

การใช้สารสกัดหยาบของใบมังคุดในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila*

Use of Crude Extract of Mangosteen Leaf for Inhibiting *Aeromonas hydrophila*

อารยา แดงโรจน์* ชนัญชัย ใจประเสริฐ และ ธนกร กันท์

Araya Deangroj* Chananchai Chaiprasert and Thanakorn Kantas

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

Program in Aquaculture Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rambhai Barni Rajabhat University

*E-mail: araya.d@rbru.ac.th

Received: Oct 28, 2021

Revised: Jan 01, 2022

Accepted: Mar 17, 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบของใบมังคุดในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* และเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila* ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้ง *A. hydrophila* โดยวิธี agar well diffusion โดยใช้สารสกัดหยาบของใบมังคุดที่มีความเข้มข้น 200,000 150,000 100,000 50,000 และ 10,000 ส่วนในล้านส่วน พบว่า สารสกัดจากใบมังคุดที่มีความเข้มข้น 200,000 ส่วนในล้านส่วน มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ดีที่สุด โดยโซนใสมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 1.245 ± 0.056 เซนติเมตร นอกจากนี้แล้วจากการศึกษาด้วยวิธี broth dilution assay ยังพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ มีค่าเท่ากับ 1,563 ส่วนในล้านส่วน การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของใบมังคุดมีศักยภาพที่จะนำมาใช้แทนยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *A. hydrophila* การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าใบมังคุด ซึ่งหาได้ง่ายในประเทศไทย สามารถใช้เป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการควบคุมโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila* ซึ่งจะช่วยให้ลดการใช้ยาปฏิชีวนะที่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: ใบมังคุด ยาปฏิชีวนะ *Aeromonas hydrophila*

Abstract

The aim of this research was to examine ability of crude extract of mangosteen leaf to inhibit *Aeromonas hydrophila* and to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of crude extract of mangosteen leaf to inhibit *A. hydrophila*. In antimicrobial test against *A. hydrophila* by using agar well diffusion method with concentrations of crude extract of mangosteen leaf of 200,000 150,000 100,000 50,000 and 10,000 ppm. It was found that the crude extract of mangosteen leaf with the concentration of 200,000 ppm exerted the highest antimicrobial activity against *A. hydrophila* with the inhibition zone of 1.245 ± 0.056 cm. Furthermore, from broth dilution assay, it was also found that the MIC of crude extract of mangosteen leaf against *A. hydrophila* was 1,563 ppm. The study demonstrated mangosteen leaf, readily available throughout Thailand, could be used as an alternative for farmers to control the disease caused by *A. hydrophila*. This might help reduce the use of antibiotics having negative effect on environment.

Keywords: Mangosteen leaf, Antibiotics, *Aeromonas hydrophila*

1. บทนำ

Aeromonas hydrophila เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่เป็นสาเหตุก่อโรคกับสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ส่วนใหญ่มักพบในบ่อที่เลี้ยงหนาแน่นมาก หรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน เชื้อนี้อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์สูง น้ำในบ่อเขียวจัด ทำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียด มีภาวะภูมิคุ้มกันที่ต่ำลง อาการและตำแหน่งที่เกิดความผิดปกติของโรคมีความหลากหลาย แต่อาการที่ปรากฏร่วมกันในการติดเชื้อ คือ อาการมีเลือดออก (Hemorrhage) ที่ผิวหนัง ช่องปาก และกล้ามเนื้อ [1] ซึ่งมักเกิดร่วมกับการมีแผลหลุมที่ผิวหนังชั้นนอกนอก (Epidermis) บางครั้งอาจพบลักษณะเป็นแผลหลุมลึก ตาโปน ท้องบวม ช่องท้องมีของเหลวคล้ายน้ำเลือดใส ๆ ครึบต่าง ๆ บวม [1] เรียกโรคที่แสดงอาการจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ว่า Motile Aeromonas Septicaemia [2] ซึ่งมักทำให้สัตว์น้ำราคาดกหรือไม่ก็ตายในที่สุด

การรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์น้ำมักใช้ยาปฏิชีวนะ เนื่องจากเป็นวิธีที่ได้ผลดี แต่การใช้วิธี หรือใช้แบบไม่มีการควบคุม อาจส่งผลให้เชื้อโรคดื้อยา จนนำไปสู่การระบาดของโรคอย่างควบคุมไม่ได้ นอกจากนี้แล้วยาปฏิชีวนะที่ใช้อาจหลุดลอดออกไปส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม หรืออาจตกค้างในสัตว์น้ำ ซึ่งอาจส่งผลเสียต่อผู้บริโภคด้วย

ปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับพืชสมุนไพรที่มีความสามารถควบคุมโรคของสัตว์น้ำมีแพร่หลายมากขึ้น มีพืชหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้ง ป้องกัน และรักษาโรคของสัตว์น้ำได้ [3] โดยทั่วไปสารที่อยู่ในพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น แทนนิน (Tannin) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) และน้ำมันหอมระเหย (Essential oils) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการป้องกันโรค ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ลดการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระ [4] การใช้พืชสมุนไพร ซึ่งเป็นสิ่งที่มาจากรธรรมชาติ นอกจากจะไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำแล้ว หากสัตว์น้ำนั้นเป็นอาหารของมนุษย์ ก็จะไม่มีการตกค้างส่งถึงผู้บริโภคอีกด้วย ประเทศไทยเป็นแหล่งพืชสมุนไพรนานาชนิด จึงทำให้มีศักยภาพที่จะนำพืชสมุนไพรมาใช้แทนยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคในสัตว์น้ำ

มังคุด (Mangosteen; *Garcinia mangostana* L.) จัดเป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่ปรากฏอยู่ในตำรายาไทย (ต้น ใบ ดอก) และมีสรรพคุณในการบำบัดรักษาโรค ได้แก่ รักษาโรคบิดมูกเลือด แก้แผลเป็นหนอง แผลเปื่อย ช่วยสมานแผล และรักษาอาการท้องร่วง ด้านมะเร็ง [5], [6], [7] มังคุดเป็นพืชที่นิยม

ปลูกในหลายจังหวัดของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดจันทบุรี เนื่องจากให้ผลผลิตสูง ราคาดี เป็นที่ต้องการของตลาด ซึ่งในทุก ๆ ปี เกษตรต้องบำรุงดูแลรักษาต้นมังคุดด้วยการใส่ปุ๋ย และตัดแต่งกิ่ง ซึ่งการแต่งกิ่งมังคุดนั้น ทำให้เกิดกิ่งก้านขนาดใหญ่ที่มีขายพุ่มมาชนกันเกิดช่องว่าง ทำให้แต่ละกิ่งก้านรับแสงได้ดีขึ้น ลดความชื้น ซึ่งความชื้นที่พื้นอาจเป็นเหตุให้เกิดวัชพืช และเชื้อราได้ การแต่งกิ่งจึงมีใบมังคุดที่ไม่เป็นที่ต้องการของเกษตรกรจำนวนมาก การนำใบมังคุดไปใช้ประโยชน์จึงเป็นทางหนึ่งในการนำช่วยลดสิ่งเหลือใช้ทางการเกษตร ที่ผ่านมามีการนำสารสกัดจากใบมังคุดไปยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคต่าง ๆ เช่น *Pseudomonas syringae* และ *Xanthomonas oryzae* [7] นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเอทานอล (ethanol) มีประสิทธิภาพในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) และ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) จากใบมังคุดได้ดี ซึ่งสารทั้ง 2 กลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ [8] ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสนใจนำสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของใบมังคุดมาใช้ในการยับยั้ง *A. hydrophila* ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกมังคุด และเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศต่อไป

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. การสกัดสารสกัดหยาบของใบมังคุด

นำใบมังคุดสดมาล้างน้ำให้สะอาด นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้งนำไปปั่นให้ละเอียดให้ได้ปริมาณ 400 กรัม บรรจุลงในภาชนะขวดแก้วขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร หรือให้ท่วมใบมังคุด ปิดฝาให้สนิทเก็บไว้ที่ที่บดแสง หมักทิ้งไว้ 168 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยกชิ้นส่วนใบมังคุดออกโดยใช้ผ้าขาวบาง และกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 อีกครั้ง นำส่วนของสารสกัดไปเข้าเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 175 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทำการระเหยจนได้สารลักษณะเข้มข้น บันทึกน้ำหนักสารสกัดหยาบของใบมังคุด จากนั้นบรรจุสารสกัดในขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอดำเนินการทดลองในขั้นต่อไป

ร้อยละของปริมาณสารสกัดหยาบของใบมังคุดคำนวณได้ดังนี้

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{Weight of crude extract}}{\text{Weight of fresh leaf}} \times 100$$

2.2. การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบของใบมังคุดในการยับยั้ง *A. hydrophila*

การทดลองนี้ใช้วิธี agar well diffusion [9] และใช้สารสกัดหยาบของใบมังคุดที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000, 50,000, 100,000, 150,000 และ 200,000 ส่วนในล้านส่วน (Parts per million, ppm)

การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบของใบมังคุดในการยับยั้งแบคทีเรีย *A. hydrophila* ทำโดยเชื้อเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง (Nutrient agar; NA) มา 1 ท่วงถ่ายเชื้อ (Loopful) ใส่ลงในอาหารเหลว (Nutrient broths; NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำหลอดเชื้อที่บ่มไว้มาปรับค่าความขุ่นให้มีค่าเท่ากับค่ามาตรฐาน McFarland Standard No 0.5 จากนั้นเจือจางแบคทีเรียที่ได้ 10 เท่า (จำนวนเซลล์เฉลี่ย 1.5×10^8 โคโลนีต่อมิลลิเมตร) ตูตเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate count agar) ทำการเชื้อเชื้อ (Spread plate) จากนั้นใช้ที่จุกเจาะรู (Cork borer) เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 6 หลุม ตูตสารสกัดหยาบของใบมังคุดความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในหลุม 5 หลุม ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อหลุม และอีก 1 หลุม เป็นหน่วยควบคุม ใส่สารตัวทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ 95 ตูตปริมาตร 20 ไมโครลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บข้อมูลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส (Inhibition zone)

2.3. การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila*

การทดลองนี้ใช้วิธี broth dilution assay [10] เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของ *A. hydrophila* โดยสารสกัดหยาบของใบมังคุด ซึ่งมีวิธีการดังนี้ เริ่มต้นนำหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 12 หลอด ตูตอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ใส่ลงในหลอดที่ 2-12 หลอดละ 1 มิลลิตร แล้วตูดสารสกัดหยาบของใบมังคุด 200,000 ส่วนในล้านส่วน ลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 มิลลิตร ต่อจากนั้นตูดสารในหลอดที่ 2 จำนวน 1 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำจนถึงหลอดที่ 11 สำหรับหลอดที่ 11 เมื่อผสมสารสกัดหยาบของใบมังคุดและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันได้ดีแล้ว ตูดสารละลายทิ้งไป 1 มิลลิตร ส่วนหลอดที่ 12 จะมีอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัดหยาบของใบมังคุด ซึ่งใช้เป็นหน่วยควบคุม (จากขั้นตอนดังกล่าว หลอดที่ 1-11 มี

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบมังคุดเท่ากับ 200,000 100,000, 50,000, 25,000, 12,500, 6,250, 3,125, 1,563, 781, 391 และ 195 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ) จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ลงไปในทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิตร (โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1×10^5 โคโลนีต่อมิลลิตร) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การอ่านผลการหา MIC โดยสังเกตความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้น ในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับหน่วยควบคุม

2.4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองที่ได้ด้วย Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วย Tukey's test จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. สารสกัดหยาบของใบมังคุด

ใบมังคุดอบแห้ง 400 กรัม เมื่อนำมาสกัดโดยวิธีการหมักด้วยตัวทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ร้อยละ 95 ได้สารสกัดหยาบของใบมังคุดเข้มข้น 41.60 กรัม เมื่อดำเนินการร้อยละของปริมาณสารสกัดหยาบของใบมังคุดได้เท่ากับ 10.40 โดยสารสกัดมีลักษณะขุ่นหนืด สีเหลืองอมน้ำตาล

3.2. การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบของใบมังคุดในการยับยั้ง *A. hydrophila*

การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่ระดับความเข้มข้น เท่ากับ 10,000 50,000 100,000 150,000 และ 200,000 ส่วนในล้านส่วน ในการยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบของใบมังคุดทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ได้ (Figure 1) โดยความสามารถในการยับยั้งแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบมังคุด โดยสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 200,000 ส่วนในล้านส่วนทำให้เกิดโซนใสที่มีขนาดกว้างที่สุดในขณะที่ในหน่วยควบคุม ซึ่งใช้เชื้อทานอลร้อยละ 95 แทนสารสกัดหยาบของใบมังคุด ไม่พบการยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* (Table 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าขนาดของโซนใสที่เกิดจากสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่มีความเข้มข้นต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 1 Antimicrobial activity of mangosteen leaf crude extracts with different concentrations against *A. hydrophila* studied by agar well diffusion

Concentration (ppm)	Clear Zone (cm)
Control (95% ethanol)	-
10,000	0.775±0.046 ^e
50,000	0.887±0.062 ^d
100,000	1.042±0.036 ^c
150,000	1.102±0.058 ^b
200,000	1.245±0.056 ^a

Mean values with different superscript letters in a column are significantly different at $p < 0.05$

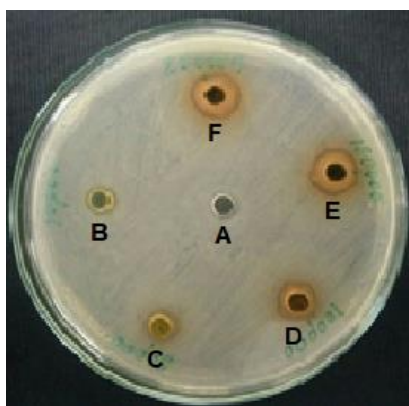


Figure 1 Antimicrobial activity of mangosteen leaf crude extracts with different concentrations against *A. hydrophila* studied by agar well diffusion.

(A) Control; (B) 10,000 ppm; (C) 50,000 ppm; (D) 100,000 ppm; (E) 150,000 ppm; (F) 200,000 ppm

3.3. การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. hydrophila*

จากการศึกษาความสามารถของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ได้ จึงทำการหาความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดดังกล่าวในการยับยั้ง *A. hydrophila* ด้วยวิธี broth dilution assay พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่ 200,000, 100,000, 50,000, 25,000, 12,500, 6,250, 3,125 และ 1,563 ส่วนในล้านส่วน สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ ส่วนที่ความเข้มข้นเท่ากับ 781, 391, 195 ส่วนในล้านส่วน และหน่วย

ควบคุม ไม่สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ (Table 2) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ได้มีค่าเท่ากับ 1,563 ส่วนในล้านส่วน

การที่สารสกัดหยาบของใบมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ เป็นเพราะว่าใบมังคุดมีสารในกลุ่มแซนโทนส์ (Xanthones) ซึ่งมีคุณสมบัติฆ่าแบคทีเรีย ฆ่าเซลล์มะเร็ง ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ [5], [6], [7] นอกจากนี้ในส่วนของใบของมังคุดยังประกอบไปด้วยแทนนิน (Tannin) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และแอลคาลอยด์ (Alkaloids) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้ [11] เมื่อจำแนกองค์ประกอบทางเคมีในใบมังคุด ด้วยวิธี Gas chromatography-Mass spectrometry (Gc-Ms) พบว่ามีสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas syringae* และ *Xanthomonas oryzae* ได้แก่ 4,4-Methylenebis (2,6-di-tert-butylphenol), Cycloartenol, Caryophyllene และ Docosane โดยความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดของใบมังคุดด้วยเอทานอลที่สามารถยับยั้ง *P. syringae* และ *X. oryzae* ได้อยู่ที่ 3.125 และ 1.562 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ [7]

การทดลองด้านพืชสมุนไพร อาจมีความคลาดเคลื่อนในแต่ละครั้ง เนื่องจากปัจจัยหลายด้าน เช่น สมุนไพรแต่ละแหล่งมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ต่างกัน ทั้งมีเรื่องของวิธีการปลูก การดูแลและบำรุง ฤดูกาล ปริมาณน้ำฝน และแร่ธาตุในดินของแต่ละพื้นที่ ทำให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์แตกต่างกัน นอกจากนี้ส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบอ่อน ใบแก่ อาจมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ [12]

นอกจากนี้ยังพบว่าในใบมังคุดมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนแปลงเพศ จึงศึกษาผลของสารฟลาโวนอยด์จากใบมังคุดที่มีต่อการแปลงเพศปลานิล พบว่าปลานิลที่ทดลองเลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 200 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน มีปลานิลเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย ในอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียอยู่ระหว่าง 1:0.67 ถึง 1:0.72 ต่างจากปลานิลกลุ่มควบคุมที่มีอัตราส่วนปลานิลเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1:1.06 ซึ่งถือว่าการแปลงเพศปลานิลด้วยสารสกัดหยาบของใบมังคุดให้ผลสำเร็จต่ำกว่าฮอร์โมนสังเคราะห์ [13] จากการวิจัยนี้สรุปได้ว่า สามารถใช้สารสกัดหยาบของใบมังคุดในการยับยั้ง *A. hydrophila* ได้อย่างปลอดภัย แต่หากเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำมีความกังวลเรื่องการเปลี่ยนเพศของ

สัตว์น้ำที่จะส่งผลกระทบต่อราคา หรือการเพิ่มจำนวนของผลผลิต เกษตรกรอาจจะใช้สารสกัดหยาบของใบมังคุดเพื่อการสร้าง ภูมิคุ้มกัน หรือป้องกันการติดเชื้อ *A. hydrophila* โดยไม่ต้อง ใช้สารสกัดอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน อาจจะใช้แค่เพียงเดือน ละ 1 สัปดาห์ หรือในช่วงที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ ซึ่งเป็นช่วงที่สัตว์น้ำมีความอ่อนแอ

Table 2 Antimicrobial activity of mangosteen leaf crude extracts with different concentrations against *A. hydrophila* studied by broth dilution assay

Tube No.	Concentration (ppm)	Appearance of <i>A. hydrophila</i> culture
1	200,000	Clear
2	100,000	Clear
3	50,000	Clear
4	25,000	Clear
5	12,500	Clear
6	6,250	Clear
7	3,125	Clear
8	1,563	Clear
9	781	Turbidity
10	391	Turbidity
11	195	Turbidity
12	Control	Turbidity

4. บทสรุป

จากการสกัดใบมังคุดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ได้สาร สกัดหยาบของใบมังคุดมีลักษณะขุ่นหนืด สีเหลืองจนถึงน้ำตาล เข้มข้น โดยมีค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดหยาบของใบมังคุด ได้เท่ากับ 10.40 ผลการทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบ ของใบมังคุดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันในการยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* โดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบ ของใบมังคุดที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 200,000 ส่วนในล้านส่วน ให้โซนใสที่มีขนาดกว้างที่สุด มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 1.245 ± 0.056 เซนติเมตร จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ด้วยวิธี broth dilution assay พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของใบมังคุดที่ สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ คือ 1,563 ส่วนในล้านส่วน ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูก มังคุดที่สามารถนำใบมังคุดที่เป็นสิ่งเหลือใช้จากการปลูกมังคุด

ไปใช้ประโยชน์ อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำ ที่สามารถมีสารอื่นที่มาจากธรรมชาติ และปลอดภัยมาใช้แทนยา ปฏิชีวนะในการควบคุมโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila*

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะ เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

6. References

- [1] Omar, A.A., Moustafa, E.M. and Zayed, M.M. 2016. Identification and characterization of virulence-associated genes from pathogenic *Aeromonas hydrophila* strains. **World's Veterinary Journal**. 6(4): 185-192.
- [2] Stratev, D. and Odeyemi, O.A. 2017. An overview of motile *Aeromonas* septicaemia management. **Aquaculture International**. 25: 1095-1105.
- [3] Valladao, G.M., Gallani, S.U. and Pilarski, F. 2015. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 38: 417-428.
- [4] Zhu, F. 2020. A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. **Aquaculture**. 256: 735422.
- [5] Yeung, S. 2006. Mangosteen for the cancer patient: Facts and myths. **Journal of the Society for Integrative Oncology**. 4(3): 130-134.
- [6] Janardhanan, S. and et al. 2017. Antimicrobial effects of *Garcinia Mangostana* on cariogenic microorganisms. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. 11(1): ZC19-ZC22.
- [7] Alsultan, Q.M.N. and et al. 2016. Gc-Ms analysis and antibacterial activity of mangosteen leaf extracts against plant pathogenic bacteria. **American of Journal of Plant Sciences**. 7(7): 1013-1020.

- [8] Asseman, I.C.C.A. and et al. 2019. *Garcinia mangostana* leaf extracts from Ivory coast possess remarkable antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxicological properties. **Biomedical and Pharmacology Journal**. 12(2): 571-578.
- [9] Silaket, P. and Pakdeedashakiat, V. 2017. Application of antimicrobial compounds from lactic acid bacteria for inhibiting food borne pathogens. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**. 19(Special issue): 51-61. (in Thai)
- [10] Akao, Y. Nakagawa, Y. and Nozawa, Y. 2008. Anti-cancer effects of xanthenes from pericarps of mangosteen. **International Journal of Molecular Sciences**. 9(3): 355-370.
- [11] Suhartati, R. and et al. (2019). Antimicrobial activity test of mangosteen leaves ethanol extract (*Garcinia mangostana* Linn) against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. **Journal of Physics: Conference Series**. 1179: 012167.
- [12] Purivirojkul, W., Visetson, S. and Areechon, N. 2003. Efficiency of *Clinacanthus nutans* and *Psidium guajava* extracts to control *Zoothamnium* sp. in black tiger shrimp (postlarva stage). **Thai Journal of Science and Technology**. (11): 9-15. (in Thai)
- [13] Petsiri, J., Tunsuwan, K. and Ruangkhilai, K. 2007. The Effect of Flavonoids Compound, Extracted from Mangosteen Leaves, on Sex-reversal in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Songkla: Thaksin University. (in Thai)