

การศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสะแกนนา

Phytochemical screening and antibacterial activity of *Combretum quadrangulare kurz.* extracts

ฉัตรลดา หงษ์วิลัย¹, ศิริทิพย์ พรหมเสนสา², นฤวัตร ภักดี³, ภาณุชา พงศ์นราทร⁴, พงศธร ทองกระสี⁵,
ฉัตรชนก นุกุลกิจ⁶, ทัญทิกา แก้วสูงเนิน⁷, เพ็ญศิริ จันทรแอ⁸ และจริญยา ขุนทะवाद^{9*}
Chatlada Hongwilai¹, Sirintip Promsensa², Naruwat Pakdee³, Panicha Pongnaratorn⁴,
Pongsathorn Tongkasee⁵, Chatchanok Nukulkit⁶, Thanthika Kaewsoongnern⁷, Pensiri Chan-ae⁸
and Jarinya Khoontawad^{9*}

¹แพทย์แผนไทย กลุ่มงานแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก โรงพยาบาลบ้านม่วง

²อาจารย์ สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

^{3,5,6,7,8}อาจารย์ สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

^{4,9}ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

¹Thai traditional medicine, Thai traditional and alternative medicine department, Banmuang hospital, Banmuang district, Sakon Nakhon

²Lecturer, Department of Thai traditional medicine, Faculty of Science, Udon Thani Rajabhat University

^{3,5,6,7,8}Lecturer, Department of Thai traditional medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

^{4,9}Assistant Professor Dr., Department of Thai traditional medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

(Received: 16 October 2021 Revised: 3 August 2022 Accepted: 10 August 2022)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางพฤษเคมีและฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนนา (*Combretum quadrangulare kurz.*)

รูปแบบและวิธีวิจัย : เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) โดยนำสารสกัดส่วนสดและแห้งของ กิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนนา ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ตรวจสอบหาสารพฤษเคมี และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Disc diffusion และ Broth dilution วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ One-Way ANOVA

ผลการศึกษา : เมื่อนำสารสกัดส่วนสดและแห้งมาตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นพบว่า สารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบ พบสารพฤษเคมีที่แตกต่างกัน แต่พบสารพฤษเคมีที่เหมือนกัน คือ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดจากสะแกนนาสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งโดยส่วนใหญ่สารสกัดจากส่วนแห้งมีโซนการยับยั้งได้ดีกว่าส่วนสด

โดยสารสกัดจากส่วนแห้งที่สุดคือกิ่ง มีค่าเฉลี่ยของบริเวณโซนใสเท่ากับ 20.00 ± 0.50 มิลลิเมตร มีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC) เท่ากับ 3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนสดที่มีโซนการยับยั้งดีที่สุดคือผลสด มีค่าเฉลี่ยของบริเวณโซนใสเท่ากับ 15.00 ± 0.00 มิลลิเมตร มีค่า MIC เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สรุปผลการศึกษา : จากผลของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสะแกนามีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งในอนาคตอาจนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพได้

คำสำคัญ : สะแกนา, สารพฤกษเคมี,ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, สแตปไฟโลคอคคัส ออเรียส

Corresponding Author: *E-mail: Jarinya.ko@rmuti.ac.th

ABSTRACT

Objective : To study phytochemical screening and antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* from fresh and dry parts of the branches, barks, fruits and leaves of *Combretum quadrangulare* Kurz.

Method : Analytic study by experimental research from fresh and dried parts from branches, barks, fruits and leaves extracted with 95% ethanol for phytochemical screening and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* by Disc diffusion method and Broth dilution method. The statistics were determined by One-Way ANOVA.

Results : The results of phytochemical screening of fresh and dried parts from branches, barks, fruits and leaves extracts showed different phytochemicals. However, flavonoids, saponins and tannins were found in all parts. The antibacterial activity on *S. aureus* were tested by using disk diffusion method. The results showed that *S. aureus* were inhibited by the herbal extracts. The dried extracts had the better antibacterial performance than the fresh part. The highest antibacterial activity was found in dried part of branches extracts that have inhibition zone diameter of 20.00 ± 0.50 mm, Minimal inhibitory concentration (MIC) of 1.95 mg/mL, Minimal bactericidal concentration (MBC) of 3.91 mg/mL while the highest antibacterial effect in fresh extracts are fruits that showed the inhibition zone diameter of 15.00 ± 0.00 mm, MIC of 1.95 mg/mL, MBC of 3.91 mg/mL, respectively.

Conclusion : The results of this study show that *C. quadrangulare* Kurz. have the ability in antibacterial. This knowledge may be developed into herbal product in the future.

Keywords : *Combretum quadrangulare* Kurz, Phytochemical, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*

บทนำ

การดำรงชีวิตประจำวันในปัจจุบันนั้นต้องสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียมากมาย โดยเชื้อแบคทีเรียจะก่อให้เกิดอาการเจ็บป่วยต่าง ๆ นั้นขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งหากได้รับเชื้อแบคทีเรียเข้าไปอาจทำให้ระบบในร่างกายทำงานผิดปกติ เช่นการทำงานของเอนไซม์ผิดปกติไป หรืออาจทำให้ร่างกายมีอาการไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น ซึ่งอาการผิดปกติต่าง ๆ จะต้องรักษาด้วยยาแผนปัจจุบันที่เป็นเคมีสังเคราะห์และในบางครั้งอาจมีผลข้างเคียงเกิดขึ้น ด้วยเหตุนี้ในปัจจุบันจึงมีการส่งเสริมการใช้สมุนไพรให้เกิดประโยชน์มากขึ้น เนื่องจากสมุนไพรบางชนิดนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้ เช่น เปลือกอบเชยจีน เปลือกผลทับทิม⁽¹⁾ ใบกระวาน⁽²⁾ แก่นฝาง และดอกกานพลู⁽³⁾ เป็นต้น ปัจจุบันกลุ่มคนยุคใหม่จึงหันมาสนใจนำสมุนไพรมาใช้มากขึ้นเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาอาการเจ็บป่วยเบื้องต้น

สะแกนา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Combretum quadrangulare* Kurz. จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae จัดเป็นไม้ยืนต้น พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดงดิบและป่าโปร่งในประเทศไทย จากภูมิปัญญาทางการแพทย์แผนโบราณของประเทศไทยและประเทศเวียดนามมีการใช้ส่วนต่างๆ ของสะแกนาเพื่อรักษาอาการเจ็บป่วยเบื้องต้น เช่น เมล็ดและใบ แก้วใช้และใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ รากใช้รักษาฝีหนอง เป็นต้น⁽⁴⁾ นอกจากนี้สารสกัดจากใบสะแกนายังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽⁵⁾ มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง⁽⁶⁾ สารสกัดจากเมล็ดสะแกนาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้⁽⁷⁾ จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา (Preliminary) ของคณะผู้วิจัยพบว่าสารสำคัญในเปลือกต้น กิ่ง และใบสะแกนา พบสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพได้^{(8), (9)} ตลอดจน

ลดความเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอกหรือโรคที่เกิดจากภาวะร่างกายขาดความสมดุล ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับส่วนต่าง ๆ ของสะแกนา การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองหาสารพฤษเคมีเบื้องต้นและเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา โดยข้อมูลจากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อเป็นประโยชน์ในการนำสะแกนามาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด

นำกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนาสดมาล้างทำความสะอาดแล้วล้างให้แห้ง จากนั้นหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2x1 เซนติเมตร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากแห้งแล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดแบบหยาบ เป็นเวลา 10 นาที ส่วนตัวอย่างสดจะไม่อบแห้ง แต่จะหั่นให้มีขนาดเล็กลง และนำไปบดเลย เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งสมุนไพรที่บดให้ได้ปริมาณอย่างละ 500 กรัม ใส่ลงในขวดสีชา เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 95% ลงไป ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1:4 ทำการสกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) เก็บไว้ให้พองเต็มที่ แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน เขย่าทุกวัน เมื่อครบกำหนดตามเวลา จึงนำสารสกัดมากรอง แล้วนำสารที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแห้งแบบสูญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเมื่อสารสกัดแห้งสนิทแล้วจึงนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณผลผลิตร้อยละ (%Yield)

$$\text{ผลผลิตร้อยละ} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

a = น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)

b = ปริมาณสมุนไพรที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

2. การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบหาสารพิษเคมีเบื้องต้น แบ่งการทดสอบสารออกเป็น 11 กลุ่ม โดยอาศัยการสังเกตปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ดัดแปลงจากวิธีของศรีนรัตน์ และคณะ⁽¹⁰⁾ ดังนี้

2.1 การตรวจสอบแอนทราควิโนน จะนำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำเป็นเวลา 5 นาที และหยดกรดไฮโดรคลอริก (10% HCl) จำนวน 2-3 หยด ปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำของเหลวที่ได้เติมคลอโรฟอร์ม จำนวน 2-3 หยด และเติมแอมโมเนีย (10% NH_3) จำนวน 2-3 หยด จากนั้นให้ความร้อนโดยการต้ม ถ้าสารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีแดงชมพูแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

2.2 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลละลายตะกั่ว อะซิเตท (10% Lead acetate) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่า หากพบว่าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

2.3 การตรวจสอบซาโปนิน ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟอง โดยนำสารสกัด 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองเกิดขึ้นในหลอดทดลองแสดงว่าพบซาโปนิน

2.4 การทดสอบแทนนิน นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (0.1% FeCl_3) จำนวน 2-3 หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำตาลอ่อนอมเขียวแสดงว่าพบแทนนิน

2.5 การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำสารที่ได้จากการกรองไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

2.6 การทดสอบคูมาริน นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยเอทานอล (50% EtOH) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำสารที่ได้จากการกรองไปเติมน้ำตาลละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6M NaOH) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่า ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบคูมาริน

2.7 การทดสอบโพลีทาแทนนิน นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นกรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วนำของเหลวที่ได้ไปเติมน้ำตาลละลายไฮโดรคลอริก (HCl) 2 มิลลิลิตร ถ้าปรากฏตะกอนสีแดงแสดงว่าพบโพลีทาแทนนิน

2.8 การทดสอบเทอร์ปีนอยด์ นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำสารที่ได้จากการกรองไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์

2.9 การทดสอบสเตียรอยด์ นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า แล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำสารที่ได้จากการ

กรองไปเติมกรดกลacialแอซีติก (Glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) จำนวน 2-3 หยด ถ้าสารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสเตียรอยด์

2.10 การทดสอบไกลโคไซด์ นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำเดือด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วทำการกรอง จากนั้นนำสารที่ผ่านการกรองปริมาตร 2 มิลลิลิตร ไปทำการไฮโดรไลซิสด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วทำให้เป็นอัลคาไลน์ด้วยสารละลายแอมโมเนีย (NH_3) จากนั้นเติมสารละลายเบนเนดิกต์ 5 หยด แล้วนำไปต้มจนเดือด หากปรากฏตะกอนสีแดงอมน้ำตาลแสดงว่าพบไกลโคไซด์

2.11 การทดสอบอัลคาลอยด์ นำสารสกัด 1 มิลลิลิตร เติม Wagner's reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าปรากฏตะกอนสีน้ำตาล แสดงว่าพบอัลคาลอยด์

3. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* B-2-1381 (*S. aureus*) ด้วยวิธี Disc diffusion เริ่มจากการเตรียมสารสกัดโดยการนำสารสกัดจากส่วนสดและแห้งของ กิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา อย่างละ 0.5 กรัม ละลายด้วย 10% เอทานอล ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จนกว่าสารละลายจะไม่มีตะกอน แล้วคูดสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 25 ไมโครกรัม ลงบน Paperdisc (WhatmanTM) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ทำการเตรียมเชื้อแบคทีเรียโดยนำไม้พินสำลีปลอดเชื้อจุ่มเชื้อแบคทีเรียที่ปรับค่าความขุ่นให้ตัวควบคุมเชิงลบ ใช้ 10% เอทานอล และตัวควบคุมเชิงบวกใช้ Tetracycline disc (OxoidTM) ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัม/ดิสก์ จากนั้นนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ)

แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้น บันทึกผลโดยวัดเป็นหน่วยมิลลิเมตร (mm)

4. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC)⁽¹¹⁾

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยการทดสอบหาค่า MIC และ MBC โดยวิธี Broth dilution method โดยเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดส่วนสดและส่วนแห้ง ในช่วง 0.98-125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำเชื้อที่มีค่าความขุ่นเท่ากับ McFarland standard no. 0.5 หยดลงผสมกับสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลอดทดลองในอัตราส่วน 1:1 แล้วเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วทำการอ่านผล โดยค่า MIC สังเกตได้จากหลอดสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรืออาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่น จากนั้นนำไปหาค่า MBC โดยนำความเข้มข้นที่ได้จากค่า MIC มาเกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการแบ่งช่องสำหรับแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แล้วนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ) โดยค่า MBC สังเกตได้จากจะไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในช่องที่เกลี่ยเชื้อลงไป

ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาการสกัดสารจากส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนาด้วยวิธีการหมักโดยใช้ตัวทำละลาย 95% เอทานอล ในอัตราส่วนสมุนไพรหนัก 500 กรัม ต่อตัวทำละลายปริมาตร

2,000 มิลลิลิตร (1:4) จะได้สารสกัดหยาบจากส่วนสดที่มีลักษณะเหนียวข้นสีดำ และสารสกัดหยาบจากส่วนแห้งมีลักษณะเหนียวข้นสีน้ำตาลดำ โดยมีค่าร้อยละสารสกัด (%Yield) ในสารสกัดส่วนสดและแห้งมากที่สุดคือใบ รองลงมาคือผล เปลือก และกิ่ง ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา พบว่าสารพฤกษเคมีที่พบเหมือนกันในสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบ คือ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน สารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่งและเปลือกพบไกลโคไซด์ ส่วนสารสกัดส่วนสดและแห้งของผลและใบพบสารพฤกษเคมีชนิดเดียวกันคือ คูมาริน แต่ในสารสกัดส่วนสดพบ สเตียรอยด์ นอกจากนี้สารสกัดส่วนแห้งของใบแห้งยังพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์และเทอร์ปีนอยด์ ซึ่งไม่พบในสารสกัดส่วนอื่นๆ และไม่พบแอนทราควิโนน โพลลาแทนนิน และอัลคาลอยด์ในสารสกัดทั้งหมด (ตารางที่ 2) จากงานวิจัยที่ผ่านมายังพบว่าสารสกัดจากใบสะแกนาที่สกัดด้วยเฮกเซนทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบสารกลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol และ n-Doddecandol ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง (58.31 และ 14.66% ตามลำดับ) แต่ไม่พบสารกลุ่มเทอร์ปีน⁽¹²⁾ การศึกษาของ Nantachit⁽¹³⁾ พบองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดสะแกนาที่สกัดด้วย 95% เอทานอล คือ Steroidal alkaloid ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา พบสารพฤกษเคมีที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดที่พบสารพฤกษเคมีมากที่สุดคือใบแห้ง พบทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ คูมาริน และเทอร์ปีนอยด์

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดส่วนสดและแห้ง กิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา ด้วยวิธี Disc diffusion method ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนาสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งสารสกัดส่วนสดและแห้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากส่วนแห้งที่มีโซนการยับยั้งได้ดีกว่าส่วนสด คือ กิ่ง เปลือก และใบ ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากส่วนแห้งที่ดีที่สุดคือ กิ่ง รองลงมาคือ เปลือก ใบ และผล ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของบริเวณโซนใสเท่ากับ 20.00 ± 0.50 , 16.00 ± 0.30 , 15.00 ± 0.00 และ 13.00 ± 1.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดจากส่วนสดที่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุดคือ ผล รองลงมาคือ ใบ เปลือก และกิ่ง ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของบริเวณโซนใสเท่ากับ 15.00 ± 0.00 , 14.00 ± 0.00 , 13.00 ± 0.60 และ 9.00 ± 0.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากสะแกนามีประสิทธิภาพดีกว่าสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิด เช่น ใบเพกา⁽¹⁴⁾ และไผ่โรเซีย⁽¹⁵⁾ เป็นต้น

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา โดยหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Broth dilution ผลการทดสอบพบว่าผลสดและกิ่งแห้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด คือมีค่า MIC เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 4) ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Nantachit⁽¹²⁾ พบว่าสารสกัดเมล็ดสะแกนาสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยการศึกษาของบุคคล

ดังกล่าวยังให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของ Nopsiri⁽¹⁶⁾ ที่ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ น้ำมันหอมระเหยจากใบสะแกนา พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้

ตารางที่ 1 ร้อยละสารสกัดยับยั้งต่อน้ำหนักแห้ง (%Yield) ของสารสกัดส่วนสดและแห้งของสะแกนาที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนของพืช	น้ำหนัก (g)	น้ำหนักสาร (g)	% Yield
<i>Combretum quadrangulare</i> Kurz.	กิ่ง	สด	500	12.65
		แห้ง	500	13.28
	เปลือก	สด	500	14.78
		แห้ง	500	16.54
	ผล	สด	500	35.70
		แห้ง	500	50.00
	ใบ	สด	500	109.25
		แห้ง	500	103.52

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนสดและแห้งของสะแกนา

ลำดับ	สารพฤกษเคมี	กิ่ง		เปลือก		ผล		ใบ	
		สด	แห้ง	สด	แห้ง	สด	แห้ง	สด	แห้ง
1	แอนทราควิโนน	-	-	-	-	-	-	-	-
2	ฟลาโวนอยด์	+	+	+	+	+	+	+	+
3	ซาโปนิน	+	+	+	+	+	+	+	+
4	แทนนิน	+	+	+	+	+	+	+	+
5	คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-	-	-	-	-	-	+
6	คูมาริน	-	-	-	-	+	+	+	+
7	โพลิบาแทนนิน	-	-	-	-	-	-	-	-
8	เทอร์ปีนอยด์	-	-	-	-	-	-	-	+
9	สเตียรอยด์	-	-	-	-	+	-	+	-
10	ไกลโคไซด์	+	+	+	+	-	-	-	-
11	อัลคาลอยด์	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบ และ + หมายถึง พบ

ตารางที่ 3ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ทดสอบด้วยเทคนิค Disc diffusion method ของสารสกัดส่วนสดและแห้งของสะแกนา

ส่วนของสารสกัด		ขนาดของบริเวณโซนใส (mm) <i>S. aureus</i> (Mean±SD)
กิ่ง	สด	9.00±0.50 ^{bcdefghi}
	แห้ง	20.00±0.50 ^{acdefghi}
เปลือก	สด	13.00±0.60 ^{abdfhi}
	แห้ง	16.00±0.30 ^{abcfghi}
ผล	สด	15.00±0.00 ^{abcfi}
	แห้ง	13.00±1.10 ^{abdeghi}
ใบ	สด	14.00±0.00 ^{abdfi}
	แห้ง	15.00±0.00 ^{abcfi}
Positive control	Tetracycline	34.00±0.48 ^{abdefgh}
Negative control	50% Alcohol	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่มีการยับยั้งเชื้อ

มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

a คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดกิ่งสด

b คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดกิ่งแห้ง

c คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดเปลือกสด

d คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดเปลือกแห้ง

e คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดผลสด

f คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดผลแห้ง

g คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดใบสด

h คือ เมื่อเทียบกับสารสกัดใบแห้ง

i คือ เมื่อเทียบกับ Positive control

ตารางที่ 4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ส่วนของสารสกัด		MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
กิ่ง	สด	15.63	31.25
	แห้ง	1.95	3.91
เปลือก	สด	15.63	31.25
	แห้ง	7.81	15.63
ผล	สด	1.95	3.91
	แห้ง	3.91	7.81
ใบ	สด	15.63	31.25
	แห้ง	7.81	15.63

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนาที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล มีค่าร้อยละสารสกัดหยาดต่อน้ำหนักแห้ง (%Yield) ในสารสกัดส่วนสดและแห้งมากที่สุดคือใบ จากนั้นนำไปศึกษาหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 11 ชนิด พบว่าสารสกัดส่วนสดและแห้งของกิ่ง เปลือก ผล และใบสะแกนา มีสารสารพฤกษเคมีที่พบเหมือนกัน คือ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน แต่ไม่พบแอนทราควิโนน โพลีฟีนอล และอัลคาลอยด์ในสารสกัดทั้งหมด ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่าสะแกนาสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ในการศึกษาครั้งนี้ สารสกัดส่วนแห้งพบว่ากิ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดีที่สุดและในสารสกัดส่วนสดพบว่าผลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดีที่สุด ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการศึกษาลำดับถัดไป ในการวิจัยครั้งต่อไปควรมีการศึกษาประเด็นของความปลอดภัย ความเป็นพิษจากการใช้สมุนไพรสะแกนาใน

สัตว์ทดลอง และศึกษาความมั่นคงปลอดภัย ก่อนพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพ และพัฒนาเป็นยาสมุนไพรเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Bereksi MS, Hassaine H, Bekhechi C, Abdelouahid DE. Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants extracts commonly used in Algerian traditional medicine against some pathogenic bacteria. *Pharmacognosy j.* 2018;10(3):507-512.
2. Al-Mariri A, Safi M. In vitro antibacterial activity of several plant extracts and oils against some gram-negative bacteria. *Iran J Med sci.* 2014;39(1):36-43.
3. Kondo S, Temrangsee P, Sattaponpan C, Ittharat A. Antibacterial activity of Thai herbal plants and development of hand washing gel

- product. J Med Assoc Thai. 2017;100(6):18-22.
4. Banskota AH, Tezuka Y, Tran Q, Kadota S. Chemical constituents and biological activities of Vietnamese medicinal plants. Curr Top Med Chem. 2003;3(2):227-248.
 5. Nopsiri W, Chansakaow S, Putiyanan S, Natakankitkul S, Santiarworn, D. Antioxidant and anticancer activities from leaf extracts of four Combretum species from Northern Thailand. CMU J. Sci. (Thailand). 2014;13(2):195-205.
 6. Chittasupho C, Athikomkulchai S. Nanoparticles of Combretum quadrangulare leaf extract induce cytotoxicity, apoptosis, cell cycle arrest and anti-migration in lung cancer cells. J Drug Deliv Sci Technol. 2018;45:378-387.
 7. Nantachit K, Santiarworn D, Khantawa B. Antibacterial activity of the seeds of Combretum quadrangulare Kurz (Combretaceae). CMU J. Sci. (Thailand). 2006;5(3): 333-339.
 8. Macé S, Hansen LT, Rupasinghe HV. Antibacterial activity of phenolic compounds against Streptococcus pyogenes. Medicines. 2017;4(25):1-9.
 9. Miklasinska-Majdanik M, Kepa M, Wojtyczka RD, Idzik D, Wasik TJ. Phenolic compounds diminish antibiotic resistance of Staphylococcus aureus clinical strains. Int. J. Environ Res. Public Health. 2018;15 (2321):1-18.
 10. Chattheeranant S, Sabajjai V. Phytochemical screening and antioxidant activity of Clerodendrum disparifolium leaves. KKU Sci. J. 2013;41(3):723-730.
 11. Cockerill RF, Wikler AM, Alder J, Dudley NM, Eliopoulos MG, Ferraro JM, et al. Clinical and laboratory standards institute; methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-ninth edition. Pennsylvania USA:Wayne;2012.
 12. อุษา ทองไพโรจน์, สาวิตร์วงศ์ตั้งถิ่นฐาน, วันชัย สังข์สุข, ภูวดล โกมณเทียร, สุรพงศ์ รัตนะ. การศึกษาความหลากหลายและพฤกษเคมีของพืชหอมในพื้นที่ป่าปุงป่าทาม กลุ่มแม่น้ำชี จังหวัดมหาสารคาม. ว. แก่นเกษตร. 2554;39(ฉบับพิเศษ):384-391.
 13. Nantachit K, Tuchinda P, Khantawa B, Roongjang S. Antibacterial activity of extract and an isolated steroidal alkaloid from the seeds of Combretum quadrangulare Kurz. JPP. 2016;4:261-267.
 14. สุจิตรา ยาหอม, รุ่งฤดี ทิวทอง.ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบใบเพกา. ว. วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2562;47(3):459-467.
 15. Cheng D, Zhang Y, Gao D, Zhang H. Antibacterial and anti-inflammatory activities of extract and fractions from Pyrrosia petiolosa (Christ et Bar.) Ching. J Ethnopharmacol. 2014;155(2):1300-1305.
 16. Nopsiri W, Chansakaow S, Putiyanan S, Natakankitkul S, Nantachit K, Khantawa B, Santiarworn D. Chemical constituents and antibacterial activity of volatile oils of Combretum latifolium Bl. and C. quadrangulare Kurz leaves. CMU J. Sci. (Thailand). 2015;14(3):245-256.