

# พฤษเคมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ และต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกัลปพฤกษ์

## Phytochemical, antimicrobial and antioxidant activities of crude extract from

### *Cassia bakeriana* Craib

ศุภชัย โปธิล้อม,<sup>1\*</sup> สุธิรา มณีฉาย,<sup>2</sup> รุ่งฤดี ทิวทอง<sup>2</sup>

Supachai Polorm,<sup>1\*</sup> Suthira Maneechai,<sup>2</sup> Rungruedee Thiwthong<sup>2</sup>

#### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพฤษเคมี ความสามารถในการต้านจุลชีพ และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ (*Cassia bakeriana* Craib) โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตท เอทานอลและ เมทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสาร พบว่าเอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่สกัดสารได้ปริมาณมาก จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อสารปฏิชีวนะ methicillin, *Staphylococcus epidermidis* และแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อนที่แยกได้จากผิวหนังทุกสายพันธุ์ โดยมีความกว้างของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 11.00 - 15.67 และ 12.67 - 15.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ และมีค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อนที่แยกได้จากผิวหนัง, *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อสารปฏิชีวนะ methicillin, *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus cereus* มีค่าเท่ากับ 3.125, 200, 6.25, 100 และมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จึงคัดเลือกสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่ามีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 293.75 ± 0.04 และ 300.76 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สูงกว่าวิตามินซีที่ใช้เป็นมาตรฐาน (IC<sub>50</sub> เท่ากับ 14.93 ± 0.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล มีปริมาณเทียบเท่ากรดแกลลิก เท่ากับ 42.91 ± 2.10 และ 56.17 ± 2.65 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และพบสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ แทนนิน และแอลคาลอยด์ แต่จะพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์เฉพาะสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลเท่านั้น

คำสำคัญ: กัลปพฤกษ์ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

<sup>1</sup> นิสิตปริญญาโท, <sup>2</sup> อาจารย์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

<sup>1</sup> Master degree student, <sup>2</sup> Lecturer, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, MahaSarakhm 44150, Thailand.

\* Corresponding author: Supachai Polorm, E-mail address: supachaipolorm@gmail.com, Tel : 0872614605



## Abstract

This study aimed to investigate the phytochemical, antimicrobial and antioxidant activities of crude extract from *Cassia bakeriana* Craib pod pulp. Plant parts were dried, grinded and extracted by maceration with solvents of increasing polarity beginning with hexane, ethyl acetate, ethanol and methanol. Extraction by ethanol and methanol yield higher amounts of crude extracts than hexane and ethyl acetate. All crude extracts were tested for antibacterial activity against bacteria and fungi by Agar well diffusion method. All extracts, especially ethanolic and methanolic extracts from pod pulp of *C. bakeriana* exhibited antibacterial activity against *Bacillus cereus*, methicillin-resistant and -sensitive, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and unknown isolate obtained from pus, with zone of inhibition ranging from 11.00 - 15.67 mm and 12.67 - 15.67 mm. Minimal Bactericidal Concentration (MBC) of the ethanolic and methanolic extracts of *C. bakeriana* pod pulp against the bacterial activities of unknown isolate obtained from pus, methicillin-resistant and -sensitive, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Bacillus cereus* were 3.125, 200, 6.25, 100 and >200 mg/ml, respectively. Ethanolic and methanolic extracts from *C. bakeriana* pod pulp were subjected for investigation of antioxidant activity by DPPH assay. We found that ethanolic and methanolic extracts of *C. bakeriana* pod pulp showed higher antioxidant activity ( $IC_{50}$  of  $293.75 \pm 0.04$  and  $300.76 \pm 0.03$   $\mu\text{g/ml}$ , respectively) than the vitamin C standard ( $IC_{50}$  of  $14.93 \pm 0.17$   $\mu\text{g/ml}$ ). Phytochemical screening of the ethanolic and methanolic extracts of *C. bakeriana* pod pulp exhibited the phenolic contents equivalent to gallic acid (GAE) accounted for  $42.91 \pm 2.10$  and  $56.17 \pm 2.65$  mg GAE/g extract, respectively. Anthraquinone, terpenoid, tannin and alkaloid were found in all extracts except cardiac glycoside which was only found in ethanolic extract of *C. bakeriana* pod pulp.

**Keywords:** *Cassia bakeriana* Craib, antimicrobial activity, antioxidant activity

## บทนำ

ปัจจุบันเครื่องสำอางและยาจากสารสกัดพืชสมุนไพรกำลังเป็นที่นิยม สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพ จึงถูกนำมาศึกษาเป็นลำดับแรกๆ เพื่อใช้คัดเลือกหาประโยชน์จากสารสกัดสมุนไพรแล้วนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและยา โดยกัลปพฤกษ์ (*Cassia bakeriana* Craib) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Fabaceae เป็นไม้ยืนต้นผลัดใบขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีความสูง

โดยเฉลี่ยประมาณ 12 เมตร เปลือกต้นด้านนอกเรียบเป็นสีเทา ส่วนเนื้อไม้เป็นสีเหลืองถึงสีน้ำตาล ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคู่เรียงสลับซึ่งใบออกดอกเป็นช่อกระจุกตามกิ่งพร้อมกับแตกใบอ่อนช่อดอกไม่แตกแขนงเมื่อเริ่มบานดอกจะเป็นสีชมพู แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูเรื่อ ๆ จนถึงสีขาวเมื่อใกล้ร่วงโรยผลมีลักษณะเป็นฝักรูปทรงกระบอกยาวแคบ สีน้ำตาลแขวนลงมาจากกิ่งฝักมีขนนุ่มสีเทาปกคลุมตลอดภายในฝักแบ่งออกเป็นช่อง ๆ ตามขวาง เนื้อในฝักเป็นสีขาวปนเขียวซึ่งผู้สูงอายุสมัยก่อนใช้กินกับหมาก



สรรพคุณตามตำรายาแผนโบราณของ  
กัลปพฤกษ์มีรายงานว่าเปลือกฝักเมล็ดและใบมี  
สรรพคุณการถ่ายพิษไข้ เป็นยาระบาย เนื้อในฝักมีรส  
หวานเย็นขม มีสรรพคุณเป็นระบาย<sup>1</sup> และมีรายงาน  
การศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านจุลชีพของสารสกัด  
หายาจากกัลปพฤกษ์ พบว่าสารสกัดหายาจากลำต้น  
ดอก และใบที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการ  
เจริญของเชื้อรา<sup>2</sup> และมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่  
สกัดจากใบ เปลือกต้น และเนื้อไม้สามารถยับยั้งการ  
เจริญของเชื้อก่อโรคในช่องปากได้<sup>3</sup> แต่การศึกษาฤทธิ์  
ต้านอนุมูลอิสระและพิษเคมีจากส่วนต่าง ๆ ของ  
กัลปพฤกษ์ยังไม่ปรากฏแพร่หลาย โดยเฉพาะส่วนของ  
เนื้อในฝักไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านจุล  
ชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และพิษเคมี ดังนั้นผู้วิจัย  
จึงสนใจการสกัดสารจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์เพื่อ  
ศึกษาพิษเคมี ความสามารถในการต้านจุลชีพ และ  
การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหายาจากเนื้อในฝัก  
กัลปพฤกษ์

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 1. ตัวอย่างพืชและวิธีการเตรียมสารสกัด

นำตัวอย่างส่วนเนื้อในฝัก (pod pulp) ของ  
กัลปพฤกษ์มาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนแห้ง  
แล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียดซึ่งเนื้อในฝักของ  
กัลปพฤกษ์ที่บดละเอียด 150 กรัม จากนั้นนำมาแช่ใน  
ตัวทำละลายปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ โดย  
แช่เรียงลำดับจากความเข้มข้นไปหาเข้มข้นต่ำนี้ คือ  
เฮกเซน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และเมทานอลใน  
อัตราส่วน 1:10 (น้ำหนัก:ปริมาตร) เป็นเวลา 14 วัน  
จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง(Whatman  
No.1) ส่วนใสที่กรองได้จะนำไปประเหยที่เครื่องระเหย  
สารแบบหมุน (Rotary Evaporator) จะได้สารสกัด  
หายาในแต่ละชั้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด เก็บ  
ตัวอย่างสารสกัดไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศา  
เซลเซียสจนกว่าจะนำสารสกัดมาใช้ทดสอบ

### 2. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดหายา จากกัลปพฤกษ์ โดยวิธี Agar well diffusion

จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ คือแบคทีเรียแกรมบวก  
5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus  
aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อสารปฏิชีวนะ  
methicillin (*S. aureus* DMST 8840 และ *S. aureus*  
MRSA ตามลำดับ), *Staphylococcus epidermidis*  
และแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อนที่แยกได้จาก  
ฝีหนอง (ไอโซเลต PUS) แบคทีเรียแกรมลบ 4  
สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922,  
*Salmonella typhi*, *Enterobacter cloacae* DMST  
17026 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2001  
ซึ่งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบส่วนใหญ่เป็นเชื้อก่อโรคใน  
ระบบทางเดินอาหาร และยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่  
*Candida tropicalis* CECT 1440, *Candida albicans*  
HW (Human isolate) และ *Candida albicans* ATCC  
10231 เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่มีความสามารถในการก่อ  
โรคเมื่อร่างกายมีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่ำหรือ  
บกพร่อง โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบจะถูกเลี้ยง  
ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในอาหารเหลว Muller-  
Hinton เป็นเวลา 9 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรีย และ  
อาหารเหลว Sabouraud Dextrose เป็นเวลา 15  
ชั่วโมง สำหรับยีสต์ จากนั้นปรับความขุ่นของ  
เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบให้มีความขุ่นเท่ากับความ  
ขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland No.1 จากนั้น  
ทำการเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Muller-Hinton agar  
สำหรับแบคทีเรีย และ Sabouraud Dextrose agar  
สำหรับยีสต์ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง ใช้  
cork borer (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร) ที่  
ผ่านการฆ่าเชื้อเจาะอาหารให้เป็นหลุม (agar well)  
แล้วใส่สารสกัดหายาความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อ  
มิลลิลิตร ลงหลุมในปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่ม  
ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง  
บันทึกผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ  
บริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ



### 3. การทดสอบหาค่า Minimum Bactericidal concentration โดย Broth Dilution Technique

ใช้วิธีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์จากวิธีในข้อ 2 และทำการเจือจางสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพจากการทดสอบวิธี Agar well diffusion โดยทำการเจือจางสารสกัดอย่างเป็นลำดับส่วน (Two fold dilution เช่น ตัวอย่างความเข้มข้นในชุดทดสอบเท่ากับ 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562, 0.781) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นเติมเชื้อทดสอบในความเข้มข้น 1-2% โดยปริมาตร นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบผล โดยใช้ loop เขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารที่ผ่านการบ่มเชื้อมาแล้ว 24 ชั่วโมง ไปขีดเชื้อแบบ simple streak ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำจานเพาะเชื้อมาตรวจสอบการเจริญ โดยหาค่า MBC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อทดสอบบนจานเพาะเชื้อ

### 4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตามวิธีของสุริราและประสพอร<sup>4</sup> ซึ่งมีวิธีการทดสอบดังนี้ การเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยเตรียมสารสกัดหยาบจากเนื้อในผักกัลปพฤกษ์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเมทานอลปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 100 ไมโครโมลต่อลิตร ปริมาตร 180 ไมโครลิตรใส่ลงในไมโครเพลท ทิ้งไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader (SPECTRO star Nano, BMG Lab tech) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (As) และใช้เมทานอลเป็นblank (Ac) และมีวิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจากสูตร

$$\text{ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ} = [(Ac - As)/Ac] \times 100$$

สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ แล้วหาค่า IC<sub>50</sub>

### 5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric (ดัดแปลงจากวิธี Sasic *et al.*<sup>5</sup>) ใช้กรดแกลลิกเป็นมาตรฐาน (ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 10 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยนำสารสกัดที่นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol) ดูดสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu 100 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท ให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ความเข้มข้น 7.5% (w/v) ปริมาตร 80 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วจึงเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาทีนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 743 นาโนเมตร คำนวณหาสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg GAE / g extract)

### 6. การตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากเนื้อในผักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล 8 ชนิด ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์ฟีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ จะใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน (ศรีนรัตน์ และคณะ<sup>6</sup>) ดังนี้

#### การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Anthraquinones)

ปิเปตสารสกัดหยาบที่เตรียมไว้ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ (water bath) 5 นาที กรองแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เติมสารละลายแอมโมเนีย (10% NH<sub>3</sub>) 2-3 หยด สังเกตสีชมพูแดงที่เกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน




**Table 1** In vitro activity of hexane, ethyl acetate, ethanol and methanol extracts from pod pulp of *Cassia bakeriana* Craib against microorganisms.

Microorganism	Zone of inhibition (diameter, mm ± S.D)									
	Solvent extraction					Antibacterial			Antifungal	
	Hexane	Ethyl acetate	Ethanol	Methanol	Vancomycin (10 µg)	Tetracyclin (30 µg)	Nystatin (100 unit)	Fluconazole (25 µg)	50% DMSO	
<b>Gram positive bacteria</b>										
<i>S. aureus</i> DMST 8840	-	-	11.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	12.67 ± 0.58 <sup>b</sup>	15.33 ± 0.58 <sup>a</sup>	15.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	n	n	-	
<i>S. aureus</i> MRSA	10.67 ± 1.15 <sup>c</sup>	11.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	14.00 ± 1.00 <sup>bc</sup>	12.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	15.67 ± 0.58 <sup>a</sup>	19.67 ± 0.58 <sup>b</sup>	n	n	-	
<i>S. epidermidis</i>	10.33 ± 0.58 <sup>c</sup>	11.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	15.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	15.67 ± 1.15 <sup>c</sup>	19.67 ± 1.15 <sup>a</sup>	29.67 ± 0.58 <sup>b</sup>	n	n	-	
<i>B. cereus</i>	11.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	14.00 ± 1.00 <sup>c</sup>	15.33 ± 0.58 <sup>c</sup>	15.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	13.33 ± 0.58 <sup>a</sup>	24.33 ± 0.58 <sup>b</sup>	n	n	-	
PUS	12.67 ± 1.15 <sup>c</sup>	14.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	14.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	15.33 ± 0.58 <sup>c</sup>	19.67 ± 0.58 <sup>a</sup>	25.33 ± 0.58 <sup>b</sup>	n	n	-	
<b>Gram negative bacterial</b>										
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10.67 ± 0.58 <sup>c</sup>	10.33 ± 0.58 <sup>c</sup>	-	-	14.67 ± 0.58 <sup>a</sup>	20.67 ± 0.58 <sup>b</sup>	n	n	-	
<i>S. typhi</i>	-	-	-	-	-	-	n	n	-	
<i>E. cloacae</i> DMST 17026	-	-	-	-	-	-	n	n	-	
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 2001	-	-	-	-	-	-	n	n	-	
<b>Yeast</b>										
<i>C. tropicalis</i> CECT 1440	10.67 ± 1.15 <sup>b</sup>	-	-	-	n	n	21.67 ± 0.58 <sup>a</sup>	-	-	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	10.67 ± 0.58 <sup>b</sup>	-	-	-	n	n	19.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	-	-	
<i>C. albicans</i> HW	12.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	-	-	-	n	n	18.67 ± 0.58 <sup>a</sup>	-	-	

<sup>a,b,c</sup> Means the same row with the different superscripts were significantly different at  $P < 0.05$ 
**Note:** -, no clear zone; n, not tested

### การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อฝักในกล้วยพฤษที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบได้ดี โดยเฉพาะสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ โดยมีความกว้างของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 11.0 - 15.7 และ 12.7 - 15.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส อยู่ในช่วง 10.7 - 12.0 มิลลิเมตร (Table 1) และค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ทดสอบมีค่าตั้งแต่ 3.125 - 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 2)

### การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH รายงานค่าเป็น IC<sub>50</sub> ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 พบว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 293.75 ± 0.04 และ 300.76 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2) ในขณะที่สารมาตรฐานวิตามินซีมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 14.93 ± 0.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

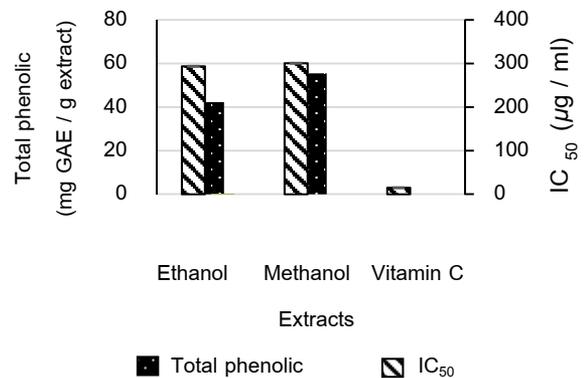
### การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

สารประกอบฟีนอลิกรวมคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ( $y = 0.1877x + 0.0319$ ,  $R^2 = 0.9525$ ) รายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด พบว่าสารสกัดเอทานอลและเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ

42.91 ± 2.10 และ 56.17 ± 2.65 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ (Figure 2)

### การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้น 8 ชนิด ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน แอลคาลอยด์ สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ พบสารพฤษเคมี 4 ชนิดที่พบในสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล คือ แอนทราควิโนน เทอร์ปีนอยด์ แทนนินและแอลคาลอยด์ (Table 3) แต่สารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์พบเฉพาะสารสกัดเอทานอลเท่านั้น



**Figure 2** DPPH free radical scavenging activity (IC<sub>50</sub>) and Total phenol content of extracts of *Cassia bakeriana* Craib

**Table 2** MBC of ethanolic and methanol extracts of *Cassia bakeriana* Craib pod pulp against gram positive bacteria.

Bacteria	MBC (mg/ml)	
	Ethanol	Methanol
<i>S. aureus</i> DMST 8840	200	200
<i>S. aureus</i> MRSA	6.25	6.25
<i>S. epidermidis</i>	100	100
<i>B. cereus</i>	200	>200
PUS	3.125	3.125



**Table 3** Quality analysis of phytochemicals from pod pulp extracts of *Cassia bakeriana* Craib

Phytochemicals	Solvent extraction	
	Ethanol	Methanol
Anthraquinones	+	+
Terpenoid	+	+
Flavonoids	-	-
Saponin	-	-
Tannin	+	+
Alkaloid	+	+
Steroids	-	-
Cardiac glycoside	+	-

**Note:** +, detected; -, not detected

### สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสกัดสารจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างกันจะได้สารสกัดหยาบในปริมาณและลักษณะแตกต่างกัน โดยเฉพาะเมื่อใช้เอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดจะได้ปริมาณสารสกัดหยาบในปริมาณมากกว่าการใช้เฮกเซนและเอทิลอะซิเตทสกัด เนื่องจากเอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วสูง สามารถสกัดสารขั้วแตกต่างกันได้ ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้วรวมอยู่ในสารสกัด และมีรายงานการศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเนื้อไม้ เปลือกต้น และใบ<sup>4</sup> แต่ยังไม่มียางานเกี่ยวกับการสกัดสารจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ สกัดสารจากพืชสกุล *Cassia* พบว่ามีการใช้เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทานอล เอทานอล และน้ำในการสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของคูน (*Cassia fistula* Linn)<sup>7-11</sup>

การศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อทดสอบ พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ และ *E. coli* ATCC 25922 จะไวต่อยา Vancomycin และ Gentamycin และยีสต์ที่นำมาทดสอบทั้งหมดจะไวต่อยา Nystatin เท่านั้น และการศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพของสารสกัดหยาบจาก

เนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ พบว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์มีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้แตกต่างกัน โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ โดยมีความกว้างของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 11.00-15.67 และ 12.67-15.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่าค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ทดสอบแต่ละสายพันธุ์มีค่าเท่ากันและมีค่า MBC ตั้งแต่ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขึ้นไป และมีรายงานการศึกษาของขวัญใจและคณะ<sup>2</sup> พบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น ดอก และใบกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ นอกจากนี้ Cunha *et al.*<sup>3</sup> พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบ เปลือกต้น และเนื้อไม้ของกัลปพฤกษ์ สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่องปาก (Oral Pathogens) ทั้งกลุ่มที่ต้องการอากาศ (Aerobic) และไม่ต้องการอากาศ (Anaerobic) ในการเจริญ แต่ยังไม่มียางานฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักและส่วนต่าง ๆ ของกัลปพฤกษ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่า IC<sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบจากกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีค่าเท่ากับ 293.75 ± 0.04 และ 300.76 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ถึงแม้ค่า IC<sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบทั้งสองจะไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ก็แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเอทานอลมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดหยาบเมทานอลโดยพิจารณาจากค่า IC<sub>50</sub> ที่ต่ำกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลและเมทานอลแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันไม่เทียบเท่าสารมาตรฐานวิตามินซี โดยค่า IC<sub>50</sub> ของวิตามินซี เท่ากับ 14.93 ± 0.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกัลปพฤกษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดหยาบเอทานอล เมื่อ



พิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9535 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pontis *et al.*<sup>12</sup> ซึ่งได้ทำการศึกษา สีฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากน้ำผึ้งของประเทศบราซิล พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กันในระดับสูงซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.7520 แสดงว่าสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมในปริมาณที่สูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงด้วย<sup>13-16</sup>

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล พบสารพฤกษเคมี 4 ชนิด ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์ปีนอยด์ แทนนิน และแอลคาลอยด์ในสารสกัดหยาบเอทานอลและเมทานอล ส่วนสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์พบเฉพาะสารสกัดหยาบเอทานอลเท่านั้น การตรวจพบสารพฤกษเคมีดังกล่าวช่วยยืนยันฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษ การศึกษาเกี่ยวกับพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกล้วยพฤษยังไม่ปรากฏแพร่หลาย จากรายงานการวิจัยพบว่าพืชสกุล *Cassia* โดยเฉพาะคูน (*Cassia fistula* L.) มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านเนื้องอก ต้านปรสิต พิษต่อเซลล์และต้านพยาธิ<sup>17</sup> เป็นต้น นอกจากนี้มีรายงานว่าสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แทนนิน แอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ ซาโปนิน เทอร์ปีนอยด์ ควิโนนและน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์การต้านจุลชีพ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านโรคอูจาระร่วง และต้านพยาธิ<sup>18</sup> และพบว่าสารสกัดจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีกลุ่มสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบ ส่งผลให้สารสกัดหยาบจากกล้วยพฤษแสดงฤทธิ์การต้านจุลชีพและอนุมูลอิสระได้

จากผลการทดลองเบื้องต้นทำให้ทราบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเนื้อในฝักกล้วยพฤษ ผู้วิจัยเห็นว่าควรจะมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารสกัดจากเนื้อฝักในส่วนต่าง ๆ ของกล้วยพฤษ และแยกองค์ประกอบทางเคมีเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์แล้วทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์นั้น

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้วัสดุ อุปกรณ์ สำหรับใช้ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

1. ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ. พืชสมุนไพรใช้เป็นยา 10. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2540.
2. ขวัญใจ กนกเมธากุล, สมเดช กนกเมธากุล และเกษม สร้อยทอง. การทดสอบสารสกัดพืชบางชนิดในสกุล *Cassia* ต่อเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides*. วารสารวิทยาศาสตร์ มข 2537; 20-22(3-3): 112-119.
3. Cunha C.S., Morais A.L., Martins H.G., Martins M., Chang R., Aquino J.T. *et al.* Chemical Composition, Cytotoxic and Antimicrobial Activity of Essential oils from *Cassia bakeriana* Craib. Against Aerobic and Anaerobic Oral Pathogens. *Molecules* 2013; 18: 4588-4598.
4. สุธีรา มณีฉาย และประสพอร รินทอง. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระและดอก



- สัมพันธ์. วารสารวิทยาศาสตร์ มข 2559; 44(1): 142 -152.
5. Sasic K.I., Tahirovic I., Topcagic A., Klepo L., Salihovic M., Ibragig S.*et al.* Total phenolic content and Antioxidant capacity of fruit juices. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina 2012; 39: 25-28.
  6. ศรีนรินทร์ นัตรีระนันท์, วราภคณา สบายใจ และ สิริมาศ นิยมไทย. การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข.2556; 41(3): 723-730.
  7. Awal MA., Ahsan SM., Haque E., Asghor QH. and Ahmed M.. In-vitro Antibacterial Activity of Leaf and Root Extract of *Cassia fistula*. Dinajpur Medical College Journal 2010; 3(1): 10-13.
  8. Nehru S.S., Zakaria Z.,Sreenivasan S. and SutarjoS..Free Radical Scavenging Activity of *Cassia spectabilis* and *Cassia fistula*. International Journal of Natural and Engineering Sciences 2008; 2(2): 111-112.
  9. Lachumy S.T., Zuraini Z. and SasidharanS. Antimicrobial activity and toxicity of methanol extract of *Cassia fistula* seed. Research Journal of Pharmarceutical, Biological and Chemical Science 2010; 1(4): 391-398.
  10. Mane V.D., Rajput P.R.,Malpani M.O. and Bhokare D.D. Phytochemical investigation and Antibacterial activity of various extract of *Cassia fistula* plant. International Journal of Chemistry Research 2012; 3(1): 13-16.
  11. Duraipandiyan V. and Ignacimuthu S. Antibacterial and antifungal activity of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant.Journal of Ethnopharmacology 2007; 112: 590-594.
  12. Pontis J.A., Costa L.A., Silva S.J. and Flach A. Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. Food Science and Technology 2014; 34(1): 6 -73.
  13. Mahboubi M., Haghi G., Kazempour N. and Hatemi A.R. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of *Blepharis edulis* extracts. Songklanakarin Journal of Science and Technology 2013; 35(1): 11-16.
  14. Figueroa L.A., Navarro L.B., Vera M.P. and Petricevich V.L. Antioxidant activity, Total phenolic and flavonoid contents, and cytotoxicity evaluation of *Bougainvillea xbuttiana*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2014; 6: 497-502.
  15. Hasanuzzaman Md., Ali M.R., Hossain M., Kuri S. and Islam M.S. Evaluation of total phenolic content, free radical scavenging activity and phytochemical screening of different extracts of Avertroabilimbi (fruit). International Current Pharmarceutical Journal 2013; 2(4): 92-96.
  16. Bindurani R. and Kumar K. Evaluation of Antioxidant activity of Hydro distilled extracts of Leaf, Heart wood and Flower of *Azadirachtaindica*. International Journal of



Pharmaceutical Sciences Review and  
Research 2013; 20(2): 222-224.

17. Thirumal M., Srimanthula S. and Kishore G.  
*Cassia fistula* Linn - Pharmagognostical,  
Phytochemical and Pharmacological Review.  
Critical Review in Pharmaceutical Science  
2012; 1(1): 48-69.
18. Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. and  
Kaur H. Phytochemical screening and  
Extraction: A Review. International  
Pharmaceutica Scientia 2011; 1(1): 98-106.