Antibacterial activity of *Ocimum sanctum* oil against *Streptococcus mutans : in vitro*

Rattiporn Kaypetch[1], Thaniya Muadcheingka[2], Pairin Tonput[3]

[1] Research Office Faculty of Dentistry Mahidol University
[2] Department of Oral Microbiology Faculty of Dentistry Mahidol University
[3] Research Office Faculty of Dentistry Mahidol University

Abstract

Objectives: This study aimed to investigate the antibacterial effect of essential oil extracted from *Ocimum sanctum* against caries-related bacteria, *Streptococcus mutans*.

Materials and methods: Essential oil extracted from leaves of *Ocimum sanctum* by steam distillation (Botanicessence, Bangkok, Thailand) were used in this study. The antibacterial effect was determined against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *Streptococcus mutans* $KPSK_2$ using disc diffusion and micro broth dilution technique.

Results: *Ocimum sanctum* essential oil had antibacterial effects against both strains of *Streptococcus mutans* with the zone of inhibition ranging from 7 to 25.95 mm. The antibacterial effect against *Streptococcus mutans* $KPSK_2$ was more potent than that on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Minimum inhibitory concentration of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *Streptococcus mutans* $KPSK_2$ equal to 0.188 and 0.047 mg/ml, respectively. Minimum bactericidal concentration against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *Streptococcus mutans* $KPSK_2$ equal to 0.377 and 0.095 mg/ml.

Conclusion: Essential oils from *Ocimum sanctum* showed moderate antibacterial effect against both strains of *Streptococcus mutans*. It can be beneficial to use as an agent to prevent or aid the treatment of dental caries.

Keywords: *Streptococcus mutans, Ocimum sanctum*, antibacterial activity, essential oil, disc diffusion technique, caries-related bacteria

How to cite: Kaypetch R, Muadcheingka T, Tonput P. Antibacterial activity of Ocimum sanctum oil against Streptococcus mutans: in vitro. M Dent J 2015; 35: 311-19.

Correspondence author:
Rattiporn Kaypetch
Research office
Faculty of Dentistry, Mahidol University
6 Yothi St., Rachatawee
Bangkok 10400, Thailand.
Tel: 02-200-7620-24
Fax: 02-200-7698
Received: 9 October 2015
Accepted: 30 November 2015

ฤทธิ์การต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

รัตติพร กายเพชร[1] ธนิยา หมวดเชียงคะ[2] ไพรินทร์ ต้นพุฒ[3]

[1] วท.บ (เทคโนโลยีชีวภาพ) นักวิทยาศาสตร์ สำนักงานการวิจัย

[2] วท.ม (สาธารณสุขศาสตร์) นักวิทยาศาสตร์ผู้ชำนาญการ ภาควิชาจุลชีววิทยาช่องปาก

[3] วท.บ (สถิติ) นักวิชาการสถิติ สำนักงานการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยกะเพราต่อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา: น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบของกะเพราโดยการกลั่นไอน้ำ (บริษัท โบทานิกเอสเซ้นส์ กรุงเทพฯ) ถูกนำมาใช้ในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เอทีซีซี 25175 และสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เคพีเอสเคทู โดยวิธี เอการ์ ดิสค์ ดิฟฟิวชัน และไมโครบรอธไดลูชั่น

ผลการศึกษา: น้ำมันหอมระเหยกระเพรามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย จากการประเมินผลการศึกษาที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสยับยั้งเชื้อตั้งแต่ 7 – 25.95 มิลลิเมตร และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เคพีเอสเคทู ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรามีศักยภาพสูงกว่าการต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เอทีซีซี 25175 โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 และสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เคพีเอสเคทูเท่ากับ 0.188 และ 0.047 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่สามารถทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 และสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เคพีเอสเคทู เท่ากับ 0.377 และ 0.095 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สรุปผล: ผลการทดลองแสดงให้เห็นฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรากับทั้งสองสายพันธุ์ของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นแนวทางในการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อการนำน้ำมันหอมระเหยกะเพราไปพัฒนาใช้ประโยชน์ในการป้องกัน หรือรักษาโรคฟันผุต่อไป

รหัสคำ: เชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์, น้ำมันหอมระเหยกระเพรา, ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย, น้ำมันหอมระเหย, ดิสค์ดิฟฟิวชั่น, แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคฟันผุ

วิธีอ้างอิงบทความนี้: รัตติพร กายเพชร, ธนิยา หมวดเชียงคะ, ไพรินทร์ ต้นพุฒ. ฤทธิ์การต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา. ว ทันต มหิดล 2558; 35: 311-19.

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:
รัตติพร กายเพชร
สำนักงานการวิจัย
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
6 ถ.โยธี ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์: 02 2007629
โทรสาร: 02 2007698
อีเมล์: rattiporn.kay@mahidol.ac.th
วันรับเรื่อง: 9 ตุลาคม 2558
วันยอมรับการตีพิมพ์: 30 พฤศจิกายน 2558

บทนำ

กะเพราเป็นพืชสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม มีถิ่นกำเนิดในทวีปอินเดีย นำมาเพาะปลูกกันอย่างแพร่หลายในเขตร้อนเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย ลักษณะกะเพราเป็นลำต้นตรง สูงประมาณ 50–60 เซนติเมตร แตกกิ่งแขนงรอบต้น มีใบเป็นรูปวงรีสีเขียว หรือม่วง มีกลิ่นหอม กะเพราเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมในประเทศอินเดียถูกใช้ในการประกอบพิธีทางศาสนา ถูกใช้เป็นยาไล่แมลง และยุง ในประเทศไทยนิยมนำใบกะเพรามาประกอบอาหารเพื่อให้อาหารมีกลิ่นหอมน่ารับประทาน

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นและสามารถนำมาใช้ประโยชน์โดยการผ่านกรรมวิธีและแยกส่วนของน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นออกมา เพื่อให้ได้มาซึ่งน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์ โดยแยกได้จากชิ้นส่วนของพืช เช่น ใบ ลำต้น ราก เมล็ด เป็นต้น

โรคฟันผุเป็นโรคที่พบบ่อยในช่องปากเกิดจากปัจจัยหลายประการที่มีแบคทีเรียเป็นปัจจัยหลัก น้ำมันหอมระเหยกะเพราเป็นสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติในการรักษาหลายอย่าง เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดลองจริงในสัตว์[1] การศึกษาทางเภสัชวิทยาในการสร้างพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์สำหรับการรักษาของพืชชนิดนี้[2] และการตรวจสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดจากใบกะเพรากับสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์[3] เป็นต้น อย่างไรก็ตามข้อมูล เกี่ยวกับผลการยับยั้งแบคทีเรียชนิดนี้ยังอยู่มีน้อย ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบกะเพราต่อแบคทีเรียสเตร็ปโต-คอคคัส มิวแทนส์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยกะเพราต่อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยกะเพรา ซึ่งสกัดจากส่วนใบของกะเพราด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยซื้อน้ำมันหอมระเหยสกัดสำเร็จรูปจาก บริษัท ไบโอเอสเซนส์ กรุงเทพ จำกัด

เชื้อจุลินทรีย์

สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ที่ใช้ในการศึกษา คือ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 (*Streptococcus mutans* ATCC 25175) และสายพันธุ์ เคพีเอสเคทู (*Streptococcus mutans* $KPSK_2$) ได้จากคลังจุลินทรีย์ของภาควิชาจุลชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยทำการเขี่ยเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mitis salivarius-bacitracin Agar (MSB Agar) อบในตู้บ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการเพาะเชื้อต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Muller Hinton Broth (MHB) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงนำมาเตรียมเป็นสารละลายจุลินทรีย์ในน้ำเกลือปราศจากเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับ Mc Farland No. 0.5 (หรือเท่ากับ 1.5×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร) เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การทดสอบขอบเขตการยับยั้งเชื้อ

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในเบื้องต้นด้วยวิธีดิสค์ ดิฟฟิวชั่น (disc diffusion test) โดยเจือจางน้ำมันหอมระเหยด้วยตัวทำละลายเอธานอลความเข้มข้น 99% ให้มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย ดังนี้ 100%, 50%, 25%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 2%, 1% และ 0.5% (ปริมาตร/ปริมาตร) ตามลำดับ จากนั้นหยดน้ำมันหอมระเหยกะเพราแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นกระดาษกรองปราศจากเชื้อขนาด 6 มิลลิเมตร (Whatman®) วางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA)

ที่ทำการป้ายเชื้อไว้เรียบร้อยแล้วอบในตู้บ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ทำการอ่านผลด้วยการวัดค่าขอบเขตการยับยั้งเชื้อของน้ำมันหอมระเหยกะเพราโดยวัดผ่านจุดศูนย์กลางของแผ่นกระดาษกรอง ในการศึกษานี้ใช้สารละลายคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 0.2 % เป็นตัวควบคุมบวก และเอธานอลความเข้มข้น 99% เป็นตัวควบคุมลบ

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อและความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำลายเชื้อ

ทำการทดสอบเพื่อหาการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำลายเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ด้วยวิธีไมโครบรอธไดลูชั่น (Micro broth dilution test) โดยเจือจางน้ำมันหอมระเหยกะเพราในถาดหลุม (96 wellplate) ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม ทำการอบในตู้บ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การอ่านผล MIC จะพิจารณาจากหลุมที่มีความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อโดยดูจากความใสของอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนการหาค่า MBC จะทำโดยการหยดสารละลายจากหลุมที่ไม่พบว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารวุ้น MHA บ่มในตู้อบก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีของเชื้อบนอาหารวุ้น ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่พบการขึ้นของโคโลนีของเชื้อจะถือเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำลายเชื้อได้ การทดสอบขอบเขตการยับยั้งเชื้อและการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อได้และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำลายเชื้อได้จะกระทำซ้ำ 6 ครั้ง

สถิติที่ใช้ในการศึกษา

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปเอสพีเอสเอส (Statistical Package for the Social Sciences; SPSS) รุ่น 18 ประกอบด้วยค่าเฉลี่ย (mean) ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation: SD) ทดสอบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ โดยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราระหว่างสายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 กับสายพันธุ์ เคพีเอสเคทู และทดสอบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ โดยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราทั้งสองสายพันธุ์กับคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น 0.2 % ด้วยวิธีทดสอบแมนท์วิทนีย์ (Mann-Whitney U test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการศึกษา

จากตารางที่ 1 น้ำมันหอมระเหยกะเพรา มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย จากการประเมินผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสยับยั้งเชื้อ ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เคพีเอสเคทู ความเข้มข้นที่ 100%, 50%, 25%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 2% (ปริมาตร/ปริมาตร) และคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น 0.2% มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสยับยั้งเชื้อที่ 18.13, 18.97, 14.97, 12.97, 10.15, 7.32, 7.10, 7.00 และ 26.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 1% และ 0.5% (ปริมาตร/ปริมาตร) ไม่ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เอทีซีซี 25175 ความเข้มข้นที่ 100%, 50%, 25%, 20%, 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) และคลอร์เฮกซิดีนเข้มข้น 0.2% มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ

Table 1 Inhibition zone of *Ocimum sanctum* against *Streptococcus mutans*.

Streptococcus mutans	*Ocimum sanctum* (v/v) Inhibition zone (mm)										
	100%	50%	25%	20%	10%	5%	2.5%	2%	1%	0.5%	Chx 0.2 %
$KPSK_2$	18.13±0.54	18.97±0.05	14.97±0.08	12.97±0.08	10.15±0.2	7.32±0.21	7.1±0.11	7±0.11	-	-	26.12±0.34
ATCC 25175	23.97±0.08	25.95±0.05	22.03±0.08	20.12±0.44	15.03±0.24	-	-	-	-	-	26.1±0.22
p-value	0.002*	0.002*	0.002*	0.002*	0.002*	-	-	-	-	-	0.955

*significant ($p<0.05$)

วงใสยับยั้งเชื้อที่ 23.97, 25.95, 22.03, 20.12, 15.03 และ 26.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในความเข้มข้นที่ 5%, 2.5%, 2%, 1% และ 0.5% (ปริมาตร/ปริมาตร) ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

จากตารางที่ 2 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราระหว่างสายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 กับสายพันธุ์ เคพีเอสเคทู ที่ความเข้มข้นที่ 100%, 50%, 25%, 20%, 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราสายพันธุ์เคพีเอสเคทูความเข้มข้นที่ 100%, 50%, 25%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 2% (ปริมาตร/ปริมาตร) กับคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น 0.2 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 ความเข้มข้นที่ 100%, 25%, 20%, 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) กับคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น 0.2 %แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175ที่ความเข้มข้น 50% ไม่แตกต่างกับคลอร์เฮกซิดีน เข้มข้น 0.2 % อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 3 สำหรับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 และสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เคพีเอสเคทู เท่ากับ 0.188 และ 0.047 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า MBC ที่สามารถทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 และสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เคพีเอสเคทู เท่ากับ 0.377 และ 0.095 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

Table 2 The difference of the antibacterial activity of *Ocimum sanctum* at various concentration with 0.2 % Chlorhexidine.

Streptococcus mutans	*Ocimum sanctum*(v/v) 100%	50%	25%	20%	10%	5%	2.5%	2%	1%	0.5%
$KPSK_2$										
p-value	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	-	-
ATCC 25175										
p-value	0.002	0.232**	0.002	0.002	0.002	-	-	-	-	-

** Not significant ($p>0.05$)

Table 3 MIC and MBC values of *Ocimum sanctum* against both strains of *Streptococcus mutans*.

Streptococcus mutans	*Ocimum sanctum* MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
$KPSK_2$	0.047	0.095
ATCC 25175	0.188	0.377

เมื่อเปรียบเทียบค่า MBC ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยกะเพราสามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อสตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้ทั้งสองสายพันธุ์ และพบว่าน้ำมันหอมระเหยกะเพราสามารถออกฤทธิ์ทำลายสตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เคพีเอสเคทู ที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยน้อยกว่า คือ 0.095 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา 0.377 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จึงจะสามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 ได้

ค่า MIC และ ค่า MBC แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เคพีเอสเคทู ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรามีศักยภาพสูงกว่าการต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เอทีซีซี 25175

บทวิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้ได้นำน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ทำการสกัดมาจากส่วนใบมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราแสดงให้เห็นฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 และสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์สายพันธุ์ เคพีเอสเคทู พบว่าที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 โดยมีความกว้างของวงใส เท่ากับ 25.95 มิลลิเมตร Pooja Agarwal และคณะรายงานฤทธิ์การต้านทานเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์สายพันธุ์ เอทีซีซี 890 ของสารสกัดใบกะเพราด้วยเอธานอลซึ่งให้การยับยั้งมีความกว้างของวงใส เท่ากับ 22 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ 75 ไมโครลิตร[3] ในขณะที่การทดลองครั้งนี้ของผู้วิจัยให้ผลการต้านเชื้อ

สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์สายพันธุ์ เอทีซีซี 25175 มีความกว้างของวงใส เท่ากับ 25.95 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ 20 ไมโครลิตร โดยความแตกต่างน่าจะเป็นผลมาจากวิธีการสกัด,ปริมาณของสารที่ใช้ทำการทดสอบที่แตกต่างกัน และสายพันธุ์ของเชื้อเสตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าน้ำมันหอมระเหยกะเพรายังแสดงฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เช่น สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*)[4-6], บาซิลลัส พูมิลัส (*Bacillus pumilus*), ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)[4] และเอสเชอริเชีย โคไล[6] ในขณะที่สารสกัดใบกะเพราด้วยเมธานอลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น บาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์ เอทีซีซี 6633 และแบคทีเรียแกรมลบ เอสเชอริเชีย โคไล[7] รวมทั้งต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคในคลองรากฟัน ได้แก่ สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ สายพันธุ์ เอ็มทีซีซี 497, เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาอีส สายพันธ์ เอ็มทีซีซี 439 (*Enterococus faecalis* MTCC 439) และสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส สายพันธุ์ เอ็มทีซีซี 737[8] ในด้านเกษตรกรรม สารสกัดใบกะเพราด้วยน้ำกลั่นสามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียแซนโทรโมแนส แคมเพสทริส พีวี แมนจิฟีรีอินดิซี (*Xanthomonas campestris pv. Mangiferaeindicae*) ที่ก่อโรคแคงเกอร์ (Canker) ในมะม่วงอีกด้วย[9]

โดยฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบกะเพราน่าจะเป็นผลมาจากสารเคมีในพืชที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ[4,10,11] หลายชนิด ได้แก่ ยูจีนอล (Eugenol), กรดยูโซลิค (Ursolic acid), คาร์วาครอล (Carvacrol), ลินาโลออล (Linalool), คาริโอฟีลลีน (Caryophylline), เอสตรากอล (Estragol), กรดรอสมารินิค (Rosmarinic acid), เอพิจีนิน (Apigenin), เซอร์สิมาริติน (Cirsimaritin)[11] และกรดโอเลโนอิก (Oleanolic)[12] โดยมียูจีนอลเป็นองค์ประกอบหลัก[13,14] และเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย[5,14,16] เนื่องจากยูจีนอลเป็นสารประกอบประเภทฟีนอล โดยจะออกฤทธิ์ที่ชั้นไขมันซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรีย และซึมผ่านเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการแตกของเซลล์แบคทีเรีย โดยยูจีนอลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ[18] มีรายงานกล่าวถึงกรดยูโซลิคและกรดโอเลโนอิก ว่ากรดทั้งสองมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยยับยั้งการสังเคราะห์กลูแคน (glucan) ชนิดที่ไม่ละลายน้ำ จากปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคซิลทรานเฟอเรส (glucosyltransferase; GTase) ของเชื้อเสต็ปโตค็อคคัส มิวแทนส์ และสเตร็ปโตคอคคัส ซอบรินัส (*Streptococcus sorbrinus*)[19] คุณสมบัติการต้านเชื้อก่อโรคได้แก่ เชื้อเสตร็ปโตคอคคัส นิวโมเนีย (*Streptococcus pneumonia*), สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส, บาซิลลัส ซับติลิส, เอนเทอโรคอคคัส ฟีคาอีส, เอนเทอโรคอคคัส ฟีเซียม (*Enterococcus faecium*) และซูโดโมแนส แอรูจิโนซา[19] อีกด้วย จากรายงานดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ว่าฤทธิ์การต้านเชื้อเสตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบออกฤทธิ์ คือ ยูจีนอล, กรดยูโรลิค และกรดโอเลโนอิก

อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เนื่องจากการหาขอบเขตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา และการหาค่าการทดสอบเพื่อหาการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำลายเชื้อได้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเบื้องต้น โดยทราบเพียงว่าน้ำมันหอมระเหยกะเพรามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อระดับปานกลาง แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าการต้านเชื้อที่เกิดขึ้นนั้น เกิดจากส่วนประกอบที่เป็นสารออกฤทธิ์ชนิดใด จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมรวมทั้งการทดสอบเพิ่มเติมในแบคทีเรียที่แยกได้จากรอยโรคของผู้ป่วยซึ่งอาจมีความแตกต่างจากแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่ใช้ทดสอบในการศึกษาครั้งนี้ รวมทั้ง

การศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่มีต่อเซลล์ด้วย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารสกัดกะเพราด้วยเอธานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ไม่เป็นพิษต่อหนูทดลอง ทั้งแบบเฉียบพลัน และกึ่งเฉียบพลัน โดยการให้สารสกัดกะเพราทางช่องปากของสัตว์ทดลอง และมีความปลอดภัยในการนำมาใช้สำหรับคน[20] ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นแนวทางในการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อการนำน้ำมันหอมระเหยกะเพราไปใช้ประโยชน์ในการป้องกัน หรือรักษาโรคฟันผุต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ผู้วิจัย ได้รับความกรุณาอย่างสูงจากศาสตราจารย์ ดร.ทพญ.สร้อยศิริ ทวีบูรณ์ รองคณบดีฝ่ายวิจัย ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่อง ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งผู้วิจัยตระหนักถึงความเมตตาของอาจารย์จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการปฏิบัติงานวิจัยไว้ณ ที่นี้ด้วย

Funding: None

Competing interests: None

Ethical approval: None

เอกสารอ้างอิง

1. Kath R, Gupta R. Antioxidant activity of hydroalcoholic leaf extract of Ocimum sanctum in animal models of peptic ulcer. ***Indian Journal of Physiology and Pharmacology***. 2006; 50:391-96.
2. Prakash P, Gupta N. Therapeutic uses of Ocimum sanctum Linn (Tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions: a short review. ***Indian Journal of Physiology and Pharmacology***. 2005; 49:125-31.
3. Agarwal P, Nagesh L. Evaluation of the antimicrobial activity of various concentrations of Tulsi (Ocimum sanctum) extract against *Streptococcus mutans*: An in vitro study. ***Indian Journal of Dental Research.*** 2010;21:357-59.
4. Singh S, Taneja M, Majumdar DK. Biological activities of Ocimum sanctum L. fixed oil-An overview. ***Indian Journal of Experimental Biology.*** 2007; 45:403-12.
5. Singh V, Verma O. Ocimum sanctum (tulsi): Bio-pharmacological activities. ***Webmedcentral.*** 2010;1:WMC001046.
6. Mathew S. An Evaluation of the antimicrobial activity of various concentrations of Ocimum sanctum against various species of Bacteria: an *Invitro* Study. ***International Journal of Advances in Applied Sciences***.2014;3:33-6.
7. Bhatt Mehul K, M.B. Shankar, Saluja Ajay K, Dholwani Kishor K, Captain A.D. Evaluation of anti-microbial activity of Ocimum sanctum methanolic extract. ***Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation***. 2012:39-41.
8. Mistry KS, Sanghvi Z, Parmar G, Shah S. The antimicrobial activity of Azadirachta indica, Mimusops elengi, Tinospora cardifolia, Ocimum sanctum and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An *in vitro* study. ***European Journal of Dentistry***. 2014;8:172-77.
9. Pawar B, Pandit B. Antibacterial activity of leaf extracts of *Ocimum sanctum* L. against *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*. ***Research Journal of Recent Sciences***. 2014; 3:291-94.
10. Rahman S, Islam R, Kamruzzaman M, Alam K, Jamal AHM.*Ocimum sanctum* L.: A review of phytochemical and pharmacological profile. ***American Journal of Drug Discovery and Development***. 2011; ISSN 2150-427x / DOI: 10.3923.
11. Pattanayak P, Behera P, Das D, Panda SK. *Ocimum sanctum* Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: An overview. ***Pharmacognosy Reviews***. 2010; 4:95-105.
12. Ali R, Chauhan V, Farooq S, Khan A, Farooq U, *In-vitro* Analysis of antibacterial activity of Ocimum sanctum against pathogenic bacteria and quantification of ursolic acid and oleanolic acid. ***International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research***. 2014;25: 13-17.

13. Sai K.G, Bhavani R.T, Prem K.P. "Tulsi"-the wonder herb (pharmacological activities of Ocimum sanctum). ***American Journal of Ethnomedicine***. 2014;1:89-95.
14. Gupta S.K, Prakash J, Srivastava S. Validation of traditional claim of Tulsi, *Ocimum sanctum* Linn. as a medicinal plant. ***Indian Journal of Experimental Biology***. 2002;40:765-73.
15. Kelm M.A., Nair M.G., Strasburg G.M., DeWitt D.L. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* Linn. ***Phytomedicine***. 2000;7:7-13.
16. Pandey A.K., Singh P, Tripathi N.N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some Ocimum species: an overview. ***Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine***. 2014; 4:682-94.
17. Kumar A, Shukla R, Singh P, Dubey N.K. Chemical composition, antifungal and antiaflatoxigenic activities of *Ocimum sanctum* L. essential oil and its safety assessment as plant based antimicrobial. ***Food and Chemical Toxicology***. 2010;48:539-43.
18. Oyedemi S.O., Okoh A.I, Mabinya L.V., Pirochenva G, Afolayan A.J. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol,∝-terpineol and γ-terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. ***African Journal of Biotechnology***. 2009;8:1280-86.
19. Jesus J.A., Lago J.H.G., Laurenti M.D., Yamamoto E.S., Passero L.F.D. Antimicrobial activity of oleanolic and ursolic acids: An Update. ***Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine***. 2015; Article ID 620472.
20. Gautam M.K., Goel R.K. Toxicological study of *Ocimum sanctum* Linn leaves: hematological, biochemical, and histopathological studies. ***Journal of Toxicology***. 2014;Article ID 135654.