ประสิทธิภาพของสารสกัดกรุงเขมาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล

อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม, วท.ม.พย.บ., สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
นิภาภรณ์ เครือคำ, วท.บ. วิทยาศาสตร์สุขภาพและความงาม, สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
จรินยา ขุนทะวาด, ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ปร.ด. พย.บ., สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
ปราณี ศรีราช, ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ปร.ด. วท.บ. เทคนิคการแพทย์, สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
กนกวรรณ แสนสุภา, วท.ม. พท.บ., สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
เพ็ญศิริ จันทร์แอ, วท.ม. พท.บ., สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
รัชฎาวรรณ อรรคนิมาตย์, ปร.ด. พท.ป., สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
นฤวัตร ภักดี, ปร.ด. วท.บ. เทคนิคการแพทย์, สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
ปราณี แสนวงค์, วท.ม., วท.บ. พืชสวน, สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร
ภานิชา พงศ์นราทร, ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ปร.ด. วท.บ. กายภาพบำบัด, สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วข.สกลนคร

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นรูปแบบเชิงทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาลของลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ Deionized water (DI) โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา คือเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa), Escherichia coli (E. coli), Staphylococcus aureus (S. aureus)* และเชื้อแบคทีเรียดื้อยา Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) โดยทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion

ผลการทดลองพบว่าใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol ให้ปริมาณสารสกัด (%Yield) มากที่สุด คือ 4.84% ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol พบว่าเกิดบริเวณโซนใส (Inhibition zone) ในการยับยั้งแบคทีเรีย *P. aeruginosa* เท่ากับ 15.00±0.02 และ 12.80±0.05 mm. ตามลำดับ ลำต้นกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* เท่ากับ 8.40±0.05 และ 7.89±0.07 mm. แต่ใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 7.50±0.05 mm. ซึ่งฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ MRSA ของลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ MRSA นอกจากนี้การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution พบว่าลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้ (MIC) เท่ากับ 62.50 mg/ml และ 125.00 mg/ml และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) เท่ากับ 125.00 mg/ml และ 250.00 mg/ml ตามลำดับ รวมทั้งลำต้นกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 125.00 mg/ml, 250.00 mg/ml ส่วนใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 125.00 mg/ml และ 250.00 mg/ml จึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากกรุงเขมาส่วนของลำต้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดจากส่วนของใบ

คำสำคัญ: กรุงเขมา, เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล, เชื้อแบคทีเรียดื้อยา

Corresponding author: ภานิชา พงศ์นราทร โทรศัพท์ 065-2954922 E-mail: panicha.po@rmuti.ac.th
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร 205 ม.10 ต.แร่ อ.พังโคน จ.สกลนคร 47160

The effects of *Cissampelos pareira* L. extract for common pathogenic bacteria in hospital

Anunkaorn Jitcharoentham, M.Sc., B.N.S., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Nipaporn Kruekham, B.S. Health Sciences and Aesthetics, Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Jarinya Khuntawad, Asst. Prof., Ph.D., B.N.S., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Pranee Srirat, Asst. Prof., Ph.D., B.S. Medical Technology., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Kanokwan Sansupa, M.Sc., B.S. Thai Traditional Medicine., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Pensiri Chanae, M.Sc., B.S. Thai Traditional Medicine, Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Rachadawan Akanimat, Ph.D., B.S. Applied Thai Traditional Medicine., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Naruewat Phakdee, Ph.D., B.S. Medical, Technology., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Pranee Sanwong, M.Sc., B.S. Horticulture., Department of Plant Science.Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus
Panicha Pongnaratorn, Asst. Prof., Ph.D., B.S. Physical Therapy., Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

Abstract

The purpose of research was experimental design to analyze the effects of *Cissampelos pareira* L. extract for common pathogenic bacteria in hospital with stem and leaf extracted by 95% Ethanol and deionized water (DI), including *Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa), Escherichiacoli (E. coli), Staphylococcus aureus (S. aureus)* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) were determined for antibacterial activity by disc diffusion method.

The results from this study showed that *Cissampelos pareira* L. leaves extracted with 95% Ethanol was had highest percent yield at 4.84%. The efficacy of *Cissampelos pareira* L. with stem and leaf for antibacterial of extracted by 95% Ethanol showed that inhibition zone of antibacterial for *P. aeruginosa* were 15.00±0.02 and 12.80±0.05 mm., respectively. Although, *Cissampelos pareira* L. stem extracted with DI Water had antibacterial activity of *P. aeruginosa* and *E. coli* were 8.40±0.05 and 7.89±0.07 mm. but *Cissampelos pareira* L. leaf extracted with DI Water had the antibacterial activity of *S. aureus* as 7.50±0.05 mm. However, antibacterial activity of MRSA for *Cissampelos pareira* L. from stems and leaves extracted with 95% Ethanol and DI Water had no effect inhibit MRSA. In addition, the antibacterial activity was measured by broth dilution. Stem and leaves of *Cissampelos pareira* L. extracted with 95% Ethanol were able to inhibit *P. aeruginosa*for the minimum inhibitory concentration (MIC) as 62.50 mg/ml and 125.00 mg/ml. The minimum bactericidal concentration (MBC) as 125.00 and 250.00 mg/ml, respectively. Moreover, *Cissampelos pareira* L. stem extracted with DI Water can inhibit *P. aeruginosa* and *E. coli* with MIC and MBC as 125.00 mg/ml, 250.00 mg/ml. Furthermore, *Cissampelos pareira* L. leaf extracted with DI Water was able to inhibit *S. aureus* with MIC and MBC as 125.00 and 250.00 mg/ml, respectively. Summary, the extract of *Cissampelos pareira* L. stem can inhibit bacteria better than leaves.

Keywords: *Cissampelos pareira* L., Common pathogenic bacteria in hospital, Drug resistant bacteria

บทนำ

โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (hospital-acquired infection) จัดเป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุข และมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกๆ ปี ปัญหาที่พบบ่อยของการติดเชื้อในโรงพยาบาล มักเกิดจากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ซึ่งโรคติดเชื้อดื้อยาบางชนิดต้องใช้ยาต้านจุลชีพที่มีราคาแพง บางชนิดไม่มียาต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยสำหรับการรักษา ทำให้อาการของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาอยู่ในโรงพยาบาลรุนแรงมากขึ้นและมีการรักษาที่นานขึ้นหรือมีภาวะแทรกซ้อนและเสียชีวิตเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปสามารถพบการติดเชื้อในผู้ป่วยจากตำแหน่งสำคัญต่างๆ เช่น การติดเชื้อของ ตา หู จมูก คอ และปาก ระบบทางเดินหายใจ ระบบประสาทส่วนกลาง การติดเชื้อแผลผ่าตัด การติดเชื้อในกระแสเลือด การติดเชื้อที่ผิวหนังและชั้นใต้ผิวหนัง และการติดเชื้อระบบอวัยวะสืบพันธุ์ เป็นต้น[1-2] ซึ่งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลในประเทศไทย ที่รายงานพบตั้งแต่ปีพ.ศ. 2544-2553 ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa)* คิดเป็นร้อยละ 20-30 ของเชื้อที่นำมาศึกษา[3], *Escherichia coli* (*E. coli*) คิดเป็นร้อยละ 11-18[4], *Proteus* spp. คิดเป็นร้อยละ 6-13[2], *Enterobacter* spp. คิดเป็นร้อยละ 6-9[2], *Staphylococcus aureus (S. aureus)* คิดเป็นร้อยละ 5-17[3], *Klebsiella pneumoniae*. คิดเป็นร้อยละ5-14[4] และ Enterococci คิดเป็นร้อยละ 2-8[2] ซึ่งเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้มีอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพพบมากเป็นสิบอันดับแรกสามารถก่อโรคที่พบได้บ่อยในโรงพยาบาล ในประเทศไทยมีการรายงานสถิติโรคติดเชื้อดื้อยาจากแบคทีเรีย *S. aureus* เช่น Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งถือว่ามีความรุนแรงมากสามารถทำให้ปอดอักเสบ และติดเชื้อในกระแสเลือด จนทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้[2,5]

การใช้ยาที่ยับยั้งเชื้อจุลชีพในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เช่น Netilmicin, Cefoperazone, Imipenem, Ceftazidime, Ciprofloxacin, Cotrimoxazole, Gentamicin เป็นต้น[2] เมื่อนำมาใช้เป็นเวลานานๆ จะทำให้เกิดผลข้างเคียงจากยา จึงได้มีการพัฒนาสมุนไพรที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีการค้นหาสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์มีโอกาสที่เชื้อจะดื้อยาน้อยกว่าการใช้ยาเคมีสังเคราะห์[6] พืชสมุนไพรมีสารประกอบที่สำคัญหลายอยู่หลายชนิด เช่น Phenolic, Steroid, Alkaloid, lactone เป็นต้น ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้มีงานวิจัยพบว่ามีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้[7] ตัวอย่างรายงานวิจัยสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น ใบบัวบกมีปริมาณสาร Phenolic สูงสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus*[8], ฟ้าทะลายโจรที่มีสารประกอบกลุ่ม lactone มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ดี[9] เป็นต้น

กรุงเขมา (กรุง-ขะ-เหมา) หรือภาคอีสานเรียกว่าเครือหมาน้อย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cissampelos pareira* L. var. hirsuta (Buch. ex DC.) Forman. ชื่อวงศ์ MENISPERMACEAE เป็นพืชไม้เลื้อย ใบเป็นใบแบบเดี่ยวรูปหัวใจปลายเรียวแหลม โคนใบเป็นแบบก้นปิด ขอบใบเรียบมีขนแข็ง ออกดอกเป็นช่อ พบได้ในเขตจังหวัดทางภาคอีสาน จากการสำรวจการใช้สมุนไพรในชุมชนและในกลุ่มหมอพื้นบ้านมีการนำส่วนต่างๆ ของกรุงเขมามาใช้ในการดูแลสุขภาพ เช่น ใบ พอกเป็นยาแก้โรคผิวหนัง,หิด ส่วนลำต้นใช้ดับพิษไข้ บำรุงโลหิตสตรี[10] และจากงานวิจัยเกี่ยวกับรากและใบของกรุงเขมามีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ปริมาณสูง สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียและการยับยั้งอนุมูลอิสระแสดงให้เห็นว่ากรุงเขมาที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอร์มีสารสำคัญ ได้แก่ Tannins, Phenolic compound, Flavonoids, Alkaloids และ Terpenoids ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น *S. aureus*, *E. coli, S. typhi, K. pneumonia* และ *B. subtilis*[11] อีกทั้งยังพบว่าสารสกัดรากกรุงเขมาที่สกัดด้วย Methanol, Dichloromethane และ Ethyl acetate สามารถยับยั้งเชื้อ MRSA ได้[12] นอกจากนั้นยังมีการนำใบกรุงเขมาไปใช้ในด้านอุตสาหกรรมและการเกษตรได้หลากหลายรูปแบบ เช่น เป็นสารก่อเจล วุ้นกรุงเขมา และอาหารแปรรูปต่างๆ แต่ส่วนของลำต้นยังไม่พบมีการศึกษาอย่างไรก็ตามน่าเชื่อว่าทุกส่วนของกรุงเขมาน่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล โดยผลการทดลองที่ได้นี้อาจจะนำไปสู่การต่อยอดพัฒนางานวิจัยที่ช่วยยืนยันสรรพคุณของต้นกรุงเขมา และมีการนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทางเภสัชวิทยาเกี่ยวกับการรักษาโรคต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล ได้แก่ *P. aeruginosa, E. coli* และ *S. aureus* และ MRSA จากสารสกัดจากลำต้นและใบที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ Deionized water (DI Water)

รูปแบบงานวิจัย

งานวิจัยเชิงทดลอง (Experimental design)

วิธีการดำเนินการวิจัย

I. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย ได้รับการสนับสนุนจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชสว่างแดนดิน ประเทศไทย

1. แบคทีเรียแกรมบวก: *Staphylococcus aureus* B-2-1381 (*S. aureus*), Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Clinical sample

2. แบคทีเรียแกรมลบ: *Pseudomonas aeruginosa* B-2-1258 (*P. aeruginosa*), *Escherichia coli* B-2-0606 (*E.coil*)

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบโดยการนำเชื้อ *P. aeruginosa, S. aureus, E. coli* และ MRSA เลี้ยงใน Nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

II. ขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากลำต้นและใบกรุงเขมา

1. การสกัดด้วย 95% Ethanol (ดัดแปลงจาก พัชวรรณ ชูศิลป์กุล, 2559)[13]: โดยนำสมุนไพรแห้งมาชั่งน้ำหนัก 100 g. เติม 95% Ethanol ในปริมาตร 1,000 ml. ใส่ลงในขวดสีชาที่เตรียมไว้แล้วปิดฝาให้สนิทและห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์เก็บให้พ้นแสง โดยทำการหมัก 7 วัน เขย่าทุกวัน วันละ 2 ครั้งเช้า-เย็น นำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำไประเหยที่เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacuum evaporator) เมื่อสารสกัดแห้งสนิทแล้ว นำใส่ขวดทึบแสงและเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20°C

2. การสกัดด้วย DI Water (ดัดแปลงจาก รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, 2554)[14]: โดยการนำสมุนไพรแห้งมาชั่งน้ำหนัก 100 g. เติม DI Water ในปริมาตร 1,000 ml. ต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C นาน 15-20 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางและกรองด้วยกระดาษกรอง นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 3,000 รอบ 5 นาที ทำซ้ำ 3 รอบ ดูดส่วนที่ใสใส่ขวด นำไประเหยที่เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacuum evaporator) เมื่อสารสกัดแห้งสนิทแล้ว นำใส่ขวดทึบแสง และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20°C คำนวณหาปริมาณของสารสกัด (%yield) ในแต่ละวิธีการสกัด จากสูตร[1]

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

โดย a = น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (g)

b = น้ำหนักของสารเริ่มต้นในการสกัด (g)

III. ขั้นตอนการทดสอบยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

1. วิธี Disc diffusion method: การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งแบคทีเรียโดยนำไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile cotton swab) จุ่มเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa, E.coli, S. aureus* และ MRSA ที่อยู่ใน Nutrient broth ปรับค่าความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ McFarland Standard No. 0.5 แล้วเกลี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar ให้เชื้อกระจายตัวทั่วผิวหน้าอาหาร หลังจากนั้นเตรียมสารสกัดกรุงเขมาส่วนลำต้นและใบสกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water ที่ความเข้มข้น 500 mg/ml แล้วทำการดูดสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 20 µl หยดลงบน Paper disc ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ Tetracycline disc ความเข้มข้น 30 µg/disc เป็น Positive control และใช้ตัวทำละลายนั้นๆ (95% Ethanol และ DI Water) เป็น Negative control จากนั้นจึงนำ Plate ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส (Inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm.)

2. วิธี Broth dilution method: การเตรียมสารสกัดสำหรับทดสอบ โดยชั่งสารสกัดจากลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 mg/ml เจือจางสารสกัดด้วย Nutrient broth ให้ได้ความเข้มข้น 3.90-500 mg/ml แล้วดูดเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ทำการปรับค่าความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ McFarland Standard No. 0.5 ผสมกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงหลอดทดลอง ด้วยวิธี Two-fold dilution ในอัตราส่วน 1:1 (สารสกัด 200 µl :เชื้อ 200 µl) แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการ Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient ager จากนั้นนำไปบ่มที่

อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดย Positive control คือ Nutrient broth ที่มีเชื้อ และ Negative control คือ Nutrient broth ที่ปราศจากเชื้อ ทำการสังเกตการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและบันทึกผลค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) หน่วย mg/ml และค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) หน่วย mg/ml

การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) ด้วยโปรแกรม SPSS Statistics

ผลการวิจัย

1. การศึกษาการหาปริมาณของสารสกัดที่ได้ (%Yield): จากการศึกษาปริมาณของสารสกัดหยาบจากใบกรุงเขมา สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol และ DI Water ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ปริมาณของสารสกัดใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด (%Yield) คือ 4.84% รองลงมา คือ ลำต้นที่สกัดด้วย 95% Ethanol ให้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 3.50% ส่วนใบ และลำต้นที่มี DI Water เป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 2.12% และ 1.54% ตามลำดับ

2. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion: จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water มาทดสอบ ด้วยวิธี Disc diffusion method โดยการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa, S. aureus*, *E.coli* และ MRSA ดังรูปที่ 1 ผลศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *P. aeruginosa* พบว่า เกิดบริเวณโซนใส (Inhibition zone) ของสารสกัดลำต้นกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 15.00±0.02 mm. และ Tetracycline มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 13.86±0.04 mm. ส่วนใบกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 15.00±0.02 และ 12.80±0.05 mm. นอกจากนี้ลำต้นกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* เท่ากับ 8.40±0.05 และ 7.89±0.07 mm. ตามลำดับ แต่ใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 7.50±0.05 mm. เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA ด้วยสารสกัดจากลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water พบว่าไม่เกิดบริเวณโซนใสขึ้น จึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากลำต้นและใบกรุงเขมาที่ความเข้มข้น 500 mg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa, S. aureus* และ *E.coli* แต่ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ MRSA เมื่อเปรียบเทียบกับยา Tetracycline

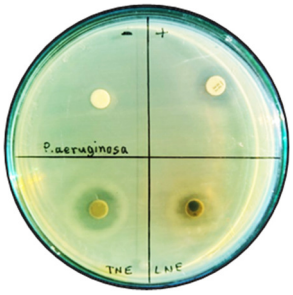
3. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution method: การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibitory concentration, MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดกรุงเขมาดังตารางที่ 3 พบว่า สารสกัดลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) อยู่ที่ความเข้มข้น 62.50 mg/ml และ 125.00 mg/ml และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) อยู่ที่ความเข้มข้น 125.00 mg/ml และ 250.00 mg/ml ตามลำดับ สารสกัดลำต้นกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) อยู่ที่ความเข้มข้น 125.00 mg/ml และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) อยู่ที่ความเข้มข้น 250.00 mg/ml ส่วนสารสกัดใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) อยู่ที่ความเข้มข้น 125.00 mg/ml และ และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) อยู่ที่ความเข้มข้น 250.00 mg/ml

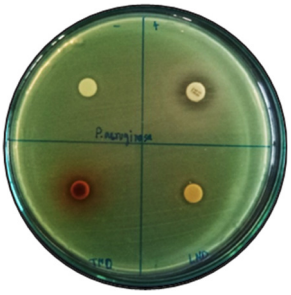
ตารางที่ 1 ปริมาณสารสกัดจากกรุงเขมา 100 กรัมที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol และ DI Water

ตัวอย่างสารสกัด	น้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ (g)	การสกัด (%)
ลำต้นกรุงเขมา (95% Ethanol)	3.50	3.50
ใบกรุงเขมา (95% Ethanol)	4.84	4.84
ลำต้นกรุงเขมา (DI Water)	1.54	1.54
ใบกรุงเขมา (DI Water)	2.12	2.12

P. aeruginosa

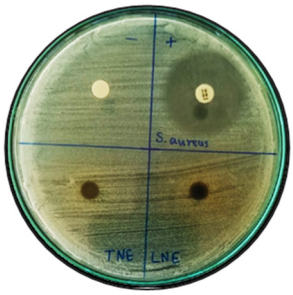
สารสกัดกรุงเขมา (95% Ethanol) สารสกัดกรุงเขมา (DI Water)

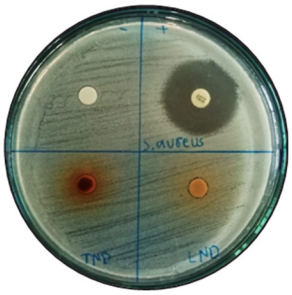




S. aureus

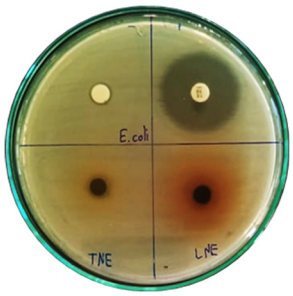
สารสกัดกรุงเขมา (95% Ethanol) สารสกัดกรุงเขมา (DI Water)

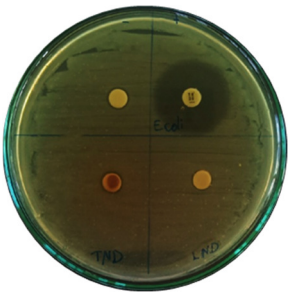




E. coli

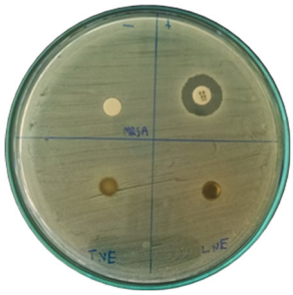
สารสกัดกรุงเขมา (95% Ethanol) สารสกัดกรุงเขมา (DI Water)

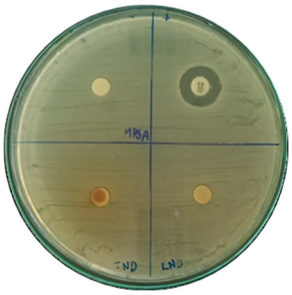




MRSA

สารสกัดกรุงเขมา (95% Ethanol) สารสกัดกรุงเขมา (DI Water)





รูปที่ 1 ขนาดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa, S. aureus,* E. coli และ MRSA ของลำต้นและใบกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water

Positive control (+) คือ Tetracycline ความเข้มข้น 30 µg/disc, Negativecontrol (-) คือ 95% Ethanol และ DI Water
TNE = ลำต้นกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol, LNE = ใบกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol
TND = ลำต้นกรุงเขมาสกัดด้วย DI Water, LND = ใบกรุงเขมาสกัดด้วย DI Water

ตารางที่ 2 ความสามารถในการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดลำต้นและใบกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water ด้วยวิธี Disc diffusion

ตัวอย่างที่ทดสอบ	Inhibition zone (mm.) (mean ± SD)			
	S. aureus	MRSA	*P. aeruginosa*	*E. coli*
95% Ethanol				
Tetracycline	22.60±0.40	11.00±0.00	13.86±0.04	12.00±0.60
95% Ethanol	-	-	-	-
ลำต้นกรุงเขมา	-	-	15.00±0.02	-
ใบกรุงเขมา	-	-	12.80±0.05	-
DI Water				
Tetracycline	20.55±0.50	10.50±0.05	13.80±0.05	12.66±0.80
DI Water	-	-	-	-
ลำต้นกรุงเขมา	-	-	8.40±0.05	7.89±0.07
ใบกรุงเขมา	7.50±0.05	-	-	-

หมายเหตุ: เส้นผ่านศูนย์กลางของ Paper disc เท่ากับ 6 mm.
Positive control (+) คือ Tetracycline
Negative control (-) คือ 95% Ethanol และ DI Water

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสารสกัดลำต้นและใบกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol และ DI Water

ชนิดของสารสกัด (ตัวทำละลาย)	เชื้อแบคทีเรีย (mg/ml)					
	S. aureus		*P. aeruginosa*		*E. coli*	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
95% Ethanol						
ลำต้นกรุงเขมา	-	-	62.50	125.00	-	-
ใบกรุงเขมา	-	-	125.00	250.00	-	-
DI Water						
ลำต้นกรุงเขมา	-	-	125.00	250.00	125.00	250.00
ใบกรุงเขมา	125.00	250.00	-	-	-	-

หมายเหตุ: Positive control (+) คือ Nutrient broth ที่มีเชื้อ
Negative control (-) คือ Nutrient broth ที่ปราศจากเชื้อ

การอภิปรายผล

จากการศึกษาขั้นตอนการสกัดและปริมาณของสารสกัดหยาบจากใบกรุงเขมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol และ DI Water พบว่าปริมาณของสารสกัดที่สกัดด้วย 95% Ethanol ให้ปริมาณของสารสกัดหยาบ (%Yield) เท่ากับ 4.84% ที่ได้มากกว่าที่สกัดด้วยตัวทำละลาย DI Water จากการศึกษาของ Arora et al.[15] ทำการศึกษาเภสัชเวทและสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของกรุงเขมา พบว่ากรุงเขมาที่สกัดด้วยEthanolโดยวิธีซอกห์เลต (Soxhlet extraction) ให้ปริมาณของสารสกัดหยาบเท่ากับ 9.5% ซึ่งให้ปริมาณที่มากกว่าเนื่องจากใช้วิธีการสกัดที่ต่างกัน

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol

เกิดบริเวณโซนใสในการยับยั้งแบคทีเรีย *P. aeruginosa* และพบว่าสารสกัดลำต้นสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ส่วนลำต้นกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* แต่ใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ MRSA สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ngoci et al.[16] ได้ศึกษาการตรวจคัดกรองฤทธิ์ต้านจุลชีพของรากสารสกัดกรุงเขมาที่สกัดด้วย Methanol แล้วนำสารสกัดมาทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ จากการทดสอบพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสูงสุด คือ *S. aureus* และ *E. coli* นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Khadija[17] ได้ศึกษาการประเมินฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดกรุงเขมาในการศึกษาครั้งนี้ใช้ Ethyl acetate, Ethanol และ Water ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *E. coli, P. aeruginosa* และ MRSA โดยทำการเปรียบเทียบกับยา Cephradine ที่ใช้เป็นมาตรฐานการต้านจุลชีพ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด คือ Ethyl acetate, Ethanol และ Water ตามลำดับและส่วนลำต้นกรุงเขมาสามารถยับยังเชื้อได้ดีกว่าส่วนใบกรุงเขมา เนื่องจากมีสารกลุ่ม Alkaloid เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจึงสามารถนำไปใช้เป็นสารต้านจุลชีพได้รวมทั้งงานวิจัยของภานิชา พงศ์นราทรและคณะ[18] ทำการทดสอบเจลล้างหน้ารักษาสิวจากสารสกัดกรุงเขมา พบว่ากรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes (P. acnes)*

จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า DI Water สอดคล้องกับวิจัยของ Arora et al.[15] พบว่าสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากกรุงเขมาที่สกัดด้วย Ethanol และ Water มีสารกลุ่ม Tannins, Flavonoids, Glycosides และ Saponins แต่กรุงเขมาที่สกัดด้วย Ethanol พบ Alkaloids มากกว่าสกัดด้วย Water ซึ่งสาร Tannin อยู่ในกลุ่ม Phenolic สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้ รวมทั้งสารกลุ่ม Alkaloid สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เนื่องจากเป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนอยู่ภายในโมเลกุลช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีโดยเฉพาะกลุ่ม Steroidal alkaloids สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้มากกว่า *S. aureus*[19] จึงสรุปได้ว่าสารสกัดกรุงเขมาสามารถต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ จากข้อมูลดังกล่าวน่าจะใช้เป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อสนับสนุนการนำกรุงเขมาไปใช้ประโยชน์ทางการรักษาโรคต่อไปในอนาคต

บทสรุป

การศึกษาฤทธิ์ของลำต้นและใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย 95% Ethanol พบโซนใสในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ซึ่งลำต้นกรุงเขมาสกัดด้วย 95% Ethanol สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) เท่ากับ 62.50 mg/ml ส่วนลำต้นกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* แต่ใบกรุงเขมาที่สกัดด้วย DI Water มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดังนั้นสารสกัดจากลำต้นกรุงเขมาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาลได้ดีกว่าใบกรุงเขมา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณการอุดหนุนทุนวิจัยจาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน รหัสทุน (SKC2562REV126) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียจนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ภานุมาศ ภูมาศ, วิษณุ ธรรมลิขิตกุล, ภูษิต ประคองสาย. ผลกระทบด้านสุขภาพและเศรษฐศาสตร์จากการติดเชื้อติดยาจุลชีพในประเทศไทย: การศึกษาเบื้องต้น. ว.วิจัยระบบสาธารณสุข 2555; 6(3): 352-360.

2. นิตยา อินทราวัฒนา, มุทิตา วนาภรณ์. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและสถานการณ์ดื้อยา. ว.การแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ 2558; 22(1): 81-92.

3. สมหวัง ด่านชัยวิจิตร, บรรณาธิการ. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: แอลทีเพรส; 2544:1-16.

4. เดชพิภัทร์ อมรทิพย์วงศ์, ปวีญา มงคลวิสุทธิ์, พวงมณี จิตตวงศ์, อำไพ สุภาจีน, วิภัสรา มนทสิทธิ์. ความชุกของเชื้อ *K. pneumonia* และ *E. coli* ชนิดสร้างเอนไซม์ extended spectrum β-lactamase ที่แยกได้

จาก ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลน่าน และโรงพยาบาลชุมชนในจังหวัดน่าน ระหว่างปี พ.ศ. 2547-2553. ว.เทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2554; 44(3): 169-76.

5. Danchaivijit S, Judaeng T, Sripalakij S, Naksawas K, Plipat T. Prevalence of nosocomial infection in Thailand 2006. J Med Assoc Thai 2007; 90(8): 1524-9.

6. อัฐญาพร ชัยชมภู, นฤมล ทองไว. การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดโดยใช้สารสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน. ใน: การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 8 ตามรอยพระยุคลบาท เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน; วันที่ 8-9 ธันวาคม 2554; ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม; 2554.

7. ศรัญญา พรศักดา, มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย, กิตติ ศรีสะอาด, มัณฑนา นครเรียบ, ประชุมพร เลาห์ประเสริฐ, ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล, และคนอื่นๆ. ผลของสารสกัดจากมะเขือพวงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium.* ว.วิทยาศาสตร์การเกษตร 2553; 40(3/1)(พิเศษ): 573-576.

8. สุวรรณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทัศน์วรรณ สมจันทร์, ปิติพงษ์ โตบันลือภพ. ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมดความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. ว.แก่นเกษตร 2555; 2(พิเศษ): 480-83.

9. กีรติญา เอี่ยมถาวร, ยิ่งมณี ตระกูลพัว. การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร. ใน: การประชุมวิชาการ The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012 “Pharmacy Profession in Harmony”; วันที่ 11-12 กุมภาพันธ์ 2555; มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น; 2555.

10. กัญญารัตน์ เป็งงำเมือง, ธีรนาฎ จันสุตะ, โสมรัศมี แสงเดช, พรกรัณย์ สมขาว. การสำรวจการใช้สมุนไพรในชุมชน ตำบลก่อเอ้ อำเภอเขื่องใน จังหวัดอุบลราชธานี. ว.วิจัยสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี 2562; 8(2): 150-165.

11. Seetharaman S., Indra V., Durairasu M., Sangeetha, B. Phytochemical profiling antibacterial and antioxidant potential of *Cissampelos pareira* L. leave extracts. International Journal of Chemistry Studies 2018; 2(2): 88-90.

12. Njeru SN., Obonyo MA., Onsarigo SN., Ngari SM. Bioactivity of *Cissampelos pareira* medicinal plant against mycobacterium tuberculosis. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2015; 3(6): 167-173.

13. พัชวรรณ ชูศิลป์กุล. การพัฒนาสารสกัดฟ้าทะลายโจรเพื่อใช้ในตำรับเจลแต้มสิว [วิทยานิพนธ์]. เชียงราย:มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง; 2559.

14. รัฐฎาพร อุ่นศิวิไลย์. ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี; 2554

15. Arora M., Bainsal N., Verma N., Kapoor R. Standardization of Cissampelos pareira: a new boon. world. Journal of Pharmaceutical Research 2013; 3(1): 1527-36.

16. Ngoci NS., Ramadhan M., Ngari MS., Leonard OP. Screening for antimicrobial activity of *Cissampelos pareira* L. methanol root extract. European Journal of Medicinal Plants 2014; 4(1): 45-51.

17. Khadija B. Evaluation of in-vitro antimicrobial activity of *Cissampelos pareira*. [Thesis for degree of Bachelor of Pharmacy] Department of Pharmacy. Dhaka Banglades: East West University; 2012.

18. ภานิชา พงศ์นราทร, จุฑามาศ พิลาลักษ์, รัชฎาวรรณ อรรคนิมาตย์, ปราณี ศรีราช, ศิรนันท์ วิเศษการ, นฤวัตร ภักดี และคนอื่นๆ. การพัฒนาเวชสำอาง เจลล้างหน้ารักษาสิวจากสารสกัด กรุงเขมา. ใน: การประชุมวิชาการระดับชาติราชมงคลสุรินทร์ ครั้งที่ 9 “เชื่อมโยงเครือข่าย วิชาการด้วยงานวิจัย”; วันที่ 29-31 สิงหาคม 2560; ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล

อีสาน วิทยาเขตสุรินทร์. สุรินทร์; 2561.

19. Yan Y., Li X., Zhang C., Lv L., Gao B., Li M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review antibiotics. Antibiotics 2021; 10: 318.

รับต้นฉบับ: 11 มกราคม 2565, ได้รับบทความปรับปรุง: 8 เมษายน 2565, รับลงตีพิมพ์: 12 เมษายน 2565