บทความวิจัย (Research Article)

ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวและเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดเปลือกสะตอ

นิสาพร มูหะมัด[1*], ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย[2], อุบล ตันสม[3], ลิขิต ลาเต๊ะ[1] และ ฮาบิลลาห์ จะปะกียา[4]

Anti-*Corynebacterium acnes* and Tyrosinase inhibition activities of *Parkia speciosa Hassk* Peel Extract

Nisaporn Muhamad[1*], Piyasiri Soontornnon Sinchai[2], Ubol Tansom[3], Likit Lateh[1] and Habilla Chapakiya[4]

[1] Cosmetic Science, Health & Anti-aging, Faculty of Science, Technology & Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala, 95000

[2] General Science, Faculty of Science, Technology & Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala, 95000

[3] Applied Chemistry, Faculty of Science, Technology & Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala, 95000

[4] The Halal Science Center Chulalongkorn University (Pattani Office), Pattani, 94000

* Corresponding author: Nisaporn.m@yru.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2023;16(3):22-29.

Received: 6 December 2022; Revised: 13 December 2023; Accepted: 18 December 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว (*Corynebacterium acnes* DMST 14916) และกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเปลือกสะตอ ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 ได้ดีโดยมีขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 8.66 ± 0.17 มิลลิเมตร สอดคล้องกับผลที่ได้ในกลุ่มควบคุมเชิงบวกที่ พบว่า Clindamycin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *C. acnes* DMST14916 ได้ดีโดยมีขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 30.04 ± 0.40 มิลลิเมตร ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Enzymatic assay โดยใช้กรดโคจิก (Kojic acid) ความเข้มข้น 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวกนั้น พบว่าสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.0010, 0.0100, 0.1000 และ 1.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับร้อยละ 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 และ 88.234 ± 0.003 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของกรดโคจิกถึง 1000 เท่า (83.887 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านเชื้อสิว, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, เปลือกสะตอ

---

[1] สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง สุขภาพและการชะลอวัย คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา 95000

[2] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา 95000

[3] สาขาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา 95000

[4] ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (สำนักงานปัตตานี) จังหวัดปัตตานี 94000

Abstract

This research aims to examine the antibacterial activity against acne-causing bacteria, *Corynebacterium acnes* DMST14916 as well as the anti-tyrosinase inhibition activity of crude ethanolic extracts of stink bean (*Parkia speciosa Hassk*) peel. The results showed that the crude ethanolic extract of stink bean peel demonstrated inhibitory effect against *C. acnes* DMST14916 with the inhibition zone of 8.66 ± 0.17 mm. The finding was consistent with the inhibitory activity obtained the positive control group, where clindamycin at a concentration of 0.2 mg/ml inhibited *C. acnes* DMST14916, with the clear zone of 30.04 ± 0.4 mm. The crude ethanolic extract of stink peel showed the greatest tyrosinase inhibition activity with percentage of inhibition of 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 and 88.234 ± 0.003 at concentrations of 0.0010, 0.0100, 0.1000 and 1.0000 mg/ml respectively compared to positive control of kojic acid ((83.887 ± 0.001% at concentrations of 1.42 mg/ml)

Keywords: Anti-*Corynebacterium acnes* activity, Tyrosinase inhibition activity, Stink bean peel

บทนำ

สะตอเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ มาเลเซีย, อินโดนีเซีย รวมถึงทางตอนใต้ของไทย เจริญเติบโตได้ดีตามเชิงเขาที่มีสภาพป่าสมบูรณ์ ที่มีความชื้นในอากาศสูง ในอดีตสะตอจะเป็นพืชที่มีการนิยมนำมาใช้เป็นอาหารเฉพาะถิ่นเท่านั้น แต่ในปัจจุบันมีการนำไปบริโภคอย่างกว้างขวางจนกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในประเทศไทย แหล่งปลูกสะตอที่สำคัญได้แก่ ระนอง, ชุมพร, สงขลา, สตูล, พัทลุง, ปัตตานี ยะลาและนราธิวาส ผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากฝักสะตอข้าวและสะตอดานที่สกัดด้วยเอทานอล 50% พบว่า สารสกัดจากฝักสะตอทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ แต่สารสกัดจากฝักสะตอดานจะมีปริมาณของสาร ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าสะตอข้าวอย่างมีนัยสำคัญจึงออกฤทธิ์ได้ดีกว่า และเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ metal ion chelating assay สารสกัดทั้งสองยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดที่ก่อโรคในอาหาร *Bacillus cereus, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Vibrio cholera* และแบคทีเรียชนิดที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร *Aeromonas hydrophila, Pseudomonas aeruginosa* และ *Serratia marcescens* [1,2]

การอักเสบของรูขุมขนและต่อมไขมัน (pilosebaceous unit) ที่มักพบบริเวณของร่างกายที่มีต่อมไขมันขนาดใหญ่เรียงตัวอย่างหนาแน่นถือเป็นปัญหาที่พบได้บ่อย โดยมีปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดการอักเสบของรูขุมขนและต่อมไขมันจนเกิดเป็นสิวเช่น การใช้ยาบางชนิด เครื่องสำอางหรือสิ่งแวดล้อมเป็นต้น นอกเหนือจากปัจจัยภายนอกที่กล่าวมาแล้ว เชื้อแบคทีเรีย *Corynebacterium acnes* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ที่พบได้ปกติในต่อมไขมัน กลไกที่ทำให้เกิดสิวโดยเชื้อ *C. acnes* เกิดจากการสร้างเอนไซม์ไลเปส (lipase) ไปสลายไทรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ในต่อมไขมันจนเกิดเป็นกรดไขมันอิสระร่วมกับการหลั่งเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) และ low molecular weight chemotactic factor ทำให้เกิดการระคายเคืองในต่อมไขมันและเกิดกระบวนการอักเสบตามมาเนื่องจากเม็ดเลือดขาวถูกกระตุ้นให้มารวมตัวกันมากขึ้น หากเกิดการอุดแน่นของท่อภายในต่อมไขมันมากขึ้นจนทำให้ผนังของแตกออก กรดไขมันจะถูกปลดปล่อยออกมายังเนื้อเยื่อโดยรอบ กรดไขมันเช่น linoleic acid มีฤทธิ์ทำให้เกิดการระคายเคือง การอักเสบและมีผื่นแดงเกิดเป็นสิวในรูปแบบต่างๆได้ นอกจากนี้แล้วการอักเสบยังเป็นผลเนื่องมาจาก mediator ต่างๆซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. acnes* ที่อยู่ภายในรูขุมขน

เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไปมีความสำคัญในวิถีการสังเคราะห์เมลานินเนื่องจากเป็นเอนไซม์ตัวแรกในปฏิกิริยา โดยจะไปกระตุ้นให้ tyrosine เปลี่ยนเป็น dihydroxyphenyl alanine (DOPA) และ DOPAquinone ตามลำดับ จากนั้น DOPAquinone จะถูกออกซิไดส์ให้กลายเป็น DOPAchrome ที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็น 5,6-dihyrdroxyindole หรือ 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) ก่อนจะถูกเปลี่ยนให้เป็น indole 5,6 quinone carboxylic acid ที่ทำปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชั่นเกิดเป็นยูเมลานิน (eumelanin) ซึ่งเป็นเม็ดสีน้ำตาลดำ ซึ่งเม็ดสีชนิดนี้หากมีการผลิตที่มากเกินความจำเป็นจะส่งผลให้เกิดฝ้า กระและจุดด่างดำที่ไม่พึงประสงค์บนใบหน้าและร่างกาย ทำให้ตลาดเครื่องสำอางมุ่งเน้นการนำสารที่มีคุณสมบัติเหล่านี้ไปใช้กับผลิตภัณฑ์เพื่อผิวกระจ่างใสหรือผลิตภัณฑ์ลดฝ้าและกระ ทำให้สีผิวสม่ำเสมอ เนื่องจากเห็นผลได้เร็วและมีประสิทธิภาพในลดการสร้างเม็ดสีที่ผิวหนัง ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยใช้สารสกัดจากเปลือกสะตอเป็นต้นแบบในการทดสอบ โดยที่สะตอจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย มีรายงานวิจัยว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* อย่างมีนัยสำคัญ [3] นอกจากนี้ยังมีกรดคลอโรจีนิกที่เป็นพฤกษเคมีในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ที่พบในสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดสะตอโดยกรดคลอโรจีนิกนี้มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย อนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส [4] เนื่องจากความนิยมในการรับประทานสะตอขยายวงกว้างมากขึ้น ทำให้พืชสะตอกลายเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่งของภาคใต้ที่มีเอกลักษณ์และได้รับความนิยมแพร่หลายไปทั่วประเทศ แนวความคิดในการนำเปลือกสะตอที่เหลือจากการบริโภคมาสกัดเพื่อนำสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้ไปพัฒนาใช้เป็นวัตถุดิบธรรมชาติในการผลิตเวชสำอางที่มีคุณประโยชน์ในการรักษาสิวอักเสบหรือช่วยให้ผิวกระจ่างใสขึ้น จะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจในโมเดลใหม่ BCG ได้ในอนาคต ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาต่อยอดโดยการนำเปลือกสะตอที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมาศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว *C. acnes* รวมทั้งคุณสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยผู้วิจัยมีความคาดหวังว่าจะนำผลที่ได้จากการทดสอบของสารสกัดจากเปลือกสะตอใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นอันจะเป็นประโยชน์ในด้านการวิจัยผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากธรรมชาติต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเปลือกสะตอที่มีการแกะเมล็ดออกแล้วจากตลาดในจังหวัดยะลาตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ. 2565 จำนวน 100 ตัวอย่าง ทำการแยกความแตกต่างระหว่างสะตอและพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกันโดยอาศัยความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลักษณะฝักและขนาดของฝักสะตอ ก่อนนำไปล้างให้สะอาดเพื่อเตรียมการอบทันทีโดยไม่มีการเก็บเปลือกสะตอทิ้งไว้ข้ามคืน

รูป 1 ตัวอย่างเปลือกสะตอที่ได้มาจากตลาดสดในจังหวัดยะลา

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกสะตอ

นำตัวอย่างเปลือกสะตอสดล้างให้สะอาดและนำมาอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน หรือจนกว่าแห้งสนิท บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำส่วนที่บดละเอียดมา 500 กรัม นำตัวอย่างมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 5000 มิลลิลิตร โดยวิธีการหมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ทำการเขย่าทุกวัน เช้า-เย็น หลังจากนั้นกรองสารละลายตัวอย่างด้วยกรวยแก้วและกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จนหนืดแห้ง เก็บสารสกัดหยาบที่ได้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทำการทดสอบในลำดับต่อไป

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Corynebacterium acnes* DMST14916

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Fluid Thioglycollate Medium (THCK) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 35 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. เมื่อครบเวลานำมาปรับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย ทดสอบความขุ่นให้เทียบเท่าสารละลาย McFarland No. 0.5 (1-2x10^8 CFU/ml) ก่อนนำไปทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อในขั้นต่อไป [5,6]

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อสิว *C. acnes* DMST14916

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 ด้วยวิธี agar diffusion โดยเตรียมจานอาหารทดสอบ BA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร วางไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง ป้ายเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยใช้ loop ลงในจานอาหารทดสอบ BA เจาะเนื้อวุ้นอาหารทดสอบ BA ให้เกิดเป็นรูตรงกลางและเติมตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกสะตอความเข้มข้น 0.8 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร/หลุม โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบและเชิงบวกที่ใช้ Clindamycin ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร/หลุม และอาหารทดสอบ BA บ่มเพาะจานอาหาร ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 35 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. แล้วนำมาตรวจสอบและบันทึกผลทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 โดยวัดขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ [5,6]

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยวิธี Enzymatic assay [7]โดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.0010, 0.010, 0.1000 และ 1.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดจากเปลือกสะตอในแต่ละความเข้มข้นไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสตามตาราง 1 ชุดควบคุมใช้ phosphate buffer แทนสารสกัดจากเปลือกสะตอ และใช้กรดโคจิก (kojic acid) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ จากนั้นนำ 96-well plate เข้าเครื่อง Incubator shaker เพื่อให้สารทดสอบทำปฏิกิริยา บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซนต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (% inhibition) ดังสมการ (1)

$$\% \ Inhibition = \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \ x \ 100 \qquad (1)$$

เมื่อ A คือ 100% ปฏิกิริยาเอนไซม์ไทโรซิเนส

B คือ Background ของ 100% ปฏิกิริยาเอนไซม์ไทโรซิเนส

C คือ ปฏิกิริยาของสารมาตรฐาน

D คือ Background ของปฏิกิริยาสารมาตรฐาน

ตาราง 1 สารที่ใช้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

สารที่ใช้ทดสอบ (ไมโครลิตร)	Phosphate buffer	Kojic acid	สารตัวอย่าง	Tyrosinase	L-Dopa
100% Tyrosinase	70	-	-	30	110
Background ของ Tyrosinase	100	-	-	-	110
สารมาตรฐาน	-	10	-	30	110
Background ของสารมาตรฐาน	30	10	-	-	110
สารสกัดตัวอย่าง	-	-	10	-	110
Background ของสารตัวอย่าง	30	-	10	-	110

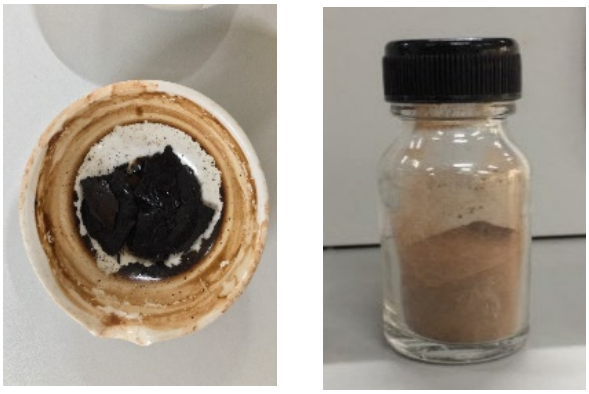
การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาทดสอบค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (Duncan Multiple Range Test) และแสดงผลการทดลองที่ได้เป็นค่าเฉลี่ย (mean) ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error of mean)

ผลการศึกษา

ผลการสกัดสารจากเปลือกสะตอ

ผลการสกัดเปลือกสะตอโดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบของเปลือกสะตอมีสีน้ำตาลและมีน้ำหนักเท่ากับ 50.528 กรัม เมื่อนำน้ำหนักหลังการสกัด มาหาร้อยละของสารสกัดหยาบเปลือกสะตอ (% yield) พบว่าสารสกัดที่ได้มีน้ำหนักคิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งเท่ากับ 10.11



รูป 2 สารสกัดหยาบจากเปลือกสะตอที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

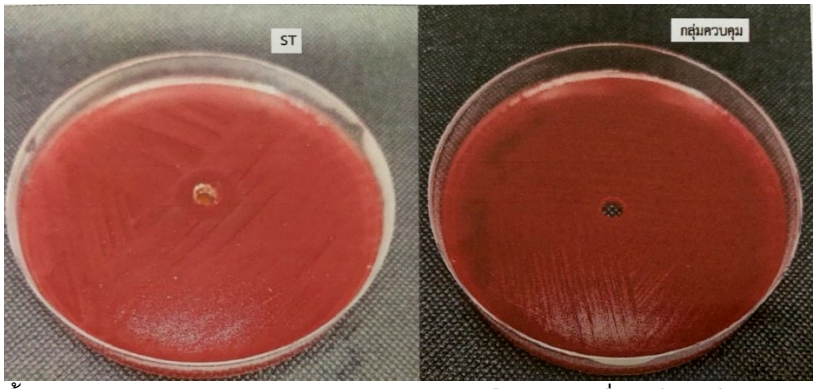
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 0.8 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร/หลุม ด้วยวิธี agar diffusion โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบและกลุ่มควบคุมเชิงบวก พบว่าการสร้างโซนใสต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *C. acnes* DMST14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 8.66 ± 0.17 มิลลิเมตร ในขณะที่ Clindamycin ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวกมีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 30.04 ± 0.40 มิลลิเมตร (ตาราง 2 และรูป 3-4)

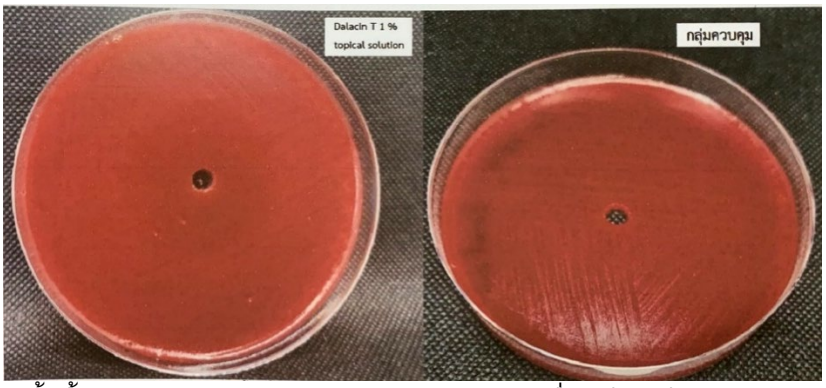
ตาราง 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* DMST14916 ที่ทดสอบด้วยวิธี agar diffusion

ตัวอย่างทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส* (มิลลิเมตร)
กลุ่มควบคุมเชิงลบ	0.00 ± 0.00
สารสกัดจากเปลือกสะตอ	8.66 ± 0.17
กลุ่มควบคุมเชิงบวก (Clindamycin)	30.04 ± 0.40

*ค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อน



รูป 3 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes* DMST14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มความคุมเชิงลบ



รูป 4 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes* DMST14916 ของ Clindamycin เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มความคุมเชิงลบ

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซมีไทโรซิเนส ด้วยวิธี Enzymatic assay โดยใช้กรดโคจิกเป็นสารมาตรฐาน (กลุ่มควบคุมเชิงบวก) พบว่าตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.0010, 0.0100, 0.1000 และ 1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นมีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับร้อยละ 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 และ 88.234 ± 0.003 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 83.887 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงมากเมื่อเทียบกับสารควบคุมเชิงบวกที่ความเข้มข้น 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรถึง 1000 เท่า (ตาราง 3)

ตาราง 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

สารทดสอบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (%)
Kojic acid	1.42	83.887 ± 0.001
สารสกัดจากเปลือกสะตอ	0.0001	89.983 ± 0.010
	0.0010	88.916 ± 0.003
	0.0100	87.858 ± 0.001
	0.1000	86.323 ± 0.002
	1.0000	88.234 ± 0.003

วิจารณ์

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Corynebacterium acnes* DMST14916 ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสะตอที่สกัดโดยใช้วิธีการหมักด้วยเอทานอล ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกสะตอสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อสิว *C. acnes* DMST14916 ที่เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดสิวได้ดี ถึงแม้จะมีประสิทธิภาพด้อยกว่า Clindamycin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวกที่ใช้ในการทดสอบนี้ แต่ผลการทดสอบก็สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าหลายฉบับเกี่ยวกับสารสำคัญในเปลือกสะตอและเมล็ดสะตอที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Bacillus cereus, Literia monocytogenes, Stpahylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Vibrio choloerae* [2] รวมถึงรายงานฤทธิ์ในการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus, S. aureus, E. coli, Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากฝักสะตอที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซีเตต เอทานอล เมทานอลและน้ำที่และสารสกัดจากเมล็ดสะตอที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเฮกเซนและเอทานอล [8] ไม่เพียงแค่สารสกัดจากฝักหรือเมล็ดของสะตอเท่านั้น ยังมีรายงานว่าอนุภาคเงินนาโน PAgNPs ที่ถูกสังเคราะห์ด้วยกระบวนการโฟโตแคตาไลติกในสารสกัดจากใบสะตอสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli, S. aureus, P. aeruginosa and B. subtilis* ได้อย่างมีนัยสำคัญ [9] มีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากฝักสะตอซึ่งประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญได้แก่กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) กรดพี-คูมาริก (p-coumaric acid) และกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) [10] สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกสะตอด้วยวิธี เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิกนั้น พบว่าสารสกัดจากเปลือกสะตอสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้อย่างมีนัยสำคัญ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่สูงกว่ากรดโคจิก ถึง 1000 เท่า ผลการทดสอบนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกฝักของสะตอที่สกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยมีเปอร์เซนต์ยับยั้งเท่ากับ 66.22 ± 1.29% น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการควบคุมเชิงบวกของกรดโคจิก (83.46 ± 0.35%) แต่กลับมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงกว่าอาร์บูตินที่ความเข้มข้นเดียวกัน (23.35 ± 0.95%) [11] อย่างไรก็ตามกลับแตกต่างจากงานวิจัยที่ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเยื่อหุ้มสะตอที่สกัดใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายเปรียบเทียบกับกรดโคจิก ผลพบว่าสารสกัดหยาบของเยื่อหุ้มสะตอความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 50.35% อยู่ในระดับที่ต่ำกว่ากรดโคจิกที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญ [12] จากรายงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสะตอที่ถูกสกัดด้วยเอทานอลนั้นมีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อสิว และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ทว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งอาจขึ้นอยู่กับสัดส่วนขององค์ประกอบภายในสารสกัดที่ถูกสกัดออกมาที่อาจแปรเปลี่ยนไปตามชนิด พื้นที่

ปลูก ตัวทำละลายหรือสภาวะที่ใช้ในการสกัดซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนส่งผลให้องค์ประกอบเคมีที่ได้มีฤทธิ์แตกต่างกัน ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในสารสกัดจากเปลือกสะตอเพิ่มเติมเพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดในการสกัดสารสำคัญจากเปลือกสะตอเพื่อเป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์เวชสำอางต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลาที่สนับสนุนทุนงบประมาณเงินรายได้ประจำปี 2565 และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตรและศูนย์การเรียนรู้แม่ลานที่อนุเคราะห์สถานที่สำหรับการปฏิบัติการในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] Samuel, AJ., Kalusalingam, A., Chellappan, DK., Gopinath, RRS., Husain, HA., Murunganandham, V., Promwichit, P. Ethnomedical survey of plants used by the Orang Asli in Kampung Bawong, Perak, West Malaysia. J. Ethnobiol Ethnomed. 2010; 6:5.

[2] Wonghirundecha S, Benjakul S, Sumpavapol P. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of stink bean (*Parkia speciosa* Hassk.) pod extracts. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2014;36(3):300-308.

[3] Hasim H, Faridah DN, Kurniawati, DA. Antibacteria activity of *Parkia speciose Hassk*. Peel to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. J. Chem. Pharm. Res. 2015;7(4):239-243.

[4] Taofiq O, Gonzalez-Paramas AM, Barreiro MF, Ferreira IC. Hydroxycinnamic acids and their derivatives: cosmeceutical significance, challenges and future perspectives, a review. Mol. 2017;22(2):281 22 (2017): 281.

[5] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M2-A9 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Guideline. 9th Ed. USA: Wayne, Pa; 2006.

[6] Sutter VL, Citron DM, Finegold SM, Wadsworth. Susceptibility testing of anaerobes In: Sutter, VL editor. Anaerobic bacteriology Manual., 3rded, U.S.A. :The C.V. MosbyCo; 1980. p. 67-77.

[7] Muddathir AM, Yamauchi K, Batubara I, Mohieldin EAM, Mitsunaga T, Anti-tyrosinase, total phenolic content and antioxidant activity of selected Sudanese medicinal plants. S. Afr. J. Bot., 2017;109:9-15.

[8] Chan SM, Fong VY, Koo SY, Singh TKR, Tang ELH, Thoo LT, et al. Antibacterial activity of selected medicinal plants from Malaysia. Asia-Pac. J. Sci. Technol. 2021;27(1):APST-27.

[9] Ravichandran V, Vasanthi S, Shalini S, Shah SAA, Tripathy M, Paliwal N. Green synthesis, characterization, antibacterial, antioxidant and photocatalytic activity of *Parkia speciosa* leaves extract mediated silver nanoparticles. Phys. 2019;15:102565.

[10] Adisakwattana S. Cinnamic acid and its derivatives: Mechanisms for preventive and management of diabetes and its complication. Nutr. J. 2017;9:163.

[11] Ketprayoon T, Chaicharoenpong C. Tyrosinase inhibitory activity of some edible plants. Proceeding of the 6th International conference on Biochemistry and Molecular biology (BMB2018);2018 Jun 20-22;Rayong, Thailand.

[12] Ramli S, Harada K, Ruangrungsi N. Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxicity Activities of *Acacia farnesiana* (L.) Leaves Ethanolic Extract. Pharmacogn. J. 2011;3(23):50-58.