้าทางช่องท้องของหนูตะเภาที่เหนียวนำไปเกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วย aspirin, alcohol, histamine, pyloric ligation, indomethacin, reserpine, serotonin และ stress พบว่าสามารถลดการหลังกรดและป้องกันการถูกทำลายของเยื่อกระเพาะอาหารได้

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบสะระแหน่ (*Mentha cordifolia* Opiz.) โดยวิธีการสกัดด้วยเอทานอล ที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* โดยวิธี agar disc diffusion ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นการส่งเสริมการนำภูมิปัญญาด้านสมุนไพรไทย ไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมาก ในด้านการประยุกต์นำสารสกัดจากพืชในวงศ์ Lamiaceae ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น รักษาการติดเชื้อของอวัยวะภายนอกของร่างกาย เช่น ผิวน้ำ หรือ ดวงตา การปรับปรุงกระบวนการถนอมอาหาร หรือ การพัฒนาสูตรยาสมุนไพรให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดต่อไปในอนาคต

วิธีการดำเนินการวิจัย

เชื้อแบคทีเรียจำนวน 6 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* โดยได้รับความอนุเคราะห์

จาก ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสกัดสารจากใบสะระแหน่ ด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล

นำใบสดของสะระแหน่มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา (Mortar) จากนั้นนำไปแช่ใน 95% เอทานอล 200 ml ปิดด้วยกระดาษฟอย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการกรองด้วยกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ได้จากการกรองไปใส่ใน Round bottom flask จากนั้นนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ภายใต้อุณหภูมิ 45 °C นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ในการเก็บสารสกัดจะเก็บไว้ในที่ไม่มีแสงแดด ที่อุณหภูมิ 4 °C

การเตรียมแผ่นยาสมุนไพรร

ดูดสารสกัดจากใบสะระแหน่ที่สกัด ให้ได้ ปริมาตร 10 µl ลงบน sterile paper disc ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ml ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะและเอทานอลเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (Control) โดยวิธี Agar disc diffusion method

ทำการ Spread แยกเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ลงบนอาหาร LB agar จากนั้นใช้แผ่น paper disc ที่มีเอทานอล และยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด คือ Sulfamethoxazole+trimethoprim, Streptomycin+penicillin G และ Kanamycin สำหรับเป็นตัวควบคุม (control) วางลงบน LB agar ซึ่ง 1 Petri dish จะวางแผ่น disc 1 แผ่น แล้วนำ Petri dish ที่วางแผ่น paper disc ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จำนวน 3 ซ้ำ)

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสะระแหน่ โดยวิธี Agar disc diffusion method

ทำการ Spread แยกเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ลงบนอาหาร LB agar จากนั้นใช้ แผ่น paper disc ที่มีสารสกัดจากใบของสมุนไพรวางลงบน LB agar ซึ่ง 1 Petri dish จะวางแผ่น disc 1 แผ่น แล้วนำ Petri dish ที่วางแผ่น paper disc ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จำนวน 3 ซ้ำ)

การวัดผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

นำ Petri dish ที่ทำการทดสอบและบ่มแล้ว มาทำการวัดขนาด Inhibition zone บันทึกผลที่ได้จำนวน 3 ซ้ำ

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากใบสะระแหน่ ด้วยวิธี Broth dilution technique

การทดสอบหาค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ LB Broth โดยนำหลอดทดลอง ซึ่ง ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 10 หลอด ทำการดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth) ใส่ลงในหลอดที่ 2-10 หลอดละ 1 ml แล้วดูดสารสกัดที่ต้องการศึกษา โดยมีค่าเริ่มต้นที่ค่าความเข้มข้นสูงสุด 100 mg/ml ลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 ml ต่อจากนั้นดูดสารในหลอดที่ 2 จำนวน 1 ml ใส่ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำทำนองเดียวกันนี้ไปจนถึงหลอดที่ 9 สำหรับหลอดที่ 9 เมื่อผสมสารสกัดและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันได้แล้วดูดสารละลายทิ้งไป 1 ml ส่วนหลอดที่ 10 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด จึงใช้เป็น positive control จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงไปในทุกหลอด หลอดละ 1 ml แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การอ่านผล

การหา MIC ให้สังเกตความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับ positive control

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

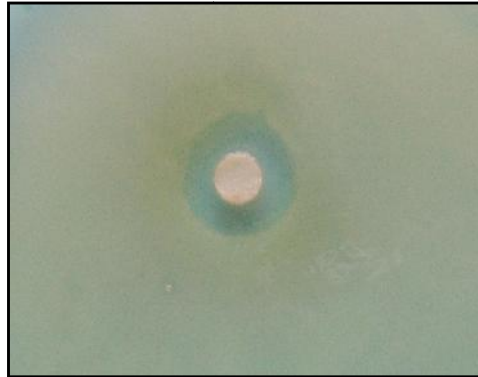
นำผลขนาด Inhibition zone ที่ได้ไปหาค่า mean และค่า SE โดยใช้ โปรแกรม SPSS ที่ค่า $P < 0.05$

ผลการวิจัย

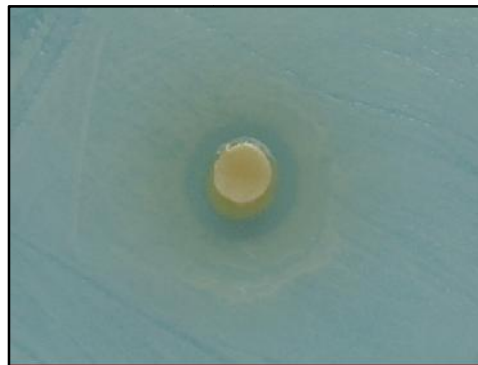
ผลของการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากใบสะระแหน่ที่สกัดด้วย เอทานอล 95% โดยทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดคือ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* ด้วยวิธี Agar disc diffusion method โดยมียาปฏิชีวนะ 3 ชนิดคือ Sulfamethoxazole+Trimethoprim, Kanamycin, Penicilin G+Streptomycin ที่ใช้เป็น control สามารถทำลายเชื้อได้ทั้งหมด โดยยา Sulfamethoxazole+Trimethoprim สามารถต้านเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมา คือ Kanamycin และ Streptomycin +Penicillin G เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสะระแหน่ โดยจากตารางที่ 1 พบว่า ใบสะระแหน่ (*Mentha cordifolia* Opiz.) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhi* ได้ดีที่สุด (รูปที่ 1) รองลงมาคือ *Klebsiella pneumoniae* (รูปที่ 2) *Escherichia coli* (รูปที่ 3) *Staphylococcus aureus* *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus pyogenes* โดยมีขนาดค่าเฉลี่ย inhibition zone คือ 13.17 ± 0.05 , 12.50 ± 0.05 , 12.00 ± 0.07 , 11.67 ± 0.06 , 11.00 ± 0.03 และ 10.50 ± 0.02 มิลลิเมตร ตามลำดับ และจากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถ

ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากใบสะระแหน่ ด้วยวิธี Broth dilution technique โดยมีค่าเริ่มต้นศึกษาที่ค่าความเข้มข้นสูงสุด 100 mg/ml พบว่าค่า MIC ของสารสกัดจากใบสะระแหน่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Salmonella*

Typhi ได้ดีที่สุดใน รองลงมาคือ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus pyogenes* และมีค่า MIC เท่ากับ 6.25, 10.5, 12.5, 15.5, 20 และ 25 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 2)



รูปที่ 1 Inhibition zone ของ *Salmonella* Typhi



รูปที่ 2 Inhibition zone ของ *Klebsiella pneumoniae*

รูปที่ 3 Inhibition zone ของ *Escherichia coli*

ตารางที่ 1 ขนาด Inhibition zone ของ *Mentha cordifolia* Opiz extracted substance ที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ (Inhibition zone (Mean \pm SE) P < 0.05)

Substance	Clear zone diameter (mm)					
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Typhi</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Ethanol	10.75 \pm 0.09 ^b	13.67 \pm 0.07 ^a	10.11 \pm 0.03 ^b	10.89 \pm 0.05 ^b	10.89 \pm 0.06 ^b	10.33 \pm 0.04 ^b
kanamycin	34.13 \pm 0.34 ^a	29.22 \pm 0.13 ^{ab}	27.67 \pm 0.14 ^b	28.11 \pm 0.11 ^{ab}	29.33 \pm 0.12 ^{ab}	27.67 \pm 0.14 ^b
streptomycin+ penicillin G	19.50 \pm 0.16 ^b	25.22 \pm 0.19 ^a	22.33 \pm 0.18 ^{ab}	23.44 \pm 0.15 ^{ab}	23.44 \pm 0.15 ^{ab}	19.33 \pm 0.15 ^b
sulfamethoxazole+ trimethoprim	34.38 \pm 0.15 ^a	37.33 \pm 0.10 ^a	36.56 \pm 0.14 ^a	36.22 \pm 0.25 ^a	32.44 \pm 0.12 ^a	34.89 \pm 0.14 ^a
<i>Mentha cordifolia</i> Opiz.	10.50 \pm 0.02 ^d	11.00 \pm 0.03 ^{cd}	11.67 \pm 0.06 ^{bcd}	13.17\pm0.05^a	12.00 \pm 0.07 ^{abc}	12.50 \pm 0.05 ^{ab}

*อักษรที่กำกับต่างกันแถวเดียวกันที่ยาหรือสารสกัดชนิดเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของ *Mentha cordifolia* Opiz extracted substance

Substance	MIC of <i>Streptococcus pyogenes</i> (mg/ml)	MIC of <i>Streptococcus agalactiae</i> (mg/ml)	MIC of <i>Staphylococcus aureus</i> (mg/ml)	MIC of <i>Salmonella Typhi</i> (mg/ml)	MIC of <i>Escherichia coli</i> (mg/ml)	MIC of <i>Klebsiella pneumoniae</i> (mg/ml)
<i>Mentha cordifolia</i> Opiz	25	20	15.5	6.25	12.5	10.5

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

จากการนำใบสะระแหน่มาทำการสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95% ระเหยสารสกัดให้แห้ง ภายใต้ความดันต่ำ อุณหภูมิ 45 °C นำสารสกัดที่ได้มาทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยพบว่าใบสะระแหน่ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhi* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus pyogenes* โดยมีขนาดค่าเฉลี่ยของ Clear zone คือ 13.17±0.05, 12.50±0.05, 12.00±0.07, 11.67±0.06, 11.00±0.03 และ 10.50±0.02 mm ตามลำดับและผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05) ซึ่งสอดคล้องกับค่า MIC ของสารสกัดจากใบสะระแหน่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhi* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus pyogenes* และมีค่า MIC เท่ากับ 6.25, 10.5, 12.5, 15.5, 20 และ 25 mg/ml ตามลำดับ การที่ใบสะระแหน่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีนั้นเป็นผลมาจากส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรวงศ์ Lamiaceae ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีคือ eugenol, phenol, carvacrol, menthol และ limonene (Kumar et al., 2010; Hussain et al., 2008)

สำหรับใบสะระแหน่จะมี menthol และ carvacrol เป็นส่วนประกอบหลักที่ทำหน้าที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งให้ผลต่อแบคทีเรียแกรมลบได้ดี โดยมีผลลดระดับการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียและมีผลในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพ และเกิดการรั่วไหลของสารจนมีผลทำให้แบคทีเรียถูกทำลาย (Moreira et al., 2005; Snigdha and Monika, 2013) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hussain และคณะ ในปี 2011 ที่พบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรวงศ์ Lamiaceae มีสารประกอบ phenolic compounds ในปริมาณสูง ทำให้มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และชนิดอื่นๆ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella poona* ได้ดี และจากผลที่ได้แสดงให้เห็นศักยภาพที่สำคัญในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่มีอยู่โดยทั่วไปและสามารถนำไปพัฒนาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ เช่น การถนอมอาหาร การรักษาและป้องกันโรคติดเชื้อ เป็นต้น เพื่อใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ราคาถูกลงกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริมการอนุรักษ์พืชสมุนไพรของประเทศ ไทยไม่ให้สูญหาย รวมทั้งส่งเสริมให้มีการนำพืชสมุนไพรไทยมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Janssen, A. M., Scheffer J.J., Ntezurubanza, L., Baerheim, S. A. (1989). Antimicrobial activities of some *Ocimum* species grown in Rwanda. *Journal of Ethnopharmacol* 26: 57-63.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. and Przybylski, R. (2008). Chemical Composition, Antioxidant and Anti-microbial Activities of Basil (*Ocimum basilicum*) Essential Oils

- Depends on Seasonal Variations. *Food Chemistry* 108: 986-995.
- Hussain, A.I., Farooq Anwar, P. S. Nigam, S.D., Sarker, J.E., Moore, J.R., Rao, A.M. (2011). Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. *LWT - Food Science and Technology* 44: 1199-1206.
- Kothari, S.K., Bhattacharya, A.K. and Rameshb. S. (2004). Essential oil yield and quality of methyl eugenol rich *Ocimum tenuiflorum* L. f. (syn. *O. sanctum* L.) grown in south India as influenced by method of harvest. *Journal of Chromatography A* 1054: 67-72.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P. and Dubey, N.D. (2010). Chemical Composition, Antifungal and Antiaflatoxigenic Activities of *Ocimum sanctum* L. Essential Oil and Its Safety Assessment as Plant Based Antimicrobial. *Food and Chemical Toxicology* 48: 539-543.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., del Valle, C.E., and Roura, S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology* 38: 565-570.
- Mitra, S.K., Sundaram, R., Venkataranganna, M.V., Gopumadhavan, S., Prakash, N.S., Jayaram, H.D., Sarma, D.N.K. (2000). Anti-inflammatory, antioxidant and anti-microbial activity of Ophthacare brand, an herbal eye drops. *Phytomedicine* 7(2): 123-127.
- Nakamura, C.V., Ishida, K., Faccin, L.C., Filho, B.P.D., Cortez, D.A.G., Rozental, S., Souza, W.d., Ueda-Nakamura, T. (2004). In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. *Research in Microbiology* 155: 579-586.
- Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C. S. and Roura, I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology* 36(7): 679-684.
- Chawla, S. and Thakur, M. (2013). Overview of Mint (*Mentha* L.) as a promising health-promoting herb. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development* 5: 73-80.
- Chotchoungchatchaia, S., Saralampa, P., Jenjittikulb, T., Pornsiripongsec, S. and Prathanturug, S. (2012). Medicinal plants used with Thai Traditional Medicine in modern healthcare services: A case study in Kabchoeng Hospital, Surin Province, Thailand. *Journal of Ethnopharmacology* 141(1): 193-205.

