Published Online: 28 DEC 2023

การพัฒนายาสีฟันที่มีสารสกัดมะหาด

Development of Toothpaste Containing the *Artocarpus lakoocha* Roxb. Extract

ธนพล ภัทรสัจจานันท์

อีเมล: 6251701264@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร.มยุรมาศ วิไล

อีเมล: mayuramas@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การค้นคว้าอิสระนี้จัดทำขึ้นเพื่อพัฒนาสูตรตำรับยาสีฟัน ทดสอบความคงตัวของยาสีฟัน และการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารสกัดมะหาด โดยสารสกัดมะหาดทำการสกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) โดยมี 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ค่าร้อยละโดยน้ำหนัก (%Yelid) ของสารสกัดแก่นมะหาดและเปลือกมะหาดอยู่ที่ 15.4±0.01 และ 18.0±0.02 ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดแก่นมะหาดและเปลือกมะหาดอยู่ที่ 35.00±0.00 และ 34.50±0.71 มม. ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Minimal inhibitory concentration (MIC) การทดสอบฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของแก่นมะหาดอยู่ที่ 1.56 และ 12.5 มก./มล. และของเปลือกมะหาดอยู่ที่ 3.125 และ 50 มก./มล. ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของยาสีฟันผสมสารสกัดมะหาดอยู่ที่ 15.00±0.50 มม. ผลประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ทางภายภาพ โดยการสุ่มตัวอย่างประชากรด้วยสูตรของทาโร ยามาเนะ (Taro Yamane) และวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม SPSS ที่ค่าความเชื่อมั่นอยู่ที่ 95% พบว่า เพศและอายุที่แตกต่างกันมีความเห็นในด้านสี กลิ่น เนื้อและภาพรวมของผลิตภัณฑ์ที่ไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มตัวอย่างทั้ง 79 คน มีค่าประเมินความพึงพอใจแบ่งตามเพศ ช่วงอายุ มีค่าประเมินความพึงพอใจอยู่ในระดับดี ทั้งนี้อาจสรุปได้ว่าสารสกัดมะหาดมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย จึงมีความเหมาะสมในการนำมาเป็นส่วนผสมเพื่อเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญในการพัฒนาสูตรยาสีฟัน

คำสำคัญ: ยาสีฟัน, มะหาด, ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

The purposes of this independent study were to develop the toothpaste formulation, and stability testing including the inhibitory effect on *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) bacteria of toothpaste containing the *Artocarpus lakoocha* ROXB. (Mahaad) extract. The heartwood and bark of Mahaad were extracted using 95% Ethanol as a solvent by the maceration technique. The percentage yield of Mahaad ethanolic extract from heartwood and bark was 15.4±0.01 and 18.0±0.02 respectively. Antibacterial activity against *S. mutans* of Mahad heartwood and bark by measuring the clear zone was 35.00±0.00 and 34.50±0.71 mm, respectively. The Minimal inhibitory concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) values of the Mahaad heartwood extract were 1.56 and 12.5 mg/ml while the Mahaad bark extract were 3.125 and 50 mg/ml, respectively. The inhibitory effect of toothpaste containing heartwood Mahaad formulation on *S. mutans* by measuring the clear zone was 15.00±0.50 mm. The physical properties satisfaction of the toothpaste was evaluated by sampling the population using Taro Yamane (Taro Yamane) and the results were analyzed using the SPSS program, the confidence interval was 95%. It was found that the difference of genders and ages did not make any difference opinions on the color, scent, texture, and overall look of the product. The sample group of 79 people had satisfaction assessment values divided by gender and age group. The satisfaction assessment values were at a good level. It may be concluded that Mahad extract has a variety of biological activities. Therefore, it is suitable to be used as an important active ingredient in the development of toothpaste formulas.

Keywords: Toothpaste, *Artocarpus lakoocha* Roxb., Antibacterial

บทนำ/หลักการและเหตุผล

สุขภาพช่องปาก (Oral health) เปรียบเสมือนอวัยวะที่สำคัญต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์เป็นอย่างยิ่ง นอกจากจะใช้เป็นช่องทางการบริโภคอาหารแล้วยังเป็นช่องทางในการหายใจอีกด้วย ดังนั้นสุขภาพในช่องปากจึงมีความสำคัญโดยตรง ซึ่งการสะสมของเศษอาหารที่รับประทานเข้าไปก่อให้เกิดแบคทีเรียในช่องปาก เป็นหนึ่งในสาเหตุของการเกิดกลิ่นปาก เหงือกอักเสบ ฟันผุ หรือโรคต่าง ๆ ได้ (สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย, 2555) การดูแลรักษาสุขภาพช่องปากอย่างสม่ำเสมอจะช่วยให้มีสุขภาพและบุคลิกภาพที่ดี การแปรงฟันอย่างถูกวิธีเป็นขั้นตอนที่ง่ายต่อ

การรักษาสุขภาพช่องปาก การแปรงฟันร่วมกับยาสีฟันทำให้มีประสิทธิภาพในการทำความสะอาดที่ดีขึ้น เนื่องด้วยผลที่คาดหวังอื่น ๆ จากยาสีฟัน เช่น ฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ การระงับกลิ่นปาก การป้องกันฟันผุ หรือลดอาการเสียวฟัน เป็นต้น ดังนั้นส่วนประกอบต่าง ๆ ที่ใช้ในยาสีฟัน นอกจากปลอดภัยต่อการใช้ในช่องปากแล้ว ยังประสิทธิภาพในการรักษาสุขภาพในช่องปากได้อีกด้วย

มะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb.) เป็นพืชที่พบได้มากในแถบเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เปลือกต้นและแก่นลำต้นมะหาดถูกใช้เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้าน เช่น เป็นยาขับพยาธิ ยาแก้ไข้ และยาแก้เบื่ออาหาร เป็นตัน (วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2542) เนื่องด้วยสาระสำคัญที่พบในมะหาด เช่น ไตรเทอร์ปีน (Triterpene) ฟลาโวนอยก์ (Flavonoid) และสติลบีน (Stilbene) ที่มีคุณสมบัติทางชีววิทยาและเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิต้านการอักเสบ รวมถึงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น (Gupta et al., 2020) นอกจากนี้สารสกัดจากมะหาดยังมีความปลอดภัยอีกด้วย

จากที่กล่าวมาข้างต้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนายาสีฟันจากสารสกัดมะหาด ซึ่งนอกจากจะเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยในช่องปากแล้ว จะต้องทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดแบคทีเรียในช่องปาก เพื่อให้ลดการเกิดกลิ่นปากระหว่างวันได้ยาวนานขึ้น และทดสอบความคงตัวของยาสีฟัน เพื่อให้ผู้บริโภคมั่นใจในประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จากสารสกัดธรรมชาติ

ระเบียบวิธีวิจัย

ตัวอย่างมะหาดในงานวิจัยครั้งนี้ ใช้ทั้งในส่วนของแก่นและเปลือกมะหาด (ในรูปแบบบดละเอียด) จากวิสาหกิจชุมชนบ้านเขาแหลม ตำบลแม่เปิน อำเภอแม่เปิน จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งเก็บตัวอย่าง เดือนกันยายน 2565

1. การสกัดมะหาด

การนำแก่นและเปลือกมะหาด ผสมกับตัวทำละลาย 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 1:3 w/v ซึ่งเริ่มจากการนำผงมะหาดที่บดละเอียดแล้วปริมาณ 1 กิโลกรัม เติมตัวทำละลายตัวทำละลาย 95% เอทานอล ปริมาตร 3 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 72 ชั่วโมง ทำการสกัดเป็น 3 ชุดการทดลอง โดยกรองด้วยกระดาษกรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายที่สกัดด้วยเครื่อง Rotary evaporator บันทึกผลและคำนวณหาค่าร้อยละผลผลิต (%yield)

%yield= (น้ำหนักของสารสกัด / น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง) x100

2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารสกัดแก่นและเปลือกมะหาด

2.1 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Agar diffusion test) (Peterson & Shanholtzer, 1992)

สกัดสารสำคัญจากแก่นและเปลือกมะหาดด้วยตัวทำละลายตัวทำละลาย 95% เอทานอล โดยวิธี Agar-disc diffusion (ดัดแปลงจาก Ratananikom et al., 2014) เริ่มจากเขี่ยเชื้อทดสอบจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. mutans* ในอาหารแข็ง Brain heart infusion โดยเขี่ยเชื้อโคโลนีเดี่ยว จาก Brain heart infusion นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นให้เชื้อเริ่มต้นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 (1.5 x 10^8 CFU/ml) ดูดเชื้อทดสอบ *S. mutans* ลงบนอาหารแข็ง Brain heart infusion ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเขี่ยเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* แบบ Three-ways นำ Paper disk ขนาด 6 มล. วางลงบนอาหารแข็ง แล้วเติมสารสกัดมะหาดเข้มข้น 100 มก./มล. ปริมาณ 20 ไมโครลิตร บ่มเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าบริเวณใสยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration: MIC)

2.2 การหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดต่อการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี Macro broth dilution technique (Schwalbe et al., 2007)

2.2.1 หาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC)

เตรียมสารสกัดเพื่อใช้ในการทดสอบ ทำได้โดยนำ Stock solution ของสารสกัดมะหาดที่มีความเข้มข้น 100 มก./มล. ซึ่งในการทดสอบจะใช้ Working solution ของสารสกัดเป็นสารตั้งต้นในการทำ Serial dilution แบบ Two-fold dilution ดูดอาหารเหลว Brain heart infusion ใส่ลงในหลอดทดลองหมายเลข 1–10 หลอดละ 1 มล. ดูดสารทดสอบเข้มข้น 100 มก./มล. ลงในหลอดทดลองหมายเลข 1 ผสมสารให้เข้ากันแล้วดูดต่อเนื่องจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มล. ไปหลอดที่ 2 ตามลำดับไปเรื่อย ๆ จนถึงหลอดทดลองหมายเลข 10 เมื่อผสมสารหมายเลข 10 เข้ากันได้ดีแล้ว ให้ดูดสารละลายทิ้งไป 1 มล. จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ลงไปในทุกหลอด หลอดละ 0.1 มล. หลอดทดลองที่ใช้เป็น Negative control จะมีอาหารเหลว Brain heart infusion ปริมาตร 1 มล. ที่เติมเชื้อจำนวน 0.1 มล. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 16–18 หรือ 24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ อ่านผลค่า MIC เมื่อบ่มเชื้อจนครบเวลาที่ต้องการแล้ว ให้สังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีจุลินทรีย์เจริญหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น อ่านปริมาณของสารทดสอบของหลอดนี้เป็นค่า MIC บันทึกหน่วยเป็น มก./มล.

2.2.2 หาค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

จากการทดสอบหาค่า MIC ในการทดลองข้างต้น สามารถนำมาหาค่า MBC โดยให้นำหลอดที่ไม่ขุ่นทุกหลอดไปเพาะเชื้อบนอาหารแข็ง Brain heart infusion อ่านค่าความเข้มข้นของสารสกัดมะหาดทดสอบที่น้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อจะได้มากกว่า 99.9% การหา MBC ทำได้โดยดูดอาหารเหลวจากหลอดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 0.1 มล. ใส่ลงในอาหารแข็ง Brain heart infusionและทำการ Spread plate จนผิวหน้าอาหารแห้ง บ่มที่ 35–37°C นาน 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีหรือสังเกตหลอดความเข้มข้นที่ไม่มีเชื้อเจริญจะเป็นหลอดความเข้มข้นของค่า MBC

3. การตั้งตำรับยาสีฟัน

ผู้วิจัยปรับสูตรตำรับยาสีฟันจาก Guide formular ของ บริษัท BASF (Thai) Limited โดยสารลดแรงตึงผิวในตำรับใช้ Lauryl Glucoside (PLANTACARE 1200) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Nonionic Surfactant) ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำความสะอาดอย่างอ่อนโยนและการใช้ส่วนผสมจากธรรมชาติ ทำให้ไม่เกิดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม โดยได้ทดลองตั้งตำรับทั้งสิ้น 3 สูตร ซึ่งมีปริมาณของ Xanthan gum ที่ต่างกันไปเพื่อให้เนื้อสัมผัสของเนื้อยาสีฟันเหมาะสมต่อผู้บริโภค

4. วิธีการทดสอบ

4.1 การประเมินคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส (Organoleptic parameters) (ดัดแปลงจาก (Ogboji et al., 2018) การประเมินคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส ทำการประเมินในด้านสี กลิ่นและเนื้อของผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะตั้งเกณฑ์การประเมินผลการทดสอบขึ้น เพื่อให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงระหว่างการศึกษา

4.2 การวัดค่าความชุ่มชื้น (Moisture content (ดัดแปลงจาก Sekar & Ariffin, 2016) การวัดค่าความชุ่มชื้นในยาสีฟันจะใช้ยาสีฟันปริมาณ 5 กรัม นำไปอบในตู้ Hor air oven ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นและชั่งน้ำหนักใหม่ ทำซ้ำและบันทึกข้อมูลน้ำหนักของยาสีฟันไปเรื่อย ๆ จนกว่าจะมีการบันทึกน้ำหนักคงที่ ซึ่งจะนำค่าน้ำหนักที่คงที่ไปคำนวณหาค่าความชุ่มชื้น ดังสูตร

$$\% \text{ Moisture} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเดิม} - \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเดิม}}$$

4.3 การทดสอบความสามารถในการทำความสะอาด (Cleaning ability) (Ogboji et al., 2018) ทำได้โดยการใช้เปลือกไข่ที่มีแคลเซียมสูงและใกล้เคียงเคลือบฟัน โดยนำน้ำสะอาดปริมาณ 200 มล. อุ่นให้เดือด จากนั้นเตรียมบีกเกอร์ที่ใส่น้ำส้มสายชู 15 มล. ผสมกับสีผสมอาหารสีแดง

ประมาณ 20 หยด โดยนำไข่ลวกแช่ในสารละลายสีผสมอาหารเป็นเวลา 5 นาทีจนได้เปลือกไข่ที่ถูกย้อมด้วยสีแดง และใช้ปากกา Permanent maker ขีดเส้นลากตามความยาวของเปลือกไข่คล้ายกับการแบ่งครึ่งฟัน นำแปรงสีฟันชุบ Distilled water (DI Water) ปัดที่ผิวของเปลือกไข่ด้านใดด้านหนึ่งเป็นเวลา 10 จังหวะ (แต่ละจังหวะคือการเคลื่อนที่กลับไปกลับมาอย่างสมบูรณ์) ซึ่งเปลือกไข่ได้รับการทดสอบการกำจัดสี นำแปรงสีฟันล้างด้วยน้ำและบีบยาสีฟันขนาดเท่าเมล็ดถั่ววางไว้บนแปรงสีฟันและใช้แปรงอีกด้านหนึ่งของไข่เป็นเวลา 10 จังหวะ เปลือกไข่ถูกล้างและทดสอบการกำจัดสี

4.4 ความสามารถในการเกิดฟอง (Foaming ability) (Ogboji et al., 2018) โดยชั่งยาสีฟัน 5 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มล. เติมน้ำกลั่น 10 มล. คนให้เป็นเนื้อเดียวกันวางทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีนำบีกเกอร์ที่มีสารละลายเทลงในกระบอกตวงขนาด 250 มล. และกลั้วบีกเกอร์แล้วเทลงในกระบอกตวง หลังจากนั้นวัดปริมาตรของน้ำที่ผสมยาสีฟันและบันทึกข้อมูล เขย่ากระบอกตวงหงาย-คว่ำสลับกันให้ครบ 12 ครั้ง หลังจากนั้น ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที วัดปริมาตรของน้ำที่ผสมยาสีฟันและบันทึกข้อมูล โดยปริมาตรของโฟมคำนวณได้จาก

ความสามารถในการเกิดฟอง = L1 - L 2

L 1 = ปริมาตรในมิลลิลิตรของโฟมพร้อมน้ำ

L 2 = ปริมาตรในมิลลิลิตรของน้ำเท่านั้น

4.5 ทดสอบการกระจายตัว (Spread ability) (Ogboji et al., 2018) โดยใช้ยาสีฟันขนาด 1 กรัม วางที่จุดกึ่งกลางแผ่นกระจกแผ่นที่ 1 จากนั้นนำกระจกแผ่นที่ 2 ปิดทับกระจกแผ่นที่ 1 แล้วนำอุปกรณ์ที่มีน้ำหนัก 1 กิโลกรัม วางบนกระจก วางทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นยกอุปกรณ์ออกและทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเป็นเซนติเมตร (cm)

4.6 การทดสอบความคงตัว (Stability) (ดัดแปลงจาก มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เอส 41-2562) โดยเก็บตัวอย่างยาสีฟันที่ไม่เคยเปิดฝาบรรจุ ที่อุณหภูมิสูงสุด (50±2)°C และต่ำสุด (4±2)°C ทำเช่นนี้สลับกันจนครบ 6 รอบ วางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและตรวจสอบเนื้อยาสีฟันด้วยสายตาความเป็นเนื้อเดียวกัน และผลการเสื่อมสภาพอื่น ๆ ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์

4.7 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) วิธีการหาค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส 41-2562 โดยนำยาสีฟันผสมสมุนไพรตัวอย่างเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:3 โดยมวล แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่างที่อุณหภูมิ (2±1)°C ภายในเวลา 10 นาที แล้ววัดค่าด้วย pH meter

4.8 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) (Ogboji et al., 2018) การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยการวางยาสีฟันที่บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และสังเกตยาสีฟันไหลออกมาจากหลอด หากไม่ไหลแสดงว่ามีความเป็นเนื้อเดียวกัน

5 การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในยาสีฟัน (Antimicrobial evaluation of toothpaste) (Peterson & Shanholtzer, 1992)

การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในยาสีฟัน เริ่มจากการเตรียมสารแขวนลอย โดยใช้ยาสีฟันและน้ำเกลือ ผสมกันในอัตราส่วน (1:3) จากนั้นนำเชื้อทดสอบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. mutans* ในอาหารแข็ง Brain heart infusion ที่บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35±2°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเขี่ยเชื้อโคโลนีเดี่ยวจาก Brain heart infusion นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) โดยดูดเชื้อทดสอบ *S. mutans* ที่ปรับความขุ่นของเชื้อแล้ว ลงบนอาหารแข็ง ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นทำการ swab เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ให้ทั่วแบบ Three-ways จากนั้นนำ Paper disk ขนาด 6 มม. วางลงบนอาหารแข็งและเติมตัวอย่างสารแขวนลอยปริมาณ 20 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35–37°C เป็นเวลา 16–18 ชั่วโมง รัศมีวัดเป็นมิลลิเมตร

6 การประเมินผลความพึงพอใจ

ข้อมูลที่จัดกลุ่มทั้งหมดได้รับการประเมินทางสถิติด้วย SPSS 16.00 ซอฟต์แวร์ ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ One-way ANOVA พิจารณาความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

ผลวิจัยและอภิปราย

1. กระบวนการเตรียมสารสกัดจากแก่นและเปลือกมะหาด จะใช้วิธีสกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) คือการนำแก่นและเปลือกมะหาด ผสมกับตัวทำละลาย ผสมกับตัวทำละลาย 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 1:3 w/v ซึ่งเริ่มจากการนำแก่นและเปลือกมะหาดบดละเอียด เติมตัวทำละลายตัวทำละลาย 95 % เอทานอล ปริมาตร 3 ลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการสกัดเป็น 3 ชุดการทดลอง หลังจากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 หลังจากนั้นนำไปประเหยตัวทำละลายที่สกัดด้วยเครื่อง Rotary evaporator พบว่า เปลือกมะหาดให้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าแก่นมะหาด โดยให้ปริมาณสารสกัดจากแก่นและเปลือกมะหาด เท่ากับ 15.4±0.01 และ 18.0±0.02 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลของงานวิจัยของ กัลยาภรณ์ จันตรี (2558) พบว่าการสกัดแก่นมะหาดด้วยเอทานอล 95% ให้ปริมาณสารสกัดจากแก่นมะหาดเท่ากับ 11.15 งานวิจัยของ อรพิณ โกมุติบาล (2557) พบว่าการสกัดแก่นมะหาดด้วยเอทานอล 95% ให้ปริมาณสาร

สกัดจากแก่นมะหาดเท่ากับ 5.72 งานวิจัยของ พรพรรณ เหลาวชิระสุวรรณ และคณะ (2558) ได้ผลสกัดแก่นมะหาดด้วยเอทานอล 95% ให้ปริมาณสารสกัดจากแก่นมะหาดเท่ากับ 12.03 Sritularak et al. (2013) ได้ผลการสกัดเปลือกรากมะหาดด้วยเอทานอล 95% ให้ปริมาณสารสกัดจากเปลือกมะหาดเท่ากับ 10

ตารางที่ 1 ปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากแก่นและเปลือกมะหาด

ส่วนของพืช	%Yield (ค่าร้อยละผลผลิต)
แก่นมะหาด	15.4±0.01
เปลือกมะหาด	18.0±0.02

2. การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ด้วยสารสกัดจากแก่นและเปลือกมะหาด ด้วยวิธี Agar-disc diffusion พบว่า สารสกัดแก่นและเปลือกมะหาดให้ค่าบริเวณใสยับยั้งเชื้อเท่ากับ 35.00±0.00 และ 34.50±0.71 มม. ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของสารสกัดแก่นมะหาดมีฤทธิ์การยับยั้งที่ดีกว่าส่วนของเปลือกมะหาด ทั้งนี้การเปรียบเทียบผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. mutans* จากงานวิจัยของ Teanpaisan et al. (2014) และปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล แก้วมณี และคณะ (2557) แสดงให้เห็นว่าคลอร์เฮกซิดีนที่ความเข้มข้น 0.12% ซึ่งเป็นปริมาณความเข้มข้นของยาที่ใส่ในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก มีความเหมาะสมในการเป็น Positive control

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของสารสกัดมะหาด ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ด้วยความเข้มข้นของสารสกัด 100 มก./มล.

สารสกัด	บริเวณใสยับยั้ง (มม.)*
สารสกัดแก่นมะหาด	35.00±0.00
สารสกัดเปลือกมะหาด	34.50±0.71

หมายเหตุ * รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disk (6mm)

3. จากการทดสอบความเข้มข้นของสารในการยับยั้งเชื้อในระดับต่ำสุดหรือ Minimal inhibitory concentration (MIC) และความเข้มข้นของสารในการฆ่าเชื้อในระดับต่ำสุด หรือ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดแก่นและเปลือกมะหาดต่อการเจริญของเชื้อ *S. mutans* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique โดยแสดงผลของสารสกัดจากแก่นมะหาดให้ค่า MIC เท่ากับ 1.56 มก./มล. และให้ค่า MBC ต่อเชื้อ *S. mutans* เท่ากับ 12.5 มก./มล. ตามด้วยสารสกัดจากเปลือกมะหาดให้ค่า MIC ดีที่สุดคือ 3.125 มก./มล. และให้ค่า MBC ต่อเชื้อ

S. mutans เท่ากับ 50 มก./มล. ซึ่งปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ทางเครื่องสำอางคือ สารสกัดจากแก่นมะหาดที่ความเข้มข้น 1.56 มก./มล. เพื่อการยับยั้งที่ดีที่สุด เหตุผลเนื่องจากการใส่สารสกัดที่มากเกินไปอาจส่งผลต่อตำรับเครื่องสำอางและอาจทำให้ไปยับยั้งเซลล์อื่น ๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อร่างกาย

ตารางที่ 3 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดที่สกัดด้วย 95% เอทานอล จากแก่นและเปลือกมะหาด ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. mutans*

สารสกัด	MIC (มก./มล.)	MBC (มก./มล.)
สารสกัดแก่นมะหาด	1.56	12.5
สารสกัดเปลือกมะหาด	3.125	50

4. ตำรับยาสีฟัน โดยกรมวิทยาศาสตร์บริการ ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับยาสีฟันว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ใช้เพื่อกำจัดคราบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติบนเคลือบฟัน ซึ่งส่วนประกอบหลักของยาสีฟันคือ สารขัดฟัน สารให้ความชุ่มชื้น สารให้ฟอง สารให้ความหนืด สารแต่งกลิ่นและรสชาติ สารให้ความหวาน สารให้คุณสมบัติในการบำบัด สีหรือสารกันเสียและน้ำ ซึ่งจากการทดลองตั้งตำรับผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นพื้นตำรับยาสีฟัน ซึ่งใช้ Glycerine เป็นสารให้ความชุ่มชื้น Xanthan gum เป็นสารให้ความหนืด Plantacare 1200 UP เป็นสารลดแรงตึงผิว Cocamidopropyl Betaine เป็นสารลดแรงตึงผิวและเป็นสารให้ฟอง Sorbital Spearmint oil และ Sodium chloride เพื่อให้เป็นสารแต่งกลิ่นและรสของยาสีฟัน และ Sodium benzoate เป็นสารกันเสีย ซึ่งได้ทดลองตั้งตำรับทั้งสิ้น 3 สูตร โดยมีประมาณ Xanthan gum ที่ต่างกัน เพื่อให้ได้พื้นยาสีฟันที่มี Stability ที่ดี เหมาะแก่การใช้งาน หลังจากนั้น ทำการผสมสารสกัดมะหาดในตำรับยาสีฟัน โดยใส่ปริมาณ เท่ากับค่า MIC ของแก่นมะหาดเท่ากับ 1.5 %w/w หลังจากนั้นทำการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ทำการทดสอบ โดยการประเมินทางประสาทสัมผัสทั้งในส่วนของสีและเนื้อสัมผัส ความหนืดของตำรับพื้นยาสีฟัน และประเมินทางเคมีในส่วนของค่าความเป็นกรด-ด่าง pH การทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง (Heating 50°C– Cooling 4°C) จำนวน 6 รอบ โดยทำการวัดที่เริ่มต้นและสิ้นสุด พบว่าตำรับพื้นยาสีฟัน F3 (เริ่มต้น) เป็นตำรับเจลที่มีความข้นหนืด ไม่มีสี มีค่าความหนืด เท่ากับ 3078 cP , %Torque เท่ากับ 90.83 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 10.11 ตำรับพื้นยาสีฟัน F3 (สิ้นสุด) เป็นตำรับเจลที่มีความข้นหนืด ไม่มีสี มีค่าความหนืด เท่ากับ 2733.33 cP, %Torque เท่ากับ 82 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 9.35 ส่วนตำรับยาสีฟันที่ใส่สารสกัดแก่นมะหาด ตามปริมาณ ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งพบว่าตำรับยาสีฟัน ที่ใส่สารสกัดแก่นมะหาด (เริ่มต้น) ตำรับเจลที่มีความข้นหนืด มีสีน้ำตาลเข้ม มีค่าความหนืด

เท่ากับ 3014.33 cP, %Torque เท่ากับ 90.43 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 8.30 ส่วนตำรับยาสีฟันที่ใส่สารสกัดแก่นมะหาด (สิ้นสุด) ตำรับเจลที่มีความข้นหนืด มีสีน้ำตาลเข้ม มีค่าความหนืดเท่ากับ 2966.66 cP, %Torque เท่ากับ 87.8 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 8.26 ทั้งนี้ได้ตั้งข้อสังเกตค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของยาสีฟันผสมสารสกัดมะหาด พบว่าพื้นตำรับยาสีฟันสามารถวัดค่าก่อนและหลังผ่านกระบวนการทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง (Heating 50°C–Cooling 4°C) มีค่า 10.11 และ 9.35 ตามลำดับ และตำรับยาสีฟันที่ใส่สารสกัดแก่นมะหาดสามารถวัดค่าก่อนและหลังผ่านกระบวนการทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง (Heating 50°C–Cooling 4°C) มีค่า 8.30 และ 8.26 ตามลำดับ ซึ่งการวัดค่าจะสังเกตถึงค่าความเป็นด่างที่สูง

จากการสืบค้นข้อมูลมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 45-2552) เรื่องยาสีฟัน และมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.เอส 41-2562) เรื่องยาสีฟันผสมสมุนไพร ได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของยาสีฟัน ให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.5-10.5 ซึ่งในตำรับข้างต้นยังคงอยู่ในช่วงที่กำหนด และจากงานวิจัยของ ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์ (2562) ซึ่งทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดชันชันโรง มีผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของยาสีฟันอยู่ในช่วง 7.62–7.93 ทั้งนี้ผู้วิจัยมีความกังวลว่าการใช้ยาสีฟันที่มีค่าเป็นด่างสูง อาจเกิดการระคายเคืองระหว่างการใช้งานจึงให้ข้อเสนอแนะหากผู้สนใจนำไปพัฒนาต่อในเชิงพาณิชย์ ให้ดำเนินการปรับสูตรตำรับโดยการไม่ใส่ NaCl ในตำรับ ซึ่งอาจทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงและมีความเป็นกลางมากขึ้น

5. จากผลการทดสอบคุณสมบัติของพื้นยาสีฟันและยาสีฟันผสมสารสกัดแก่นมะหาด ซึ่งทำการทดสอบคุณสมบัติทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง พบว่าตำรับพื้นยาสีฟันมีลักษณะสีที่โปร่งแสง ลักษณะกลิ่นที่ยอมรับได้เนื่องจากในตำรับใส่สารแต่งกลิ่น Spearmint oil มีคุณสมบัติในการทำความสะอาดได้ดี จากการทดสอบการแปรงบนเปลือกไข่ มีฟองน้อย เนื่องจากในตำรับใช้ Plantacare 1200 UP ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ ทำให้ฟองน้อยแต่ละเอียดและ Betaine เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดแอมโฟเทอริค (Amphoteric Surfactants) ซึ่งเป็นสารที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ ทำให้เกิดฟองที่ละเอียดและอ่อนโยน การกระจายตัวดี เนื่องจากตำรับมีลักษณะเป็นเจลและไม่มีสารขัดฟันเป็นส่วนผสม ความเป็นกรด-ด่างในตำรับพื้นยาสีฟันก่อนและหลังการทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง มีค่า 10.11 และ 9.35 ซึ่งมีค่าเป็นด่าง และการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันพบว่าอยู่ในระดับที่เหมาะสม และตำรับยาสีฟันผสมสารสกัดแก่นมะหาดมีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะกลิ่นที่ยอมรับได้ เนื่องจากในตำรับใส่สารแต่งกลิ่น Spearmint oil มีคุณสมบัติในการทำความสะอาดได้ดี จากการทดสอบการแปรงบนเปลือกไข่ มีฟองน้อย เนื่องจากในตำรับใช้ Plantacare 1200 UP ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ ทำให้ฟองน้อยแต่ละเอียดและ Betaine เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดแอมโฟเทอริค (Amphoteric Surfactants) ซึ่งเป็นสารที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ ทำให้เกิดฟองที่ละเอียดและอ่อนโยน

การกระจายตัวดีเนื่องจากตำรับมีลักษณะเป็นเจลและไม่มีสารขัดฟันเป็นส่วนผสม ความเป็นกรด-ด่างในตำรับพื้นยาสีฟันก่อนและหลัง การทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง มีค่า 8.3 และ 8.26 ซึ่งมีค่าเป็นด่าง และการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันพบว่าอยู่ในระดับที่เหมาะสม

6. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของยาสีฟันที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดมะหาดกับยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารสกัดมะหาด สามารถวัดบริเวณใสได้ 0.00±0.00 มม. และ 15.00±0.50 มม. ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าหลังจากการพัฒนาตำรับยาสีฟันผสมสารสกัดมะหาดซึ่งมีปริมาณสารสกัดในตำรับที่ปริมาณ 1.5 %w/w แล้วนั้น ยาสีฟันผสมสารสกัดมะหาดยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ และจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 45-2552) เรื่องยาสีฟัน และมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.เอส 41-2562) ซึ่งต้องไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans* และ *Clostridium spp.*

7. ผลการประเมินความพึงพอใจต่อยาสีฟันผสมสารสกัดมะหาด ทางผู้วิจัยได้กำหนดขอบเขตกลุ่มตัวอย่างเป็นบุคลากรที่สังกัดศูนย์ฝึกปฏิบัติการอาหารนานาชาติ โรงเรียนการเรือน มหาวิทยาลัยสวนดุสิต พบว่าเพศและอายุที่แตกต่างกัน มีความเห็นในด้านสี กลิ่น เนื้อและภาพรวมของผลิตภัณฑ์ที่ไม่แตกต่างกัน จึงอาจทำให้ข้อมูลการประเมินอาจไม่สามารถเทียบกับผู้บริโภคส่วนใหญ่ได้ อันเนื่องมาจากกลุ่มตัวอย่างทั้ง 79 คน มีความสัมพันธ์กันในรูปแบบเพื่อนร่วมงานกันเป็นระยะเวลานาน อาจมีความคิดเห็นเป็นไปในทิศทางเดียวกันได้

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนายาสีฟันที่มีสารสกัดมะหาดจากการวิจัยครั้งนี้เริ่มจากการนำแก่นและเปลือกของมะหาดมาสกัดนำสารสำคัญออกจากพืชโดยใช้ตัวทำละลาย 95% เอทานอล พบว่าแก่นมะหาดให้มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าเปลือกมะหาด จากการหาค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ *S. mutans* พบว่าแก่นมะหาดมีความเหมาะสมในการเป็นสารสกัดที่ผสมในตำรับที่สุดสอดคล้องกับงานวิจัยของ Teanpaisan et al. (2014) และปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล และคณะ (2557) ซึ่งผลการทดสอบสารสกัดมะหาดอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ดีกว่า คลอร์เฮกซิดีนที่ความเข้มข้น 0.12% ซึ่งเป็นปริมาณความเข้มข้นของยาที่ใส่ในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก การทดสอบคุณลักษณะของยาสีฟันพบว่ามีความคงตัวดี มีค่าความเป็นด่างที่สูง แต่ไม่เกินตามข้อกำหนด มอก. 45-2552 และมอก.เอส 41-2562 การทดสอบทางกายภาพทั้งในด้านสี กลิ่น การทำความสะอาด ปริมาณฟองและการกระจายตัวดี ทดสอบการยับยั้งเชื้อของยาสีฟันผสมสารสกัดพบว่ายังยั้งเชื้อ *S. Mutans* ได้ผลการประเมินความพึงพอใจต่อยาสีฟันผสมสารสกัดมะหาด (เฉพาะลักษณะภายนอก) อยู่ในระดับดี

ข้อเสนอแนะ

1. หากนำตำรับยาสีฟันที่มีสารสกัดมะหาดไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ ควรปรับตำรับให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่มีความเป็นกลางหรือกรดอ่อนๆ เพื่อให้ตำรับมีความอ่อนโยนมากยิ่งขึ้น และอาจปรับลดสารสกัดลงและเติมสารอื่น ๆ ที่ช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก เพื่อลดกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ของสารสกัด

2. หากนำตำรับยาสีฟันที่มีสารสกัดมะหาดไปใช้ในเชิงพาณิชย์ ควรทดสอบจุลินทรีย์ในยาสีฟันที่มีสารสกัดมะหาดเพิ่มเติมตามข้อกำหนด มอก. 45-2552 และ มอก.เอส 41-2562

รายการอ้างอิง

กัลยาภรณ์ จันตรี. (2558). การตั้งตำรับสูตรเครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวจากสารสกัดมะหาด. *SDU Res.J, 8*(1), 1-23.

ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์. (2562). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากจากสารสกัดชันชันโรง: รายงานการวิจัย.* คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

ปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล แก้วมณี, นวพรรณ ทองสงค์, ภณพร สุขอาจ และวิรณัฐ กิติศรีวราพันธุ์. (2557). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร 5 ชนิดและคลอร์เฮกซิดีนร้อยละ 0.12 ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์. *วารสารทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, 7*(2), 76-89.

พรพรรณ เหลาวชิระสุวรรณ, เมธิน ผดุงกิจ, ธิดารัตนนามสวาง, จีรวรรณ คำภูเวียง และจรัสศรี แซมพุดซา. (2558). ปริมาณออกซิเรสเวอราทรอลและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซมไทโรซิเนสของสารสกัดแกนมะหาด. *J Sci Technol MSU, 34*(6), 547-550.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2542). *พจนานุกรมสมุนไพรไทย*. รวมสาส์น.

สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย. (2555). *การสร้างเสริมสุขภาพช่องปากประตู...สู่สุขภาพที่ดีในทุกช่วงวัยของชีวิต*. สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

อรพิณ โกมุติบาล. (2557). ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากแก่นมะหาด. *SDU Res.J, 7*(2), 33-41.

Gupta, A. K., Pathak, U., Medhi, M., Mastinu, A., Sikarwar, M. S., & Mishra, P. (2020). Botanical, chemical and pharmacological properties of Artocarpuslakoocha (Monkey Fruit): A review. *Agricultural Reviews*, *41*(4), 305-16. https://doi.org/10.18805/ag.R-1989

Ogboji, J., Chindo, I. Y., Jauro, A., Boryo, D. E. A., & Lawal, N. M. (2018). Formulation, physicochemical evaluation and antimicrobial activity of green toothpaste on Streptococcus mutans. *International Journal of Advanced Chemistry*, *6*(1), 108-113. https://doi.org/10.14419/ijac.v6i1.10808

Peterson, L. R., & Shanholtzer, C. J. (1992). Tests for bactericidal effects of antimicrobial agents: Technical performance and clinical relevance. *Clinical Microbiology Reviews*, *5*(4), 420-432. https://doi.org/10.1128/CMR.5.4.420

Ratananikom, K., Khannalao, Y., & Srirod, S. (2014). Inhibitory effect of essential oils from local Thai medicinal plants against common human pathogens. *Khon Kaen Agriculture Journal, 42*(4), 99-105.

Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (2007). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781420014495

Sekar, M., & Ariffin, N. J. S. (2016). Formulation, evaluation and antibacterial properties of novel polyherbal toothpaste for oral care. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical*, *8*(8), 1155-1158.

Sritularak, B., Tantrakarnsakul, K., Lipipun, V., & Likhitwitayawuid, K. (2013). Flavonoids with anti-HSV activity from the root bark of Artocarpus lakoocha. *Natural Product Communications*, *8*(8), 1079-1080.

Teanpaisan, R., Senapong, S., & Puripattanavong, J. (2014). In vitro Antimicrobial and Antibiofilm activity of *Artocarpus Lakoocha* (Moraceae) extract against some oral pathogens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13*(7), 1149-1155. https://doi.org/0.4314/tjpr.v13i7.20