

แผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรเพื่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อสิว

บุญศรี จงเสรีจิตต์¹ เกศริน สุวรรณรัตน์¹ พานิชา หมูศิริ¹ สุรศักดิ์ อยู่ยงสะถิต²

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

²ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

Received: November 24, 2024

Revised: June 18, 2025

Accepted: June 25, 2025

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มุ่งเน้นการใช้สารสกัดสมุนไพรเป็นทางเลือกในการรักษาสิวเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะที่อาจนำไปสู่การดื้อยา โดยศึกษาศักยภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด และนำไปพัฒนาเป็นแผ่นแปะรักษาสิวจากวุ้นน้ำมะพร้าวผสมสารสกัดสมุนไพร พร้อมทั้งเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อสิวกับแผ่นแปะรักษาสิทางานการค้า ผ่านวิธี disc diffusion และ dilution method ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดในตัวทำละลายเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้งสามชนิด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส 21.33 ± 1.15 , 18.00 ± 3.46 และ 14.67 ± 1.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดเปลือกมังคุดในตัวทำละลาย DMSO และสารสกัดจากมะหาดในตัวทำละลายทั้งเอทานอล และ DMSO ให้ผลการยับยั้งในระดับที่น้อยลง ขณะที่สารสกัดจากขมิ้น และทานาคาให้ผลการยับยั้งที่ต่ำมาก และไม่พบการยับยั้งจากสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น สำหรับค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibitory concentration, MIC) พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดในตัวทำละลายน้ำกลั่นสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ค่าความเข้มข้น 3.6×10^{-7} , 3.6×10^{-7} และ 3.6×10^{-9} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) ตามลำดับ ส่วนในตัวทำละลายเอทานอลมีค่าการยับยั้งที่ความเข้มข้น คือ 3.6×10^{-9} , 3.6×10^{-8} และ 3.6×10^{-8} mg/ml ตามลำดับ สารสกัดจากมะหาดก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน แต่ต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่า นอกจากนี้ สารสกัดจากขมิ้น และทานาคาด้วยน้ำกลั่นไม่สามารถตรวจหาค่า MIC ได้ เมื่อทดลองเสริมสารสกัดจากเปลือกมังคุด และมะหาดในแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าว พบว่าได้ผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ดีกว่าแผ่นแปะรักษาสิทางานการค้าที่นำมาทดสอบ ซึ่งไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบ ดังนั้น แผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวผสมสารสกัดสมุนไพรเปลือกมังคุด และมะหาดอาจมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวในอนาคต

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพร; แบคทีเรียก่อโรคสิว; แผ่นแปะรักษาสิว; แผ่นแปะวุ้นน้ำมะพร้าว

ผู้สนับสนุนงาน:

สุรศักดิ์ อยู่ยงสะถิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

114 ซอยสุขุมวิท 23 แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

อีเมล: surasaky@g.swu.ac.th

Nata de coco patches supplemented with herbal extracts for the inhibition of acne-inducing bacteria

Boonsri Jongsareejit¹, Kedsarin Suwannarat¹, Panicha Moosiri¹, Surasak Yooyongsatit²

¹Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University

²Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

Abstract

This study examines herbal extracts as an alternative acne treatment to reduce antibiotic use, which may contribute to drug resistance, by evaluating their efficacy in inhibiting acne-related bacteria, including *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Cutibacterium* spp. To determine the most effective extracts and develop them into acne patches that are composed of Nata de coco combined with herbal extracts and compare the efficacy of the most effective extracts in inhibiting acne-causing microbes with commercial acne patches by disc diffusion and dilution methods. The result demonstrated that the mangosteen pericarp extract in ethanol solvent exhibited the greatest effectiveness in suppressing the growth of all three bacterial strains, with inhibition zone diameters measuring 21.33 ± 1.15 , 18.00 ± 3.46 , and 14.67 ± 1.15 millimeters, respectively. Lower inhibition levels were seen in the mangosteen pericarp extract in DMSO and the lakoocha extract in both ethanol and DMSO. On the other hand, the extracts of turmeric and tanaka showed minimal inhibition, while the extracts using distilled water as a solvent showed no inhibition. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the mangosteen pericarp extract in distilled water was determined to be 3.6×10^{-7} , 3.6×10^{-7} , and 3.6×10^{-9} milligrams per milliliter (mg/ml), respectively, for bacterial inhibition. The inhibitory concentrations in the ethanol solvent were 3.6×10^{-9} , 3.6×10^{-8} , and 3.6×10^{-8} mg/ml, respectively. The lakoocha extract exhibited comparable benefits but necessitated greater doses. Furthermore, the turmeric and tanaka extracts combined with distilled water failed to demonstrate the minimum inhibitory concentration (MIC). The experimental results demonstrated that the anti-acne patches developed from Nata de coco incorporated with mangosteen pericarp and lakoocha extracts exhibited superior antibacterial activity against all three tested bacterial strains compared to the commercial anti-acne patches, which showed no inhibitory effect. These findings suggest that the anti-acne patches made with Nata de coco and herbal extracts from mangosteen pericarp and lakoocha could be developed further as a strong acne treatment.

Keywords: herbal extract; acne inducing bacteria; anti-acne patch; Nata de coco sheet

Corresponding Author:

Surasak Yooyongsatit

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

114 Sukhumvit 23 Lane, Khlong Tan Nuea Sub-district, Wattana District, Bangkok 10110, Thailand

E-mail: surasaky@g.swu.ac.th

บทนำ

ในปัจจุบันสามารถพบปัญหาผิวได้ทั้งเพศหญิงและเพศชาย เมื่อเข้าสู่วัยรุ่นปัญหาผิวที่พบ มักเริ่มต้นจากการอุดตันของสิวจนถึงสิวอักเสบ โดยพบสิวดังกล่าวในบริเวณที่มีต่อมไขมันมาก เช่น ใบหน้า หน้าอก และบริเวณหลัง ปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการเกิดสิวมียังปัจจัยภายใน คือ เพศ ช่วงอายุ กรรมพันธุ์หรือฮอร์โมน และปัจจัยภายนอก คือ การใช้ยา เครื่องสำอาง อาหาร แสงแดด อุณหภูมิ และสภาพแวดล้อม แบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) มีบทบาทสำคัญต่อภาวะสมดุลของจุลชีพผิวหนัง แบคทีเรียชนิดนี้มีบทบาทสำคัญในการสลายไขมันในต่อมไขมันโดยการผลิตเอนไซม์ และกรดไขมัน ซึ่งเชื้อนี้มีกลไกที่ทำให้เกิดสิวโดยการหลั่งเอนไซม์ต่างๆ เช่น lipase, phosphatase และ protease รวมถึงสารที่ไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งสารเหล่านี้จะก่อให้เกิดการระคายเคือง มีการกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวมารวมกันมากขึ้น และเกิดการอักเสบตามมา¹⁻² อย่างไรก็ตาม เมื่อจำนวนของแบคทีเรีย *Cutibacterium* spp. สายพันธุ์ก่อโรคเพิ่มขึ้น เป็นจุดเริ่มต้นของการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบที่ต่อมไขมันและรูขุมขนเป็นสาเหตุของการเกิดสิว³ จุลินทรีย์ที่มักพบร่วมด้วยกับเชื้อก่อโรคสิว คือ แบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเซลล์รูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงอุ้งสมาชิกในกลุ่มนี้ เช่น *S. aureus* และ *S. epidermidis* เป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ตามรูขุมขน และบนผิวหนัง ที่สามารถฉวยโอกาสเล็ดลอดเข้าสู่ภายในชั้นผิวหนังที่อักเสบจากเชื้อก่อโรคสิว แล้วก่อโรคผิวหนังได้ ดังนั้น การมีเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ร่วมด้วยอาจเพิ่มโอกาสการเกิดสิวหนอง⁴ โดยเฉพาะ *S. aureus* ที่มีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อก่อโรคได้สูงสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อ และการอักเสบที่รุนแรงและอันตรายกว่า *S. epidermidis* ที่มักไม่ก่อโรค โดยเป็นแบคทีเรียปกติของผิวหนังมีบทบาทช่วยป้องกันเชื้อก่อโรค และควบคุมสมดุลของเชื้อแบคทีเรีย

ในระบบนิเวศของผิว หรืออาจมีบทบาทช่วยป้องกัน *C. acnes* ได้ด้วย⁵⁻⁹ ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อที่พบประจำถิ่นบนผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ข้างต้นจะเป็นไปอย่างมีสมดุล โดยที่เชื้อ *S. epidermidis* จะควบคุมไม่ให้ *C. acnes* มีมากจนเกินไป จนความสมดุลภายในชุมชนของ *Cutibacterium* spp. เองเสียไป ทำให้มีสายพันธุ์ที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ตอบสนองให้เกิดการอักเสบได้มีเพิ่มมากขึ้น และในขณะเดียวกัน เมื่อ *C. acnes* มีปริมาณน้อยๆ จะร่วมกับ *S. epidermidis* ในการควบคุม *S. aureus* และเชื้อก่อโรคอื่นๆ เช่น แบคทีเรียก่อโรคฝีหนอง (*Streptococcus pyogenes*) หรือ เชื้อรา หรือ ยีสต์ ไม่ให้ก่อโรคผิวหนังเกิดขึ้น¹⁰ ในทางกลับกัน *C. acnes* เองก็มีบทบาทควบคุมไม่ให้ *S. epidermidis* มีการสร้างฟิล์มชีวภาพ (biofilm) ซึ่งอาจเป็นสิ่งสนับสนุนเพิ่มคุณสมบัติด้านการเป็นเชื้อก่อโรคขึ้น¹¹ สำหรับการรักษาสิวสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น ยาทาภายนอกที่เป็นสารกลุ่ม retinoids ที่ลดการอักเสบผ่านการควบคุมการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (innate immunity) ที่ถูกกระตุ้นโดย *C. acnes* หรือโดยการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ซึ่งมีทั้งข้อดีจากการลดปริมาณเชื้อได้รวดเร็ว และข้อเสียที่อาจเกิดจากผลข้างเคียงของการใช้ยาปฏิชีวนะเหล่านั้นได้ เช่น Clindamycin เป็นยาแต้มสิวที่ใช้กันบ่อยที่สุด หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดการดื้อยาได้ อีกทั้งทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติของผิวหนังเสียไป เชื้อฉวยโอกาสก่อโรคได้มากขึ้น ทำให้การรักษายาก และนานขึ้น^{10,12} เพื่อเป็นทางเลือกในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะ สำหรับโรคที่ไม่ได้มีอันตรายถึงชีวิต แต่มีผลกระทบต่อจิตใจ ความมั่นใจ หรือบุคลิกภาพ สำหรับวัยรุ่น และผู้ใหญ่ตอนต้น อย่างโรคสิว เป็นต้น สารสกัดสมุนไพรก็เป็นอีกทางเลือกที่ดียั้งทางหนึ่ง ที่จะสามารถนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ในการป้องกัน และรักษาโรคได้

โดยสมุนไพรที่น่าสนใจนำมาศึกษา เป็นสมุนไพรที่พบทั่วไปในท้องถิ่น และปกติมักถูกใช้เป็นเครื่องสำอาง หรือเครื่องประพินผิวตั้งแต่อดีตจนถึง

ปัจจุบันอยู่แล้ว ได้แก่ ขมิ้น (turmeric) ซึ่งเป็นสมุนไพรที่พบทั่วไปในบริเวณแถบเขตร้อนของเอเชีย ใช้เป็นเครื่องสำอาง สารแต่งสี และในทางแพทย์แผนไทย ขมิ้นมีสรรพคุณรักษาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ อาหารไม่ย่อย แก้อาการผื่นคัน และสมานแผล¹³ ส่วนทานาคา (tanaka) มีสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบออร์กาโนฟอสฟอรัส (organophosphorus compounds: OPC) กับ Curcuminoid ด้านความเสื่อมของเซลล์ และยังช่วยป้องกันการเกิดสิว รวมถึงช่วยลดผื่นคัน¹⁴ สำหรับเปลือกมังคุด (mangosteen pericarp) มีคุณสมบัติทางชีวภาพ และทางการแพทย์ที่หลากหลาย เช่น ใช้เป็นยารักษาโรคบิด โรคท้องร่วง บาดแผลติดเชื้อที่ผิวหนัง หรือโรคผิวหนังต่างๆ¹⁵ และมะหาด (lakoocha) มีคุณสมบัติในการลดเม็ดสีเมลานินในเซลล์ ไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิว ช่วยลดเลือนริ้วรอย ช่วยให้ผิวหนังขาวกระจ่างใส เพิ่มความยืดหยุ่น¹⁶ ดังนั้น การนำสมุนไพรไทยเหล่านี้มาศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาสิวเป็นอีกทางเลือกในการรักษาสิวที่ปลอดภัย มีรายงานสนับสนุนว่าสมุนไพรเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ และใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์รักษาสิว เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวได้อย่างมีประสิทธิภาพ¹⁷⁻²² จากการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับการพัฒนาแผ่นไฮโดรเจลสำหรับรักษาสิว ซึ่งผลิตจากโลคัสบินกัม (locust bean gum) และคาร์ราจีแนน (carrageenan) ผสมกับสารสกัดจากมังคุด พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสิวหลัก ได้แก่ *C. acnes*, *S. epidermidis*, และ *S. aureus* อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม จากการทดสอบทางคลินิก ระยะที่ 1 (phase I clinical study) เกี่ยวกับการระคายเคือง และอาการแพ้ที่ผิวหนังของอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่า 2 ใน 30 คน มีการเกิดผื่นผิวหนังอักเสบจากการแพ้สัมผัส (delayed allergic contact dermatitis) อันเนื่องมาจากแผ่นไฮโดรเจลผสมสารสกัดจากมังคุดนี้ นอกจากนี้ กระบวนการผลิตแผ่นไฮโดรเจล

ดังกล่าวยังมีขั้นตอนที่ซับซ้อน ใช้อุปกรณ์และสารเคมี ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตที่มีราคาสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตแผ่นเจลที่ใช้วัสดุจากธรรมชาติ¹⁷ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเพื่อพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวที่ผลิตจากไบโอเซลลูโลสธรรมชาติ โดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้จากแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* var. *xylinum* ซึ่งมีต้นทุนวัตถุดิบต่ำกว่า เพื่อลดต้นทุนการผลิตและลดความเสี่ยงจากการระคายเคืองจากสารเคมีสังเคราะห์ ทั้งนี้ยังมีการผสมสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ โดยทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิวทั้งสามชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, และ *Cutibacterium* spp.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถของสารสกัดจากสมุนไพร ได้แก่ ขมิ้นชัน ทานาคา เปลือกมังคุด และมะหาด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว และคัดเลือกสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อนำไปพัฒนาต่อเป็นแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรเพื่อการยับยั้งเชื้อก่อสิว และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อสิวะระหว่างแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวที่ผสมสารสกัดสมุนไพรชนิดต่างๆ กับแผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบ

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) โดยดำเนินการภายใต้ภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพร ได้แก่ ขมิ้นชัน ทานาคา เปลือกมังคุด และมะหาด ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว โดยไม่มีการทดลองในมนุษย์ในขั้นตอนการศึกษา

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อลิว ด้วยวิธี paper disc diffusion

นำสารสกัดสมุนไพร (สารสกัดสมุนไพรรูปแบบผงสำเร็จสำหรับเครื่องสำอาง ที่มีจำหน่ายทั่วไป) 4 ชนิด คือ ขมิ้น ทานาคา เปลือกมังคุด และมะหาด มาเตรียม ให้มีความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น 95% เอทานอล และ 100% Dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อใช้เป็นสารสกัดสมุนไพรสำหรับทดสอบ จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ คือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. โดยใช้ปลาย loop เชื้อเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบ ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับให้มีความเข้มข้น 0.5 McFarland ใช้ไม้พันสำลีที่ปลอดเชื้อแล้วจุ่มสารแขวนลอยเซลล์เชื้อแบคทีเรียที่มาตรฐานความขุ่น 0.5 McFarland ให้พอหมาด แล้วป้ายให้ทั่วพื้นผิวอาหารวุ้น (Mueller Hinton Agar) ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วจึงวางแผ่นกระดาษกรอง (paper disc) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ชุบไว้ด้วยสารสกัดสมุนไพรที่ต้องการทดสอบตามที่เตรียมไว้ข้างต้น หรือ ยาแอมพิซิลิน 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตัวควบคุมบวก) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองที่ได้จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อลิวของสารสกัดสมุนไพร (minimum inhibitory concentration, MIC)

นำสารสกัดสมุนไพรที่คัดเลือกได้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี paper disc diffusion มาทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคลิว

โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) ใส่ลงใน 96 well plate หลุมละ 50 ไมโครลิตร ใส่เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ คือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ลงไปหลุมละ 10 ไมโครลิตร และดูดสารสกัดในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล และ DMSO ซึ่งทำการเจือจางลำดับส่วน (serial dilution) เริ่มต้นจากความเข้มข้น 25, 2.5, 2.5×10^{-1} , 2.5×10^{-2} , 2.5×10^{-3} , 2.5×10^{-4} , 2.5×10^{-5} , 2.5×10^{-6} , 2.5×10^{-7} , 2.5×10^{-8} , 2.5×10^{-9} และ 2.5×10^{-10} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับใส่หลุมละ 10 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำออกมาทำการใส่ริซาซูริน (Resazurin) ที่ความเข้มข้น 0.018 w/v หลุมละ 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มต่อที่ 37 องศาเซลเซียส และบันทึกผลการทดลองที่ 0, 3 และ 24 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของริซาซูริน โดยสีม่วง คือ ความเข้มข้นสารที่ทดสอบสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ สีชมพู คือ ความเข้มข้นสารที่ทดสอบไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อลิวได้ของสารสกัดสมุนไพร (minimum bactericidal concentration, MBC)

นำผล MIC ที่ได้มาทำการทดลองโดยตรวจวิเคราะห์หาจุลินทรีย์ด้วยวิธี drop plate โดยทำการปิเปตตัวอย่างจาก 1) หลุมสุดท้ายที่มีสีม่วง ซึ่งคาดว่าจะไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียใน 96 well plate, 2) หลุมก่อนหน้าหลุมสุดท้ายที่มีสีม่วง และ 3) หลุมแรกที่มีสีชมพูซึ่งน่าจะมีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียมาหลุมละ 10 ไมโครลิตร ทำการ drop plate โดยหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) แล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นนำบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบันทึกผลการทดลองหาค่า MBC โดยบันทึกค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ คือ ไม่พบโคโลนีของเชื้อบนอาหาร

การทำแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวเพื่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อสิ่ว

เตรียมวุ้นน้ำมะพร้าวโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแก่ 1 ลิตร เติมน้ำตาลทรายขาว 50 กรัม นำไปต้มให้เดือดแล้วเติมน้ำส้มสายชูเข้มข้น (acetic acid) 10 มิลลิลิตร ปรับให้มีความเป็นกรดต่างระหว่าง 4.0 - 5.0 เติมน้ำมันเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 กรัม ทั้งให้เย็น ใส่เชื้อหมักที่เตรียมไว้ในวุ้นน้ำมะพร้าวของเชื้อ *Acetobacter aceti* var *xylinum* ที่มาตรฐานความขุ่น 0.5 McFarland standards ลงไป 20% โดยปริมาตร ปิดฝาด้วยผ้าขาวบางแล้วปิดทับด้วยแผ่นไม้หรือกระจกอีกชั้นหนึ่งเพื่อป้องกันไม่ให้ฝุ่นละอองลงไป ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 สัปดาห์ จนได้แผ่นวุ้นที่มีความหนา 0.5 เซนติเมตร ให้ตัดเอาแผ่นวุ้นน้ำส้มออก ส่วนน้ำที่เหลือทิ้งไว้ก็จะมีแผ่นวุ้นเกิดใหม่เรื่อยๆ นำวุ้นที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาดตัดเป็นชิ้นให้ได้ขนาด 4x5 เซนติเมตร หนา 0.5 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของแผ่นวุ้นได้เท่ากับ 5 กรัม จากนั้นนำไปต้มให้เดือดนาน 10 นาที เพื่อให้ค่า pH ของวุ้นน้ำมะพร้าวที่เป็นกรดออกไป แล้วแช่น้ำทิ้งไว้ 1 วัน ทำการเปลี่ยนน้ำทุกๆ 1, 2, 3, 4, 5 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้ 16 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ค่า pH ที่เหมาะสมในการเตรียมแผ่นแปะรักษาสิ่วซึ่งใกล้เคียงกับ pH ของผิวหนังที่อยู่ในช่วง 5.0-6.0²³ พบว่า pH ที่วัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4.52 เป็น 5.31 คำนวณความชื้นเริ่มต้นได้ร้อยละ 68 อบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง ได้ขนาดของแผ่นแปะรักษาสิ่วคือ 4x5 เซนติเมตร หนาประมาณ 0.10-0.12 มิลลิเมตร มีน้ำหนักหลังอบแห้งเท่ากับ 1.625 กรัม วัดความชื้นได้ความชื้นหลังอบแห้งเหลือ ร้อยละ 38 นำมาตัดด้วย cock borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร นำไปนั่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิ่วด้วยวิธี disc diffusion โดยใช้แผ่นวุ้นน้ำมะพร้าว

นำแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่เตรียมได้มาทดสอบใช้เป็นแผ่นแปะรักษาสิ่วโดยหยดสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในตัวทำละลายเอทานอล เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion โดยใช้ไม้พินสำลีสอดเพื่อจุ่มสารแขวนลอยเซลล์เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมตามวิธีการที่กล่าวข้างต้น ให้พอหมาดแล้วทำการป้ายให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ให้แห้ง และทำการทดสอบวางแผ่นแปะรักษาสิ่วจากวุ้นน้ำมะพร้าวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร หยดสารสกัดสมุนไพรเปลือกมังคุด และมะหาด 10 ไมโครลิตรเปรียบเทียบกับแผ่นแปะรักษาสิ่วทางการค้าที่นำมาทดสอบ (Acne Pimple Patch) ที่มีส่วนผสมของ Tea Tree Extract โดยนำแผ่นแปะรักษาสิ่วทางการค้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตรวางลงบนจานอาหาร NA โดยมีเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ คือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. และมีชุดควบคุมบวก คือ ยาแอมพิซิลิน (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และชุดควบคุมลบคือ เอทานอล (10 ไมโครลิตร) จากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บันทึกผลการทดลองที่ได้จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยใช้สถิติในการวิเคราะห์ข้อมูลดังนี้ 1) สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ การหาค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เพื่อสรุปลักษณะทั่วไปของข้อมูล เช่น เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (inhibition zone) 2) สถิติเชิงอนุมาน ได้แก่ การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way ANOVA) เพื่อทดสอบสมมติฐานว่าสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมีผลหรือไม่ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อสิ่วที่ใช้ทดสอบ เชื้อแบคทีเรียก่อสิ่วที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิดให้ผลการทดสอบที่แตกต่างหรือไม่ และมีปฏิสัมพันธ์ (interaction effect) ระหว่างชนิดของสารสกัด และชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อสิ่วที่ใช้ทดสอบต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อสิ่วที่ใช้ทดสอบหรือไม่ ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 3) การวิเคราะห์ความแตกต่างเปรียบเทียบรายคู่ด้วยวิธี Tukey's HSD (post-hoc test)

ผลการศึกษา

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อลิวด้วยวิธี paper disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยสารสกัดสมุนไพร ปริมาณ 250 ไมโครกรัม บนแผ่นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ของสมุนไพร 4 ชนิด คือ ขมิ้น, ทานาคา, เปลือกมังคุด และมะหาด ต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้ผลว่าสารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำกลั่น ไม่พบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้น โดยไม่มีบริเวณใสที่พื้นขอบแผ่นกระดาษกรอง แต่สารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วย DMSO และเอทานอล พบบริเวณใสที่เป็นการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียจากสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส ที่เกิดจากสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ในตัวทำละลาย DMSO หรือเอทานอล ต่อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. โดยพบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดในตัวทำละลายทั้งสองชนิด ให้เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสกว้างที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 (Table 1 and 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรสำเร็จรูปจากเปลือกมังคุดมีสารออกฤทธิ์ที่ละลาย และแพร่ออกไปยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด ทั้งนี้การเกิดบริเวณใสเป็นการแสดงให้เห็นถึงเซลล์แบคทีเรียที่ถูกป้ายไว้ในบริเวณนั้นไม่สามารถเติบโตเพิ่มจำนวน ทับถมกันจนมองเห็นเป็นบริเวณขาวขุ่นที่มีการเจริญของเซลล์แบคทีเรียได้เหมือนกับบริเวณอื่นบนผิวหนัง เลี้ยงเชื้อที่ป้ายด้วยเซลล์แบคทีเรียปริมาณเท่ากัน เป็นการบ่งบอกว่ามีการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียขึ้น

ในบริเวณใสนั้นด้วยสารที่แพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรอง จากผลการวิเคราะห์พบว่า สารสกัดเปลือกมังคุด แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างเด่นชัด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสสูงสุดในทั้งสามชนิดของเชื้อ ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานว่าสารออกฤทธิ์ในเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ต้านจุลชีพสูง มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารสกัดทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคสิว หากมีการสกัด และเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดที่สำคัญในปริมาณที่เหมาะสมต่อไป

นอกจากนั้น การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way ANOVA) ของสารสกัดสมุนไพร ในตัวทำละลาย DMSO พบว่า ทั้งชนิดของสารสกัดสมุนไพร ($F = 19.057, p < 0.001$) และชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ($F = 6.685, p = 0.005$) มีผลต่อขนาดบริเวณยับยั้งเชื้อ (เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัยอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านเชื้อของสารสกัดขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียที่ทดสอบ สำหรับผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทางของสารสกัดสมุนไพรในตัวทำละลายเอทานอล พบว่าทั้งชนิดของสารสกัดสมุนไพร ($F = 47.636, p < 0.001$) และชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ($F = 20.691, p < 0.001$) มีผลต่อขนาดบริเวณยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย เมื่อทำการวิเคราะห์รายคู่ด้วย Tukey's HSD ภายในแต่ละสารสกัดทั้งในตัวทำละลาย DMSO และเอทานอล พบความแตกต่างของฤทธิ์ต้านเชื้อในแต่ละสายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 (Table 1 and 2)

Table 1 Antimicrobial activity of four herbal extracts by DMSO against three acne-inducing bacteria using disc diffusion method

Herbal extracts	Diameters of inhibition zone (mean $\pm$ SD) (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Cutibacterium</i> spp.
Turmeric	12.67 $\pm$ 1.15 ^a	11.33 $\pm$ 1.15 ^b	12.00 $\pm$ 0.00 ^a
Tanaka	12.00 $\pm$ 2.00 ^a	11.33 $\pm$ 1.15 ^a	14.67 $\pm$ 2.31 ^b
Mangosteen pericarp	19.33 $\pm$ 3.06 ^a	16.67 $\pm$ 1.15 ^a	15.33 $\pm$ 1.15 ^b
Lakoocha	17.33 $\pm$ 1.15 ^a	14.67 $\pm$ 1.15 ^b	10.67 $\pm$ 1.15 ^c
DMSO (negative control)	NCZ	NCZ	NCZ
Ampicillin (positive control)	27.67 $\pm$ 0.57	27.33 $\pm$ 0.57	27.50 $\pm$ 0.50

Note: - Values are mean $\pm$ standard deviation (n = 3). NCZ = No inhibition zone.
- Different superscript letters (a, b, c) within the same row indicate significant differences among bacterial strains for each herbal extract (Tukey's HSD, $p < 0.05$).

Table 2 Antimicrobial activity of four herbal extracts by ethanol against three acne-inducing bacteria using disc diffusion method

Herbal extracts	Diameters of inhibition zone (mean $\pm$ SD) (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Cutibacterium</i> spp.
Turmeric	12.67 $\pm$ 1.15 ^a	13.33 $\pm$ 1.15 ^a	8.67 $\pm$ 1.15 ^b
Tanaka	10.67 $\pm$ 1.15 ^a	10.67 $\pm$ 1.15 ^a	9.33 $\pm$ 1.15 ^a
Mangosteen pericarp	21.33 $\pm$ 1.15 ^a	18.00 $\pm$ 3.46 ^a	14.67 $\pm$ 1.15 ^b
Lakoocha	13.33 $\pm$ 1.15 ^a	13.33 $\pm$ 1.15 ^a	10.67 $\pm$ 1.15 ^b
Ethanol (negative control)	NCZ	NCZ	NCZ
Ampicillin (positive control)	25.67 $\pm$ 0.57	26.33 $\pm$ 0.57	25.67 $\pm$ 0.57

Note: - Values are mean $\pm$ standard deviation (n = 3). NCZ = No inhibition zone.
- Different superscript letters (a, b) within the same row indicate significant differences among bacterial strains for each herbal extract (Tukey's HSD, $p < 0.05$).

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (minimum inhibitory concentration, MIC)

ในการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดทั้ง 4 ชนิด คือ ขมิ้น ทานาคา เปลือกมังคุด และมะหาดด้วยตัวทำละลาย น้ำกลั่น และเอทานอล สารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ที่สอดคล้องกับผลการทดสอบ

ด้วยวิธี disc diffusion ของสมุนไพรทั้งสองชนิด ทั้งใน DMSO และเอทานอล และพบว่าสารสกัดสมุนไพรในน้ำกลั่น โดยสารสกัดขมิ้น และทานาคา ไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

ในการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ

แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด โดยพบว่าในตัวทำลายเอทานอลมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่ำกว่าในตัวทำลายน้ำกลั่น ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 (Table 3 and 4) อาจแสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยตัวทำลายที่มีขั้วน้อยลง สามารถให้สารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวออกมาได้มากขึ้น

เนื่องจากผู้วิจัยต้องการมุ่งเน้นสารสกัดสมุนไพรสำเร็จรูปด้วยตัวทำลายน้ำกลั่นเป็นหลักเพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์แผ่นแปะรักษาสิวที่เหมาะสมสำหรับผิวหนังต่อไป ทางผู้วิจัยจึงได้นำสารสกัดสมุนไพรสำเร็จรูปด้วยตัวทำลายน้ำกลั่นมาใช้และพบว่าด้วยปริมาณที่เท่ากับที่ใช้ในการทดลอง disc diffusion (250 ไมโครกรัม) เมื่อทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียได้นั้น พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดและมะหาดด้วยตัวทำลายน้ำกลั่น แสดงผลการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวได้ โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสารสกัดจากมะหาด ประมาณ 10^3 ถึง 10^5 เท่า

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อสิวได้ของสารสกัดสมุนไพร (minimum bactericidal concentration, MBC)

จากผลการทดลองความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ผู้วิจัยได้ศึกษาต่อเนื่องในการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเพื่อยืนยันผลการทดลองที่ตรวจไม่พบการเติบโตของแบคทีเรียว่าในความเข้มข้นนั้นๆ ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ขมิ้น ทานาคา เปลือกมังคุด และมะหาด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโต หรือมีฤทธิ์

ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และจะสามารถพบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ที่ความเข้มข้นระดับใด โดยการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ด้วยวิธี drop plate พบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดในตัวทำลายน้ำกลั่นไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เนื่องจากพบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อจากทุกความเข้มข้นที่พบการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย

เนื่องจากผลการทดลองในตัวทำลายน้ำกลั่นไม่เห็นผลการทดสอบที่ชัดเจน คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการเปลี่ยนตัวทำลายเป็นเอทานอล ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียทั้งสามชนิด มีฤทธิ์ในการฆ่า และเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุด (3.6×10^{-9} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ฆ่า *S. aureus* และ (3.6×10^{-8} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ฆ่า *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ในขณะที่มะหาดพบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าแบคทีเรียทั้งสามชนิดที่ใช้ในการทดสอบได้ที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งการเติบโต 10 เท่า หรือที่ 3.6×10^{-5} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 (Table 3 and 4) อ้างอิงจากผลความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ได้ดีที่สุด

จากการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC ในช่วง 3.6×10^{-8} - 3.6×10^{-9} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4 (Table 4) สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อสิวได้^{17,24-25}

Table 3 The results of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of four herbal extracts in distilled water after adding resazurin for 24 hours (milligrams per milliliter)

Herbal extract	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>Cutibacterium</i> spp.	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Mangosteen pericarp	3.6×10^{-7}	NB	3.6×10^{-7}	NB	3.6×10^{-9}	NB
Lakoocha	3.6×10^{-4}	NB	3.6×10^{-3}	NB	3.6×10^{-4}	NB
Turmeric	NI	ND	NI	ND	NI	ND
Tanaka	NI	ND	NI	ND	NI	ND
Ampicillin	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14

Note: NI indicates no inhibition, ND indicates no testing (not done), and NB indicates no bactericidal effect.

Table 4 The results of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of four herbal extracts in ethanol solvent after adding resazurin for 24 hours (milligrams per milliliter)

Herbal extract	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>Cutibacterium</i> spp.	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Mangosteen pericarp	3.6×10^{-9}	3.6×10^{-9}	3.6×10^{-8}	3.6×10^{-8}	3.6×10^{-8}	3.6×10^{-8}
Lakoocha	3.6×10^{-6}	3.6×10^{-5}	3.6×10^{-6}	3.6×10^{-5}	3.6×10^{-6}	3.6×10^{-5}
Turmeric	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tanaka	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ampicillin	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14

Note: ND indicates no testing (not done).

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวที่เสริมสารสกัดสมุนไพร

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่มีสารสกัดสมุนไพร 2 ชนิดคือ เปลือกมังคุด และมะหาด ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในตัวทำละลายเอทานอล พบค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ของทั้งสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาด ผลการทดลองที่ได้สารสกัดเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้มากที่สุด รองลงมาคือ *S. epidermidis*

และ *Cutibacterium* spp. ตามลำดับ ดังตารางที่ 5 (Table 5) และที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในตัวทำละลายเอทานอล พบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดมากกว่าที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับชุดควบคุมบวกยาแอมพิซิลินที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แทนสารสกัดสมุนไพร ดังตารางที่ 6 (Table 6) ดังนั้น สารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มากกว่าความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Table 5 Antibacterial activity of herbal-enhanced Nata de coco anti-acne patch: Inhibition zone diameter (Mean $\pm$ SD) at 12.5 milligrams per milliliter in ethanol solvent

Herbal extract	Diameter of inhibition zone (mean $\pm$ SD) (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Cutibacterium</i> spp.
Mangosteen pericarp	19.33 $\pm$ 1.15	18.67 $\pm$ 1.15	16.00 $\pm$ 2.00
Lakoocha	19.33 $\pm$ 1.15	16.67 $\pm$ 1.15	14.67 $\pm$ 1.15
Ethanol (negative control)	NI	NI	NI
Ampicillin (positive control)	35.33 $\pm$ 2.31	34.67 $\pm$ 1.15	34.67 $\pm$ 3.06

Note: The Nata de coco anti-acne patch had a diameter of 10 millimeters (mm), and NI exhibited no inhibition. The result was obtained after a total of 3 repetitions.

Table 6 Antibacterial activity of herbal-enhanced Nata de coco anti-acne patch: Inhibition zone diameter (Mean $\pm$ SD) at 25 milligrams per milliliter in ethanol solvent

Herbal extract	Diameter of inhibition zone (mean $\pm$ SD) (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Cutibacterium</i> spp.
Mangosteen pericarp	26.33 $\pm$ 0.58	25.33 $\pm$ 1.15	19.67 $\pm$ 1.53
Lakoocha	24.67 $\pm$ 1.15	21.67 $\pm$ 0.58	17.33 $\pm$ 1.15
Ethanol (negative control)	NI	NI	NI
Ampicillin (positive control)	34.67 $\pm$ 1.15	35.33 $\pm$ 1.15	34.00 $\pm$ 2.00

Note: The Nata de coco anti-acne patch had a diameter of 10 millimeters (mm), and NI exhibited no inhibition. The result was obtained after a total of 3 repetitions.

เปรียบเทียบแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวเสริมสารสกัดสมุนไพรเพื่อการยับยั้งเชื้อก่อสิกับแผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบ ด้วยวิธี disc diffusion

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบซึ่งทำมาจาก Tea tree extract กับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. พบว่าแผ่นแปะรักษาสิวไม่มีโซนยับยั้ง (inhibition zone) แสดงว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ในการทดลองนี้ นอกจากนั้นแผ่นแปะรักษาสิวยังมีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิมคือ มีการโค้งงอ บวม และขยายตัวขึ้น อันอาจเป็นสาเหตุให้ผลการทดลองแผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบไม่พบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้น คณะผู้วิจัยจึงใช้

stainless spatula ที่ปลอดเชื้อจัดแต่งแผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบให้เรียบ และหยดน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 10, 20 และ 30 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นแปะรักษาสิวดังกล่าว นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของแผ่นแปะรักษาสิว เมื่อครบเวลาพบว่าแผ่นแปะรักษาสิวทั้งก่อน และหลังหยดน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 10, 20 และ 30 ไมโครลิตร ผลการทดลองยังเป็นเช่นเดิม คือ ไม่มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) แผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบ เกิดการบวม และโค้งงอภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมก่อนการทดลอง ที่เวลา 0 ชั่วโมง มีลักษณะเป็นแผ่นเรียบ ไม่โค้งงอ แนบติดไปกับจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากผลการทดลองแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าว ที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. โดยพบโซนยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

หลังจากนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังตารางที่ 6 (Table 6) และภาพประกอบที่ 1 (Figure 1) ดังนั้น แผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาด มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด และคงสภาพได้ดีกว่าแผ่นแปะรักษาสิวทางการค้าที่นำมาทดสอบ



Figure 1 Antibacterial activity of herbal-enhanced Nata de coco anti-acne patch at 25 milligrams per milliliter in ethanol solvent by disc diffusion method

อภิปรายผล

ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต้านแบคทีเรียก่อโรคสิว

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากความสะดวก และง่ายต่อการประเมินขนาดบริเวณการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) โดยมีการอ้างอิงถึงงานวิจัย เช่น Arullappan และคณะ (2009) ที่ใช้วิธี disc diffusion ในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด Hibiscus rosa-sinensis

ต่อเชื้อ *S. aureus*²⁶ อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัดเมื่อทดสอบสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำ หรือมีปัญหาการแพร่ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ ที่มีน้ำซึ่งมีความเป็นขี้ข้นค่อนข้างสูงเป็นตัวทำละลาย ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีขี้ข้นต่ำหรือโมเลกุลขนาดใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายที่มีขี้ข้น เช่น เอทานอล และ DMSO ซึ่งสามารถละลายสารประกอบที่มีทั้งขี้ข้นต่ำ และไม่มีขี้ข้นได้หลากหลายกว่า ส่งผลให้สามารถสกัดกลุ่มสารที่มีฤทธิ์สำคัญในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า ส่งผลต่อความกว้างของบริเวณใสที่เกิดขึ้นได้ การเลือกตัวทำละลายที่มีขี้ข้น

ใกล้เคียงกับสารออกฤทธิ์ที่ต้องการจะช่วยให้เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารดังกล่าว ดังนั้น น้ำซึ่งมีขี้สูงมากอาจไม่เหมาะสมต่อการละลาย และสกัดสารออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในสมุนไพรบางชนิด เช่น สารสำคัญในขมิ้น และทานาคา²⁷⁻²⁹

ในการศึกษานี้จึงได้ใช้วิธี dilution method ควบคุมเพื่อหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ซึ่งสามารถให้ข้อมูลที่แม่นยำ และละเอียดเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระดับความเข้มข้นต่ำสุด ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียระหว่างวิธี disc diffusion และ dilution method แสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำด้วยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อน้อยกว่าสารสกัดที่ใช้เอทานอล หรือ DMSO เป็นตัวทำละลาย และสอดคล้องกับการทดสอบแบบ disc diffusion ที่สารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ในน้ำไม่พบฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย (ไม่ได้แสดงผล) แต่พบได้ในการทดสอบด้วยวิธี dilution method เพื่อหาค่า MIC ในสารสกัดจากเปลือกมังคุด และมะหาด และได้สารที่มีฤทธิ์สูงขึ้น เมื่อละลายในเอทานอล แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น DMSO หรือเอทานอล สามารถละลายสารออกฤทธิ์ได้ดีกว่าน้ำ³⁰ ซึ่งอาจมาจากข้อจำกัดของวิธี disc diffusion ในการตรวจหาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียในสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำ หรือสารที่แพร่ผ่านตัวทำละลายน้ำในวุ้นของอาหารเพาะเลี้ยงได้ไม่ดี ก็จะสามารถออกไปได้ด้วย ความเข้มข้นที่ไม่เพียงพอต่อการสร้างโซนยับยั้งแบคทีเรียในทางกลับกัน การทดสอบด้วยวิธี MIC ช่วยให้สามารถวัดความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างแม่นยำ และตรงไปตรงมา ทำให้การตรวจหาฤทธิ์ด้านเชื้อมีความละเอียดสูงขึ้น³¹⁻³³ จากการทดสอบด้วยวิธี dilution method ที่ใช้สารตั้งต้นในปริมาณเท่ากัน พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดในตัวทำละลายน้ำมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดมะหาดที่มีค่า MIC ต่ำสุดเชื้อทั้งสามชนิดสูงกว่า ผลการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC)

แสดงผลสอดคล้องกับการทดสอบด้วยวิธี disc diffusion โดยพบว่า *S. aureus* ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ด้วยสารสกัดเปลือกมังคุดในตัวทำละลายเอทานอล เช่นเดียวกับ *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ด้วยความเข้มข้นที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ช่วงการเจือจางที่ใช้ (10 เท่า) อาจกว้างเกินไป ส่งผลให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของความไวต่อสารสกัดเปลือกมังคุดระหว่าง *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ได้ชัดเจน การใช้ช่วงความเจือจางที่แคบลง เช่น 1:5 หรือ 1:2 อาจช่วยเพิ่มความแม่นยำในการแยกความแตกต่างนี้

ผลการทดสอบ MIC เพียงอย่างเดียวยังไม่สามารถยืนยันได้ว่าสารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย หรือเพียงแคื่อยับยั้งการเจริญเติบโต ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสารสกัดในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดในตัวทำละลายน้ำมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี อย่างไรก็ตาม ไม่พบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal effect) แต่เมื่อทดลองด้วยสารสกัดของสมุนไพรทั้งสองในเอทานอลที่น้ำจะละลายสารสำคัญที่มีฤทธิ์ด้านเชื้อได้ดีกว่า ก็ทำให้ตรวจหาค่า MBC ได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Ganlayanee และคณะ (2017)³⁴ พบว่าสารสกัดเอทานอลจากตำรับยารักษาสิ่ว THF-AC003 มีค่า MBC ต่อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.25 และ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลในงานวิจัยนี้ ข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ว่าสารสกัดเปลือกมังคุดในงานวิจัยนี้อาจมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัด THF-AC003 อย่างไรก็ตาม เพื่อยืนยันสมมติฐานนี้ จำเป็นต้องทำการทดสอบหาค่า MBC ของสารสกัดเปลือกมังคุด และเปรียบเทียบกับค่า MBC ของสารสกัด THF-AC003 โดยตรง

ผลการทดลองยังชี้ว่าสารสกัดด้วยเอทานอลอาจมีศักยภาพในการป้องกันการติดเชื้อซ้ำซ้อนจาก *S. aureus* และสามารถลดปริมาณของ *Cutibacterium* spp. ได้ ในขณะที่สารสกัดด้วย DMSO แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดในรูปแบบที่แตกต่างกัน โดยพบว่าสารสำคัญจากขมิ้นหรือทานาคาที่สกัดด้วย DMSO มีฤทธิ์ต้าน *Cutibacterium* spp. สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ หรือเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ในทางตรงกันข้ามสารสกัดจากเปลือกมังคุด หรือมะหาดที่สกัดด้วย DMSO มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งสามชนิดในรูปแบบ และขนาดบริเวณใสใกล้เคียงกับสารสกัดด้วยเอทานอล จากข้อมูลนี้อาจตั้งสมมติฐานได้ว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้าน *Cutibacterium* spp. ในขมิ้น หรือทานาคามีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าตัว ซึ่งทำให้ไม่สามารถสกัดออกมาได้ในปริมาณที่เพียงพอด้วยน้ำเพื่อแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ แต่สามารถสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นด้วยเอทานอลที่มีขั้วลดลงกว่า และสกัดได้มากที่สุดด้วย DMSO ที่มีขั้วน้อยที่สุดในตัวทำละลายทั้งหมดในการทดลองนี้ หากพิจารณาสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดใน DMSO พบมีศักยภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *Cutibacterium* spp. ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งสิ้น แม้มีข้อจำกัดของวิธีการทดสอบด้วยวิธี disc diffusion เมื่อไม่ทราบชนิด และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารออกฤทธิ์สำคัญในสารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆ ว่าเหมือนหรือต่างกันอย่างไร ทำให้การเปรียบเทียบขนาดของบริเวณใสของการยับยั้งโดยตรงอาจเป็นไปได้ยาก และอาจคลาดเคลื่อนได้สูง แต่ยังสามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรเดียวกันที่มีผลต่อเชื้อที่ต่างกันได้ และอาจสามารถใช้แบ่งรูปแบบการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกันได้ว่า สารสกัดขมิ้น มีสารออกฤทธิ์ที่มีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิวทั้ง 3 ชนิดที่ทดสอบได้พอๆ กัน ส่วนสารสกัดทานาคาเป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อ *Cutibacterium* spp. มากกว่า *S. aureus* และ *S. epidermidis* ตามลำดับ จึงอาจเหมาะที่จะประยุกต์ใช้

เพื่อเป็นสารป้องกันการเกิดสิวในระยะเริ่มแรกจาก *Cutibacterium* spp. ได้ดีกว่าใช้เป็นสารป้องกันการเกิดสิวอักเสบเป็นหนองจาก *S. aureus* ในขณะที่มีผลต่อเชื้อประจำถิ่นอย่าง *S. epidermidis* ไม่สูงเท่าเชื้ออื่นๆ และสำหรับรูปแบบที่พบในสารสกัดเปลือกมังคุดและมะหาด เป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อ *S. aureus* มากกว่า *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. จึงอาจเหมาะที่จะประยุกต์ใช้เป็นสารป้องกันการเกิดสิวอักเสบเป็นหนองจาก *S. aureus* ได้ดีกว่าเพื่อเป็นสารป้องกันการเกิดสิวในระยะเริ่มแรกจาก *Cutibacterium* spp. เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการศึกษานี้ต้องการประยุกต์ใช้สารสกัดจากสมุนไพรที่ละลายด้วยน้ำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แผ่นแปะรักษาสิวต่อไปจึงอาจต้องพิจารณาจากประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพรในน้ำเป็นสำคัญ จากตารางที่ 3 (Table 3) จะพบได้ว่ามีเพียงสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดเท่านั้นที่ยังคงให้สารออกฤทธิ์มาในน้ำได้ และสารสกัดจากเปลือกมังคุดจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium* spp. ได้ดีที่สุด ในขณะที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ด้วยความเข้มข้นที่สูงขึ้น แต่ก็ยังน้อยกว่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดจากมะหาดที่ให้ผลต่อ *Cutibacterium* spp. และ *S. aureus* ดังนั้น สารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดในน้ำกลั่นจึงเป็นสารที่เหมาะสมสำหรับทั้งใช้ป้องกันการเกิดสิวในระยะแรก ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับเชื้อ *Cutibacterium* spp. และใช้ป้องกันการเกิดสิวอักเสบเป็นหนองซึ่งมีสาเหตุหลักจาก *S. aureus* ซึ่งมักเกิดภายหลังการอักเสบจาก *Cutibacterium* spp. จึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันและรักษาสิวได้ แม้ผู้บริโภคส่วนใหญ่จะหาแผ่นแปะรักษาสิวมาใช้หลังจากเกิดสิวแล้ว เพื่อป้องกันการอักเสบเป็นหนองที่อาจทำให้สิวหายช้าลง และเกิดรอยแผลเป็น สารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการควบคุมป้องกันสิวทั้งขึ้นตอนเริ่มแรก ที่มักเกิดโดย *Cutibacterium* spp. และในขั้นตอนที่ *S. aureus* มีบทบาททำให้เกิดแผลอักเสบมีหนอง

ตามมาได้ ด้วยเหตุนี้สารสกัดจากเปลือกมังคุด และมะหาด จึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับการนำไปศึกษาพัฒนา เป็นแผ่นแปะรักษาผิว เพื่อป้องกันการอักเสบเป็นหนอง ในสัตว์ต่อไป และจากการที่สารสกัดเปลือกมังคุดในน้ำ มีฤทธิ์เด่นในการต้าน *Cutibacterium* spp. ก็อาจใช้ เพื่อการพัฒนาต่อยอดเป็นมาร์ค หรือโลชั่นป้องกันผิว ไปได้ด้วยเช่นกัน

การทำแผ่นแปะจากวุ้นน้ำมะพร้าวเพื่อใช้ ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง

อ้างอิงจากงานวิจัยของ Hasan และคณะ (2012)³⁵ ได้ทำการศึกษาการใช้เซลล์จากแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ในการขัดผิวหน้าตามธรรมชาติ งานวิจัย ดังกล่าวได้บอกถึงประโยชน์ของวุ้นน้ำมะพร้าวว่า สามารถใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด และความคงตัวใน ผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องสำอางและยา เช่น การผลิต แผ่นแปะผิวหน้าที่ช่วยรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหน้า ซึ่งคุณสมบัติข้างต้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นว่ามีความเหมาะสม ที่จะนำแผ่นวุ้นมะพร้าวมาใช้ในการเตรียมแผ่นแปะ รักษาผิว ในงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเมื่อนำวุ้นน้ำมะพร้าว มาพัฒนาเป็นแผ่นแปะแผล ไม่มีผลกระตุ้นสารก่อ การอักเสบ³⁶ และพบว่าแผ่นปิดแผลจาก bacterial cellulose ช่วยทำให้แผลหายไว ด้านจุลินทรีย์ และ ป้องกันการอักเสบ³⁷ จึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่งว่า การเตรียมแผ่นแปะรักษาผิวจากวุ้นน้ำมะพร้าว สามารถนำมาใช้กับบริเวณผิวหนังได้และไม่เกิดอาการ ระคายเคือง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัย ก่อนหน้าที่พัฒนาแผ่นแปะรักษาผิวจากวัสดุธรรมชาติ ไปโอเซลลูโลสผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดง พบว่า แผ่นแปะรักษาผิวที่ผสมสารสกัดหยาบจันทน์แดง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ และยังมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระได้สูงอีกด้วย³⁸

ในการศึกษาแผ่นแปะที่มีสารสกัดสมุนไพร จากตำรายาไทยแก้พิษฝี และพัฒนาเป็นแผ่นแปะ พิล์มไคโตซานจากกระดองปลาหมึกเพื่อใช้รักษาผิว สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ATCC 35984 ได้ โดยมีค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) เท่ากับ 15.33 ± 0.58 มิลลิเมตร³⁹ เมื่อ เปรียบเทียบกับงานวิจัยดังกล่าวพบว่าความสามารถยับยั้ง เชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ของวุ้นน้ำมะพร้าวที่มี สารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดของคณะผู้วิจัยมี ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากผู้วิจัยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้น ไม่เท่ากัน จึงไม่สามารถสรุปได้ถึงความแตกต่างในแง่ ของประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ยิ่งไปกว่านั้นจาก การศึกษาของ Sirapop และคณะ (2020)²⁴ พบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อ *S. epidermidis* โดยมี ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และ ฆ่าเชื้อ (MBC) เท่ากับ 51,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อพัฒนาแผ่นแปะผิว เซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด และนำมา ทดสอบด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าแผ่นแปะผิว ดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่พบ ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* จากแผ่นแปะ จากวุ้นน้ำมะพร้าวที่เสริมสารสกัดจากเปลือกมังคุด แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดในการ เป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดผิว และ ความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ ดูแลผิวเพื่อรักษาผิวอักเสบ จากการศึกษาของ Chao และคณะ (2006)⁴⁰ พบว่าแผ่นแปะผิวที่ผลิตจากสาร ไฮโดรคอลลอยด์มีประสิทธิภาพในการปกป้องแผล จากการติดเชื้อ ลดการอักเสบของผิว โดยดูดซับของเหลว น้ำเหลือง และน้ำมันส่วนเกิน ส่งผลให้ขนาด และรอยแดง ของผิวลดลง ดังนั้น แผ่นแปะผิวจากไฮโดรคอลลอยด์ จึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับการเปรียบเทียบกับ แผ่นแปะผิวที่พัฒนาจากสารสกัดหยาบของมะขามป้อม ว่านหางจระเข้ และใบบัวบก แผ่นแปะผิวจากสารสกัด ดังกล่าวมีลักษณะบาง เหนียว สีเหลืองใส สามารถยัดติด ผิวหนังได้ดี และลอกออกได้ง่าย มีคุณสมบัติเชิงกลที่ดี

ทั้งในด้านความแข็งแรง และความยืดหยุ่น ผลการทดลองพบว่า แผ่นแปะสิวจากสารสกัดหยาบมีระยะเวลาการหายของสิวกักเสบเฉลี่ย 4 วัน ในขณะที่แผ่นจากไฮโดรคอลลอยด์ใช้เวลาประมาณ 6 วัน แสดงให้เห็นว่าแผ่นปิดสิวจากสารสกัดธรรมชาติอาจมีประสิทธิภาพในการรักษาสิวกักเสบได้รวดเร็วยิ่งกว่า⁴¹ สอดคล้องกับงานของคณะผู้วิจัยเช่นกันที่ได้มีการเปรียบเทียบแผ่นแปะรักษาสิวกักเสบจากวุ้นน้ำมะพร้าวที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาดกับแผ่นแปะรักษาสิวกักเสบตามท้องตลาดซึ่งมีสารไฮโดรคอลลอยด์พบประสิทธิภาพจากสารสกัดสมุนไพรธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ทดสอบ แต่แผ่นแปะรักษาสิวกักเสบตามท้องตลาดมีลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนจากเดิมที่มีลักษณะกลม เรียบ และมีสีขาวขุ่น ไปเป็นลักษณะโค้งงอ บวม ขยายตัวขึ้น และไม่พบเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) นอกจากนั้นจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแผ่นแปะสิวโดยพิจารณาจากระยะเวลาการหายของสิวกักเสบ การเปลี่ยนแปลงของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสิวกักเสบ ระดับความแดงทางคลินิก และค่าความแดงของผิวหนัง พบว่าแผ่นแปะสิวที่ผลิตจากแผ่นยางโปรตีนต่ำผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุด และรากต้นก้ามปู มีประสิทธิภาพในการลดการอักเสบ และระยะเวลาในการหายของสิวกักเสบได้ดีกว่า เมื่อเทียบกับแผ่นแปะสิวที่ทำจากสารไฮโดรคอลลอยด์⁴² ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้เนื่องจากแผ่นแปะวุ้นน้ำมะพร้าวเสริมสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด และสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นแปะสิวที่ขายตามท้องตลาดที่ผสมสารไฮโดรคอลลอยด์ ดังนั้น สารสกัดจากเปลือกมังคุด อาจเหมาะสมในการป้องกันการเกิดสิวกักเสบเป็นหนอง ซึ่งมีสาเหตุหลักจาก *S. aureus* ได้

เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือการพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวกักเสบที่มีฤทธิ์ป้องกันการอักเสบเป็นหนองจากเชื้อ *S. aureus* และควบคุมปริมาณเชื้อ *Cutibacterium* spp. โดยไม่กระทบต่อเชื้อ

S. epidermidis มากเกินไป จึงมุ่งเน้นไปที่สารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาด แม้ว่าสารสกัดด้วย DMSO จะให้สารสำคัญที่มีฤทธิ์มากขึ้น แต่เนื่องจากมีรายงานว่า DMSO อาจก่อให้เกิดผื่นแดงที่ผิวหนัง⁴³ จึงเลือกใช้สารสกัดจากน้ำ และเอทานอลในการศึกษาพัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวกักเสบต่อไป

ข้อจำกัดประการหนึ่งของการศึกษานี้คือการใช้วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแบบ disk diffusion ซึ่งแม้ว่าจะเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการคัดกรองเบื้องต้นเนื่องจากมีขั้นตอนที่ง่าย ต้นทุนต่ำ และให้ผลที่ทำได้ แต่เป็นวิธีที่ให้ผลในเชิงคุณภาพ หรือกึ่งปริมาณเท่านั้น ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้ออาจได้รับผลกระทบจากหลายปัจจัย เช่น อัตราการแพร่กระจายของสารออกฤทธิ์ ความสามารถในการละลายของสารสกัด และความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้วิธีนี้ยังไม่สามารถแยกแยะฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบบหยุดการเจริญเติบโต (bacteriostatic) จากแบบทำลายเชื้อ (bactericidal) ได้ อีกทั้งไม่สามารถระบุค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) ได้อย่างแม่นยำ ดังนั้น ในการศึกษานี้จึงมีการศึกษาต่อเนื่องโดยใช้วิธีที่ให้ข้อมูลเชิงปริมาณมากขึ้น เช่น วิธี broth microdilution เพื่อยืนยัน และขยายผลจากการศึกษานี้

สรุปผล

การวิจัยในครั้งนี้ทดสอบสารสกัดสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ เอทานอล และ DMSO โดยทดสอบต่อเชื้อ *Cutibacterium* spp., *Staphylococcus aureus*, และ *Staphylococcus epidermidis* เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ สารสกัดสมุนไพรที่เลือกใช้ในการศึกษานี้ ได้แก่ ขมิ้น ทานาคา เปลือกมังคุด และมะหาด ซึ่งเคยมีรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ จากการเปรียบเทียบผลการทดลองของ disk diffusion และ dilution methods จะเห็นได้ว่าขนาดบริเวณสีที่เกิดจากสารสกัดสมุนไพร

ด้วยตัวทำลายเอทานอล ให้ผลที่สอดคล้องกัน ทั้งในด้านของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว ในทำนองเดียวกันที่สารสกัด เปลือกมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่า *S. epidermidis* และ *Cutibacterium* spp. ในขณะที่ สารสกัดมะหาดด้วยตัวทำลายเอทานอลให้ผลการ ยับยั้งต่อ *Staphylococcus* ได้ดีกว่า *Cutibacterium* spp. และผลจาก dilution method ใช้ยืนยันได้ว่า สารสกัดเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ยับยั้ง แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับสิวได้ดีกว่าสารสกัดมะหาด ตามขนาดบริเวณใสที่เกิดจากสารสกัดเปลือกมังคุด มีขนาดใหญ่กว่าขนาดบริเวณใสที่เกิดจากสารสกัด มะหาด ทำให้สามารถใช้วิธี agar diffusion ซึ่งเป็น วิธีอย่างง่าย และสะดวกในการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ การยับยั้งแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ในการทดลอง พัฒนาแผ่นแปะรักษาสิวจากแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่ใส่ สารสกัดเปลือกมังคุด หรือมะหาดได้ นอกจากนั้น การเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างแผ่นแปะรักษาสิว วุ้นน้ำมะพร้าวที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และมะหาด กับแผ่นแปะรักษาสิวที่จำหน่ายในท้องตลาด พบว่า แผ่นแปะรักษาสิววุ้นน้ำมะพร้าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียก่อโรคสิวทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่า ดังนั้น ผลการ วิจัยนี้สนับสนุนการนำสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้าน แบคทีเรียก่อโรคสิวไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ แผ่นแปะรักษาสิวในอนาคต เนื่องจากวัตถุดิบสมุนไพร มีราคาถูก หาได้ง่าย และสามารถเพาะปลูกได้ ในปริมาณมาก การนำสารสกัดเหล่านี้มาพัฒนาเป็น ส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับ สมุนไพรได้อีกทางหนึ่ง

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยนี้มุ่งเน้นการแก้ปัญหาสิว ซึ่งเป็น ปัญหาผิวหนังที่พบบ่อย และส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิต ของผู้คนจำนวนมาก โดยใช้สมุนไพรซึ่งเป็นสารสกัด จากธรรมชาติที่มีอยู่ในท้องถิ่นของไทยเป็นทางเลือก ที่น่าสนใจ เนื่องจากมีศักยภาพในการทดแทนการใช้

สารเคมีที่อาจมีผลข้างเคียง หรือเกิดการระคายเคือง และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ รักษาสิว เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแผ่นแปะ ที่พัฒนาขึ้นกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือ และแสดงให้เห็นถึงศักยภาพ ของผลิตภัณฑ์ใหม่ แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษา เพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัด สมุนไพรในการต้านแบคทีเรียก่อโรคสิว การทดสอบ ความเป็นพิษ (toxicity) ของสารสกัดสมุนไพร เพื่อให้ เข้าใจถึงประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ ได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ และ ความน่าสนใจของผลิตภัณฑ์ ควรมีการพัฒนาสูตร ตำรับของแผ่นแปะรักษาสิว โดยอาจเพิ่มส่วนผสมอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ในการรักษาสิว หรือปรับปรุงคุณสมบัติทาง กายภาพของแผ่นแปะรักษาสิวต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Vasam M, Korutla S, Bohara RA. Acne vulgaris: A review of the pathophysiology, treatment, and recent nanotechnology based advances. *Biochem Biophys Rep* 2023;36:101578. doi:10.1016/j.bbrep.2023.101578.
2. Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, et al. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: A brief look at the latest updates. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018;32 Suppl 2:5-14. doi:10.1111/jdv.15043.
3. Rocha MA, 3.38 - Acne and microbiome In Glibetic M. editor. *Comprehensive gut microbiota*, Elsevier, 2022, p.458-62, doi:10.1016/B978-0-12-819265-8.00017-6.

4. Khorvash F, Abdi F, Kashani HH, et al. *Staphylococcus aureus* in acne pathogenesis: A Case-control study. *N Am J Med Sci* 2012; 4(11):573-6. doi:10.4103/1947-2714.103317.
5. Dreno B, Martin R, Moyal D, et al. Skin microbiome and acne vulgaris: *Staphylococcus*, a new actor in acne. *Exp Dermatol* 2017;26(9):798-803. doi:10.1111/exd.13296.
6. Scholz CFP, Kilian M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016;66(11):4422-32. doi:10.1099/ijsem.0.001367.
7. Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, et al. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol* 2005;101(1-3): 330-3. doi:10.1016/j.jep.2005.04.038.
8. MacGibeny MA, Adjei S, Pyle H, et al. The human skin microbiome in health: CME Part 1. *J Am Acad Dermatol* 2025;93(2):329-36. doi:10.1016/j.jaad.2024.07.1498.
9. Carmona-Cruz S, Orozco-Covarrubias L, Saez-de-Ocariz M. The human skin microbiome in selected cutaneous diseases. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:834135. doi:10.3389/fcimb.2022.834135.
10. Claudel JP, Auffret N, Leccia MT, et al. *Staphylococcus epidermidis*: A potential new player in the physiopathology of acne? *Dermatology* 2019;235(4):287-94. doi:10.1159/000499858.
11. Nakamura K, O'Neill AM, Williams MR, et al. Short chain fatty acids produced by *Cutibacterium acnes* inhibit biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. *Sci Rep* 2020;10(1):21237. doi:10.1038/s41598-020-77790-9.
12. Lazic Mosler E, Leitner C, Gouda MA, et al. Topical antibiotics for acne. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;2018(1):CD012263. doi:10.1002/14651858.CD012263.pub2.
13. Wamanont M, Sapcharoen P. Office of the primary healthcare committee. Herbal medicines for primary healthcare / editors, Wamanon, Sapchareon. 2nd ed: Bangkok: Office of the primary healthcare committee; 1997.
14. Nimrat S, Sooksawat T, Vuthiphandchai V. Evaluation of bacterial contamination in thanaka products distributed in Republic of the Union of Myanmar. *KKU Sci J* 2014; 42(4):781-9. (in Thai)
15. Obolskiy D, Pischel I, Siriwatanametanon N, et al. *Garcinia mangostana* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Phytother Res* 2009;23(8):1047-65. doi:10.1002/ptr.2730.

16. Kanchanaphimai S, Naewna [Internet]. Bangkok: Department of medical sciences ministry of public health, development of cosmetics from mahad. [updated 2018 Jul 31; cited 2024 Oct 9]. Available from: <https://www.naewna.com/lady/354603>.
17. Phumlek K, Itharat A, Pongcharoen P, et al. *Garcinia mangostana* hydrogel patch: Bactericidal activity and clinical safety for acne vulgaris treatment. *Res Pharm Sci* 2022;17(5):457-67. doi:10.4103/1735-5362.355195.
18. Rasheed A, Avinash Kumar Reddy G, Mohanalakshmi S, et al. Formulation and comparative evaluation of poly herbal anti-acne face wash gels. *Pharm Biol* 2011; 49(8):771-4. doi:10.3109/13880209.2010.547207.
19. Asasutjarit R, Larpmahawong P, Fuongfuchat A, et al. Physicochemical properties and anti-*Propionibacterium acnes* activity of film-forming solutions containing alpha-mangostin-rich extract. *AAPS PharmSciTech* 2014;15(2):306-16. doi:10.1208/s12249-013-0057-8.
20. Pothitirat W, Chomnawang MT, Gritsanapan W. Anti-acne-inducing bacterial activity of mangosteen fruit rind extracts. *Med Princ Pract* 2010;19(4):281-6. doi:10.1159/000312714.
21. Charirak P, Ratananikom K. Anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activities of *Artocarpus lakoocha* Roxb extract and its mode of action. *Sci World J* 2022; 2022:1839356. doi:10.1155/2022/1839356.
22. Shailendra Kumar MB, Rakesh Kumar MC, Bharath AC, et al. Screening of selected biological activities of *Artocarpus lakoocha* roxb (moraceae) fruit pericarp. *J Basic Clin Pharm* 2010;1(4):239-45.
23. Lambers H, Piessens S, Bloem A, et al. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmet Sci* 2006;28(5):359-70. doi:10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x.
24. Nakhawatchana S, Srisupasitanon S, Sukatta U, et al. Anti-*Staphylococcus epidermidis* acnes by bio-cellulose acne patches from mangosteen peel extracts. *J Health Sci* 2020;29(4):711-8. (in Thai)
25. Sukatta U, Rugthaworn P, Pitpiangchan P, et al. Development of mangosteen anti-acne gel. *Kasetsart J (Nat Sci)* 2008;42:163-8. (in Thai)
26. Arullappan S, Zakaria Z, Basri DF. Preliminary Screening of antibacterial activity using crude extracts of *Hibiscus rosa sinensis*. *Trop Life Sci Res* 2009;20(2):109-18.
27. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(4):564-82. doi:10.1128/CMR.12.4.564.
28. Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J Med Plants Res* 2010;4(2):104-11. doi:10.5897/JMPR09.030.

29. Tourabi M, Metouekel A, Ghouizi A, et al. Efficacy of various extracting solvents on phytochemical composition, and biological properties of *Mentha longifolia* L. leaf extracts. *Sci Rep* 2023;13:18028. doi:10.1038/s41598-023-45030-5.
30. Premkaisorn P, Wasupongpun W, editors. Antioxidant capacity of extracts from *Gonocaryum lobbianum*, *Caesalpinia decapetala* and *Mimusops elengi* Leaves. The 5th Academic Science and Technology Conference 2017 (Science and Technology as a Key Driver towards Thailand 40); 2017 May, 26 2017; Bangkok: Siam University 2017. p.576-81.
31. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal* 2016;6(2):71-9. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005.
32. Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, et al. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *J Ethnopharmacol* 2006; 106(3):290-302. doi:10.1016/j.jep.2006.04.003.
33. Weinstein MP. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically Clinical. In: Wayne, editor. *Laboratory Standards I*. 11rd ed. Pennsylvania: Clinical Laboratory Standards Institute; 2018. p.92.
34. Thammathirat G, Bunluepuech K, Limsuwan S. Anti-acne-inducing bacterial activity of Thai herbal formula (THF-AC003). In: University GSKK, editor. *The National and International Graduate Research Conference 2017*; March 10, 2017; Khon Kaen University 2560. p.8.
35. Hasan N, Biak DRA, Kamarudin S. Application of bacterial cellulose (BC) in natural facial scrub. *IJASEIT* 2012;2(4):272-5. doi:10.18517/ijaseit.2.4.201.
36. Yosboonruang A, Phimnuan P, Yakaew S, et al. Development of biocellulose sheet incorporating Aloe vera gel extract for diabetic wound healing. *ACS Omega* 2023;8(19):16824-32. doi:10.1021/acsomega.3c00372.
37. Hsu CY, Lin SC, Wu YH, et al. The antimicrobial effects of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter intermedius* in promoting wound healing in diabetic mice. *Int J Mol Sci* 2022; 23(10):5456. doi:10.3390/ijms23105456.
38. Chotinu-kul TS T, Chunhachart O, Srithaworn M. Development of natural anti-acne patch from biocellulose formulated with dracaena cochinchinensis (Lour.) S.C. Chen Crude Extract. *Thai J Sci Technol* 2021;29(6):966-76. (in Thai)
39. Plaingam W, Sompoch C, Nateepitak N. Effects of ethanolic extract from Thai traditional abscess formula and Chitosan patch against *Staphylococcus epidermidis*. *Rangsit University National Academic Conference 2018 (RSU National Research Conference 2018)*. May 4, 2018.

40. Chao CM, Lai WY, Wu BY, et al. A pilot study on efficacy treatment of acne vulgaris using a new method: Results of a randomized double-blind trial with Acne Dressing. *J Cosmet Sci* 2006;57(2):95-105.
41. Jaturapisanukul K, Udompataikul M. A comparative study for the efficacy and safety of acne patch containing with the extracts of *Phyllanthus Emblica* leaves, *Centella asiatica* leaves and aloe vera with hydrocolloid acne patch for the treatment of acne [thesis]. Bangkok: Srinakharinwirot University 2019.
42. Kunakornwong J, Chalermchai T, Aramwit P, et al. The efficacy of low protein acne patch containing with the extracts of *Garcinia mangostana* Linn and dry root of *Albizia saman*. *J Med Health Sci* 2016;23(3):40-9. (in Thai)
43. Engel MF. Dimethyl sulfoxide (DMSO) in clinical dermatology. *South Med J* 1966; 59(11):1318-9. doi:10.1097/00007611-196611000-00015.