

การคัดเลือกสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Selection of Herb Extracts to Inhibit Pathogenic Bacterial Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

กรทิพย์ กันนิการ์^{1*}, อลิศรา นพนรินทร์¹, นลินี สีเกสร¹, อาภาพร แสงจินะ¹, อามินตรา นามภักดี¹,
กัญญาณัฐ สุนทรประสิทธิ์¹, เกรียงไกร สีตะพันธุ์¹, ดุจดดี ปานพรหมมินทร์¹ และ เปรมดา ทิพย์เดช¹
Korntip Kannika^{1*}, Alitsara Nopnarin¹, Naline Leekaesorn¹, Arpaporn Sangjina¹, Amintra Nampak¹,
Kanyanat Soontornprasit¹, Kriengkrai Seetapan¹, Dutrudi Panprommin¹ and Prameda Tipdacho¹

Received date: 20 ต.ค. 66 Revised date: 8 ก.พ. 67 Accepted date: 8 ก.พ. 67

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.03.24.013>

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Streptococcus agalactiae* และ *Aeromonas hydrophila* โดยวิธี disc diffusion และวิธี broth dilution โดยใช้สารสกัดสมุนไพร 29 ชนิด (32 ตัวอย่างสมุนไพร) ได้แก่ กระชาย กระเทียม กะเพรา ข่า ขิง ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน ขึ้นฉ่าย ขะพลู ขอม ตะคันเหล็ก ตะไคร้ ต้นหอม บัวบก ผักชี (ใบ, เมล็ด) ผักชีฝรั่ง ผักชีลาว ผักแพว พริกไทย พื้ทะเลลายโจร มะกรูด มะแขว่น มะระขี้นก มะรุม (ใบ, ผล) ยี่หระ สะระแหน่ สะเดา (ดอก, ใบ) หอมแดง และหอมหัวใหญ่ โดยสกัดสารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (อัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:6 (w/v)) พบว่า สารสกัดจากข่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* สูงที่สุด มีค่าโซนการยับยั้งที่ 2.80 ± 0.17 และ 2.36 ± 0.05 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถอ่านผลได้เนื่องจากสมุนไพรมีสีที่เข้ม ทำให้มองไม่เห็นความขุ่นจากการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ต่อเชื้อ *S. agalactiae* พบว่า ขมิ้นชันมีค่า MBC ดีที่สุด เท่ากับ 9.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *A. hydrophila* พบว่า กระชายขาว มีค่า MBC ดีที่สุด เท่ากับ 156.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากขมิ้นชัน กระชายขาว และขมิ้นขาว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพร การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แบคทีเรียก่อโรค ปลานิล

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of herbal extracts with inhibitory activity against two pathogenic bacteria in Nile tilapia; *Streptococcus agalactiae* and *Aeromonas hydrophila*. The inhibitory activity against pathogenic bacteria was determined by disc diffusion and broth dilution method. The 29 herb (32 herb extracts) species including kaempfer, allium, holy basil, galanga, ginger, white curcuma, turmeric, celery, wildbetel leafbush, climbing wattle, Lao chili wood, lemon grass, green shallot, asiatic pennywort, coriander, culantro, dill, Vietnamese coriander, pepper, kariyat, kaffir lime, leech lime, mullilam, bitter gourd, horse radish tree, tree basil, kitchen mint, Siamese neem tree, shallot, and brown onion were extracted with 95% ethanol (ratio of herbs to solvent equal to 1:6 (w/v)). Galanga showed the highest inhibition of two pathogenic bacteria (*A. hydrophila* and *S. agalactiae*) with inhibition zone of 2.80 ± 0.17 and 2.36 ± 0.05 cm., respectively. In this study, the minimum inhibitory concentration (MIC) could not be observed due to the color of the herbs being very dark, obscuring the turbidity of the pathogenic bacteria growth in the test tubes. The result of minimum bactericidal concentration (MBC) against *S. agalactiae* showed that the extracts of turmeric yielded the best result at 9.7 mg/ml. As for *A. hydrophila*, it was found that kaempfer extracts yielded the best MBC value at 156.2 mg/ml. The results of antibacterial testing suggested that turmeric, kaempfer, and white curcuma extracts could be applied in the treatment of bacterial infection in tilapia.

Keywords: herb extracts, inhibitory activity against bacteria, pathogenic bacteria, Nile tilapia

¹ สาขาการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา 56000

¹ Division of Fisheries, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000

* Corresponding author: korntip.ka@up.ac.th

คำนำ

ปลานิล เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและนิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเนื้อปลามีรสชาติดี เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว สามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพ ในปี ค.ศ. 2022 Food and Agriculture Organization (FAO, 2022) รายงาน ว่า ปริมาณผลผลิตปลานิลทั่วโลกมีสูงถึง 4.4 ล้านตัน โดยผลผลิตส่วนใหญ่ได้จากการเพาะเลี้ยง ประเทศที่มีการเพาะเลี้ยงปลานิลมากที่สุดคือ ประเทศจีน รองลงมาได้แก่ อียิปต์ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2564 พบว่า ปริมาณปลานิลจากการเพาะเลี้ยง เท่ากับ 253,500 ตัน คิดเป็นมูลค่า 11,722 ล้านบาท (Department of Fisheries, 2022) จากความต้องการในการบริโภคทั้งในและต่างประเทศในปริมาณสูง ทำให้มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง แต่ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลประสบกับปัญหาการระบาดของโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย เช่น *Streptococcus* spp., *Aeromonas* spp. และ *Flavobacterium* spp. โดยเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* และ *Aeromonas* นับว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สร้างความเสียหายให้แก่ปลานิลสูงที่สุด เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* ที่ก่อโรคในปลานิล คือ *Streptococcus agalactiae* ก่อให้เกิดโรคตาโปน (streptococcosis) ทำให้ปลามีอาการตาโปน ตาขาวขุ่น อาการตกเลือดทั้งภายนอกและอวัยวะภายใน ไตบวม และว่ายน้ำแบบควงส่ววน ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ก่อให้เกิดโรค motile aeromonas septicemia (MAS) ทำให้สัตว์น้ำเกิดอาการตกเลือดตามลำตัว อวัยวะภายในบวม ครีบกร่อน และท้องบวม (Chitmanat, 2013) จากปัญหาการตายของปลานิลที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียจึงทำให้เกษตรกรมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีเพื่อป้องกันและรักษาโรค แต่เนื่องจากเกษตรกรบางส่วนยังขาดความรู้ความเข้าใจในการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีที่ถูกต้อง และมีการใช้ยาปฏิชีวนะติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้เกิดปัญหาเชื้อแบคทีเรียมีการดื้อยา จนไม่สามารถหยุดยั้งการตายของสัตว์น้ำจากเชื้อก่อโรคได้ ทำให้เกษตรกรต้องเพิ่มปริมาณการใช้ที่สูงมากขึ้น อีกทั้งยังทำให้มีสารตกค้างในสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้

ดังนั้น จึงทำให้เกิดความพยายามที่จะหาสิ่งอื่นที่สามารถใช้แทนยาปฏิชีวนะ โดยพืชสมุนไพรจัดเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจ เนื่องจากสามารถหาได้ตามธรรมชาติหรือสามารถปลูกได้เอง และพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยจากการที่มีการใช้รักษาโรคในคน หรือสัตว์ต่าง ๆ มาเป็นเวลานานและมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ได้อีกด้วย (Nithikulworawong, 2012; Potiwong et al., 2020; Rattanachaiakunsopon and Phumkhachorn, 2010) ปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดสมุนไพรมาทดสอบมายังและรักษาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ เพื่อต้องการลดการใช้ยาปฏิชีวนะ และลดสารตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ โดยเฉพาะสมุนไพรที่หาง่ายในท้องถิ่น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการคัดเลือกสารสกัดสมุนไพรในท้องถิ่น จำนวน 29 ชนิด (32 ตัวอย่างสมุนไพร) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล จำนวน 2 ชนิด คือ เชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี disc diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลานิลและสัตว์น้ำชนิดอื่นต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรท้องถิ่น

การศึกษานี้ใช้สมุนไพรท้องถิ่น จำนวน 29 ชนิด (32 ตัวอย่างสมุนไพร) ได้แก่ กระชาย กระเทียม กะเพรา ข่า ขิง ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน ขมิ้นดำ ชะพลู ชะอม ตะค้าเหล็ก ตะไคร้ ต้นหอม บัวบก ผักชี (ใบ, เมล็ด) ผักชีฝรั่ง ผักชีลาว ผักแพว พริกไทย พื้ทะเลลาย ไ้จร มะกรูด มะเขว่น มะระขี้นก มะรุม (ใบ, ผัก) ยี่หระ สะระแหน่ สะเดา (ดอก, ใบ) หอมแดง และหอมหัวใหญ่ การเตรียมสารสกัดสมุนไพร ได้ดัดแปลงจากวิธีการของ Harikrishnan et al. (2011) โดยนำสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบมาล้างให้สะอาด หั่นให้มีขนาดเล็กลง นำไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง หรือจนกว่าสมุนไพรจะแห้ง จากนั้นนำสมุนไพรไปบดให้ละเอียดและชั่งสมุนไพรแต่ละชนิดปริมาณ 25 กรัม ผสมกับสารละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 150 มิลลิลิตร โดยใช้อัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:6 (w/v) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาให้นำสมุนไพรไปกรองแยกส่วนของกากสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง และกรองซ้ำด้วยกระดาษ Whatman No.1 นำสารสกัดสมุนไพรที่ได้ไปทำการระเหยสารละลายเอทานอลออกด้วยเครื่อง rotary evaporator (BUCHI Rotavapor™ R-300) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความดัน 97 mbar ความเร็วรอบ 55 รอบต่อนาที ประมาณ 15-20 นาทีต่อตัวอย่าง จะได้สารละลายเข้มข้นภายในขวด และทำการละลายสารด้วยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองที่ความเข้มข้น 2500 mg/ml (ppt) นำสารละลายที่สกัด

สมุนไพรแต่ละชนิดที่ได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในขั้นตอนต่อไป

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบนี้เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในปลานิล โดยมีตัวแทนเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 1 ชนิด คือ *S. agalactiae* (FS131) และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 1 ชนิด คือ *A. hydrophila* (FA02) จากห้องปฏิบัติการสาขาวิชาการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่เก็บรักษาเชื้อไว้ในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส โดยทำการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากฟาร์มเลี้ยงปลานิลในพื้นที่จังหวัดพะเยา ทำการเลี้ยงเชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* บนอาหาร tryptic soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาเลี้ยงต่อบนอาหาร tryptic soy broth (TSB) ปริมาตร 120 มิลลิลิตร (ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร) บ่มด้วยเครื่อง incubator shaker อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 140 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการเก็บเซลล์ของแบคทีเรียโดยนำปั่นแยกเซลล์และอาหารเลี้ยงเชื้อออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง และล้างเซลล์แบคทีเรียด้วย 0.85% NaCl ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นปรับปริมาณเซลล์แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ให้มีปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่ 1×10^5 cfu/ml สำหรับใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC)

การศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion

วิธีการศึกษา disc diffusion ดัดแปลงจาก Bauer et al. (1966) นำเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองที่เตรียมจากข้อ 2 ไปทำการ swab ให้ทั่วบนอาหาร tryptic soy agar (TSA) ด้วยก้านสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นวางแผ่น paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร แล้วหยดสารสกัดสมุนไพรลงใน paper disc ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อแผ่น (แต่ละสารสกัดสมุนไพรทำ 3 ซ้ำ) โดยใช้ยาปฏิชีวนะมาตรฐาน (standard commercial antibiotic disc) 2 ชนิดด้วยยา คือ Amoxicillin (AML) 25 ไมโครกรัม และ Sulfamethoxazole/Trimethoprim (SXT) 25 ไมโครกรัม เป็นกลุ่มควบคุมบวก (positive control) ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการอ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณส่วนใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นรอบ ทรายงานผลเป็นเซนติเมตร ทำการเปรียบเทียบสมุนไพรที่แต่ละชนิดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งเชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณส่วนใส (inhibition zone) โดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

การศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี broth dilution

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ดัดแปลงจาก Pojanaukij and Kajorncheappunngam (2010) โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองที่เตรียมจากข้อ 2 มีปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่ 1×10^5 cfu/ml โดยวิธี broth dilution เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย (minimum inhibitory concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration; MBC) โดยการเจือจางสารสกัดสมุนไพรในอาหาร tryptic soy broth (TSB) ในหลอดทดลอง ให้มีระดับความเข้มข้นของสมุนไพรเท่ากับ 2500, 1250, 625, 312.5, 156.4, 78.1, 39.1, 19.5, 9.8, 4.9, 2.4, 1.2, 0.6 และ 0 mg/ml (ppt) ตามลำดับ โดยปริมาตรสารละลายในหลอดทดลองรวมเท่ากับ 5 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในทุกหลอดทดลอง โดยหลอดควบคุมบวก (positive control) จะเติมสารละลายแบคทีเรียและอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ส่วนหลอดควบคุมลบ (negative control) จะเติมสารสกัดสมุนไพรและอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เท่านั้น จากนั้นนำหลอดทดลองทั้งหมดไปบ่มด้วยเครื่อง incubator shaker ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการอ่านผลจากการเปลี่ยนแปลงของหลอดทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสังเกตจากความขุ่นของหลอดทดลอง โดยค่า MIC คือความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ (หลอดทดลองแรกใส) จากนั้นทำการเขียนเชื้อจากหลอดทดลองที่ยังคงใสอยู่ลงบนอาหาร TSA เพื่อหาค่า MBC โดยดูดสารละลายภายในหลอดทดลองแต่ละหลอด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วเกลี่ยสารละลายให้ทั่วโดยการ spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการอ่านค่า MBC จากความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อได้ โดยสังเกตจากการที่ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การวิเคราะห์ผลการศึกษา

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณส่วนใส (inhibition zone) โดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) ส่วนการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration; MBC) นำเสนอด้วยสถิติเชิงพรรณนาในรูปแบบตาราง

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion

ผลจากการใช้สมุนไพรท้องถิ่น จำนวน 29 ชนิด (32 ตัวอย่างสมุนไพร) ได้แก่ กระชาย (*Boesenbergia rotunda*) กระเทียม (*Allium sativum*) กะเพรา (*Ocimum sanctum*) ข่า (*Alpinia galangal*) ขิง (*Zingiber officinale*) ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) ขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*) ขะพลู (*Piper sarmentosum*) สะอมน (*Acacia pennata*) ตะคันเหล็ก (*Piper ribesoides*) ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) ต้นหอม (*Allium Cepa*) ใบบัวบก (*Centella asiatica*) ผักชี (ใบ, เมล็ด) (*Coriandrum sativum*; leaf/seed) ผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum*) ผักชีลาว (*Anethum graveolens*) ผักแพว (*Persicaria odorata*) พริกไทย (*Piper nigrum*) ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella*) มะระขึ้นก (*Momordica charantia*) มะรุม (ใบ, ผล) (*Azadirachta indica*; leaf/seed) ยี่หระ (*Ocimum gratissimum*) สะระแหน่ (*Mentha spicata*) สะเดา (ใบ, ดอก) (*Azadirachta indica*; leaf/seed) หอมแดง (*Allium ascalonicum*) และหอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*) ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่า สารสกัดหยาบจากข่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.80 ± 0.17 และ 2.36 ± 0.05 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1)

การศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี broth dilution

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* ด้วยวิธีการ broth dilution จากค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย (MIC) ไม่สามารถอ่านผลได้เนื่องจากสีของสมุนไพรในการทดสอบมีสีเข้มจนไม่สามารถมองเห็นการเจริญเติบโตหรือการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างชัดเจน ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) พบว่า สมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* มีจำนวน 17 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม ขิง ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน หอมแดง ขึ้นฉ่าย ใบชะพลู ใบบัวบก ยี่หระ สะระแหน่ ฟ้าทะลายโจร ใบมะรุม พริกไทย เปลือกมะกรูด สะเดา และตะไคร้ โดยสมุนไพรที่มีค่า MBC ดีที่สุด คือ กระชายขาว มีค่า MBC เท่ากับ 156.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) รองลงมาได้แก่ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน ยี่หระ ตะคันเหล็ก และตะไคร้ มีค่า MBC เท่ากัน คือ 625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) (Table 2)

ส่วนผลของสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มีจำนวน 20 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม ขิง ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน หอมแดง กะเพรา ใบชะพลู ใบบัวบก ยี่หระ สะระแหน่ ฟ้าทะลายโจร ใบมะรุม พริกไทย มะแขว่น เปลือกมะกรูด สะเดา ตะไคร้ และตะคันเหล็ก โดยมีค่า MBC ได้ดีที่สุด คือ ขมิ้นชัน มีค่า MBC เท่ากับ 9.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) รองลงมาได้แก่ กระชายขาว 39.1 ขมิ้นขาว 156.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) และมะแขว่น ตะไคร้ มะกรูด มีค่า MBC เท่ากัน คือ 312.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) ตามลำดับ (Table 2) ส่วนผลการศึกษาในกลุ่มควบคุมบวก (สารละลายแบคทีเรียและอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB) พบว่า มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ส่วนหลอดควบคุมลบ (สารสกัดสมุนไพรและอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB) พบว่า ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

Table 1 The diameters of clear zone from Thai herbs extract against of two pathogenic bacteria, *S. agalactiae* and *A. hydrophila*, in Nile tilapia

Herb	Part of plant	Scientific name	Diameters of inhibition zone (cm)	
			<i>S. agalactiae</i>	<i>A. hydrophila</i>
Kaempfer	root	<i>Boesenbergia rotunda</i>	0.91±0.12 ^c	0.94±0.08 ^{abc}
Allium	root	<i>Allium sativum</i>	0.44±0.38 ^d	0.00 ^e
Holy basil	leaf	<i>Ocimum sanctum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Galanga	root	<i>Alpinia galanga</i>	2.80±0.17 ^a	2.36±0.05 ^a
Ginger	root	<i>Zingiber officinale</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
White curcumin	root	<i>Curcuma mangga</i>	0.83±0.20 ^c	1.11±0.12 ^b
Turmeric	root	<i>Curcuma longa</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Celery	leaf	<i>Apium graveolens</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Wildbetal leafbush	leaf	<i>Piper sarmentosum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Climbing wattle	leaf	<i>Acacia pennata</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Lao chili wood	stem	<i>Piper ribesioides</i>	0.93±0.12 ^c	0.70±0.61 ^{cd}
Lemon grass	stem	<i>Cymbopogon citratus</i>	1.05±0.15 ^c	0.92±0.08 ^{bcd}
Green shallot	leaf	<i>Allium Cepa</i> var. <i>aggregatum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Asiatic pennywort	leaf	<i>Centella asiatica</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Coriander	leaf	<i>Coriandrum sativum</i>	1.52±0.44 ^b	0.00 ^e
Coriander	seed	<i>Coriandrum sativum</i>	0.00 ^e	1.23±0.06 ^b
Culantro, long coriander	leaf	<i>Eryngium foetidum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Dill	leaf	<i>Anethum graveolens</i>	0.00 ^e	0.59±0.51 ^d
Vietnamese coriander	leaf	<i>Persicaria odorata</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Pepper	seed	<i>Piper nigrum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Kariyat	leaf	<i>Andrographis paniculata</i>	0.00 ^e	1.05±0.05 ^{bc}
Kaffir lime, leech lime	seed	<i>Citrus hystrix</i> DC.	0.92±0.06 ^c	1.02±0.13 ^{bc}
Mullilam	seed	<i>Zanthoxylum limonella</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Bitter gourd	fruit	<i>Momordica charantia</i>	1.02±0.15 ^c	0.96±0.15 ^{bc}
Horse radish tree	leaf	<i>Moringa oleifera</i>	0.00 ^e	1.14±0.13 ^b
Horse radish tree	seed	<i>Moringa oleifera</i>	0.00 ^e	0.87±0.24 ^{bcd}
Tree basil	leaf	<i>Ocimum gratissimum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Kitchen mint, marsh mint	leaf	<i>Mentha spicata</i>	0.00 ^e	1.13±0.12 ^b
Siamese neem tree	leaf	<i>Azadirachta indica</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Siamese neem tree	seed	<i>Azadirachta indica</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Shallot	root	<i>Allium ascalonicum</i>	0.00 ^e	0.00 ^e
Onion	root	<i>Allium cepa</i>	1.52±0.35 ^b	1.17±0.04 ^b
AML 25 (positive control)	antibiotic	Amoxicillin	3.36±1.15	1.36±0.11
SXT 25 (positive control)	antibiotic	Sulfamethoxazole/Trimethoprim	1.68±0.29	2.01±0.18

^{a-e} Different superscript letters within each column are significantly different ($P<0.05$). SD; Standard deviation of mean

เมื่อทำการจัดจำแนกกลุ่มสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม ขิง ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน ขะพลู ตะคร้ำเหล็ก ใบบัวบก พริกไทย ฟ้าทะลายโจร มะรุม (ใบ) ยี่หระ สะระแหน่ สะเดา (ดอก) และหอมแดง ส่วนกลุ่มสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้เพียง 1 ชนิด ได้แก่ กะเพรา ขึ้นฉ่าย มะกรูด มะแขว่น สะเดา (ใบ) และกลุ่มสมุนไพรที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ข่า ชะอม ต้นหอม ผักชี (ใบ) ผักชี (เมล็ด) ผักชีฝรั่ง ผักชีลาว ผักแพรว มะระขี้นก และมะรุม (ผัก)

Table 2 Minimum bactericidal concentration (MBC; mg/ml) of Thai herbs extract against of two pathogenic bacteria, *S. agalactiae* and *A. hydrophila*, in Nile tilapia

Herb	Part of plant	Scientific name	Minimum bactericidal concentration (mg/ml)	
			<i>S. agalactiae</i>	<i>A. hydrophila</i>
Kaempfer	root	<i>Boesenbergia rotunda</i>	39.1	156.2
Allium	root	<i>Allium sativum</i>	1250	2500
Holy basil	leaf	<i>Ocimum sanctum</i>	625	NE
Galanga	root	<i>Alpinia galanga</i>	NE	NE
Ginger	root	<i>Zingiber officinale</i>	625	2500
White curcumin	root	<i>Curcuma mangga</i>	156.2	625
Turmeric	root	<i>Curcuma longa</i>	9.8	625
Celery	leaf	<i>Apium graveolens</i>	NE	1250
Wildbetal leafbush	leaf	<i>Piper sarmentosum</i>	2500	2500
Climbing wattle	leaf	<i>Acacia pennata</i>	NE	NE
Lao chili wood	stem	<i>Piper ribesoides</i>	625	625
Lemon grass	stem	<i>Cymbopogon citratus</i>	312	625
Green shallot	leaf	<i>Allium Cepa</i> var. <i>aggregatum</i>	NE	NE
Asiatic pennywort	leaf	<i>Centella asiatica</i>	1250	1250
Coriander	leaf	<i>Coriandrum sativum</i>	NE	NE
Coriander	seed	<i>Coriandrum sativum</i>	NE	NE
Culantro, long coriander	leaf	<i>Eryngium foetidum</i>	NE	NE
Dill	leaf	<i>Anethum graveolens</i>	NE	NE
Vietnamese coriander	leaf	<i>Persicaria odorata</i>	NE	NE
Pepper	seed	<i>Piper nigrum</i>	1250	2500
Kariyat	leaf	<i>Andrographis paniculata</i>	1250	1250
Kaffir lime, leech lime	seed	<i>Citrus hystrix</i> DC.	312.5	NE
Mullilam	seed	<i>Zanthoxylum limonella</i>	312.5	NE
Bitter gourd	fruit	<i>Momordica charantia</i>	NE	NE
Horse radish tree	leaf	<i>Moringa oleifera</i>	1250	2500
Horse radish tree	seed	<i>Moringa oleifera</i>	NE	NE
Tree basil	leaf	<i>Ocimum gratissimum</i>	1250	625
Kitchen mint, marsh mint	leaf	<i>Mentha spicata</i>	1250	1250
Siamese neem tree	leaf	<i>Azadirachta indica</i>	625	NE
Siamese neem tree	seed	<i>Azadirachta indica</i>	625	1250
Shallot	root	<i>Allium ascalonicum</i>	2500	1250
Onion	root	<i>Allium cepa</i>	NE	NE

NE = Non-Effective

การศึกษาค้นพบว่า สมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* โดยมีค่า MBC ได้ดีที่สุด คือ กระชายขาว มีค่าเท่ากับ 156.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) รองลงมาได้แก่ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน ยี่หระ ตะคานเหล็ก และตะไคร้ มีค่า MBC เท่ากัน คือ 625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) ส่วนสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มีค่า MBC ได้ดีที่สุด คือ ขมิ้นชัน มีค่า MBC เท่ากับ 9.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) รองลงมากระชายขาว 39.1 ขมิ้นขาว 156.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) และมะแขว่น ตะไคร้ มะกรูด มีค่า MBC เท่ากัน คือ 312.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nonwachai and Duangkaew (2016) ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* จากสารสกัดสมุนไพรไทย 7 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ขิง กระเทียม มะกรูด ฟ้าทะลายโจร กะเพรา และทองพันชั่ง ด้วยวิธี agar well diffusion และ broth dilution พบว่า สมุนไพรไทยที่มีผลให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใสเฉลี่ยมากที่สุด คือ ขมิ้นชัน ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) มีค่าดีที่สุดเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) รองลงมาได้แก่ ขิง กระเทียม และฟ้าทะลายโจร ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) ซึ่งจากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า สารสกัดฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า MBC ต่อเชื้อ *A. hydrophila* สูงถึง 1250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt)

การศึกษานี้พบว่า สมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มีค่า MBC ได้ดีที่สุด คือ ขมิ้นชัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Srisayam et al. (2018) ได้ทำการศึกษายาคประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นสามชนิดในประเทศไทย ได้แก่ ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) ขมิ้นชัน (*C. longa*) และขมิ้นดำ (*C. aeruginosa*) โดยการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ *Staphylococcus epidermidis* ด้วยวิธี agar well diffusion, broth dilution และ agar dilution และหาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) ผลการทดลองจากวิธีการ agar well diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้น 3 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด 7 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารในขมิ้นชันพบสาร 16 ชนิด ได้แก่ α -terpineol, α -terpinolene, α -turmerone, β -turmerone, zingiberenol, isoborneol, l-phellandrene, 1,8-cineole, (+)-ar-turmerone, italicene, β -bisabolene, trans-caryophyllene, β -elemene, trans- β -farnesene, camphor และ patchouli alcohol โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นมีสารในกลุ่ม terpenes ในปริมาณสูง ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งส่วนประกอบดังกล่าวอาจเป็นส่วนประกอบสำคัญในกลไกการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของแบคทีเรีย และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ (Lutomski et al., 1974 ; Shankar and Murthy, 1979) และการศึกษาของ Vanichkul (2010) ทำการศึกษายาคประกอบขมิ้นชันในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* และ *S. agalactiae* มีค่า MBC เท่ากับ 2,275.55 และ >4,452.17 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) ตามลำดับ ซึ่งสกัดสารขมิ้นชันที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถสกัดขมิ้นชันได้ 38.45 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เป็นสารสำคัญกลุ่ม curcuminoids ซึ่งประกอบไปด้วยสาร 3 ชนิด คือ curcumin, desmethoxycurcumin และ bisdesmethoxycurcumin รวมอยู่กับน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) โดยในขมิ้นชันมีสาร curcuminoids ที่มีฤทธิ์ไปขัดขวางกระบวนการผลิตเอนไซม์ β -lactamase ของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมาเพื่อต่อต้านฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลคแตม โดยโมเลกุลของ curcuminoids เช่น phenol และ hydroxyl group จะออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว โดยจะแทรกตัวเข้าไปในส่วนไขมันที่อยู่ในผนังเซลล์ชั้นใน ทำให้เกิดการรั่วไหลของส่วนประกอบภายในเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว และทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน (Kumar et al., 2001; Purseglove et al., 1981; Siramon and Waeonukul, 2021) โดย Shankar and Murthy (1979) รายงานว่า ขมิ้นชันสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้โดยการยับยั้งการสร้างกรดและการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* และ *L. plantarum* และยับยั้งการสร้างก๊าซของเชื้อ *E. coli* โดย Ciamician and Silber (1897) กล่าวว่า curcuminoids ซึ่งมีสารสีเหลืองส้ม สามารถควบคุม เชื้อ *Streptococcus* spp. และ *Staphylococcus* spp. และมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคภัย และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนองได้ จะเห็นว่าน้ำมันหอมระเหยและสาร curcuminoids จากขมิ้นชัน สามารถยับยั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อราได้ ซึ่งอาจเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของพืชที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย โดยมีกลไกการออกฤทธิ์โดยทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแบคทีเรีย โดยเฉพาะการสร้างผนังเซลล์ ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนหรือกรดนิวคลีอิก เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Von et al, 1974; Shankar and Murthy, 1978)

จากการศึกษานี้ได้ใช้สารละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย พบว่า สมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* โดยมีค่า MBC ได้ดีที่สุด คือ กระชายขาว รองลงมาได้แก่ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน ยี่หระ ตะคานเหล็ก และ

ตะไคร้ ส่วนสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มีค่า MBC ได้ดีที่สุด คือ ขมิ้นชัน รองลงมากระชายขาว ขมิ้นขาว มะแขว่น ตะไคร้ มะกรูด ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Kambale et al. (2014) ที่ศึกษาสารสกัดทางชีวภาพจากสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ มะตูม, มะขามป้อม, มะรุม สะเดา และมะฮอกกานีจีน ที่สกัดด้วยน้ำ คลอโรฟอร์ม และเอทานอล เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ ต่อเชื้อ *S. agalactiae* biotype 2 โดยมะตูม, มะขามป้อม และ มะรุม ที่สกัดด้วยน้ำ ส่วนสะเดา และมะฮอกกานีจีน สกัดด้วย คลอโรฟอร์มและเอทานอล โดยใช้วิธี disk diffusion assay และหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ของสมุนไพรด้วยวิธี agar diffusion พบว่า สารสกัดใบมะรุมที่สกัดด้วยน้ำ มีค่าโซนการยับยั้งสูงที่สุด คือ 13.1 มิลลิเมตร และสารสกัดจากใบมะตูม มีค่าเท่ากับ 7.9 มิลลิเมตร และสารสกัดมะฮอกกานีจีนที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มมีค่า MIC ดีที่สุดคือ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) และแตกต่างจากการศึกษาของ Kladkongtug (2019) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านภาคเหนือของ ประเทศไทย จำนวน 11 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* และความต้านทานโรคในปลานิล ได้แก่ ติงหว้า ผักขี้หูด ผักคาวตอง ผักเชียงดา ผักแปมบ้าน ผักแปมป่า ผักแส้ว ผักฮาก ผักหนาม ผักฮ้วนหมู และมะแขว่น โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ประเภท คือ ตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้ง ได้แก่ น้ำ และเมทานอล และตัวทำละลายไม่มีขี้ผึ้ง ได้แก่ เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* 2 ไอโซเลท คือ *S. agalactiae* JP9 และ JP17 ด้วยวิธี disk diffusion และทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี modified microtiter plate broth dilution พบว่า ผักแปมบ้านที่สกัดด้วยเมทานอล ผักฮ้วนหมูที่สกัดด้วยเมทานอล มะแขว่นที่สกัดด้วยเฮกเซน และผักฮ้วนหมูที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน สามารถยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* JP9 ได้ และมีค่า MIC เท่ากับ 1,602.3, 13,224.0, 17,912.0 และ 13,566.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) ตามลำดับ ส่วนผักแปมบ้านที่สกัดด้วยเมทานอล ผักคาวตองที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ผักฮ้วนหมูที่สกัดด้วยเมทานอล และมะแขว่นที่สกัดด้วยเฮกเซน สามารถยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* JP17 ได้ และมีค่า MIC เท่ากับ 6,867.0, 19,112.0, 12,224.0 และ 15,679.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) ตามลำดับ และแตกต่างจากการการศึกษาของ Pachanawan (2012) ทดสอบความสามารถของสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคปลา 2 ชนิด คือ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* ทั้งในหลอดทดลองและในตัวปลา สำหรับการทดสอบกับ *S. agalactiae* นำสมุนไพร 14 ชนิด ได้แก่ บอระเพ็ด บัวบก ฝรั่ง ฟ้ายะลวยโจร กะเม็ง ขมิ้นชัน กระเทียม ลูกใต้ใบ มังคุด มะระขี้นก น้ำมันราสส์ พริกขี้หนู ส้มเขียวหวาน และทับทิม มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ เฮกเซน เมทานอล เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เอทิลอะซิเตท และน้ำกลั่น นำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *S. agalactiae* โดยวิธี swab paper disc และหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ในการยับยั้ง *S. agalactiae* พบว่า สารสกัดพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens*) ที่สกัดด้วยเมทานอล ให้ผลการยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 31.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับการทดสอบกับเชื้อ *A. hydrophila* ด้วยสมุนไพร 14 ชนิด ได้แก่ บอระเพ็ด บัวบก ฝรั่ง ฟ้ายะลวยโจร กระเทียม มังคุด มะระขี้นก ทับทิม ชุมเห็ดเทศ ข่า กานพลู กระชาย กะเพรา และตะไคร้ มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 90 อีเทอร์ และน้ำกลั่น แล้วทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* โดยวิธี swab paper disc และหาค่า MIC พบว่า สารสกัดใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ผลการยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะเห็นได้ว่า ตัวทำละลายอาจมีผลในการสกัดสารสำคัญของพืช ซึ่งสารสำคัญหรือสารประกอบในพืชสมุนไพรมีหลายชนิด โดยมีความสมบัติแตกต่างกัน ได้แก่ 1) สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารมีขี้ผึ้ง (ละลายน้ำ) เช่น carbohydrate, glycosides, organic acids และ phenolic เป็นต้น 2) สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งมีขี้ผึ้ง (ละลายได้ในแอลกอฮอล์) เช่น tannin, saponin, alkaloids, phenolic, terpenoid, resins เป็นต้น และ 3) สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารไม่มีขี้ผึ้ง (ไม่ละลายน้ำ ละลายในตัวทำละลายสารอินทรีย์) เช่น น้ำมันหอมระเหย (volatile oils), resins และ lipids เป็นต้น (Katakya and Handique, 2010) ดังนั้น การเลือกชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสม จะช่วยให้ได้สารประกอบที่สำคัญในพืชสมุนไพรได้เป็นอย่างดี

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* โดยวิธี disk diffusion และ broth dilution โดยใช้สารสกัดสมุนไพร 29 ชนิด (32 ตัวอย่างสมุนไพร) พบว่า สารสกัดจากข่ามีค่าโซนการยับยั้ง (inhibition zone) ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* สูงที่สุด ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ทั้งเชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* พบว่า ขมิ้นชัน กระชายขาว และขมิ้นขาว มีค่า MBC ดีที่สุด จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการตัดสินใจคัดเลือกสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเพื่อประยุกต์ใช้สารสกัดสมุนไพรในการป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลและสัตว์น้ำอื่น ๆ ได้

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเงินสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยพะเยา เลขที่สัญญา FF66-UoE013 กองทุนส่งเสริม ววน. ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ ที่ให้การสนับสนุนสถานที่ วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

การกำกับดูแลบริหารโครงการ คิตรีเริ่มกำหนดปัญหาและสมมติฐาน รวบรวมและสืบค้นข้อมูล การปฏิบัติการวิจัยและการทดลอง การเก็บและรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์และแปลผลการทดลอง อภิปรายและวิพากษ์วิจารณ์ผลการทดลอง การจัดหาทุนสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง จัดเตรียมการเขียนและการแก้ไขต้นฉบับ (Manuscript): กรทิพย์ กันนิการ์. การเตรียมความพร้อมการวิจัย การทดลองและปฏิบัติการวิจัย: อลิศรา นพรินทร์, นลินี ลีเกสร, อาภาพร แสงจันะ, อามินตรา นามภักดี. การจัดเก็บและตรวจสอบข้อมูล เก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล: ภัฏญานัฐ สุนทรประสิทธิ์, ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์. เสนอแนะการเก็บรวบรวมข้อมูล: เกรียงไกร สีตะพันธุ์. การเตรียมความพร้อมการวิจัย การออกแบบ ทดลองและปฏิบัติการวิจัย สนับสนุนห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์สำหรับการทดลอง: เปรมดา ทิพย์เดโช.

เอกสารอ้างอิง

- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Serris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, 45(4), 493-496.
- Chitmanat, C. (2013). Tilapia diseases. **Chiang Mai Veterinary Journal**, 11(1), 75-86. (in Thai).
- Ciamician, G., & Silber, P. (1897). Zur Kenntnis des curcumins. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, 30, 192-195. (in German)
- Department of Fisheries. (2022). **Fisheries Statistics of Thailand 2021**. Retrieved from: https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_qr_group/1408/7527. (in Thai).
- FAO. (2022). **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. Retrieved from: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, 317(1-4), 1-15.
- Kamble, M. T., Gallardo, W. G., Yakupitiyage, A., Chavan, B. R., Rusydi, R., & Rahma, A. (2014). Antimicrobial activity of bioactive herbal extracts against *Streptococcus agalactiae* biotype 2. **International Journal of Basis and Applied Biology**, 2(3), 152-155.
- Kataky, A., & Handique, P. J. (2010). A brief overview on *Andrographis paniculata* (Burm. f) Nees. A high valued medicinal plant: Boon over synthetic drugs. **Asian Journal of Science and Technology**, 6(1), 113-118.
- Kladkongtug, K. (2019). **Efficiency of Crude Extracts from Northern Thai Local Plants on Inhibition of *Streptococcus agalactiae* and Disease Resistance in Nile tilapia**. Master's Thesis. Chiang Mai University. (in Thai).
- Kumar, S., Narain, U., Tripathi, S., & Mirsa, K. (2001). Syntheses of curcumin bioconjugates and study of their antibacterial activities against β -lactamases-producing microorganisms. **Bioconjugate Chemistry**, 12(4), 464-469.
- Lutomski, J., Kedzia, B., & Debska, W. (1974). Effect of an alcohol extract and active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. **Plant Medica**, 26(5), 9-19.
- Nithikulworawong, N. (2012). Efficacy of *Bauhinia sirindhorniae* on resistance to against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **KKU Research Journal**, 17(5), 715-724. (in Thai).
- Nonwachai, T., & Duangkaew, D. (2016). Effect of Thai herbs extracted on growth inhibition of *Aeromonas hydrophila*. **Khon Kaen Agriculture Journal**, 44(Suppl.1), 124-129. (in Thai).
- Pachanawan, A. (2012). **Potential of Thai Herbs and their Extracts as Alternatives to Antibiotics for Controlling *Streptococcus agalactiae* and *Aeromonas hydrophila* Infections in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.)**. Doctoral Thesis. Ubon Ratchathani University. (in Thai).
- Pojanaukij, N., & Kajorncheappunngam, S. (2010). Comparison of antimicrobial activity of mangosteen crude, turmeric and gotu kola extract. **Naresuan University Journal**, 18(1), 1-9. (in Thai).
- Potiwong, C., Suwan, C., Noimoon, P., Yawichai, P., Jitmanowan, S., & Chitmanat, C. (2020). Effects of medicinal plants on fish immunity and its growth performances. **Burapha Science Journal**, 25(2), 595-616. (in Thai).
- Purseglove, J. W., Brown, E. G., Green, C. L., & Robbins, S. R. J. (1981). **Spices**. Longman.
- Rattanachaiunsopon, P., & Phumkhachorn, P. (2010). Use of herbs as prophylactic and therapeutic agents in fish. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**, 12(4), 63-71. (in Thai).
- Shankar, T. N. B., & Murthy, V. S. (1978). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) on the growth of some intestinal bacteria *in vitro*. **Journal of Food Science and Technology**, 15(4), 152-153.
- Shankar, T. N. B., & Murthy, V. S. (1979). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal and pathogenic bacteria *in vitro*. **Indian Journal of Experimental Biology**, 17(12), 1363-1366.
- Siramon, P., & Waeonukul, R. (2021). Chemical composition and antibacterial activities of rhizome extract from *Curcuma aromatica* Salisb. **YRU Journal of Science and Technology**, 6(2), 118-125. (in Thai).
- Srisayam, M., Jooduang, J., Srisopa, A., Keerin, P., & Sangthong, S. (2018). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from three *curcuma* species in Thailand. **Life Sciences and Environment Journal**, 19(2), 222-233. (in Thai).
- Vanichkul, K. (2010). **Role of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) and Creat (*Andrographis paniculata* Wall. Ex Nees) Extract on Immunity of Aquatic Animals and their Activities on the Control of Pathogenic Bacteria**. Doctoral Thesis. Kasetsart University. (in Thai).
- Von, J., Lutomski, B., & Kedzia, W. D. (1974). Effect of an alcohol extract and active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. **Plant Medica**, 26(1), 9-19.