ฤทธิ์สารสกัดจากปลีกล้วยน้ำว้าในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค
Antibacterial activity of Banana Blossom Extract against Pathogenic Bacteria

วรันธร ภูผานี และ จันทรพร ทองเอกแก้ว*
Warunthon Phuphanee and Jantaporn Thongekkaew*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
*E-mail : Jantaporn.t@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากปลีกล้วยน้ำว้าที่ได้จากการสกัด 2 วิธี ได้แก่ การแช่หมักแบบเย็น (Cold maceration technique) ด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท เอ็น บิวทานอล และเมทานอล และการสกัดด้วยซอกเลต (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเมทานอล ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 7 สายพันธุ์ ประกอบด้วย แกรมบวก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ แบคทีเรียแกรมลบ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* DMST 5784, *Shigella dysenteriae* DMST 2137 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ด้วยวิธี disc diffusion ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากปลีกล้วยที่สกัดด้วย เอ็น-บิวทานอล และเมทานอล สกัดแบบเย็น เอธิลอะซิเตท และเมทานอล สกัดด้วยซอกเลต สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้หลายสายพันธุ์ มีวงยับยั้งขนาด 7-14 มิลลิเมตร โดยที่สารสกัดด้วยเอ็น-บิวทานอล แบบเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ATCC 11778 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ดี ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) เท่ากับ 25 และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล แบบเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *S. dysenteriae* DMST 2137 และ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ดี ให้ค่า MIC เท่ากับ 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลต สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *B. cereus* ATCC 27853 ได้ดี ให้ค่า MIC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองเชื้อ

คำสำคัญ : การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สารสกัด ปลีกล้วย แบคทีเรียก่อโรค

Abstract

The objective of this study was to determine the antibacterial activity of banana blossom extracts. Banana blossom was extracted with two methods including the cold maceration technique with organic solvents of hexane, ethyl acetate, n-butanol and methanol and soxhlet extraction with organic solvents of hexane, ethyl acetate and methanol. All of extracts were screened for their antibacterial activity against pathogenic bacteria 7 strains including 3 strains of gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and 4 strains of gram-negative bacteria such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* DMST 5784,

Shigella dysenteriae DMST 2137 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 with disc diffusion method. The result showed that n-butanol and methanol extracts with cold maceration technique and ethyl acetate and methanol with soxhlet extraction had antibacterial activity against several strains of bacteria tested. N-butanol extract with cold maceration technique showed good activity against *B. cereus* ATCC 11778 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 with minimal inhibitory concentration (MIC) of 25 and 3.12 mg/ml, respectively. Methanol extract with cold maceration technique showed good activity against *S. dysenteriae* DMST 2137 and *B. subtilis* ATCC 6633 with the MIC of 12.5 and 25 mg/ml. Ethyl acetate extract with soxhlet extraction showed good activity against *S. aureus* ATCC 25923 and *B. cereus* ATCC 27853 with same MIC of 12.5 mg/ml.

Keywords : Antibacterial Activity, Extract, Banana Blossom Extracts, Pathogenic Bacteria

บทนำ

แบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียนั้นอยู่รอบตัวเรา ทั้งในร่างกาย บนผิวหนัง และในสิ่งแวดล้อมที่เราสัมผัสอยู่ ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มักเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ไม่ก่อโรค แต่ก็มีแบคทีเรียหลายชนิดที่เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะก่อโรคทำให้เกิดอาการผิดปกติในระบบต่าง ๆ ได้ ตั้งแต่อาการเล็กน้อยไปจนถึงขั้นรุนแรงถึงชีวิต แบคทีเรียที่มีอันตราย เมื่อเข้าสู่ร่างกาย ทางบาดแผล หรือเข้าไปพร้อมกับอาหารที่เรารับประทาน หรือเข้าไปกับอากาศที่เราหายใจเข้า จากนั้นอาจแทรกตัวเข้าไปในเซลล์ต่าง ๆ แล้วเจริญเติบโตมีปริมาณมากขึ้น สร้างสารพิษ หรือกระตุ้นให้ร่างกายตอบสนองจนเกิดความผิดปกติทำให้เกิดโรคติดเชื้อ เช่น แผลเป็นหนอง อุจจาระร่วงจากอาหารเป็นพิษ โรคปอดบวม หรือปอดอักเสบติดเชื้อ เป็นต้น ในปัจจุบันจากการใช้ยาที่ไม่ถูกต้องในหลายรูปแบบ เช่น การใช้ยาในขนาด (Dose) ที่ไม่เหมาะสม และต่อเนื่องเป็นเวลานาน ทำให้แบคทีเรียก่อโรคมีการปรับตัวทั้งการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมหรือสารพันธุกรรมที่อยู่ในพลาสมิดและทรานส์โพซอน (Transposons) (Adeleke and Omafuvbe, 2011) ส่งผลให้เกิดการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Antibiotic resistance) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี (Enne et al., 2001; Westh et al., 2004) จากประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะในการต้านเชื้อดื้อยาลดลง ส่งผลให้การคัดกรองฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากพืชยังเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากก่อให้เกิดอาการเป็นพิษและอาการข้างเคียงน้อยกว่าสารสังเคราะห์และไม่ทำให้เกิดการดื้อยาเมื่อเทียบกับสารสังเคราะห์ ตามการรายงานขององค์การอนามัยโลก (The World Health Organization; WHO) พบว่า 80% ของประชากรโลกอาศัยการรักษาแบบดั้งเดิม คือ การใช้สารสกัดจากพืชทั่วโลกมากกว่า 400,000 ชนิด โดยเป็นพืชดอกเขตร้อนที่มีคุณสมบัติทางยา กล้วยจัดเป็นพืชเขตร้อนที่น่าสนใจ เนื่องจากภูมิปัญญาพื้นบ้านไทย พบว่ามีสรรพคุณทางยา หรือสมุนไพร เช่น การนำปลีกล้วย (Banana Blossom) หรือ ช่อดอกของกล้วยมาเป็นอาหารบำรุงน้ำนมของมารดาหลังคลอด และในระหว่างการให้นมบุตร โดยการรับประทานแบบสด หรือนำมาเป็นส่วนประกอบของอาหารต่าง ๆ เช่น แกงปลี ส้าปลี แกงเลียง เป็นต้น นอกจากนี้ปลีกล้วยยังมีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก เช่น แอนโทไซยานิน และ แคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถละลายน้ำได้ดี ช่วยป้องการการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดและ หัวใจ มะเร็ง เบาหวาน และกระเพาะอาหาร เป็นต้น (Ramu et al., 2014; ดวงพรและคณะ, 2559) ทั้งนี้จากรายงานของ Cushnie and Lamb (2011) พบว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ ดังนั้นเพื่อลดความเสี่ยงจากเชื้อก่อโรคและทดแทนสารเคมีต่าง ๆ ที่อาจเกิดผลข้างเคียง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากปลีกล้วยที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกันรวมไปถึงการหา

ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ โดยข้อมูลที่ได้เหล่านี้จะเป็นส่วนสำคัญที่จะพัฒนาสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคต่อไปในอนาคต

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำปลีกล้วยน้ำว้า (*Musa paradisiaca L. var. sapientum O. Ktze., M. sapientum L.*) มาล้างให้สะอาด จากนั้นตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดความยาวประมาณ 0.50 ถึง 1.00 เซนติเมตร อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ด้วยตู้อบความชื้น และนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 เมช (mesh) เก็บใส่ถุงพลาสติกในโถดูดความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับรอการนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ในขั้นตอนการสกัดด้วยซอกเลตในลำดับต่อไป

2. การสกัดสารจากปลีกล้วย

2.1 วิธีการแช่หมักแบบเย็น (cold maceration technique)

ปลีกล้วยน้ำว้าสดจะถูกสกัดโดยวิธีการหมักในตัวทำละลาย 4 ชนิด ที่เรียงลำดับความมีขั้วน้อยไปหาความมีขั้วมาก คือ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท เอ็น บิวทานอล และเมทานอล (ดัดแปลงมาจาก อมรรัตน์และคณะ , 2559) ในอัตราส่วนของหัวปลี 500 กรัมต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยมีการกวนเป็นครั้งคราว จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดที่ได้ไประเหยโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิท ทำซ้ำจำนวน 2 ครั้ง แล้วรวมสารมาชั่งน้ำหนัก จะได้สารสกัดหยาบ (Crude) ในขั้นเฮกเซน จากนั้นนำกากหัวปลีที่เหลือมาทำแบบเดียวกัน โดยใช้ตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท เอ็น บิวทานอลและเมทานอล ตามลำดับ จะได้สารสกัดหยาบในแต่ละชนิดของตัวทำละลาย เก็บสารสกัดตัวอย่างที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.2 วิธีการสกัดด้วยซอกเลต (soxhlet extraction)

นำผงปลีกล้วย จำนวน 20 กรัม ใส่ใน thimble (28 มิลลิเมตร × 100 มิลลิเมตร) จากนั้นสกัดด้วยเฮกเซน (ดัดแปลงมาจาก พรสุข, 2548) ในปริมาตร 250 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำตัวทำละลายที่มีสารสกัดไประเหย โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิท ทำซ้ำเช่นเดียวกันกับตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท และเมทานอล จากนั้นเก็บสารสกัดตัวอย่างที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากปลีกล้วยด้วยวิธี disc diffusion

3.1 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ประกอบด้วย แบคทีเรียแกรมบวก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778 และ *Bacillus ubtilis* ATCC 6633 แบคทีเรียแกรมลบ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* DMST 5784, *Shigella dysenteriae* DMST 2137 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ปรับความขุ่น ให้ได้เท่ากับสารละลาย McFarland no. 0.5 โดยใช้สารละลายนอร์มัลซาไลน์ (Sodium chloride 0.85% solution) จะทำให้ได้เชื้อประมาณ 1.5 x 10^8 colony forming unit (CFU)

3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัด (Bauer et al., 1996)

ใช้ก้านพันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile cotton swab) จุ่มในสารละลายเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด และกระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Muller Hinton Agar (MHA) รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งประมาณ 5 นาที ใช้คีมคีบ

ปลอดเชื้อ (Sterile forceps) คีบ Paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) วางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หยดสารสกัดที่เตรียมโดยนำสารสกัดปริมาณ 0.5 กรัม ละลายในตัวทำละลายที่ใช้สกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทำให้ได้สารสกัดที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ลงใน Microtube ปลอดเชื้อขนาด 1.5 มิลลิลิตร โดยหยดสารสกัด ตำแหน่งละ 50 ไมโครลิตร ตรงกลางแผ่น ทำให้ได้สารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อแผ่น โดยมี DMSO เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) และยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอลเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) จากนั้นนำจานเพาะเชื้อนี้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ ตรวจผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (Clear zone) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ทั้งแนวตั้ง และแนวนอน แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (Mean)

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

นำสารสกัดหยาบจากปลีกล้วยน้ำว้าจากตัวทำละลายที่ให้วงใสในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบมาเจือจางด้วย DMSO ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 25, 12.5, 6.25, 3.12 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion ดังวิธีการทดสอบข้อ 3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (Clear zone) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ทั้งแนวตั้งและแนวนอน แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (Mean)

ผลการวิจัย

1. สารสกัดจากปลีกล้วย

จากการสกัดสารจากปลีกล้วยด้วยวิธีสกัด 2 วิธี ได้แก่ การแช่หมักแบบเย็น โดยใช้ตัวทำละลายที่เรียงลำดับจากสารที่มีขั้วน้อยไปจนถึงสารที่มีขั้วมาก คือ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท เอ็น บิวทานอล และเมทานอล และ การสกัดด้วยซอกเลต ผลของปริมาณสารสกัดหยาบของแต่ละตัวทำละลาย ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละของสารสกัดหยาบปลีกล้วยที่ได้จากการแช่หมักแบบเย็น และการสกัดด้วยซอกเลต

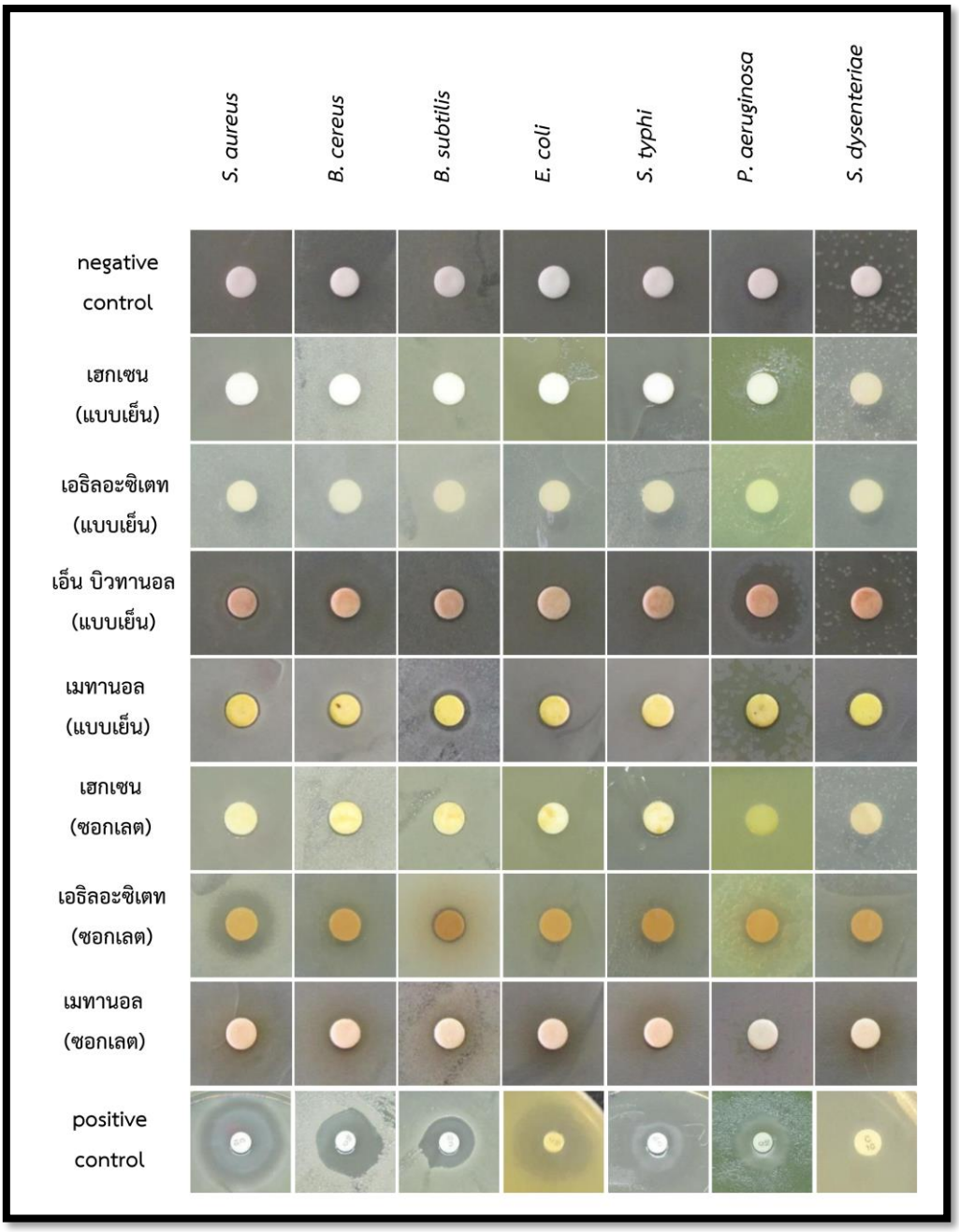
วิธีสกัด	ตัวทำละลาย	น้ำหนักปลีกล้วย (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละของสารสกัดที่ได้* (% น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
การแช่หมักแบบเย็น (cold maceration)	เฮกเซน	2,100	5.43	0.26
	เอธิลอะซิเตท	2,270	10.91	0.48
	เอ็น บิวทานอล	2,190	26.04	1.19
	เมทานอล	2,170	12.66	0.58
การสกัดด้วยซอกเลต (soxhlet extraction)	เฮกเซน	176.50	3.30	1.32
	เอธิลอะซิเตท	882.50	11.61	7.22
	เมทานอล	176.50	10.17	0.74

หมายเหตุ: * ร้อยละของสารสกัดที่ได้ (% yield) = $\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของปลีกล้วยที่ใช้ในการสกัด}}$

2. ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของสารสกัดจากปลีกล้วย

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 7 สายพันธุ์ ประกอบด้วย แบคทีเรียแกรมบวก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633

แบคทีเรียแกรมลบ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* MST 5784, *Shigella ysenteriae*DMST 2137 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ด้วยวิธี disc diffusion ของสารสกัดจากปลีกล้วยที่ได้จากตัวทำละลายต่าง ๆ โดยใช้ DMSO เป็นชุดควบคุมเชิงลบ และยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอลเป็นชุดควบคุมเชิงบวก ผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอ็น บิวทานอล และ เมทานอล แบบเย็น เอธิลอะซิเตท และเมทานอลสกัดด้วยซอกเลต สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้หลายสายพันธุ์ มีวงใสในการยับยั้งอยู่ในช่วงตั้งแต่ 7-14 มิลลิเมตร โดยออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ ส่วนสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน ทั้งแบบสกัดเย็นและสกัดด้วยซอกเลต เอธิลอะซิเตท แบบสกัดเย็น ไม่พบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ โดยที่สารสกัดด้วยเอ็น-บิวทานอล แบบเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ATCC 11778 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ดี ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล แบบเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *S. dysenteriae* DMST 2137 และ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ดี ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลต สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *B. cereus* ATCC 27853 ได้ดี ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล สกัดด้วยซอกเลต มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อค่อนข้างน้อย ดังภาพที่ 1 และ ตารางที่ 2 จากนั้นทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดีของแต่ละตัวทำละลายในลำดับต่อไป



ภาพที่ 1 บริเวณวงใสในการยับยั้งเชื้อทดสอบ 7 สายพันธุ์ ที่เกิดจากสารสกัดจากตัวทำละลายต่าง ๆ โดยที่ Negative Control คือ DMSO และ Positive control คือ ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล ด้วยวิธี Disc diffusion

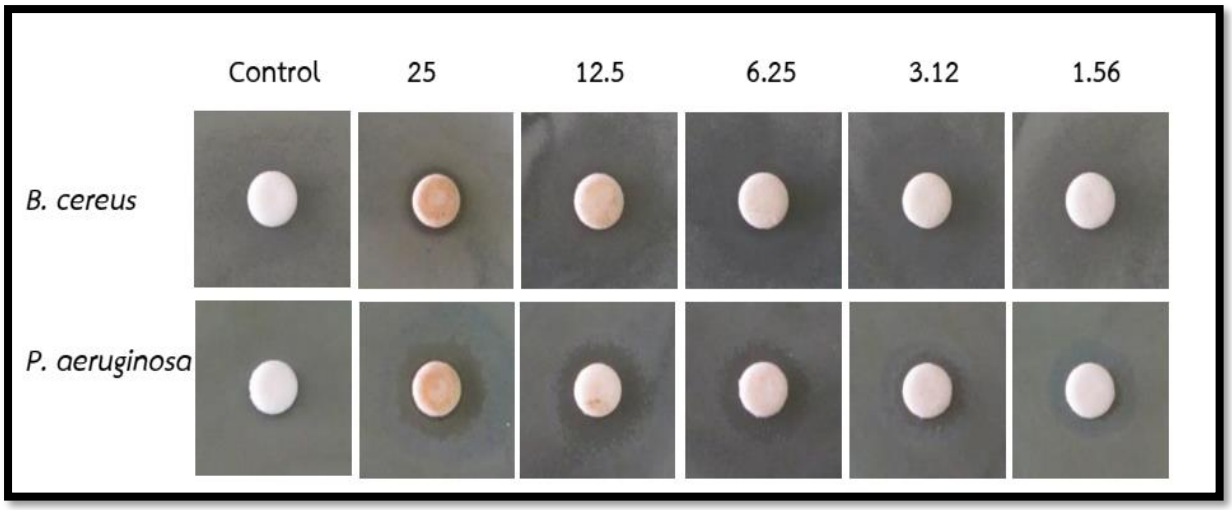
3. ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของสารสกัดจากปลีกล้วยจากตัวทำละลายต่าง ๆ พบว่า สารสกัดด้วยเอ็น บิวทานอล แบบสกัดเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ATCC 11778 และ*P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ดี และสารสกัดด้วยเมทานอล แบบสกัดเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *S. dysenteriae* DMST 2137 และ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ดี ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลตสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *B. cereus* ATCC 27853 ได้ดี ดังนั้นจึงได้เลือกนำสารสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) โดยใช้ DMSO เป็นชุดควบคุมเชิงลบ ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยเอ็น บิวทานอล แบบสกัดเย็น มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และเชื้อ *P. aeruginosa* เท่ากับ 25 และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล แบบสกัดเย็น มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *S. dysenteriae* DMST 2137 และ *B. subtilis* ATCC 6633 เท่ากับ 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลต มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *B. cereus* เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองเชื้อ ดังภาพที่ 2-4 และ ตารางที่ 3

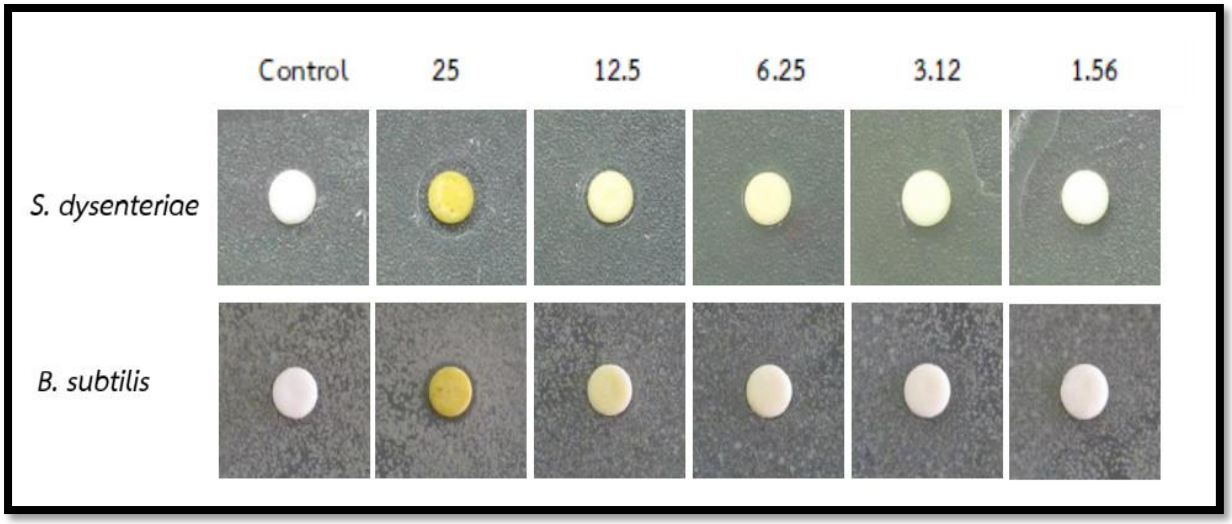
ตารางที่ 2 ผลการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของสารสกัดจากปลีกล้วย

วิธีสกัด	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, มิลลิเมตร)						
		S. aureus	*B. cereus*	*B. subtilis*	*E. coli*	*S. typhi*	*P. aeruginosa*	*S. dysenteriae*
การแช่หมักแบบเย็น (cold maceration)	เฮกเซน	--	--	--	--	--	--	-
	เอธิลอะซิเตท	--	--	--	--	--	--	-
	เอ็น บิวทานอล	7.75 ± 0.35	9.00 ± 0.10	8.25 ± 0.35	7.75 ± 0.35	7.25 ± 0.35	11.75 ± 0.35	7.75 ± 0.35
	เมทานอล	7.25 ± 0.35	7.75 ± 0.10	8.00 ± 0.35	7.75 ± 0.35	7.75 ± 0.35	7.75 ± 0.35	8.50 ± 0.71
การสกัดด้วยซอกเลต (soxhlet extraction)	เฮกเซน	--	--	--	--	--	--	-
	เอธิลอะซิเตท	14.00 ± 1.41	10.00 ± 0.20	7.00 ± 0.10	8.00 ± 0.20	8.50 ± 0.71	7.50 ± 0.71	9.00 ± 0.20
	เมทานอล	7.25 ± 0.10	7.00 ± 0.10	7.00 ± 0.10	7.10 ± 0.00	7.00 ± 0.15	7.00 ± 0.11	7.20 ± 0.24
positive control (ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล)		25.00	21.50	18.50	25.00	18.00	1.00	1.00
negative control (DMSO)		--	--	--	--	--	--	-

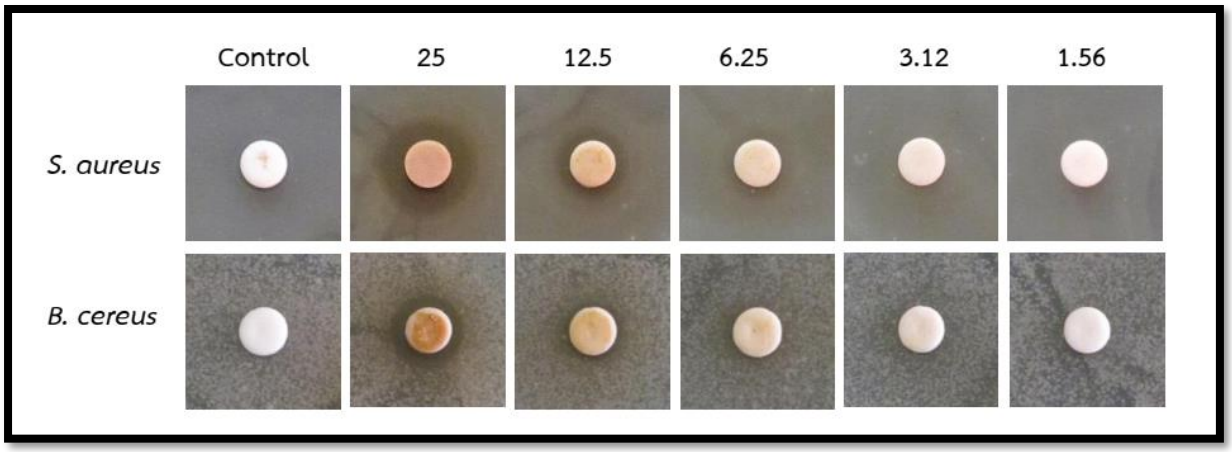
หมายเหตุ: เส้นผ่านศูนย์กลางของ disc เท่ากับ 6 มิลลิเมตร



ภาพที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากปลีกล้วยด้วยเอ็น บิวทานอล แบบสกัดเย็น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *B. cereus* และ *P. aeruginosa* ด้วยวิธี disc diffusion (control: DMSO)



ภาพที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากปลีกล้วยด้วยเมทานอล แบบสกัดเย็น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *S. dysenteriae* และ *B. subtilis* ด้วยวิธี disc diffusion (control: DMSO)



ภาพที่ 4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากปลีกล้วยด้วยเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลต (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus* ด้วยวิธี disc diffusion (control: DMSO)

ตารางที่ 3 ค่า MIC ของสารสกัดจากปลีกล้วย ด้วยวิธี Disc diffusion

สารสกัด/วิธีการสกัด	ค่า MIC ของสารสกัดหยาบจากปลีกล้วย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
	S. aureus	*B. cereus*	*B. subtilis*	*P. aeruginosa*	*S. dysenteriae*
เอ็น บิวทานอล แบบสกัดเย็น	-	25	-	3.12	-
เมทานอล แบบสกัดเย็น	-	-	25	-	12.5
เอธิลอะซิเตท แบบสกัดร้อน	12.5	12.5	-	-	-

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากปลีกล้วย ด้วยการสกัด 2 วิธี ได้แก่ การแช่หมักแบบเย็น ด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท เอ็น บิวทานอล และเมทานอล และการสกัดด้วยซอกเลต ด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเมทานอล และนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอ็น บิวทานอล เมทานอล แบบสกัดเย็น และเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลต สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้หลายสายพันธุ์ โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ มีวงใสในการยับยั้งอยู่ในช่วงตั้งแต่ 7-14 มิลลิเมตร โดยที่สารสกัดจากปลีกล้วยที่สกัดด้วยเอ็น บิวทานอล แบบสกัดเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ *P. aeruginosa* ได้ดี ที่ค่า MIC เท่ากับ 25 และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล แบบสกัดเย็น สามารถยับยั้งเชื้อ *S. dysenteriae* และ *B. subtilis* ได้ดี ที่ค่า MIC เท่ากับ 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท สกัดด้วยซอกเลต สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ดี ที่ค่า MIC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทั้งสองเชื้อ

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากปลีกล้วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกัน และวิธีการสกัดต่างกัน สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้แตกต่างสายพันธุ์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบที่มีในปลีกล้วยมีหลายชนิดจึงละลายได้ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน และออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยจะเห็นได้ว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (เฮกเซน) จะไม่พบสารที่ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย สอดคล้องกับรายงานของ Pistelli et al. (2000) ที่พบว่า การที่สารสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดที่ไม่มีขั้วไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบหรือมีฤทธิ์ค่อนข้างน้อย เนื่องมาจากสารสกัดชนิดไม่มีขั้วไม่พบสารกลุ่ม Phloroglucinol ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ส่วนสารที่มีความมีขั้วต่ำ (เอธิลอะซิเตท) จะต้องใช้ความร้อนช่วยในการสกัดสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ในขณะที่ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เช่น เอ็น บิวทานอลและเมทานอล จะมีสารสำคัญที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยไม่ต้องใช้ความร้อนช่วย ทั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ รัชนี (2549) ที่พบว่า สารสกัดจากปลีกล้วยน้ำว้าด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เช่น เอทานอลและน้ำมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยที่สารกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S. typhi* มีค่า MIC เท่ากับ 0.08 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดจากปลีกล้วยน้ำว้าด้วยน้ำ สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ มีค่า MIC เท่ากับ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ สุคนธ์และคณะ (2555) ที่พบว่า สารสกัดด้วยน้ำ เอทานอล และอะซิโตน จากเปลือกผลไม้สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของยาต้านจุลินทรีย์ได้ โดยที่สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ได้

สำหรับความไวของเชื้อต่อสารสกัด พบว่า แบคทีเรียแกรมบวกจะไวต่อสารสกัดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ สอดคล้องกับรายงานของ Scherrer and Gerhardt (1971) ที่พบว่า แบคทีเรียแกรมบวกมีโครงสร้างผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยเปนเปปติโดไกลแคน 90 เปอร์เซ็นต์ และกรดไทโคอิก ซึ่งผนังเซลล์นี้ไม่มีประสิทธิภาพเลือกผ่านการเข้าออกของสาร ส่งผลให้ไวต่อการยับยั้งด้วยสารสกัดได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบที่มีโครงสร้างผนังเซลล์ที่ซับซ้อนกว่า เนื่องมาจากนอกจากจะมีเปปติโดไกลแคนแล้ว ยังมีองค์ประกอบของไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์ที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้เซลล์และมีช่องพอริน (Porin) ในเยื่อหุ้มชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบที่ทำหน้าที่เป็นช่องทางที่จำเพาะกับโมเลกุลประเภทต่าง ๆ (Matu and van Staden, 2003)

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากปลีกล้วยที่เป็นพืชท้องถิ่น หาซื้อได้ง่าย ราคาถูก มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบบางสายพันธุ์ได้ นับว่าเป็นแหล่งของการผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์อีกแหล่งหนึ่ง ดังนั้นการศึกษาขั้นต่อไปคือการศึกษาการสกัดสารให้บริสุทธิ์ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาและเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ในการนำมาใช้ในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดโรคในอาหารมาทดแทนสารเคมีที่ราคาสูงและนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร อมรเลิศพิศาล, รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ และอุเทน จาใจ. (2559). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม จากชาปลีกล้วย. *The 3rd conference on research and creative innovations CRCI-2016* (น. 1360 -1365)

พรสุข จิตรเวช. (2548). *ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านคอลลาจเนส และฤทธิ์ต้านไทโรซิเนสของสารสกัดมะขามป้อมที่ปลูกในประเทศไทยสาหรับใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง* [วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีเภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย].

รัชนี เต๋เอียดหยด. (2549). *การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรในกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon) แช่เย็น* [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์].

สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, เทียนชัย น่วมเศรษฐี และเพชรลดา เดชายืนยง. (2555). ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด. *KKU Research Journal, 17*(6), 880-894.

อมรรัตน์ สีสุกอง, กัลยาภรณ์ จันตรี และศรีสุดา หาญภาคภูมิ. (2559). การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด. *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์, 11*(1), 60-82.

Adeleke, E. O. and Omafuvbe, B. O. (2011). Antibiotic resistance of aerobic mesophilic bacteria isolated from poultry faeces. *Research Journal of Microbiology, 6,* 356-365.

Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. and Turck, M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Society of Clinical Pathogists, 36*, 493-496.

Cushnie, T. and Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents, 38,* 99-107. http://doi: 10.1016/j.ijantim

Enne, V. I., Livermore, D. M., Stephens, P. and Hall, L. M. (2001). Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *The Lancet, 357*(9265), 1325-1328.

Matu, E. N. and Van Staden, J. (2003). Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. *Journal of Ethnopharmacology, 87*, 35-41

Pistelli, L., Bertolli, A., Zucconelli, S., Morelli, I., Panizzi, L. and Menichini, F. (2000). Antimicrobial activity of crude extracts and pure compounds of *Hypericum hircinum*. *Fitoterapia, 71,* 138-140.

Ramu, R., Shirahatti, P., Zameer, F., Ranganatha, L. and Prasad, M. (2014). Inhibitory effect of banana (*Musa sp. var. Nanjangud rasa bale*) flower extract and its constituents Umbelliferone and Lupeol on glucosidase, aldose reductase and glycation at multiple stages. *South African Journal of Botany, 95,* 54-63.

Scherrer, R. and Gerhardt, P. (1971). Molecular sieving by the Bacillus megaterium cell wall and protoplast. *Journal of Bacteriology, 107,* 718-735.

Westh, H., Zinn, C. S. and Rosdahl, V. T. (2004): An international multicenter study of antimicrobial consumption and resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from 15 hospitals in 14 countries. *Microbial Drug Resistance, 10,* 169-176.