ผลของสารสกัดหยาบจากข่อย ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชันแต่ละชนิดร่วมกับคลอเฮกซิดีนในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์

ปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล แก้วมณี* นันทพัทธ์ เอี่ยมตระกูล พัทธนันท์ ศรีทวีทรัพย์*** อภิชญา สุนทรภูษิต**** จิรภาค จาตุรนต์***** เบญญาดา ธีระอรรถเวช********

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ของคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ข่อย ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ สกัดสารสมุนไพรข่อย ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชันด้วยด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และนำสารแต่ละชนิดมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบจากข่อย ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชัน แต่ละชนิดร่วมกับคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นต่าง ๆ มาทดสอบผลในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ โดยใช้วิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น

ผลการทดลอง สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันให้ฤทธิ์ในการยับยังเชื้อเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้สูงที่สุดในทุกความเข้มข้น รองลงมาได้แก่ สารสกัดหยาบจากข่อยและฟ้าทะลายโจร ตามลำดับ และจากการศึกษาคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อย ฟ้าทะลายโจรและขมิ้นชันแต่ละชนิดพบว่าสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:4 และ 1:2, 1:4 และ 1:4, 1:16 และ 1:2, 1:64 และ 1:2 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากกว่าหรือเท่ากับของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 และสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 1:2 ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากกว่าคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12

สรุป สารสกัดหยาบจากข่อย และฟ้าทะลายโจรเมื่อนำมาใช้ร่วมกับคลอเฮกซิดีนในความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้เทียบเท่ากับคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 และเมื่อนำข่อยความเข้มข้น 1:2 ร่วมกับความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของคลอเฮกซิดีนคือ 1:64 สามารถให้ผลการยับยั้งเชื้อได้เทียบเท่ากับคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 ซึ่งสามารถลดการใช้คลอเฮกซิดีนลงได้ถึง 64 เท่า

คำสำคัญ: ข่อย ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน คลอเฮกซิดีน สเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์

Received Date: May 11, 2022
Revise Date: Nov 28, 2022
Accept Date: Jan, 10 2023

**ภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

***คลินิกเอกชน กรุงเทพมหานคร*

****โรงพยาบาลทันตกรรมมหาจักรีสิรินธร 999 ม.5 ถ.บรมราชชนนี ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170*

*****โรงพยาบาลภูเขียวเฉลิมพระเกียรติ 149 ม.4 ถ.ภูเขียว-ชุมแพ ต.ผักปัง อ.ภูเขียว จ.ชัยภูมิ 36110*

******โรงพยาบาลกะเปอร์ 195 หมู่1 ต.กะเปอร์ อ.กะเปอร์ จ.ระนอง 85120*

*******ภาควิชาทันตกรรมทั่วไป คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

The Effect of each Crude Extract from *Streblus asper, Andrographis paniculata* and *Curcuma longa* in combination with Chlorhexidine for Antimicrobial Activity against *Streptococcus mutans*

Paramaporn Chiewpattanakul Kaewmanee* Nanthapat Aiumtrakul**
Pattanan Sritaweesap* Apichaya Soonthornpusit**** Jiraphak Jaturont*******
Benyada Theerautthavate******

Abstract

Objective: To study the antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* of chlorhexidine in combination with each crude extract from *Streblus asper, Andrographis paniculata* and *Curcuma longa.*

Material and methods: *Streblus asper, Andrographis paniculata* and *Curcuma longa* were extracted with 95% ethanol and each crude extract was studied for antimicrobial activity against *Streptococcus mutans.* Then each crude extract from *S. asper, A. paniculata* and *C. longa* combining with chlorhexidine in various concentrations was studied for antimicrobial activity against *S. mutans* by using disc diffusion method.

Results: The crude extract from *C. longa* displayed the highest antimicrobial activities against *S. mutans* in all concentrations, then *S. asper* and *A. paniculata,* respectively. The study of chlorhexidine with each crude extract from *S. asper, A. paniculata* and *C. longa* showed that chlorhexidine with *S. asper* concentration 1:4 and 1:2, 1:4 and 1:4, 1:16 and 1:2, 1:64 and 1:2 gave the mean of inhibition zone diameters greater than or equal to the 0.12% chlorhexidine. Moreover the chlorhexidine concentration 1:4 combined with *A. paniculata* concentration 1:2 exhibited the higher mean of inhibition zone diameters than 0.12% chlorhexidine.

Conclusion: The crude extract from *S. asper* and *A. paniculata* when combining with chlorhexidine in appropriate concentration, could inhibit *S. mutans* which as equals to 0.12% chlorhexidine. Using crude extracts from *S. asper* concentration 1:2 in combination with the lowest concentration of chlorhexidine (1:64), could show antimicrobial activities similar to 0.12% chlorhexidine, which can reduce the use of chlorhexidine by 64 times.

Keywords: *Streblus asper, Andrographis paniculate, Curcuma longa,* Chlorhexidine, *Streptococcus mutans*

** Department of Stomatology, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok 10110, Thailand.*
*** Private Clinic, Bangkok, Thailand.*
**** Mahachakri Sirindhorn Dental Hospital 999 Moo.5, Borommaratchachonnani Rd., Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand.*
***** Phu Khiao Chaloem Phra Kiat Hospital 149 Moo.4, Phukieo-Chumphae Rd., Tambon Phak Pang, Phu Khiao District, Chaiyaphum 36110, Thailand.*
****** Kapoe hospital 195 Moo.1, Tambon Kapoe, Amphoe Kapoe, Ranong 85120, Thailand.*
******* Department of General dentistry, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok 10110, Thailand.*

บทนำ

เชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ *(Streptococcus mutans)* เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ โดยเชื้อดังกล่าวจะสร้างกรดแลคติก (lactic acid) จากอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาลทำให้เกิดการเสียสมดุลระหว่างการดูดกลับแร่ธาตุ (remineralization) และการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) ของผิวฟันจึงทำให้ผิวฟันอ่อนแอจนเกิดเป็นโพรงฟัน และอาจลุกลามไปจนสูญเสียฟันทั้งซี่ได้ (1) การยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการเกิดโรคฟันผุ โดยการยับยั้งนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ยาต้านจุลชีพในกลุ่มอิริโทรมัยซิน (Erythromycin) เพนิซิลิน (Penicillin) เมทิซิลลิน (Methicillin) และลินโคมัยซิน (Lincomycin) เป็นต้น (2) การใช้สารเคมีในน้ำยาบ้วนปาก ได้แก่ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) (3,4,5) และไซลิทอล (Xylitol) (6,7,8) รวมถึงการใช้พืชสมุนไพร ได้แก่ ฟ้าทะลายโจร *(Andrographis paniculata* (9,10,11) ขมิ้นชัน *(Curcama longa Linn.)* (12,13,14) มะรุม *(Moringa oleifera)* (15,16,17) โหระพา *(Ocimum basilicum)* (18,19) และข่อย *(Streblus asper Lour.)* (20,21,22) แต่การใช้ยาต้านจุลชีพในปริมาณและระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้แบคทีเรียดื้อยามากขึ้น และอาจทำให้เกิดการเสียสมดุลของเชื้อจุลชีพประจำถิ่น (23) หรือการใช้สารเคมีอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงตามมา เช่น การติดสีที่ฟันจากการใช้น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของคลอเฮกซิดีน (24) ที่ผ่านมามีรายงานว่าการใช้สารสกัดจากสมุนไพรร่วมกับยาต้านจุลชีพซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการเสริมฤทธิ์กัน เช่น การศึกษาเกี่ยวกับอันตรกิริยาระหว่างสมุนไพรไทมบรา สปิคาตา แอล *(Thymbra spicata* L.) กับยาฆ่าเชื้อเซโฟแทกซีม (cefotaxime) ต่อการต้านเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส *(Staphylococcus aureus)* (25) และการศึกษาของ Betoni และคณะ ปี 2006 ที่พบว่า กานพลู (clove) ฝรั่ง (guava) และตะไคร้ (lemongrass) สามารถเสริมฤทธิ์กับเตตราไซคลีน (Tetracycline) ในการต้านเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียสได้ (26) จากผลการศึกษาที่กล่าวมา คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำสารสกัดจากสมุนไพรมาใช้ร่วมกับสารเคมีในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เพื่อเป็นการลดปริมาณสารเคมีและผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นโดยทำการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด ร่วมกับคลอเฮกซิดีนในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ซึ่งสมุนไพรที่ใช้ ได้แก่ ข่อย ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ (Material and Method)

1. การเตรียมเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์

นำเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ จากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งไมติสซาไลวาเรียสอะการ์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาคัดแยกโคโลนีบริสุทธิ์ของเชื้อใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งทริปติกซอยอะการ์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำโคโลนีบริสุทธิ์มาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวทริปติกซอยบรอทบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ 0.5 ของมาตรฐานแม็กฟาร์แลน

2. การเตรียม และสกัดสารจากสมุนไพร ข่อย ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน

คัดเลือกส่วนของพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการทดลองโดยข่อยและฟ้าทะลายโจร คัดเฉพาะใบที่โตเต็มที่มีขนาดใกล้เคียงกันไม่รวมส่วนก้านใบย่อย ไม่มีส่วนแห้งหรือเน่า ส่วนขมิ้นชันใช้เฉพาะเหง้าที่สมบูรณ์ ไม่มีส่วนเน่าหรือมีเชื้อรา แล้วนำส่วนของพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมาล้างให้สะอาดและวางผึ่งลมไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำมาบดให้เป็นผงละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น นำสมุนไพรที่บดละเอียดแล้วละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 กรัมต่อมิลลิลิตร บรรจุในขวดปริมาตรทรงกรวยที่มีฝาปิดสนิท และเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าสารละลายแบบวงกลมในแนวนอนที่อัตราเร็ว 125 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 4 และนำสารสกัดหยาบที่กรองแล้วมาใช้เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นสำหรับการทดลองขั้นต่อไป (10)

3. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น

3.1 การทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ต่อคลอเฮกซิดีน

เจือจางคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธีการจือจาง 4 เท่า (serial four-fold dilution) ให้ได้ความเข้มข้น 1:4, 1:16, 1:64 และ 1:256 จากนั้นหยดคลอเฮกซิดีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ได้เตรียมไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรองเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร และปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง กระจายเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ที่มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 ของมาตรฐานแม็กฟาร์แลน ($1x10^6$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งมุลเลอร์ฮิลตันอะการ์ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อทิ้งไว้ 5 นาทีเพื่อให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร ที่หยดด้วยคลอเฮกซิดีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วมาวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งมุลเลอร์ฮินตันอะการ์ที่เกลี่ยเชื้อแล้ว โดยมีเอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของการยับยั้งที่เกิดขึ้นแล้วบันทึกผล

3.2 การทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ต่อสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด

เจือจางสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ข่อย ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธีการเจือจาง 2 เท่า (serial two-fold dilution) ให้ได้ความเข้มข้น 1:2, 1:4 และ 1:8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการทดสอบด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่นเช่นเดียวกันกับข้อ 3.1 และอ่านค่าโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของการยับยั้งที่เกิดขึ้นแล้วบันทึกผล

3.3 การทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เมื่อใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด ร่วมกับคลอเฮกซิดีน

เตรียมคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4, 1:16, 1:64 และ 1:256 และสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ข่อย ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน ความเข้มข้น 1:2, 1:4 และ 1:8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอลร้อยละ 95

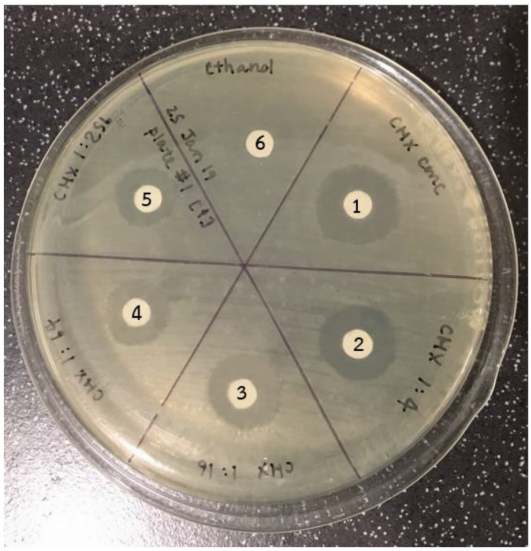
นำคลอเฮกซิดีน และสารสกัดหยาบจากสมุนไพรความเข้มข้นต่าง ๆ มาผสมกันให้ได้สารละลายทั้งหมด 12 สูตรต่อ 1 สมุนไพร ได้แก่ สารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนและสารสกัดหยาบจากสมุนไพรความเข้มข้น 1:4 และ 1:2, 1:4 และ 1:4, 1:4 และ 1:8, 1:16 และ 1:2, 1:16 และ 1:4, 1:16 และ 1:8, 1:64 และ 1:2, 1:64 และ 1:4, 1:64 และ 1:8, 1:256 และ 1:2, 1:256 และ 1:4 และ 1:256 และ 1:8 และทำการทดสอบด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่นเช่นเดียวกันกับข้อ 3.1 และอ่านค่าโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของการยับยั้งที่เกิดขึ้นแล้วบันทึกผล

ผลการทดลอง (Results)

1. ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น

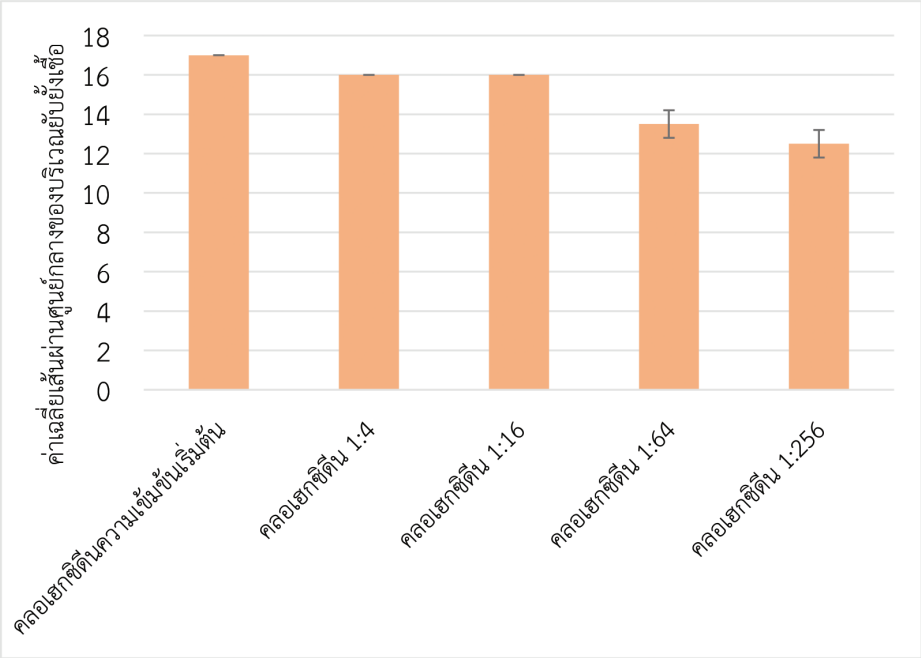
1.1 ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ต่อคลอเฮกซิดีน

จากผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น 1:4, 1:16, 1:64 และ 1:256 เท่ากับ 17.0 ± 0.0, 16.0 ± 0.0, 16.0 ± 0.0, 14.5 ± 0.7 และ 12.5 ± 0.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 1) โดยคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้นได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากที่สุด รองลงมาคือ ความเข้มข้น 1:4 ซึ่งมีค่าบริเวณยับยั้งเชื้อเท่ากับความเข้มข้น 1:6 และที่ความเข้มข้น 1:64 และ 1:256 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อลดลงตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 1 แสดงผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ด้วยคลอเฮกซิดีน, (1) ความเข้มข้นเริ่มต้น, (2) ความเข้มข้น 1:4, (3) ความเข้มข้น 1:16, (4) ความเข้มข้น 1:64, (5) ความเข้มข้น 1:256 และ (6) เอทานอลร้อยละ 95

Fig 1. Shows the inhibition zone of *Streptococcus mutans* with chlorhexidine at (1) initial concentration, (2) concentration 1:4, (3) concentration 1:16, (4) concentration 1:64, (5) concentration 1:256 and (6) 95% ethanol.

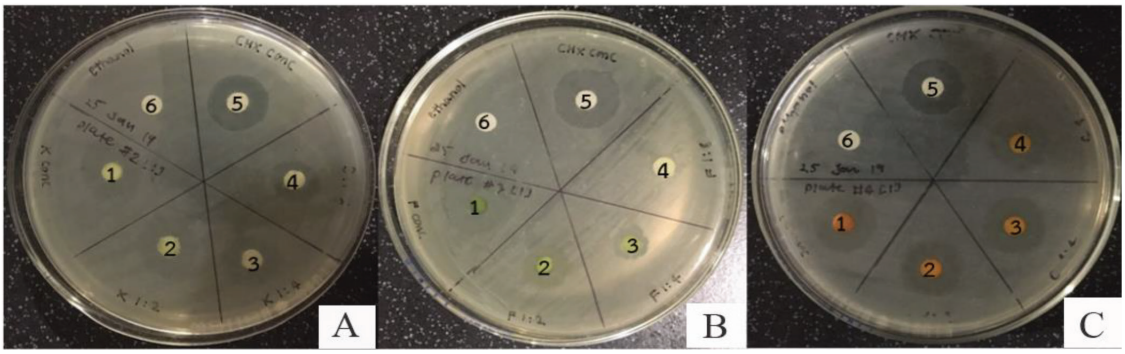


รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของคลอเฮกซิดีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

Fig 2. Graph shows mean diameters of inhibition zone various concentrations of chlorhexidine.

2. ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ต่อสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ข่อย ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน

จากผลการศึกษาพบว่า ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของข่อยความเข้มข้นเริ่มต้น 1:2, 1:4 และ 1:8 เท่ากับ 17.5 ± 0.7, 16.5 ± 0.7, 16.0 ± 0.0 และ 11.0 ± 1.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของฟ้าทะลายโจรความเข้มข้นเริ่มต้น 1:2, 1:4 และ 1:8 เท่ากับ 17.5 ± 0.7, 12.5 ± 0.7, 9.5 ± 0.7 และ 7.0 ± 0.0 มิลลิเมตรตามลำดับ และค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของขมิ้นชันความเข้มข้นเริ่มต้น 1:2, 1:4 และ 1:8 เท่ากับ 17.5 ± 0.7, 17.0 ± 0.0, 15.5 ± 0.7 และ 14.5 ± 0.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 3



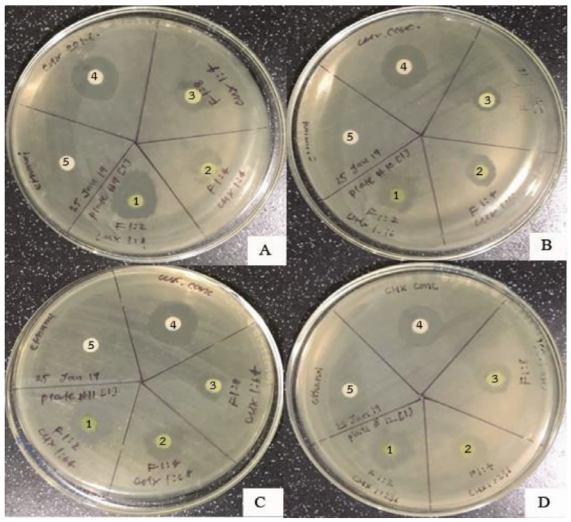
รูปที่ 3 แสดงผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ด้วยสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด, (A) สารสกัดหยาบจากข่อย, (B) สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจร, (C) สารสกัดหยาบจากขมิ้นชัน, (1) สารสกัดหยาบสมุนไพรความเข้มข้นเริ่มต้น, (2) สารสกัดหยาบสมุนไพรความเข้มข้น 1:2, (3) สารสกัดหยาบสมุนไพรความเข้มข้น 1:4, (4) สารสกัดหยาบสมุนไพรความเข้มข้น 1:8, (5) คลอเฮกซิดีน ความเข้มข้นเริ่มต้น และ (6) เอทานอลร้อยละ 95

Fig 3. Shows the inhibition zone of *Streptococcus mutans* with 3 crude herbal extracts, (A) *Streblus asper* crude extract, (B) *Andrographis paniculata* crude extract, (C) *Curcuma longa* crude extract, (1) crude herbal extract at initial concentration, (2) crude herbal extract at concentration 1:2, (3) crude herbal extract at concentration 1:4, (4) crude herbal extract at concentration 1:8, (5) chlorhexidine at initial concentration and (6) 95% ethanol.

3. ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์เมื่อใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด ร่วมกับคลอเฮกซิดีน

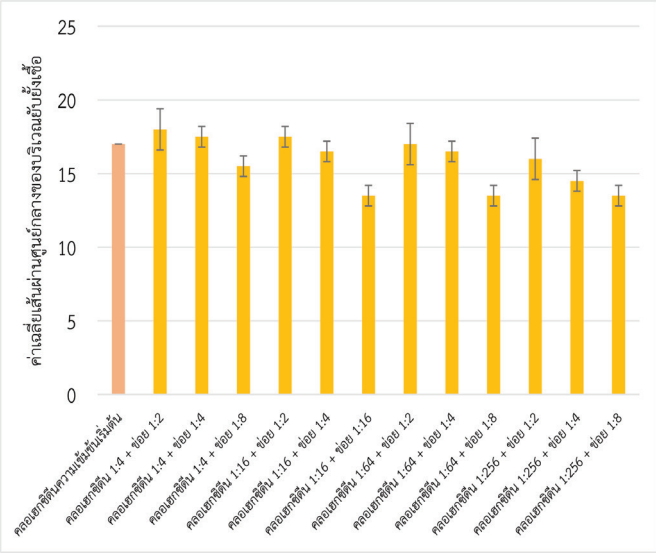
3.1 ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เมื่อใช้สารสกัดหยาบจากข่อยร่วมกับคลอเฮกซิดีน

จากการศึกษาพบว่าสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:2 ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า สารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:4 และ 1:4, 1:16 และ 1:2, 1:64 และ 1:2 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากกว่าหรือเท่ากับของคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้นดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5



รูปที่ 4 แสดงผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ด้วยสารสกัดหยาบจากข่อยร่วมกับคลอเฮกซิดีน, (A) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4, (B) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:16, (C) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:64, (D) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:256, (1) สารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:2, (2) สารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:4, (3) สารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:8, (4) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น และ (5) เอทานอลร้อยละ 95

Fig 4. Shows inhibition zone of *Streptococcus mutans* with crude extract from *Streblus asper* combine with chlorhexidine, (A) chlorhexidine at concentration 1:4, (B) chlorhexidine at concentration 1:16, (C) chlorhexidine at concentration 1:64, (D) chlorhexidine at concentration 1:256, (1) crude extracts from *Streblus asper* at concentration 1:2, (2) crude extracts from *Streblus asper* at concentration 1:4, (3) crude extracts from *Streblus asper* at concentration 1:8, (4) chlorhexidine at initial concentration, (5) 95 % of ethanol.

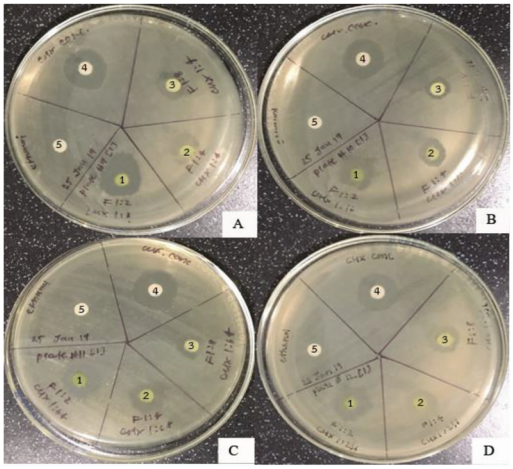


รูปที่ 5 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น และสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้นต่าง ๆ

Fig 5. The graph shows the mean inhibitory zone diameters of chlorhexidine at initial concentration and chlorhexidine combine with various concentrations of crude extract from *Streblus asper*.

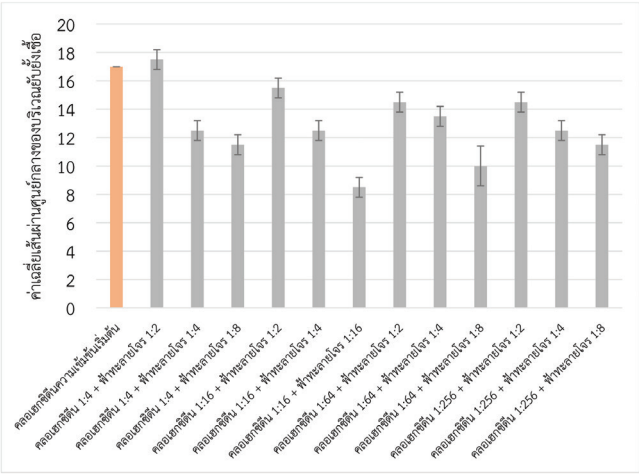
3.2 ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เมื่อใช้สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรร่วมกับคลอเฮกซิดีน

จากการศึกษาพบว่าสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 1:2 ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากที่สุด และมากกว่าคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้นดังแสดงในรูปที่ 6 และ 7



รูปที่ 6 แสดงผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ด้วยสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรร่วมกับคลอเฮกซิดีน, (A) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4, (B) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:16, (C) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:64, (D) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:256, (1) สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 1:2, (2) สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 1:4, (3) สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 1:8, (4) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น และ (5) เอทานอลร้อยละ 95

Fig 6. Shows inhibition zone of *Streptococcus mutans* with crude extract from *Andrographis paniculata* combine with chlorhexidine, (A) chlorhexidine at concentration 1:4, (B) chlorhexidine at concentration 1:16, (C) chlorhexidine at concentration 1:64, (D) chlorhexidine at concentration 1:256, (1) crude extracts from *Andrographis paniculata* at concentration 1:2, (2) crude extracts from *Andrographis paniculata* at concentration 1:4, (3) crude extracts from *Andrographis paniculata* at concentration 1:8, (4) chlorhexidine at initial concentration, (5) 95 % of ethanol.

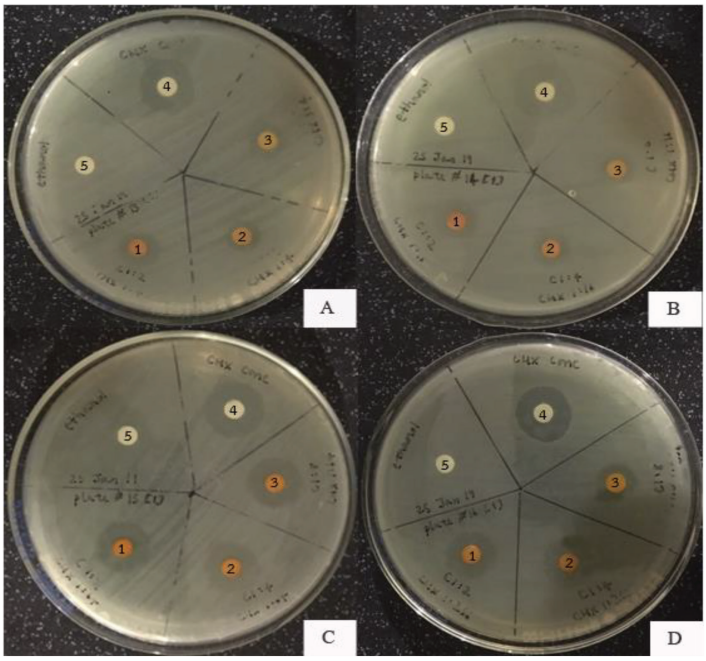


รูปที่ 7 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้นและสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายความเข้มข้นต่างๆ

Fig 7. The graph shows the mean inhibitory zone diameters of chlorhexidine at initial concentration and chlorhexidine combine with various concentrations of crude extract from *Andrographis paniculata.*

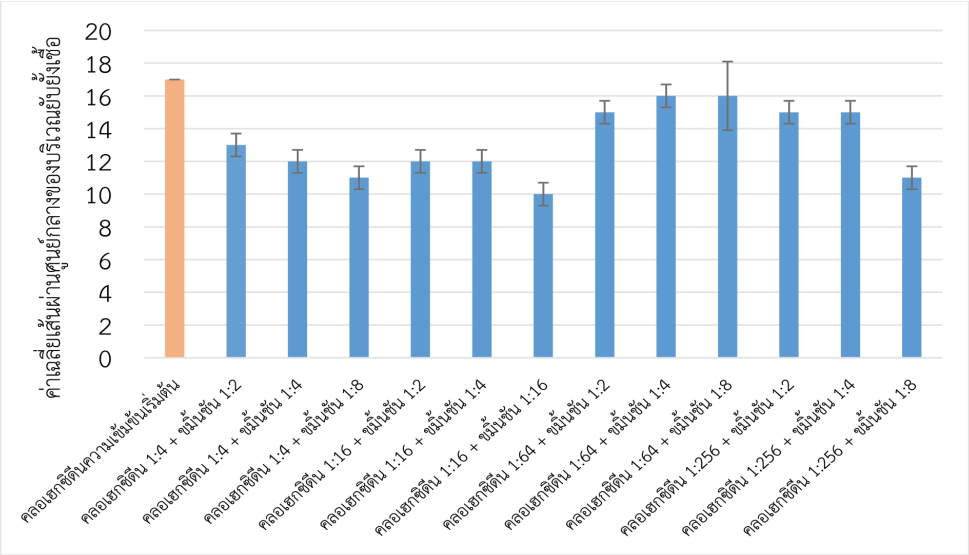
3.3 การทดสอบความไวของเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ เมื่อใช้สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันร่วมกับคลอเฮกซิดีน

จากการศึกษาพบว่า สารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:64 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากขมิ้นชันความเข้มข้น 1:4 และสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:64 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากขมิ้นชันความเข้มข้น 1:8 ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากที่สุดแต่น้อยกว่าคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้นจากรูปที่ 8 และ 9



รูปที่ 8 แสดงผลการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ด้วยสารสกัดหยาบจากขมิ้นชันร่วมกับคลอเฮกซิดีน, (A) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4, (B) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:16, (C) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:64, (D) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:256, (1) สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันความเข้มข้น 1:2, (2) สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันความเข้มข้น 1:4, (3) สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันความเข้มข้น 1:8, (4) คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น และ (5) เอทานอลร้อยละ 95

Fig 8. Shows inhibition zone of *Streptococcus mutans* with crude extract from *Curcuma longa* combine with chlorhexidine, (A) chlorhexidine at concentration 1:4, (B) chlorhexidine at concentration 1:16, (C) chlorhexidine at concentration 1:64, (D) chlorhexidine at concentration 1:256, (1) crude extracts from *Curcuma longa* at concentration 1:2, (2) crude extracts from *Curcuma longa* at concentration 1:4, (3) crude extracts from *Curcuma longa* at concentration 1:8, (4) chlorhexidine at initial concentration, (5) 95 % of ethanol.



รูปที่ 9 แผนภูมิ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น และสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากขมิ้นชันความเข้มข้นต่าง ๆ

Fig 9. The graph shows the mean inhibitory zone diameters of chlorhexidine at initial concentration and chlorhexidine combine with various concentrations of crude extract from *Curcuma longa.*

บทวิจารณ์ (Discussion)

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่นพบว่าสารสกัดหยาบจากข่อย ฟ้าทะลายโจร และขมิ้นชันทำให้เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ กล่าวได้ว่าสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาของ สุภารีและคณะ ปี 2002 ที่พบว่าสารสกัดจากใบข่อยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในกลุ่มสเตร็ปโตคอคคัส ได้แก่ เชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้ (27) และการศึกษาของ Amornchat และคณะ ปี 1991 ที่พบว่าฟ้าทะลายโจรมีส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้ คือส่วนของแลคโตน และสารฟลาโวนอยด์ (28) รวมไปถึงการศึกษาของ Ahmad และคณะ ปี 2008 ที่รายงานว่าสารเคอร์คูมินในขมิ้นชันยับยั้งการสร้างไบโอฟิลม์ของสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ซอเทสเอ (sortase A) ทำให้ขมิ้นชันมีลักษณะเป็นสารต้านฟันผุ เนื่องจากมีกลไกที่ลดการยึดเกาะของแบคทีเรียได้ (29) โดยจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าขมิ้นชันมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ในทุกความเข้มข้น รองลงมาได้แก่ ข่อยและฟ้าทะลายโจรตามลำดับ ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของจิ๋วพัฒนกุล และคณะ ปี 2014 ซึ่งนำขมิ้นชัน และฟ้าทะลายโจรมาเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ที่ 24 ชั่วโมง กลับพบว่าฟ้าทะลายโจรให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อมากกว่าขมิ้นชันโดยให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (10) โดยอาจเนื่องมาจากแหล่งที่มาของขมิ้นชันที่แตกต่างกันอาจส่งผลต่อองค์ประกอบของสารสมุนไพรที่แตกต่างกันทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์แตกต่างกันได้ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในครั้งนี้เมื่อนำคลอเฮกซิดีนมาผสมเข้ากับสมุนไพรแต่ละชนิดพบว่าสารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้น 1:2 ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณ

ยับยั้งเชื้อมากที่สุด รองลงมาได้แก่ สารละลายที่มีคลอเฮกซิดีนความเข้มข้น 1:4 ร่วมกับสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 1:2 ซึ่งทั้งสองความเข้มข้นนี้ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อที่มากกว่าคลอเฮกซิดีนความเข้มข้นเริ่มต้น นอกจากนี้ยังพบว่าขมิ้นชัน ซึ่งมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อเมื่อใช้แบบเดียว แต่เมื่อนำมาใช้ร่วมกับคลอเฮกซิดีนกลับให้ผลลัพธ์ที่แย่ลงเมื่อเปรียบเทียบกับข่อยและฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้นคลอเฮกซินดีนเท่ากัน อาจกล่าวได้ว่ามีปัจจัยที่ทำให้เกิดการหักล้างฤทธิ์กันระหว่างขมิ้นชันและคลอเฮกซิดีน เหมือนดังที่เกิดขึ้นกับการศึกษาของคงเจริญสุนทร และคณะ ในปี 2011 ที่ทำการศึกษาผลการเสริมฤทธิ์กันของสารสกัดทองพันชั่ง เมื่อใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ พบว่าการใช้การสกัดทองพันชั่งร่วมกับยาปฏิชีวนะแอมพิซิลินจะไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดื้อยาทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ อะซินีโตแบคเตอร์ บอมแมนนิอาย *(Acinetobacter baumannii)*, ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา *(Pseudomonas aeruginosa)* และสแตฟฟิโลคอกคัส ออเรียส ที่ดื้อยาเมธิซิลิน (Methicillin - Resistant *S. aureus*: MRSA) ได้ จึงควรแยกใช้ยาแอมพิซิลินเพียงอย่างเดียวหรือสารสกัดทองพันชั่งเพียงอย่างเดียวจะให้ผลดีกว่าการใช้ร่วมกันอาจเพราะมีสารบางอย่างในทองพันชั่งไปหักล้างฤทธิ์ของยาแอมพิซิลลิน (30) ส่วนข่อย และฟ้าทะลายโจร เมื่อนำมาใช้ร่วมกับคลอเฮกซิดีนในความเข้มข้นที่เหมาะสมจะสามารถให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้เทียบเท่ากับคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12

เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาที่ผ่านมาพบว่านอกจากสมุนไพรที่ได้ศึกษาในครั้งนี้ก็ยังมีสมุนไพรอื่น ๆ ที่สามารถยับยังเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ ได้แก่ โหระพา (*Ocimum basilicum*) มะรุม (*Moringa oleifera*) ใบบัวบก (*Centella asiatica*) (10) และใบพญาวานร (*Pseuderanthemun Palatiferum*)(31) อีกทั้งยังมีการศึกษาถึงส่วนประกอบของข่อยว่ามีความสามารถในการต้านเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส (*Porphyromonas gingivalis*) พรีโวเทลลา อินเตอร์มีเดีย (*Prevotella intermedia*) และแอกกริเกทิแบกเทอร์ แอกทิโนไมซีเทมคอมิแทนส์ (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) ได้ด้วยเช่นกัน (32,33) และมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคปริทันต์ของฟ้าทะลายโจรพบว่า เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของฟ้าทะลายโจร สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคปริทันต์และทำให้ลดร่องลึกปริทันต์ลงได้(34) การศึกษาถึงส่วนประกอบของสมุนไพรอีกตัวซึ่งได้แก่ ขมิ้นชันนั้นพบเช่นกันว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส พรีโวเทลลา อินเตอร์มีเดีย และฟูโซแบคทีเรีย นิวคลีเอตัม *(Fusobacterium nucleatum)* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคปริทันต์ที่สำคัญ (35) ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ยังเป็นเพียงข้อมูลพื้นฐานของการทดลองเพื่อให้ทราบถึงผลของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อก่อโรคฟันผุ อีกทั้งลองนำมาทดลองผสมเป็นสูตรต่าง ๆ ร่วมกันกับคลอเฮกซิดีนเพื่อลดปริมาณคลอเฮกซิดีนลง ในการนำไปประยุกต์ใช้จริงทางคลินิกในอนาคตในเรื่องของสีของสมุนไพรคงต้องถูกทำมาพิจารณาเพื่อปรับปรุงให้เหมาะสมและไม่เกิดการติดสีของสมุนไพรหากมีการนำไปใช้ในช่องปาก นอกจากนี้คงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคตทั้งในแง่การลดการติดสี และเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคฟันผุโดยมีการใช้คลอเฮกซิดีนเป็นส่วนผสมที่น้อยที่สุด

จากการศึกษาในครั้งนี้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีสารสมุนไพรร่วมกับสารเคมีเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อในการก่อโรคฟันผุในช่องปากในอนาคตต่อไป

บทสรุป (Conclusion)

เมื่อใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม สารสกัดจากข่อยและฟ้าทะลายโจร เมื่อนำมาใช้ร่วมกับคลอเฮกซิดีนจะสามารถให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ได้เทียบเท่ากับคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 โดยความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของคลอเฮกซิดีน เมื่อใช้ร่วมกับสมุนไพรที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อเทียบเท่ากับคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 ได้แก่ คลอเฮกซิดีนร่วมกับสารสกัดหยาบจากข่อยความเข้มข้นเท่ากับ 1:64 และ 1:2

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาโอษฐวิทยาคณะทันตแพทยศาสตร์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Hamada S, Slade HD. Biology, Immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans.* Microbiological Reviews.1980;44(2):331–84. doi: 10.1128/mr.44.2.331-384.1980.

2. Little WA, Thomson LA, Bowen WH. Antibiotic susceptibility of *Streptococcus mutans:* comparison of serotype profiles. Antimicrob Agents Chemother. 1979;15(3):440–3. doi: 10.1128/AAC.15.3.440.

3. Järvinen H, Tenovuo J Huovinen P. *In vitro* susceptibility of *Streptococcus mutans* to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37(5):1158-9. doi: 10.1128/aac.37.5.1158.

4. Bowden GH. *Mutans streptococci* caries and chlorhexidine. J Can Dent Assoc. 1996;62(9): 703-7.

5. Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against *Mutans streptococci* and human dental caries. J Dent Res. 1994;73(3):682-91. doi: 10.1177/00220345940730031401.

6. Nayak PA, Nayak UA, Khandelwal V. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. Clin Cosmet Investig Dent. 2014;6:89–94. doi: 10.2147/CCIDE.S55761.

7. Lynch H, Milgrom P. Xylitol and dental caries: an overview for clinicians. J Calif Dent Assoc. 2003;31(3):205-9.

8. Paula VAC, Modesto A, Santos KRN, Gleiser R. Antimicrobial effects of the combination of chlorhexidine and xylitol. Br Dent J. 2010; 209(12):1-5. doi: 10.1038/sj.bdj.2010.887.

9. Limsong J, Benjavongkulchai E, Kuvatanasuchati J. Inhibitory effect of some herbal extracts on adherence of *Streptococcus mutans.* J Ethnopharmacol. 2004;92(2-3):281-9. doi: 10.1016/j.jep.2004.03.008.

10. Chiewpattanakul P, Thongsong N, Suk-arj P, Kitisriworapan W. The study of the efficientcy of 5 herbal crude plant extracts and 0.12% chlorehexidine effecting to antimicrobial activity against *Streptococcus mutans.* SWU Dent J. 2014;7(2):76-89.

11. Songsurin K, Supaphon P, Boonnak N, Kaewpiboon C. The antimicrobial activity against dental pathogens of andrographolide isolated from *Andrographis paniculata* leaf. In: Ditsuwan V, editor. Research and Innovation for Social Stability, Prosperity and Sustainability. Proceedings of the 28th Thaksin University National Conference. 2019 May 8-9; Songkhla, Thailand. Phatthalung: Thaksin University; 2019. p. 900-7.

12. Hu P, Huang P, Chen MW. Curcumin reduces *Streptococcus mutans* biofilm formation by inhibiting sortase A activity. Arch Oral Biol. 2013;58(10):1343-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.05.004.

13. Li B, Li X, Lin H, Zhou Y. Curcumin as a promising antibacterial agent: effects on metabolism and biofilm formation in *S. mutans.* Biomed Res Int. 2018;2018:1-11. doi: 10.1155/2018/4508709.

14. Li B, Pan T, Lin H, Zhou Y. The enhancing antibiofilm activity of curcumin on *Streptococcus mutans* strains from severe early childhood caries. BMC Microbiol. 2020;20(1): 1-11. doi: 10.1186/s12866-020-01975-5.

15. Jwa SK. Efficacy of *Moringa oleifera* leaf extracts against cariogenic biofilm. Prev Nutr Food Sci. 2019;24(3):308-12. doi:10.3746/pnf.2019.24.3.308.

16. Elgamily H, Moussa A, Elboraey A, El-Sayed H, Al-Moghazy M, Abdalla A. Microbiological assessment of *Moringa Oleifera* extracts and its incorporation in novel dental remedies against some oral pathogens. Maced J Med Sci. 2016;4(4):585-90. doi: 10.3889/oamjms.2016.132.

17. Rani NZAR, Husain K, Kumolosasi E. Moringa genus: a review of phytochemistry and pharmacology. Front. Pharmacol. 2018;9;1-26. doi.org/10.3389/fphar.2018.00108.

18. Wiwattanarattanabut K, Choonharuangdej S, Srithavaj T. *In vitro* anti-cariogenic plaque effects of essential oils extracted from culinary herbs. J Clin Diagn Res. 2017;11(9):30-5. doi: 10.7860/JCDR/2017/28327.10668.

19. Rikmasari R, Zubaedah C, Dharsono HDA, Satari MH, Herdiyati Y, Kurnia D. Antibacterial potential of Kemangi (Ocimum basilicum L.) against pathogenic oral bacteria: An in vitro Study. Res J Med Plant. 2020;14(1):8-14. doi: 10.3923/rjmp.2020.8.14.

20. Rasiri S, Tantasit Y, Rasiri T, Kaewtai N. Use of herbal product for the treatment of oral diseases. Thai Dent Nurse J. 2017;28(2):124-33.

21. Taweechaisupapong S, Wongkham S, Chareonsuk S, Suparee S, Srilalai P, Chaiyarak S. Selective activity of *Streblus asper* on *Mutans streptococci.* J Ethnopharmacol. 2000;70(1):73-9. doi: 10.1016/s0378-8741(99)00140-3.

22. Wongkham S, Laupattarakasaem P, Pienthaweechai K, Areejitranusorn P, Wongkham C, Techanitiswad T. Antimicrobial activity of *Streblus asper* leaf extract. Phytother Res. 2001;15(2):119-21. doi: 10.1002/ptr.705.

23. Ventola, CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. Pharmacy and Therapeutics. 2015;40(4):277–83.

24. Batistin ZB, Antoniazzi RP and Rösing CK. Staining and calculus formation after 0.12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. J Appl Oral Sci. 2010;18(5):515–521.

25. Haroun MF, Al-Kayali RS. Synergistic effect of *Thymbra spicata* L. extracts with antibiotics against multidrug- resistant *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* strains. Iran J Basic Med Sci. 2016;19(11):1193-200.

26. Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Stasi LCD, Junior AF. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006;101(4): 387-390. doi.org/10.1590/S0074-02762006000400007.

27. Suparee S, Singhara S, Taweechaisupapong S, Ratanatongkam A, Choopan T, Wongkham S. Effect of mouthrinse containing *Streblus asper* leaf extract on gingivitis and plaque formation. Khon Kaen Dent J. 2002;52(6):383-91.

28. Amornchat C, Kraivaphan P, Kraivaphan V, Triratana T. The antibacterial activity of Andrographis paniculata crude extracts on oral bacteria. J Dent Assoc Thai. 1991;41:178-85.

29. Ahmad I, Zahin M, Aqil F, Hasan S, Khan MSA, Owais M. Bioactive compounds from *Punicagranatum, Curcuma* longa and Zingiberofficinale and their therapeutic potential. Drugs Future. 2008;33(4):329-46.

30. Kongcharoensuntorn W, Thakaew N, Chanapai N, Songsaku S, Budda E. Synergistic antibacterial effect of *Rhinacanthus nasutus* extract and antibiotics on antibiotic-resistant bacteria. Burapha Sci J. 2011;16(1):56-68.

31. Chiewpattanakul P. Kaweewongprasert P. Paisankobrit V. Vongsurasit T. The antimicrobial activity of *Pseuderanthemun Palatiferum* (Hoan ngoc) crude leaf extract against dental pathogens. SWU Dent J. 2012;5(1):34-41.

32. Taweechaisupapong S, Leela-aphiradee N, Laoprom P, Khamenkhan P. Effects of Koi *(Streblus asper)* on root canal bacteria. KDJ. 2000;3:41-7.

33. Taweechaisupapong S, Singhara S, Choopan T. Antimicrobial effect of *Streblus asper* leaf extract on selected anaerobic bacteria. J Dent Assoc Thai. 2002;52:227-34.

34. Thawornrungroj *S. Andrographis Paniculata* Gel and Periodontal Treatment. J DMS. 2018;43(2):99-104.

35. Bhatia M. Urolagin SS. Pentyala KB. Urolagin SB. Menaka KB. Bhoi S. Novel therapeutic approach for the treatment of periodontitis by curcumin. J. Clin. Diagn Res. 2014;8:ZC65–ZC69.

ติดต่อบทความ:
อ.ทพญ.เบญญาดา ธีระอรรถเวช
ภาควิชาทันตกรรมทั่วไป คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 แขวงคลองเตยเหนือ
เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110
โทรศัพท์ 087 409 2929
อีเมล์: jittima@g.swu.ac.th

Corresponding author:
Dr. Benyada Theerautthvate
Department of general dentistry,
Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot
University, 114 Sukhumvit 23, Bangkok 10110,
Thailand.
Tel: (668) 7409 2929
E-mail: jittima@g.swu.ac.th