ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.)
ชื่อนักศึกษา	ฐิติมา ละอองฐิติรัตน์
รหัสประจำตัว	58B54670102
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตรศึกษา
ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง
กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) หาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินทั้งหมด และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา 2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา 3) พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุด และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล 4) ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจล และ 5) ถ่ายทอดความรู้ที่ได้จากงานวิจัยสู่ชุมชนโดยจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ ผู้วิจัยทำการเตรียมสารสกัดหยาบโดยใช้ส่วนของใบและลำต้นโนรา นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% นำสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรามาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแทนนินทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay จากนั้นนำไปสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรามาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ด้วยวิธี Disk Diffusion หาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ด้วยวิธี Macro Broth Dilution Method นำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุดนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจล ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล ด้วยวิธี Heating Cooling 6 Cycle Method และนำผลิตภัณฑ์เจลที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง นำผลงานวิจัยที่ได้ถ่ายทอดสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ โดยใช้ชุดฝึกอบรมที่ได้ผ่านการหาคุณภาพโดยการหาค่าดัชนีความสอดคล้องโดยผู้ทรงคุณวุฒิ นำไปจัดการอบรมให้กับชุมชน จำนวน 30 คน ทำการเปรียบเทียบความรู้ก่อนและหลังอบรมโดยใช้การทดสอบค่าที และประเมินความพึงพอใจในการเข้าร่วมการอบรมโดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษาพบว่า

1) สารสกัดหยาบจากส่วนใบและลำต้นโนรามีปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด เท่ากับ 178.98±0.21 และ 127.82±0.77 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 270.15±0.49 และ 439.95±0.28 มิลลิกรัมของรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 200.58±0.37 และ 133.44±0.58 มิลลิกรัมของกรดแทนนิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ สารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า EC_{50} ซึ่งมีค่าเท่ากับ 132.84 และ 271.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2) เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ด้วยวิธี Disk Diffusion พบว่า สารสกัดหยาบใบโนราสามารถยับยั้งเชื้อได้ 5 ชนิด ได้แก่ *S. epidermidis* TISTR518 (13±0.00 มม.), *P. vulgaris* DMST557 (12.67±0.58 มม.), *S.aureus* TISTR2329 (12.33±0.58 มม.), *S. aureus* TISTR1466 (12±0.00 มม.) และ *S. mutans* DMST14283 (9.67±0.58 มม.) และสารสกัดหยาบลำต้นโนราสามารถยับยั้งเชื้อได้ 5 ชนิด ได้แก่ *S. epidermidis* TISTR518 (11.67 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR1466 (11.33 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR2329 (11.33 ± 0.58 มม.), *P. vulgaris* DMST557 (10.33 ± 0.58 มม.), และ *S. mutans* DMST14283 (6.67 ± 0.58 มม.) ซึ่งสารสกัดหยาบจากใบมีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคดีกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และสารสกัดหยาบทั้ง 2 ส่วน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781 และ *C. albicans* TISTR5554 เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรามาหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดหยาบจากใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 5 ชนิด ดีกว่าสารสกัดหยาบส่วนลำต้นโนราเนื่องจากมีปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า จึงเลือกสารสกัดหยาบจากใบโนรามาพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต่อไป

3) นำสารสกัดหยาบจากใบโนรามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง นำผลิตภัณฑ์เจลมาหาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ พบว่า เนื้อเจลมีสีเขียวอ่อน ลักษณะเนื้อของเจลใสรวมเป็นเนื้อเดียวกัน มีค่า pH 6.75 โดยไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล เมื่อนำมาทดสอบทดสอบความเสถียรของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผลิตภัณฑ์เจล มีสีเข้มขึ้น มีค่า pH เพิ่มขึ้น และไม่พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์

4) เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรามาหาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง พบว่า ผลิตภัณฑ์เจลมีประสิทธิภาพฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังลดลง ดังนี้ เชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 (10.33 ± 0.58 มม.), *P. vulgaris* DMST557 (9.67 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR2329 (10.33 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR1466 (10.33 ± 0.58 มม.) และ *S. mutans* DMST14283 (8.33 ± 0.58 มม.) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

5) การจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับชุมชน โดยใช้ชุดอบรมเชิงปฏิบัติการ พบว่า มีค่าดัชนีความสอดคล้อง เท่ากับ 0.97 และเมื่อนำไปจัดอบรม พบว่า หลังอบรมผู้เข้าร่วมอบรมมีความรู้สูงกว่าก่อนอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 นอกจากนี้ยังพบว่า ผลประเมินความพึงพอใจในการอบรมอยู่ในระดับพึงพอใจมาก ($\overline{X}$ = 4.69, S.D. = 0.59)

คำสำคัญ : ต้นโนรา ผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเจริญของจุลินทรีย์

Thesis Title	Development of Gel for Antimicrobial Activity Causing Skin Disease from *Hiptage candicans* Hook.f. Crude Extract
Student	Thitima La-ongthitirat
Student ID	58B54670102
Degree	Master of Science
Field of Study	Science Education
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr.Poonyanuch Nilsang
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Dr.Sasamol Phasuk

ABSTRACT

The objectives of this research were to 1) analyze the total phenolic, flavonoid and tannin contents and anti-oxidant activity in the crude extract from the stems and leaves of *Hiptage candicans* Hook.f., 2) study the antimicrobial activity of the crude extract on skin pathogens, 3) develop a gel to counter microbial activity causing skin disease containing elements of the better crude extracts as well as study the stability of its chemical-physical properties and its microbiological contamination, 4 study the antimicrobial activity of the gel products in the laboratory, and 5) transfer the knowledge to communities through training workshops. The stems and leaves of *Hiptage candicans* Hook.f. were extracted using 95% ethanol to investigate the total phenolics. The total tannin content was determined using the Folin-Ciocalteu method while the total flavonoid content was determined using the aluminum chloride colorimetric method. The anti-oxidant activity was determined using the DPPH radical scavenging assay method. The screening of the antimicrobial activity of the extracts was conducted using a disc diffusion method. The minimum inhibition concentration and the minimum bactericidal concentration of the extracts were determined using the macro broth dilution method. The development of gel for antimicrobial activity causing skin disease using crude extracts from the stems and leaves of *Hiptage candicans* Hook.f. was formulated and tested for antimicrobial activity against skin pathogens using the macro broth dilution method. The gel's physical and chemical stability was tested using the heating cooling 6 cycle method. The microbiological contamination of the gel was also investigated. Finally, the knowledge was transferred to the community through 30 people as a research sample through workshop training. The quality of the training tools was determined using the index of congruence. Mean, standard deviation and t-test were used to evaluate the knowledge presented in the pre-test and post-test after the training.

The results revealed that:

1) The crude extracts of the leaves and stems of *Hiptage candicans* Hook.f. were found to have total phenolic contents of 178.98±0.21 and 127.82±0.77 mg of GAE/gram of extract, respectively. Total flavonoid contents were found to be 270.15±0.49 and 439.95±0.28 mg of ruitn/gram of extract, respectively. In addition the total tannin contents were 200.58±0.37 and 133.44±0.58 mg of tannic acid/gram of extract, respectively. The leaf

crude extracts showed a higher anti-oxidant activity than stem crude extracted EC_{50} with 132.84 and 271.67 µg./ml., respectively.

2) The screening of the antimicrobial activity of the extracts was conducted using the disc diffusion method. The results showed that the leaf crude extracts had antimicrobial activity and were effective against five stains of skin pathogen, namely *S. epidermidis* TISTR518 (13.00±0.00 mm.), *P. vulgaris* DMST557 (12.67±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR2329 (12.33±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR1466 (12±0.00 mm.) and *S. mutans* DMST14283 (9.67±0.58 mm.). Meanwhile, the stem crude extracts were also effective against the five stains of skin pathogen, namely *S. epidermidis* TISTR518 (11.67 ± 0.58 mm.), *S. aureus* TISTR1466 (11.33 ± 0.58 mm.), *S. aureus* TISTR2329 (11.33 ± 0.58 mm.), *P. vulgaris* DMST557 (10.33 ± 0.58 mm.), and *S. mutans* DMST14283 (6.67 ± 0.58 mm.). The leaf crude extracts were found to have more effects on microbial activity than the stem crude extracts at a statistically significant level ($p \leq 0.05$). However, both crude extracts did not show any antimicrobial activity against *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781 and *C. albicans* TISTR5554. Additionally, the minimum inhibition concentration and the minimum bactericidal concentration of the crude extracts were determined. The results showed that the leaf crude extracts had more effects on microbial activity than the stem crude extracts. Finally, the leaf crude extracts were selected to produce the gel to counter microbial activity causing skin disease due to their lower minimum inhibition concentration and minimum bactericidal concentration.

3) The leaf crude extracts was developed as gel to fight microbial activity causing skin disease. It was found that the gels containing leaf crude extracts were light green. The gel was slightly acidic with a pH of 6.75, whereas there was no bacteria or fungi contamination. The physical-chemical stability revealed that the gel's color turned dark. Its pH value also increased, but no bacteria or fungi contamination.

4) The antimicrobial gel against skin pathogens was tested using the disc diffusion method. The gel using leaf crude extracts was found to be effective against S. *epidermidis* TISTR518 (10.33±0.58 mm.), *P. vulgaris* DMST557 (9.67±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR2329 (10.33±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR1466 (10.33±0.58 mm.) and *S. mutans* DMST14283 (8.33±0.58 mm.) at the statistically significant level of 0.05.

5) The training workshop with the index of congruence of 0.97, revealed an increase in knowledge of participants at the statistically significant level of 0.05. In addition, satisfaction with the training was found to be at the highest level. ($\overline{X}$ = 4.69, S.D.= 0.59).

Keywords: *Hiptage candicans* Hook.f., Gel for Anti-Microbial Activity Causing Skin Disease, Minimum Inhibition Concentration

GRAD VRU