รายงานการวิจัย

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา

Effective of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* extracts to inhibit bacterial pathogens in shrimp and fish

สุนันทา ข้องสาย Sunanta Khongsai
อุทร เจริญเดช Uton Charoendat
ลักษมี วิทยา Luksamee Vittaya

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณรายได้ ประจำปี 2562 เป็นงานวิจัยพื้นฐานเพื่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการประเมินความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ ตลอดจนผลการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณสาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ และสาขาเทคโนโลยีประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่ให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยให้การทำวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงานดังกล่าว ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สุนันทา ข้องสาย
อุทร เจริญเดช
ลักษมี วิทยา
กันยายน 2562

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา

สุนันทา ข้องสาย[1*] อุทร เจริญเดช[2] และลักษมี วิทยา[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา โดยทำการสกัดส่วนใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล ทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งและปลา ได้แก่ *Vibio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* เทียบกับยาปฏิชีวนะ Oxytetracyclin โดยมี DMSO เป็นสารควบคุม ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion พบว่าสารสกัดจากผลเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย และสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ได้ดีที่สุด ตามลำดับ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งเท่ากับ 20.06 ± 0.11, 16.93 ± 0.08, 9.37 ± 0.12 และ 27.50 ± 0.07 มิลลิเมตร ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ด้วยวิธี Broth microdilution susceptibility test มีค่า MIC เท่ากับ 195.31, 390.63, 781.25 และ 0.0060 µg/ml ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ด้วยวิธี Microbicidal activity test มีค่า MBC เท่ากับ 390.63, 781.25, 3,125 และ 0.0954 µg/ml ตามลำดับ เทียบกับยาปฏิชีวนะ Oxytetracyclin ซึ่งมีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งเท่ากับ 21.25 ± 0.04, 18.06 ± 0.02, 21.75 ± 0.03 และ 31.38 ± 0.03 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีค่า MIC เท่ากับ 0.7813, 1.5625, 0.7813 และ 0.1953 µg/ml ตามลำดับ มีค่า MBC เท่ากับ 0.7813, 3.1250, 1.5625 และ 0.3906 µg/ml ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *S.agalactiae* ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อทดแทนยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำได้ในอนาคต

คำสำคัญ : เสม็ดขาว, เสม็ดแดง, แบคทีเรียก่อโรคในกุ้ง, แบคทีเรียก่อโรคในปลา

---

[1]สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

[2]สาขาเทคโนโลยีประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Effective of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* extracts to inhibit bacterial pathogens in shrimp and fish

Sunanta Khongsai[1*] Uton Charoendat[2] and Luksamee Vittaya[1]

Abstract

The purposes of this research was to study the effective of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* extracts to inhibit bacterial pathogens in shrimp and fish. The dried samples of leaf, flower and seed were extracted with hexane, ethyl acetate, ethanol and methanol, respectively. The antibacterial activities on some bacteria infection in shrimp and fish such as *Vibio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus agalactiae* were studied by Hole - plate diffusion method with Oxytetracycline as positive control and DMSO as negative control. The results showed that the ethyl acetate *Melaleuca cajuputi* seed extract, the ethyl acetate *Melaleuca cajuputi* flower extract, the methanol *Melaleuca cajuputi* flower extract and the hexane *Syzygium gratum* fruit extract showed the highest activity against *Vibio harveyi, Vibrio parahaemolyticus, Aeromonas hydrophila and Streptococcus agalactiae*, respectively with the average inhibition zone of 20.06 ± 0.11, 16.93 ± 0.08, 9.37 ± 0.12 and 27.50 ± 0.07 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) was studied by Broth microdilution susceptibility test equal to 195.31, 390.63, 781.25 and 0.0060 µg/ml, respectively. The minimum bactericidal concentration (MBC) was studied by Microbicidal activity test equal to 390.63, 781.25, 3,125 and 0.0954 µg/ml, respectively while Oxytetracyclin showed the average inhibition zone of *Vibio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus agalactiae* equal to 21.25 ± 0.04, 18.06 ± 0.02, 21.75 ± 0.03 and 31.38 ± 0.03 mm., respectively with MIC of 0.7813, 1.5625, 0.7813 และ 0.1953 µg/ml, respectively and MBC of 0.7813, 3.1250, 1.5625 and 0.3906 µg/ml, respectively. So, the hexane *Syzygium gratum* fruit extract with high potential in inhibitory and bactericidal of *S.agalactiae* than Oxytetracycline can be useful in order to utilization as biological substances instead of antibiotics used in the treatment of pathogenic bacteria in shrimp and fish.

Keywords: *Melaleuca cajuputi*, *Syzygium gratum*, bacteria infection in shrimp, bacteria infection in fish

---

[1] Department of Physical Science, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus.

[2] Department of Fisheries Technology, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus.

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	4
1.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
1.4 วัตถุประสงค์	15
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	15
บทที่ 2 วิธีดำเนินงานวิจัย	16
2.1 วัสดุและอุปกรณ์	16
2.2 เครื่องมือ	16
2.3 สารเคมี เชื้อทดสอบ และอาหารเลี้ยงเชื้อ	16
2.4 การเตรียมตัวอย่างและการสกัด	17
2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา	18
บทที่ 3 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	22
บทที่ 4 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง	34
ภาคผนวก ก เสม็ดขาวและเสม็ดแดง	39
ภาคผนวก ข การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion method	40
ภาคผนวก ค การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth Micro dilution susceptibility test	46
ภาคผนวก ง การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี Micro bicidal activity test	50

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
ภาพผนวกที่ ก1	ส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาว	39
ภาพผนวกที่ ก2	ส่วนต่างๆ ของเสม็ดแดง	39
ภาพผนวกที่ ข1	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* ของสารควบคุมและสารสกัด	40
ภาพผนวกที่ ข2	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของสารควบคุมและสารสกัด	41
ภาพผนวกที่ ข3	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ของสารควบคุมและสารสกัด	42
ภาพผนวกที่ ข4	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. agalactiae* ของสารควบคุมและสารสกัด	43
ภาพผนวกที่ ค1	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *V. harveyi*	50
ภาพผนวกที่ ค2	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus*	51
ภาพผนวกที่ ค3	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *A. hydrophila*	52
ภาพผนวกที่ ค4	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *S. agalactiae*	53
ภาพผนวกที่ ง1	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *V. harveyi* ของสารควบคุมและสารสกัด	55
ภาพผนวกที่ ง2	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของสารควบคุมและสารสกัด	57
ภาพผนวกที่ ง3	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *A.hydrophila* ของสารควบคุมและสารสกัด	59
ภาพผนวกที่ ง4	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *S. agalactiae* ของสารควบคุมและสารสกัด	61

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 1.1	ความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ	10
ตารางที่ 2.1	แสดงอัตราส่วนของการเตรียมสารสกัด	18
ตารางที่ 3.1	% yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	22
ตารางที่ 3.2	การทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ (Antibacterial activity) ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	24
ตารางที่ 3.3	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการยับยังเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal inhibitory concentration; MIC)	27
ตารางที่ 3.4	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal bactericidal concentration; MBC)	30
ตารางผนวกที่ ข1	ขนาดวงใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำทั้ง 4 ชนิด ของสารควบคุม และสารสกัด	44
ตารางผนวกที่ ข2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V.Harveyi*	46
ตารางผนวกที่ ข3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus*	47
ตารางผนวกที่ ข4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*	48
ตารางผนวกที่ ข5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*	49

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
ภาพผนวกที่ ก1	ส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาว	38
ภาพผนวกที่ ก2	ส่วนต่างๆ ของเสม็ดแดง	38
ภาพผนวกที่ ข1	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* ของสารควบคุมและสารสกัด	39
ภาพผนวกที่ ข2	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของสารควบคุมและสารสกัด	40
ภาพผนวกที่ ข3	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ของสารควบคุมและสารสกัด	41
ภาพผนวกที่ ข4	ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. agalactiae* ของสารควบคุมและสารสกัด	42
ภาพผนวกที่ ค1	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *V. harveyi*	49
ภาพผนวกที่ ค2	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus*	50
ภาพผนวกที่ ค3	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *A. hydrophila*	51
ภาพผนวกที่ ค4	การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *S. agalactiae*	52
ภาพผนวกที่ ง1	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *V. harveyi* ของสารควบคุมและสารสกัด	54
ภาพผนวกที่ ง2	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของสารควบคุมและสารสกัด	56
ภาพผนวกที่ ง3	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *A.hydrophila* ของสารควบคุมและสารสกัด	58
ภาพผนวกที่ ง4	การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *S. agalactiae* ของสารควบคุมและสารสกัด	60

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 1.1	ความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ	10
ตารางที่ 2.1	แสดงอัตราส่วนของการเตรียมสารสกัด	18
ตารางที่ 3.1	% yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	21
ตารางที่ 3.2	การทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ (Antibacterial activity) ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	23
ตารางที่ 3.3	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการยับยังเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal inhibitory concentration; MIC)	26
ตารางที่ 3.4	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal bactericidal concentration; MBC)	29
ตารางผนวกที่ ข1	ขนาดวงใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำทั้ง 4 ชนิด ของสารควบคุม และสารสกัด	43
ตารางผนวกที่ ข2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V.Harveyi*	45
ตารางผนวกที่ ข3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus*	46
ตารางผนวกที่ ข4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*	47
ตารางผนวกที่ ข5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*	48

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ประเทศไทยนับว่าเป็นหนึ่งในประเทศผู้นำทางด้านการประมงของโลก โดยผลผลิตสัตว์น้ำเฉลี่ยสูงถึงปีละ 3.7 ล้านตัน และในช่วงปี พ.ศ. 2554 - 2557 ทั้งสัตว์น้ำจืดและน้ำเค็มถือเป็นสัตว์เศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย (Srithaworn, *et. al.,* 2015) กุ้งและปลาเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่ทำรายได้ให้กับประเทศและเกษตรกรได้เป็นอย่างดี มีผู้นิยมเลี้ยงเป็นจำนวนมากในหลายพื้นที่ของประเทศไทย เช่น ภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคใต้ จากสถิติปริมาณผลผลิตสัตว์น้ำรวมของประเทศเริ่มมีอัตราการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 พบว่ามีอัตราการเปลี่ยนแปลงระหว่างปี พ.ศ. 2549 - 2554 ลดลงเฉลี่ยร้อยละ 5.55 ต่อปีโดยมีสาเหตุหนึ่งมาจากการเกิดโรค (Srithaworn, *et. al*., 2015) การที่เกษตรกรทำการเลี้ยงกุ้งและปลา โดยให้กุ้งและปลาอยู่รวมกันในปริมาณที่มากจะทำให้เกิดปัญหาหลายด้านโดยเฉพาะการเกิดโรค ส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียเนื่องจากการคับแคบของบ่อเลี้ยง และสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ทำให้กุ้งและปลาในบ่อเลี้ยงเกิดความอ่อนแอ และอยู่ในภาวะของการเครียด แบคทีเรียเข้าทำอันตรายได้ง่าย ซึ่งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในกุ้งที่พบบ่อยได้แก่แบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Vibrio* (ณัฏสรัณย์, 2550) แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในปลาที่พบบ่อยได้แก่แบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Aeromonas* และ *Streptococcus* (ชาญณรงค์, 2557)

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในกุ้ง ได้แก่ *Vibrio harveyi* ก่อให้เกิดโรคเรืองแสง และ *Vibrio parahaemolyticus* ก่อให้เกิดโรคเปลือกกร่อน (กุ้งก้ามกราม, 2548) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้เข้าไปสร้างสารพิษ exotoxins ทำให้เกิดอาการเปลือกกร่อน จุดดำบนเปลือกบริเวณหัว ลำตัว และระยางค์ของกุ้ง (Inglis, *et al*., 1993) สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคดังกล่าวจึงนำไปสู่การใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่างๆ เพื่อกำจัดเชื้อ โดยยาปฏิชีวนะที่ใช้กันมากในฟาร์มกุ้งประเทศไทย ได้แก่ ฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolones) ออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างสารพันธุกรรมของแบคทีเรีย ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) ออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย และออกซีเตตระซัยคลิน (oxytetracycline) ออกฤทธิ์ยับยั้งประบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย แต่การใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาสำคัญเรื่องการตกค้างในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อม ในปี พ.ศ. 2544 ประเทศออสเตรเลียตรวจพบยาคลอแรมเฟนิคอลในเนื้อกุ้งส่งออกจากประทศเขตร้อน และในปี พ.ศ. 2545 ประเทศกลุ่ม EU ตรวจพบสารไนโตรฟูแรนในผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็งจากประเทศไทย ส่งผลกระทบต่อธุรกิจส่งออกกุ้งและเกิดปัญหากีดกันทางการค้าสูงขึ้น (อัญชลี, 2550) ซึ่งหากมีการใช้ยาเหล่านี้ไม่ถูกวิธีอาจทำให้มีผลข้างเคียงตามมา เช่นการเกิดเชื้อสายพันธุ์ดื้อยา ปัญหามลพิษทางดินและน้ำ และที่สำคัญคือสารที่ตกค้างในสัตว์เหล่านี้ส่งผลต่อการส่งออกและความปลอดภัยของผู้บริโภค (Srithaworn, *et. al*., 2015)

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในปลา ได้แก่ *Aeromonas hydrophila* ก่อให้มีอาการว่ายน้ำเฉื่อยชา ไม่กินอาหาร ครีบกร่อน มีการตกเลือด เกิดบาดแผลเป็นหลุมลึม ท้องบวม มีการตกเลือดบริเวณลำไส้ และ *Streptococcus agalactiae* (ชาญณรงค์, 2557) เชื้อแบคทีเรียนี้มีการระบาดใน

ฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ซึ่งก่อให้เกิดโรคสเตรปโตคอคโคซิส มีอาการของระบบประสาท มีจุดและปื้นเลือดออกที่ครีบต่างๆ ทำให้ปลาเจ็บป่วยหรือตาย พบการระบาดทั้งในปลาน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ทั้งยังสามารถแพร่กระจายไปยังสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ในสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย สร้างความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการเพาะเลี้ยงปลาโดยเฉพาะปลานิลที่เลี้ยงในแถบทวีปเอเชียรวมทั้งประเทศไทย จากเหตุผล ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีความสำคัญทำให้ประเทศไทยเกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจ และทำลายคุณภาพชีวิต (อดิเทพชัยย์การณ์, 2555) สาเหตุเหนี่ยวนำให้ปลาติดเชื้อได้แก่ ความเครียดหรือการบาดเจ็บจากการขนส่ง การเคลื่อนย้าย ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำ การให้อาหารที่มีคุณภาพไม่เหมาะสมรวมทั้งบาดแผลที่เกิดจากปรสิต (ชนกันต์, 2556) ในประเทศไทยพบว่าเชื้อ *S. agalactiae* มีการระบาดในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว และปลานิล ซึ่งมีการระบาดในเขตภาคกลาง และภาคใต้ (ภิรัตน์, 2552) และยังพบว่ามีการระบาดหนักในตัวอ่อนของปลานิลแดงที่เลี้ยงในฟาร์มเสแลงกอร์ของประเทศมาเลเซีย (Abuseliana, *et al*., 2011) การรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในปลาที่นิยมทำกันอยู่ในปัจจุบันคือการใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น Ampicillin, Penicillin G, Erythromycin, Oxytetracycline, Nalidixic acid, Oxolinic acid, Sulphamethoxazol, Chloramphenical และ Nitrofurans ในฟาร์มปลามักใช้ยาซัลฟาเมอราซีน (sulfamerazine) และออกซีเตตระซัยคลิน (oxytetracycline) ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย การรักษาโดยใช้ยาปฏิชีวนะประสบปัญหาการดื้อยาของเชื้อที่ก่อโรค ทำให้การรักษาไม่ได้ผลเท่าที่ควร (ภิรัตน์, 2552)

การใช้สารเคมีสังเคราะห์และยาปฏิชีวนะในการป้องกันรักษาโรคสัตว์น้ำที่เกิดขึ้น มีข้อจำกัดหากใช้ยาและสารเคมีดังกล่าวในลักษณะที่ไม่เหมาะสม สามารถส่งผลเสียต่อกระบวนการผลิตสัตว์น้ำตามมาในภายหลัง เช่น ทำให้เกิดสารตกค้างในสัตว์น้ำเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อก่อโรค และสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่อยู่ในธรรมชาติได้ ส่งผลให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อยาจำนวนมาก นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะทำให้เกิดผลข้างเคียงกับสัตว์น้ำเนื่องจากยาปฏิชีวนะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประจำถิ่นที่อยู่ในสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียด ภูมิคุ้มกันร่างกายลดลง และเจริญเติบโตช้า ด้วยเหตุนี้หลายประเทศจึงได้มีการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการค้าและการส่งออก (อัครวิทย์, 2554) จากปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาและสารเคมีดังกล่าว หลายหน่วยงานจึงได้มีการค้นหาสิ่งอื่นๆ ที่จะนำมาใช้ในการทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์หรือยาปฏิชีวนะในการป้องกันรักษาโรคสัตว์น้ำ เช่น การใช้โปรไบโอติก สารพฤกษเคมีจากพืชสมุนไพร และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย ได้มีการศึกษาพบว่าสารสกัดจากสาหร่ายหลายชนิดมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ เช่น สาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis*) และสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*) (Srikong, *et al*., 2015) ซึ่งในประเทศไทยนั้น มีสาหร่ายอีกหลายชนิดที่น่าสนใจสำหรับการนำมาศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งและกำจัดเชื้อก่อโรคในสัตว์น้ำ โดยเฉพาะเขตพื้นที่แถบทะเลอันดามันที่เป็นแหล่งชุกชุมของสาหร่ายทะเลหลายชนิด และหนึ่งในสาหร่ายที่น่าสนใจนำมาศึกษาและมีมากในเขตพื้นที่ชายทะเลแถบจังหวัดสตูล ตรัง พังงา และกระบี่ ได้แก่ สาหร่ายขนนก (*Caulerpa racemosa* var. *corynephora*) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีการรายงานถึงคุณประโยชน์หลายอย่าง เช่น มีคาโรทีนอยด์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็ง สามารถเพิ่มภูมิต้านทานให้กับมนุษย์

และปลาเรนโบว์เทร้าท์ โดยช่วยทำให้ระบบภูมิคุ้มกันสูงขึ้น นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าสาหร่ายนี้มีประโยชน์ในการยับยั้งการเกิดโรคจากเชื้อไวรัสตัวแดงดาวขาวในกุ้งกุลาดำ (วารุณี, 2547) ด้วยเหตุผลนี้การศึกษาผลของสารสกัดจากสาหร่ายชนิดนี้ที่มีต่อการยับยั้งและกำจัดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำจึงมีความสำคัญ โดยศึกษาจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ 4 ชนิด ได้แก่ *Vibrio harveyi* VHAQ001, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* AHAQ001 และ *Streptococcus agalactiae* SAAQ001 ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้อาจนำไปใช้ในต่อยอดการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อแยกเฉพาะสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เคมีธรรมชาติที่ใช้แทนยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคในสัตว์น้ำได้ และสามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่สาหร่ายขนนกได้ อาจส่งผลต่อเนื่องให้เกิดการสร้างอาชีพการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้แก่เกษตรกรของไทยได้อีกทางหนึ่ง

ป่าเสม็ดถือเป็นพันธุ์ไม้ที่บอกความเป็นเอกลักษณ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในพื้นที่อาณาเขตกว่า 1,700 ไร่ เป็นแหล่งที่มีคุณค่าทางด้านนิเวศวิทยาอย่างมหาศาล (ปิยะวัฒน์ และโกสินทร์, 2552) พื้นที่ป่าเสม็ดส่วนใหญ่จะเป็นเสม็ดขาวและมีเสม็ดแดงบางพื้นที่

เสม็ดขาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ Melaleuca cajuputi อยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีชื่อสามัญ Cajuput tree, Milk wood และ Paper bark tree เป็นไม้ยืนต้นที่มีเปลือกชั้นนอกสีขาวนวล เป็นแผ่นบาง ๆ เรียงซ้อนกันเป็นปึกหนานุ่ม เปลือกชั้นในบาง สีน้ำตาล ยอดอ่อน กิ่งอ่อน และใบอ่อน มีขนสีขาวเป็นมันคล้ายเส้นไหม ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปหอก กว้าง 1.5 - 4 เซนติเมตร ยาว 5 - 10 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบแหลม ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง สีขาว กลีบเลี้ยงยาว 0.3 เซนติเมตร โคนกลีบติดกัน กลีบดอกยาว 0.2 - 0.3 เซนติเมตร รูปช้อนแกมรูปไข่กลับ เกสรเพศผู้จำนวนมากยาวพ้นกลีบดอกเป็นพู่ ผลมีลักษณะเป็นผลแห้งแตก รูปถ้วย กว้างและยาวประมาณ 0.4 เซนติเมตร สามารถนำส่วนต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้ ได้แก่ ส่วนเนื้อไม้ใช้ทำเสาเข็ม เสารั้ว สร้างบ้าน และทำถ่าน ส่วนเปลือกต้นใช้มุงหลังคา ทำฝาบ้านชั่วคราว และใช้ห่อก้อนไต้สำหรับใช้จุดไฟ ส่วนใบนำมาสกัดทำน้ำมันหอมระเหย มีคุณสมบัติในทางยาคล้ายกับ Eucalyptus oil นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำต้มใบเสม็ดที่ได้จากการกลั่นน้ำมันหอมไปย้อมสีผ้าได้อีกด้วย โดยจะให้สีน้ำตาลอ่อนและช่วยทำให้ผ้าคงทนต่อการเข้าทำลายของแมลงที่กัดกินเนื้อผ้าได้ดี

เสม็ดแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ Syzygium gratum อยู่ในวงศ์ Myrtaceae เป็นไม้พุ่มต้นไม่ผลัดใบ เปลือกต้นสีน้ำตาลแดง แตกสะเก็ดแผ่นบางๆ โคนต้นมักเป็นพูพอน ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวออกตรงข้าม รูปหอก ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อซี่ร่มเล็กๆ สีเหลืองอ่อนที่ปลายยอด ผลมีลักษณะกลม สีขาว มีขนาดเล็ก เมล็ดมีลักษณะเหมือนลิ่ม สามารถนำส่วนต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้ ได้แก่ ส่วนใบสดนำมาตำปนปิดพอกแก้เคล็ดยอก ฟกบวมได้ดี หรือใช้ผลมะกรูด หรือใบพลู รมควันใต้ใบเสม็ดพออุ่นๆ นาบท้องเด็กแก้ท้องขึ้น ท้องอืด ท้องเฟ้อในเด็ก แก้ปวดท้องได้ น้ำมันจากใบมีกลิ่นคล้ายการบูร ใช้นวดแก้เคล็ด เมื่อย ปวดบวม แก้หมัด เหา ชุบสำลีอุดฟันแก้ปวดฟัน ส่วนใบอ่อนกินเป็นยาขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบ ขับลม ยอดอ่อนรับประทานเป็นผักสดกับน้ำพริก

การนำเสม็ดขาวและเสม็ดแดงซึ่งเป็นพันธุ์ไม้ที่บอกความเป็นเอกลักษณ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในพื้นที่อาณาเขตกว่า 1,700 ไร่ เป็นแหล่งที่มีคุณค่า

ทางด้านนิเวศวิทยาอย่างมหาศาล (ปิยะวัฒน์ และโกสินทร์, 2552) และเป็นพืชที่มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่น่าสนใจ ได้แก่ anthraquinines, terpenoids, flavonoids, saponinss, tannins และ alkaloids, (สุนันทา, 2560) อาจมีประโยชนในการออกฤทธิ์ยับยั้งการระบาดหรือติดเชื้อจากโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกุงและปลาอย่างมีประสิทธิภาพ ประหยัด และปลอดภัยตอผูบริโภคมากยิ่งขึ้น เปนวิธีการหนึ่งที่เกษตรกรจะสามารถนำสิ่งที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใชในเกิดประโยชนสูงสุด เพื่อที่จะเปนการหลีกเลี่ยงการใชสารเคมี ทำใหตนทุนการผลิตลดลงและเพิ่มมูลคาใหแกผลผลิตกุงและปลาของไทยอันจะเป็นเงื่อนไขที่เปนประโยชนตอการสงออก และสอดคลองกับการคาเสรีของโลกในอนาคตอีกดวย งานวิจัยนี้เลือกใช้เสม็ดขาวและเสม็ดแดงมาเตรียมสารสกัด ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกอโรคในกุงและปลาเพื่อเปนขอมูลในการประยุกตใชทดแทนยาปฏิชีวนะตอไป

1.2 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

1.2.1 การเกิดโรคในสัตว์น้ำ

โรคที่เกิดกับสัตว์น้ำ มีสาเหตุจากหลายประการ ได้แก่

1) การให้อาหารที่ไม่ดีหรือมากเกินไปเหลือในบ่อ ส่งผลให้น้ำมีคุณภาพไม่ดี เนื่องจากไม่มีการปรับปรุงคุณภาพน้ำหรือการถ่ายเทน้ำเก่าออก ทำให้สัตว์น้ำโตช้าหรือเครียดประกอบกับมีเชื้อโรคและพาหะของโรคติดมา

2) การเลี้ยงหนาแน่น ถ้าให้อาหารน้อยทำให้สัตว์น้ำขาดสารอาหารที่จำเป็นหรือถ้าให้อาหารมากเกินไปทำให้เศษอาหารที่เหลือตกค้างสะสมในบ่อ และเกิดการเน่าเป็นก๊าซพิษต่อสัตว์น้ำ ผลต่อสุขภาพสัตว์น้ำอ่อนแอ

3) นำสัตว์น้ำที่ติดเชื้อโรคมาเลี้ยงโดยไม่ได้ป้องกันกำจัดก่อน

4) ใช้เครื่องมือจับขนส่งที่ปนเปื้อนของเชื้อโรค โดยไม่ทำความสะอาดก่อนและทำให้เกิดบาดแผลในสัตว์น้ำ

1.2.1.1 โรคแผลตามลำตัว (Ulcerative disease)

สาเหตุ : เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ เช่น แอโรโมนาส ไฮโดรฟิลล่า (*Aeromonas hydrophila*) และซูโดโมนาส แอรูจิโนซ่า (*Pseudomonas aeruginosa*)

อาการ : ระยะเริ่มแรก ปลามีอาการเกล็ดหลุดร่วง ส่วนบริเวณรอบๆ เกล็ดที่หลุดออกนั้นเกล็ดจะตั้งขึ้นหรือเกิดลักษณะของดร๊อปซี่ (Dropsy) คืออาการตัวบวมและเกล็ดตั้ง ถ้าเป็นปลาไม่มีเกล็ด บริเวณนั้นจะบวมขึ้นและมีสีแดง ต่อมาผิวหนังจะเริ่มเปื่อยเป็นแผลลึกจนเห็นกล้ามเนื้อ โดยแผลที่เกิดจะกระจายไปทั่วตัว และเป็นสาเหตุให้ปลาติดโรคเชื้อราแทรกซ้อนต่อไป ปลาที่มักพบบ่อยว่าเป็นโรคนี้ ได้แก่ ปลาดุก ปลาบู่ ปลาช่อน และปลาสวยงามต่างๆ

การป้องกันและรักษา :

1) ใช้ยาปฏิชีวนะจำพวกไนโตรฟูราโซน (Nitrofurazone) ในอัตราส่วน 1 - 2 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร แช่นาน 2 - 3 วัน แช่ปลาที่เป็นโรคในสารละลายออกซีเตตร้าซัยคลิน (Oxytetracycline) หรือเตตร้าซัยคลิน (Tetracycline) ในอัตราส่วน 10 - 20 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 1 - 2 วัน ติดต่อกัน 3 - 4 ครั้ง หรืออาจใช้ยาปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ ตาม

2) ความเหมาะสม หรือตามผลการตรวจหาความไวรับของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

3) การฆ่าเชื้อในบ่อเลี้ยงโดยใช้ปูนขาวในอัตรา 50 - 60 กิโลกรัมต่อไร่

1.2.1.2 โรคสเตรปโตคอคโคซีสหรือโรคสมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อ สเตรปโตคอคคัส (Streptococcosis or Streptococcal meningoencephalitis)

สาเหตุ : เกิดจากแบคทีเรียในสกุลสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus sp*.) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. iniae* และ *S. Agalactiae* เข้าไปทำลายอวัยวะภายในโดยติดเชื้อทั้งจากอาหารจากการนำปลาเป็นโรคเข้าฟาร์ม มักพบโรคในปลานิลและปลานิลทับทิม

อาการ : ปลาว่ายน้ำเฉื่อยมาก หรือลักษณะการว่ายน้ำเปลี่ยนไป ตาโปนออกมา และมีแผลนูนช้ำบริเวณโคนครีบหลัง เมื่อผ่าซากจะพบลักษณะตับบวมโต และช้ำ ม้ามและไตบวมโต

การป้องกันและรักษา :

1) ใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น ออกซิเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) ผสมอาหารในอัตราส่วนยา 150 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กินติดต่อกัน 5 วัน

2) การป้องกันทำได้โดยให้ปลากินอาหารที่สดอยู่เสมอ ไม่ควรนำปลาเป็นโรคมาเลี้ยงปนกับปลาที่ไม่เป็นโรคควรผ่านการตรวจและรักษาให้หายเสียก่อน

1.2.1.3 Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) หรือกลุ่มอาการตายด่วน (EMS)

อาการ : กรณีที่ตรวจไม่พบสิ่งมีชีวิตหรือเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอื่นๆ อาการดังต่อไปนี้ สามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคนี้โดยใช้เป็นข้อสันนิษฐานการเกิดโรคที่ระดับบ่อเลี้ยง

อาการของโรคที่ระดับบ่อ ได้แก่ ตับมีสีซีดขาว เนื่องจากสูญเสียเม็ดสีในชั้นแคปซูลของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ตับฝ่อลีบอย่างเห็นได้ชัด เปลือกนิ่ม ลำไส้ไม่มีอาหาร หรือขาดช่วง อาจมีจุดหรือเส้นสีดำที่ตับ ตับเหนียว บี้ด้วยนิ้วมือยาก พบอาการของโรคและการตายในกุ้งได้ตั้งแต่วันที่ 10 หลังการปล่อย กุ้งป่วยจะจมลงก้นบ่อ พบกุ้งตายในบ่อประมาณ 40% ในเวลา 3 - 5 วัน อายุกุ้งป่วยอยู่ในช่วง 10 - 35 วัน

อาการของโรคที่ระดับตัวกุ้ง เกิดการเสื่อมสภาพของตับและตับอ่อนอย่างเฉียบพลัน โดยมีการลดจำนวนลงของ R - cell B - c ell และ F - cell ในตับและตับอ่อน ตามด้วยการลดอัตราการแบ่งตัวของนิวเคลียสใน E - cell เซลล์ตับและตับอ่อนเริ่มมีการเสื่อมสภาพจากส่วนต้นของท่อไปจนถึงส่วนปลายของท่อ โดย R, B, และ F - cell เริ่มทำงานผิดปกติก่อนและตามด้วย E - cell ที่ทำงานผิดปกติเป็นชนิดสุดท้าย ซึ่งจะพบความผิดปกติของนิวเคลียสในเซลล์ตับและตับอ่อน เช่น นิวคลีไอของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างเห็นได้ชัดและมีรูปร่างกลม ทำให้เซลล์จำนวนมากตายและหลุดออกจากผนังของท่อตับและตับอ่อน เซลล์ตับและตับอ่อนที่หลุดลอกจะเป็นอาหารอย่าง

ดีให้กับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งจะทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอซึ่งเป็นเชื้อฉวยโอกาส ทำให้เกิดอย่างอักเสบของท่อตับและตับอ่อน ทำให้กุ้งตายเป็นจำนวนมาก การหลุดลอกของเซลล์บุผนังท่อตับและตับอ่อนร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดฉวยโอกาส ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดและมาห้อมล้อมบริเวณท่อตับและตับออกที่ตาย และยังพบการรวมตัวของเม็ดสีเมลานินบริเวณท่อตับส่วนต้นในกุ้งบางตัวด้วย

1.2.1.4 โรคติดเชื้อวิบริโอ (Vibriosis)

สาเหตุ : โรคติดเชื้อวิบริโอพบได้ทั่วโลก และเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งของการเลี้ยงกุ้ง เกิดจากเชื้อวิบริโอ (*Vibrio*) เช่น *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio Vulnificus* เป็นต้น ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนใหญ่รูปร่างแท่ง ต้องการเกลือในการเจริญเติบโต (> 10 ppt = >1%) จึงเรียกว่า “halophilic” เชื้อนี้พบได้ทั่วไปในน้ำทะเล แม้แต่ในกุ้งที่แข็งแรงก็สามารถพบเชื้อวิบริโอหลายสปีชีส์ในทางเดินอาหารของกุ้งได้ และเชื้อวิบริโอนี้เกิดการดื้อยาต้านจุลชีพได้ง่ายมาก

อาการ : เนื้อตายในเฮปปาโตแพนเครียสเกิดจากการติดเชื้อวิบริโอ เชื้อวิบริโอหลายสปีชีส์เป็นเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของกุ้งปกติ จึงคาดว่าการติดเชื้อน่าจะผ่านทางทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ เชื้อนี้ก่อโรคได้ในกุ้งทุกระยะ ตั้งแต่ไข่จนถึงกุ้งโตเต็มวัย อาจพบโรคนี้ได้ในโรงเพาะฟัก เชื้ออาจเป็นสาเหตุโดยตรงของโรคหรือเป็นเชื้อฉวยโอกาส ซึ่งต้องอาศัยสิ่งโน้มนำอื่น เช่น การติดเชื้อไวรัส หรือความเครียด เชื้อวิบริโออาจทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร โรคตามระบบ (systemic infection) หรือโรคบริเวณเปลือกกุ้ง ซึ่งอาจแสดงอาการต่างๆ กัน เช่น อัตราการตายสูง การกินอาหารลดลง สังเกตได้จากกุ้งไม่มีอุจจาระ และลอกคราบช้าลง อาการและรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาที่อาจใช้ในการวินิจฉัยเบื้องต้น ได้แก่ ฮีโมลิมฟ์ (hemolymph หรือเลือด) แข็งตัวช้า แบคทีเรียในฮีโมลิมฟ์หรือเนื้อเยื่อต่างๆ แผ่นคราบแบคทีเรีย (bacterial plaques) บนคิวติเคิล จุดดำโนดูลในเนื้อเยื่อ (melanized hemocytic nodules) มีแบคทีเรียตรงกลางโนดูล ไขมันในเฮปปาโตแพนเครียสต่ำ และ/หรือ melanized tubules การเรืองแสงของตัวกุ้ง (luminescence) การพบโคโลนีของแบคทีเรียที่มีสีเขียวขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาทำให้แยกการติดเชื้อวิบริโอได้เป็น 3 แบบ ได้แก่

1) โรคติดเชื้อวิบริโอภายนอก พบกลุ่มแบคทีเรียที่คิวติเคิลจำนวนมาก
2) โรคติดเชื้อวิบริโอในทางเดินอาหาร พบกลุ่มแบคทีเรียที่คิวติเคิลภายใน (internal cuticle) เช่น บริเวณปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร การลอกหลุดของเซลล์เยื่อบุเฮปปาโตแพนเครียสและลำไส้ส่วนกลาง การอักเสบชนิด hemocytic inflammation (การอักเสบชนิดหนึ่งที่มีเซลล์ฮีโมไซต์แทรกตามเนื้อเยื่อที่เกิดการอักเสบ) และ melanization (การอักเสบชนิดหนึ่ง มีสีดำเมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์
3) โรคติดเชื้อวิบริโอตามระบบ (systemic infection) พบ septicemia hemocytic nodules กล้ามเนื้อฝ่อ (muscle atrophy) หรือ septic hepatopancreatic necrosis การติดเชื้อวิบริโอเป็นสาเหตุของโรคมากมาย เช่น hatchery vibriosis,

sea gull syndrome, septic hepatopancreatic necrosis (SHPN), luminescent vibriosis, swollen hidgut syndrome, shell disease, appendage necrosis (rot), splinters

การรักษาและป้องกัน :

1) ฆ่าเชื้อโรคและพักบ่อระหว่างการเลี้ยงแต่ละครั้ง
2) ฆ่าเชื้อที่อาจมากับไข่กุ้งนอร์เพลียสทั้งของกุ้งและของไรอาร์ทีเมีย
3) ใช้การจัดการที่ดี เช่น ดูแลการให้อาหาร ความหนาแน่น อุณหภูมิน้ำ เป็นต้น
4) ใช้โปรไบโอติกและใช้ยาต้านจุลชีพเมื่อจำเป็น
5) ใช้การจัดการที่ดี เช่น ควบคุมการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอน ให้อาหารในปริมาณที่เหมาะสม ใช้ปูนขาวโรยบ่อ พักบ่อ เป็นต้น
6) ใช้ยาต้านจุลชีพผสมอาหารเมื่อจำเป็น

1.2.2 การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการทดแทนยาปฏิชีวนะ

ในปัจจุบันการป้องกันและรักษาโรคกุ้งหรือปลามักใช้สารเคมีสังเคราะห์และยาปฏิชีวนะ ถึงแม้ว่าวิธีการดังกล่าวจะให้ผลดีแต่ก็มีข้อด้อยอยู่หลายประการ

1) สารเคมีสังเคราะห์และยาปฏิชีวนะ สามารถตกค้างอยู่ในตัวปลาได้ ซึ่งเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคกังวลว่าจะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค

2) การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสม เช่น ใช้ในปริมาณที่มากเกินไป หรือใช้เป็นเวลานานเกินไป อาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อก่อโรค ซึ่งความสามารถในการดื้อยาสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่อยู่ในธรรมชาติได้ ส่งผลให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อยาจำนวนมาก

3) การใช้ยาปฏิชีวนะมักทำให้เกิดผลข้างเคียง (side effect) กับปลา เนื่องจากยาปฏิชีวนะมักไปมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่อยู่ในตัวปลา ซึ่งจะทำให้ปลาเกิดอาการเครียด มีภาวะภูมิคุ้มกันที่ต่ำลง และมีการเจริญเติบโตที่ช้าลง

ด้วยเหตุนี้ในหลายๆ ประเทศได้มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดในการเพาะเลี้ยงปลาในเพื่อการค้า และการส่งออก (อัครวิทย์, 2554)

1.2.3 การใช้สารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรในสัตว์น้ำ

จากการที่มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงปลาเพื่อการค้าและการส่งออก จึงทำให้มีความพยายามที่จะหาสิ่งที่สามารถนำมาใช้แทนยาปฏิชีวนะในการป้องกัน และรักษาโรคปลา สิ่งหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันคือพืชสมุนไพรเนื่องจากมีข้อดีหลายประการ เช่น

1) สมุนไพรเกือบทุกชนิดสามารถหาได้ตามธรรมชาติหรือปลูกได้เอง ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาไม่จำเป็นต้องเสียค่าใช้จ่ายมากในการซื้อยาปฏิชีวนะซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้ยังทำให้เกษตรกรสามารถพึ่งพาตนเองได้โดยไม่จำเป็นต้องพึ่งพาบริษัทผลิตยาปฏิชีวนะ

2) สมุนไพรส่วนใหญ่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยจากการที่มีการใช้รักษาโรคในคนหรือสัตว์ต่างๆ มาเป็นเวลานาน

3) สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่าสามารถใช้ป้องกัน และรักษาโรคในคนและสัตว์ต่างๆ ได้

4) สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ (antimicrobial activity) เช่น แบคทีเรีย รา และไวรัสได้

5) สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ซึ่งจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของปลาได้

6) สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการลดความเครียดได้ ซึ่งการลดความเครียดในปลาจะช่วยทำให้ปลามีมีการเจริญเติบโตได้ดีและมีโอกาสติดเชื้อได้น้อยลง

7) สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulation) ของคน และสัตว์ต่างๆ รวมทั้งปลาได้

สารเคมีที่พบในสมุนไพรจำนวนมากได้รับการพิสูจน์และยืนยันว่ามีส่วนช่วยให้สมุนไพรมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน การกำจัดอนุมูลอิสระ การลดความเครียด และการป้องกันการเกิดโรค ตัวอย่างของสารดังกล่าว เช่น alkaloids, flavonoids, phenolics, terpenoids, steroids และ essential oils (อัครวิทย์, 2554)

1.2.4 การเตรียมสารสกัดจากพืช (ประสาทพร, 2551; ปริชาติ, 2551)

การสกัดสารสำคัญจากพืชสามารถทำได้ 8 วิธี คือ

1.2.4.1 การหมัก (maceration)

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด เป็นการสกัดสารสำคัญจากพืชสดหรือพืชแห้งที่ผ่านกระบวนการบดแล้ว โดยการหมักกับตัวทำละลายในภาชนะปิดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของพืชอ่อนนุ่มและตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายใน มีการเขย่าเป็นครั้งคราวที่เหมาะสม อาจใช้เวลาตั้งแต่ 2 - 3 ชั่วโมง จนถึง 3 สัปดาห์ แล้วแต่ชนิดของพืช อาจต้องมีการสกัดซ้ำหลายครั้งเพื่อให้ได้สารสำคัญมากที่สุดโดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารในพืชแล้วนำพืชไปแช่ในภาชนะปิด จากนั้นนำมากรองเอาสารสกัดออกมาจากกากพืชให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกแล้วจึงนำสารที่ได้ไปใช้ประโยชน์ วิธีนี้มีข้อดีคือสารสกัดจะไม่ถูกความร้อนทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลง ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สกัด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล ปิโตรเลียมอีเทอร์ หรือเฮกเซน การสกัดแบบนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย จัดเป็นวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อยจึงเป็นวิธีการที่ประหยัดและคุ้มค่า วิธีนี้อาจดัดแปลงโดยใช้เครื่องกวนเพื่อช่วยให้การสกัดเร็วขึ้นเพราะทำให้เซลล์พืชแตกได้ดีขึ้น

1.2.4.2 การแช่ (infusion)

วิธีนี้ใช้สกัดสารที่ละลายน้ำได้โดยแช่สมุนไพรด้วยน้ำร้อนหรือน้ำเย็นในเวลาช่วงสั้น วิธีนี้จะได้สารละลายเจือจางของยา

1.2.4.3 การต้ม (decogtion)

เป็นการสกัดสารสำคัญซึ่งละลายน้ำและทนต่อความร้อนโดยต้มสมุนไพรให้เดือดประมาณ 15 นาที สารสกัดที่ได้จะมีอายุสั้น ดังนั้นควรเตรียมเพื่อใช้ใหม่เสมอ อาจมีการเติมสารกันเสียหรือแช่แข็งเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพจากจุลินทรีย์

1.2.4.4 การย่อยสลาย (digestion)

เป็นการสกัดที่อุณหภูมิประมาณ 40 - 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้สามารถสกัดสารได้มากขึ้น แต่ตัวยาต้องทนความร้อนระดับนี้ได้

1.2.4.5 การซึมผ่านของตัวทำละลาย (percolation)

เป็นวิธีที่นิยมรองจากวิธีหมัก เป็นการสกัดแบบต่อเนื่องต้องใช้เครื่องต้มยา (percolator) ซึ่งอาจเป็นแก้วหรือโลหะ มีการบดพืชที่จะสกัดให้ละเอียด ทำการหมักให้พองตัวประมาณ 1 ชั่วโมงหรือนานกว่า จากนั้นบรรจุผงพืชลงไปในเครื่องต้มยาทีละน้อย เติมตัวทำละลายลงไปให้ท่วมผงพืช ตั้งทิ้งไว้ 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นไขท่อด้านล่างให้สารสกัดไหลออกมา หมั่นเติมตัวทำละลายอย่างสม่ำเสมอ เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์และบีบสารละลายออกจากกากก่อนนำไปกรอง วิธีนี้นิยมใช้การเตรียมสารสกัดเหลว (fluid extract)

1.2.4.6 การสกัดด้วย soxhlet extractor (soxhlet extraction)

เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องใน soxhlet apparatus โดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ โดยการใช้ความร้อนในการสกัดและต้องอาศัยการควบแน่นเข้าช่วย เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องจึงไม่เหมาะกับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีสารที่ระเหยง่ายเป็นองค์ประกอบ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสำหรับการสกัดสารองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อนและใช้ตัวทำละลายน้อยไม่สิ้นเปลือง แต่ความร้อนอาจทำให้สารเคมีบางชนิดในพืชสลายตัวได้

1.2.4.7 Supercritical fluid extraction system

เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับการสกัดพืชที่มีองค์ประกอบของสารที่ถูกสลายได้ด้วยความร้อนเป็นองค์ประกอบสำคัญโดยอาศัยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และมีตัวทำละลายร่วมเพื่อให้การสกัดดีขึ้น มีการใช้ปั๊มช่วยในการเพิ่มอัตราการแพร่ผ่านของตัวทำละลายและลดความหนืดลง

1.2.4.8 Extraction of volatile oil

ใช้สำหรับการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการต่างๆ หลายวิธี เลือกใช้ตามความเหมาะสมของพืชแต่ละชนิด เช่น การดูดซับ การใช้ตัวทำละลาย วิธีการบีบ การกลั่นโดยน้ำหรือไอน้ำ สารสกัดที่ได้นี้จะเป็นสารผสมที่มีสารออกฤทธิ์หลายชนิดปนกันอยู่ ถ้าต้องการสกัดให้บริสุทธิ์มากขึ้นหรือแยกสารประกอบต่างๆ เพื่อนำไปทดสอบต่อก็สามารถใช้เทคนิคอื่นๆ ที่เหมาะสมในการแยกต่อไปได้อีก เช่น chromatography แบบต่างๆ เพื่อแยกสารออกเป็น fraction เป็นต้น

สารที่ได้จากการสกัดมักอยู่ในรูปของเหลวซึ่งเจือจางและมีปริมาตรมาก ทำให้นำไปใช้ไม่สะดวกจึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อนเพื่อลดปริมาตรและสะดวกต่อการนำไปแยกส่วนหรือผสมในผลิตภัณฑ์ต่อไปซึ่งอาจทำได้หลายวิธี เช่น การระเหยแห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (free evaporation) การระเหยแห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศด้วยเครื่องมือ rotary evaporator ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด การแช่แข็ง (freeze drying) ซึ่งเป็นการทำให้เป็นผงแห้งโดยไม่ผ่านความร้อนเหมาะกับสารสกัดที่สลายตัวโดยความร้อน และการทำให้แห้งโดยวิธีสเปรย์ดราย (spray drying)

ในการสกัดสารสำคัญจากพืชจะต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก ซึ่งมีหลักที่ควรพิจารณาในการเลือกตัวทำละลายดังต่อไปนี้

- คุณสมบัติของสารที่ต้องการสกัด เช่น ความมีขั้วของสาร ความคงตัวของสารในตัวทำละลายนั้นในอุณหภูมิสูง
- มีความสามารถในการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
- ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายของสารผสมที่ถูกสกัดนั้น
- ไม่ควรละลายสิ่งเจือปนหรือสารที่ไม่ต้องการ
- สามารถแยกออกจากตัวถูกละลายได้ง่ายภายหลังที่สกัดแล้ว
- ไม่ควรทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
- ตัวทำละลายควรมีราคาไม่แพงมาก
- ความมีขั้วของตัวทำละลายต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดสาร ดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ (สุรางค์รัตน์, 2558)

ความมีขั้ว	**ตัวทำละลาย**
ไม่มีขั้ว	ปิโตรเลียมอีเทอร์
↓	เฮกเซน
↓	คาร์บอนเตตระคลอไรด์
↓	เบนซีน
↓	ไดคลอโรมีเทน
↓	คลอโรฟอร์ม
↓	ไดเอทิลอีเทอร์
↓	เอทิลแอซิเตต
↓	อะซิโตน
↓	1-โพรพานอล
↓	เอทานอล
↓	เมทานอล
มีขั้ว	น้ำ

1.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันการป้องกันและรักษาโรคกุ้งหรือปลามักใช้สารเคมีสังเคราะห์ และยาปฏิชีวนะ ถึงแม้ว่าวิธีการดังกล่าวจะให้ผลดี แต่ก็มีข้อด้อยอยู่หลายประการ เช่น 1. สารเคมีสังเคราะห์ และยาปฏิชีวนะสามารถตกค้างอยู่ในตัวปลาได้ ซึ่งเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคกังวลว่าจะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค 2. การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสม เช่น ใช้ในปริมาณที่มากเกินไป หรือใช้เป็นเวลานานเกินไป อาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อก่อโรค ซึ่งความสามารถในการดื้อยาสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่อยู่ในธรรมชาติได้ ส่งผลให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อยาจำนวนมาก 3. การใช้ยาปฏิชีวนะมักทำให้เกิดผลข้างเคียง (side effect) กับปลา เนื่องจากยาปฏิชีวนะมักไปมีผลในการ

ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่อยู่ในตัวปลา ซึ่งจะทำให้ปลาเกิดอาการเครียด มีภาวะภูมิคุ้มกันที่ต่ำลง และมีการเจริญเติบโตที่ช้าลง ด้วยเหตุนี้ในหลายๆ ประเทศได้มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดในการเพาะเลี้ยงปลาในเพื่อการค้าและการส่งออก (อัครวิทย์, 2554)

จากการที่มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงปลาเพื่อการค้าและการส่งออก จึงทำให้มีความพยายามที่จะหาสิ่งที่สามารถนำมาใช้แทนยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาโรคปลา สิ่งหนึ่งที่ได้ รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันคือพืชสมุนไพรเนื่องจากมีข้อดีหลายประการเช่น 1. สมุนไพรเกือบทุกชนิดสามารถหาได้ตามธรรมชาติหรือปลูกได้เอง ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาไม่จำเป็นต้องเสียค่าใช้จ่ายมากในการซื้อยาปฏิชีวนะซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้ยังทำให้เกษตรกรสามารถพึ่งพาตนเองได้ โดยไม่จำเป็นต้องพึ่งพาบริษัทผลิตยาปฏิชีวนะ 2. สมุนไพรส่วนใหญ่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยจากการที่มีการใช้รักษาโรคในคนหรือสัตว์ต่างๆ มาเป็นเวลานาน 3. สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่าสามารถใช้ป้องกันและรักษาโรคในคนและสัตว์ต่างๆ ได้ 4. สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ (antimicrobial activity) เช่น แบคทีเรีย รา และไวรัสได้ 5. สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ซึ่งจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของปลาได้ 6. สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการลดความเครียดได้ ซึ่งการลดความเครียดในปลาจะช่วยทำให้ปลามีมีการเจริญเติบโตได้ดีและมีโอกาสติดเชื้อได้น้อยลง 7. สมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิชาการว่ามีความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulation) ของคน และสัตว์ต่างๆ รวมทั้งปลาได้ (อัครวิทย์, 2554)

นักวิจัยหลายกลุมได้ค้นคว้าหาแนวทางในการป้องกันการติดเชื้อ เช่น การผลิตวัคซีนต้านเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งและปลา (Brudeseth, *et al*., 2013; Kulkarmi, *et al*., 2013; Mohammed, *et al*., 2013; Powell, *et al*., 2011) ซึ่งมักจะมีราคาแพงและยากในการใช้สำหรับการเลี้ยงระดับฟาร์ม (Srithaworn, *et. al*., 2015) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาหาสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ลดความเครียดและป้องกันรักษาโรคในปลาและกุ้งโดยใช้สารสกัดจากสมุนไพรโดยเฉพาะในแถบประเทศอินเดีย มีรายงานว่ากระเทียมสด เปลือกทับทิม ใบหูกวาง ชาเขียวญี่ปุ่น และใบชะพลู มีประสิทธิภาพออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคสำคัญในกุ้งก้ามกรามซึ่งเกิดจากแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio harveyi* และ *Vibrio parahaemolyticus* และพบว่าสารสกัดมีความเป็นพิษต่อลูกกุ้งก้ามกรามระดับต่ำ (Tummarongkongsatid and Rojtinnakorn, 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดสมุนไพร เช่น ใบฝรั่ง และใบกระเพรา สามารถใช้ควบคุมโรคในปลาได้ โดยช่วยป้องกันการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลานิล (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010)

มีศึกษาการใชสมุนไพรซึ่งเปนสารธรรมชาติมาใชเพื่อรักษาโรคในกุง เชน สถาพร และคณะ (2539) พบวาสารสกัดกะเม็ง ฟาทะลายโจร มะยม และมะระขี้นก ที่สกัดดวยตัวทำละลาย 50% เอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio spp.* ในกุงกุลาดำได เต็มดวง (2540) รายงานวาสารสกัดฟาทลายโจรที่สกัดดวยตัวทำละลายเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio spp.* ในกุงกุลาดำไดเช่นกัน สุจิตรา (2541) ใชสารสกัดใบชาเขียวที่สกัดดวยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH = 7.2 สามารถยับยั้งเชื้อ

Vibrio harveyi ในกุงกุลาดำ และ Immanuel *et al*. (2004) รายงานวาสารสกัดเมล็ดละหุ่งที่สกัดดวยบิวทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyyicus* ในกุงแชบวย

นอกจากนี้มีรายงานจำนวนมากที่กล่าวถึงความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในปลา เช่น Yin *et al*. (2005) ศึกษาการใช้สมุนไพรจีน (*Astragalus radix* และ *Scutellaria radix*) เพื่อส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในการเกิดโรคของปลานิล ชนกันต์ และคณะ (2548) ศึกษาการใช้กระเทียม และใบหูกวาง กำจัดเห็บระฆัง (*Trichodina sp.*) ในลูกปลานิล และอดิเทพชัยย์การณ์ และประณีต (2553) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* โดยใช้ผงจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ดี นอกจากนี้ยังงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับวัคซีน วิศณุ และคณะ (2550) ศึกษาวิธียับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้และได้ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคคัส

พงศ์ศักดิ์ (2553) กล่าวว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดได้รับการยืนยันทางวิทยาศาสตร์ว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคปลา (fish pathogenic bacteria) ในหลอดทดลอง และยังสามารถใช้ในการควบคุมการเกิดโรค ปลาที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ตัวอย่างของสมุนไพรที่ได้รับการยืนยันทางวิทยาศาสตร์ว่าสามารถใช้ในการควบคุมการเกิดโรคปลาที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ 1. ฝรั่ง (*Psidium guajava*) พบว่าสารสกัดของใบฝรั่งที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (ethanol extract) ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นอกจากนี้แล้วยังพบว่าปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดดังกล่าวในอัตราส่วนระหว่างสารสกัดต่ออาหารเท่ากับ 1 : 24 (w/w) มีอัตราการตาย เนื่องจากการติดเชื้อ *A. hydrophila* ต่ำกว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้ผสมด้วยสารสกัดดังกล่าว 2. ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) พบว่าสารสกัดของฟ้าทะลายโจรที่ใช้น้ำเป็นทำละลาย ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Stretococcus agalactiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นอกจากนี้แล้วยังพบว่าปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดดังกล่าวในอัตราส่วนระหว่างสารสกัดต่ออาหารเท่ากับ 4 : 36 (w/w) และ 5 : 35 (w/w) มีอัตราการตายเนื่องจากการติดเชื้อ *S. agalactiae* ต่ำกว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้ผสมด้วยสารสกัด นอกจากนี้ยังมีสมุนไพรอีกหลายชนิดที่สามารถใช้ในการควบคุมโรคปลาที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น neem (*Azadirachta indica*) ซึ่งสามารถใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ใน common carp (*Cyprinus carpio*) และในปลาทอง (*Carassius auratus*) ขมิ้น (*curcuma longa*) และกะเพรา (*Ocimum sanctum*) สามารถใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลาทอง (*Carassius auratus*)

อัญชลี (2550) ศึกษาสมุนไพรไทยหางาย 34 ชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสำคัญในกุงกามกราม 3 ชนิด ไดแก เชื้อ *Aeromonas hydrophila* (AH), *Vibrio parahaemolyticus* (VP) และ *Vibrio harveyi* (VH) โดยใช้สมุนไพรสกัดดวย 50% เอทานอล และ 50% เอทานอลตมที่อุณหภูมิ 70 °C เปนเวลา 1 ชั่วโมง ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรดวยวิธี disc diffusion พบวาสารสกัดใบหูกวางที่สกัดดวยตัวทำละลาย 50% เอทานอลตมมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ AH และ VP

สูงที่สุด (มีขนาดวงใสของการยับยั้ง 15.78, 19.35 มิลลิเมตร) สารสกัดกระเทียมสดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ VH สูงที่สุด (มีขนาดวงใสของการยับยั้ง 19.8 มิลลิเมตร) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดต่อเชื้อโรคโดยหาค่า MIC/MBC ด้วยวิธี broth dilution พบวาสารสกัดกระเทียมสดที่สกัดดวยตัวทำละลาย 50% เอทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุดตอเชื้อ AH (MIC = 5 ppt, MBC = 10 ppt) สารสกัดใบหูกวางที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลตมมีประสิทธภาพสูงสุดตอเชื้อ VP (MIC = 2 ppt, MBC = 3 ppt) และ VH (MIC = 1 ppt, MBC = 9 ppt) ผลการทดสอบความเปนพิษของสารสกัดสมุนไพรตอลูกกุงกามกราม (PL15) โดยหาค่า LC_{50} ที่ 96 h พบวาสารสกัดเทียนตาตั๊กแตนมีพิษระดับสูงตอกุ้ง (LC_{50} ที่ 96 h = 0.42 ppt) จากการทดสอบพบวาสารสกัดเปลือกทับทิม ใบหูกวาง กระเทียมสด ชาเขียวญี่ปุน และใบชะพลู มีฤทธิ์และประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อไดทั้ง 3 ชนิด มีความเปนพิษตอลูกกุ้งกามกรามระดับต่ำ ดังนั้นสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดนี้เหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาใชในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียไดอย่างมีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยสูง

Srithaworn, *et. al*. (2015) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากตำรับยาเขียวต่อการต้านเชื้อก่อโรคกุ้งโดยนำตำรับยาเขียว 2 ชนิดในท้องตลาดมาสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนและเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20, 30, 40 และ 50 โดยปริมาตร แล้วทำการทดสอบโดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบยาเขียวตำรับที่ 2 ที่สกัดโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio harveyi* และ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ดีที่สุด มีขนาดวงใสของการยับยั้ง 26.00 ± 3.60, 26.67 ± 1.15 และ 24.17 ± 1.04 มิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกชนิดได้เท่ากันมีค่าเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถฆ่าเชื้อได้เท่ากับ 25, 12.5 และ 12.5 ตามลำดับ

แก้วตา (2559) ศึกษาผลของสารสกัดกระเทียมโดยใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% และ 3.13% ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio harveyi* แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง : การทดลองที่ 1 ความเข้มข้นต่ำที่สุด (Minimum inhibitory concentration : MIC) ของสารสกัดกระเทียมที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* พบว่าทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ได้ โดยทุกระดับความเข้มข้นให้ผลของค่าความขุ่นที่ต่ำกว่าหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมที่ 3.13% เป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ได้ การทดลองที่ 2 ทดสอบความไวของ *V. parahaemolyticus* และ *V. Harveyi* โดยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 100% มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. parahaemolyticus* ได้ดีที่สุดโดยให้ผลของวงใส (clear zone) ต่างจากระดับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) และผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. harveyi* พบว่าระดับความเข้มข้น 100% และ 50% ให้ผลของวงใสที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P > 0.01$) แสดงว่าสารสกัดกระเทียมในทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ

V. harveyi ที่ระดับความเข้มข้น 3.13% เป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกระเทียมที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ได้

มีการนำน้ำมันหอมระเหยของพืชในวงศ์ Myrtaceae มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลากหลายประเภทอย่างกว้างขวาง เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยของพืชกลุ่มนี้มีองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางยาที่น่าสนใจซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพ (Luiz, *et al*., 2013) น้ำมันหอมระเหยของพืชในวงศ์ Myrtaceae มีฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส (วิภาพร และ ศิริวรรณ, 2557) และมีการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชวงศ์ Myrtaceae ที่พบในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง 4 ชนิด ได้แก่ เสม็ดแดง เสม็ดขาว หว้า และโทะ พบว่าสามารถแยกราได้จากพืชทุกชนิดและแยกได้ทั้งหมด 124 ไอโซเลต มีสารสกัดจากราเอนโดไฟท์ 156 สาร จากจำนวนทั้งหมด 174 สาร ให้ค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albican*, *Crytococcus neoformmans* และ *Microsporum gypseum* น้อยกว่า 200 µg/ml (จำเนียร, 2556) ราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบและกิ่งของต้นเสม็ดขาวที่เก็บจาก 4 จังหวัด คือ กระบี่ นครศรีธรรมราช พัทลุง และตรัง แยกราเอนโดไฟต์ได้ 56 ไอโซเลต โดยวิธีการฆ่าเชื้อที่ผิวนอก ราเอนโดไฟต์ 26 ไอโซเลตที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Candida albicans* (ทินกร, 2552) มีการเก็บใบเสม็ดขาวในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี ในช่วงเดือนมีนาคม - พฤษภาคม 2553 แล้วนำมาศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี พบแทนนิน สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมลบและแกรมบวก (Soonthornchareonnon, *et al*., 2012) ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเสม็ดแดงต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ที่ทำให้เกิดโรคแผลในกระเพาะและทางเดินอาหาร พบว่าสารสกัดจากยอดอ่อนของเสม็ดแดงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ได้มาก มีขนาดวงใสของการยับยั้ง 13.00 ± 1.00 มิลลิเมตร (ลลิตา, 2552)

สารสกัดจากเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Microcystis aeruginosa* และ *Anabaena siamensis* ที่ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดจากเสม็ดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวหลังจากเติมสารสกัดได้ 7 วัน (แสงดาว, 2548)

จากการสำรวจและสุมเก็บตัวอยางใบเสม็ดขาวจากภาคตะวันออกและภาคใต รวม 16 ตัวอย่าง จาก 9 จังหวัด คือ จังหวัดตราด กระบี่ สงขลา ตรัง สุราษฎรธานี นครศรีธรรมราช ภูเก็ต พังงา และ ชุมพร นำมากลั่นดวยวิธี Water and Steam Distillation แยกน้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำที่กลั่นไดโดยใช petroleum ether และ anhydrous sodium sulphate จากนั้นจึงระเหยแหง petroleum ether ออกดวยเครื่อง rotary evaporator นำมาผึ่งใหแหงแลวกลั่นแยกน้ำมันหอมระเหยดวยวิธีการกลั่นดวยน้ำและไอน้ำ พบวาน้ำมันที่ไดจากการกลั่นจากใบเสม็ดขาวจากแตละแหล่งในภาคตะวันออกและภาคใต้ ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยจากจังหวัดสงขลา มีปริมาณน้ำมันสูงสุด คือ 1.42% เมื่อศึกษาการออกฤทธิ์ตานการเจริญของเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes* และเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*. พบวาน้ำมันเสม็ดขาวทุกตัวอยางออกฤทธิ์ตานการเจริญของเชื้อทั้ง 4 ชนิด โดยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ไดดีที่สุด รองลงมาไดแก เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

และพบวามีความแตกตางกันในการออกฤทธิ์ตอจุลินทรียของน้ำมันเสม็ดขาวจากแตละตัวอยาง น้ำมันเสม็ดขาวจากจังหวัดพังงาและจังหวัดภูเก็ตออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. mentagrophytes* ไดดีที่สุด น้ำมันเสม็ดขาวจากจังหวัดภูเก็ตยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. niger* ไดดีที่สุด น้ำมันเสม็ดขาวจากจังหวัดพังงาและจังหวัดตรังยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ไดดีที่สุด และน้ำมันเสม็ดขาวจากจังหวัดสตูลและจังหวัดชุมพรยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus sp.* ไดดีที่สุด (อุไรวรรณ และคณะ, 2546) น้ำมันเสม็ดขาวที่สกัดจากใบเสม็ดขาวจากจังหวัดตราด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 4 ชนิด *Aspergillus niger*, *Eurotium amstelodami*, *Penicillium camemberti* และ *Fusarium sp.* และเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ความเขมขนต่ำสุดของน้ำมันเสม็ดขาวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแตละชนิดแตกตางกัน มีความเขมขนต่ำสุดอยูระหวาง 0.10 - 0.15% (อุไรวรรณ และคณะ, 2546)

1.4 วัตถุประสงค์

1.4.1 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ผลิตผลงานตีพิมพ์ระดับชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง ภายใน 2 ปี หลังจากเสร็จสิ้นโครงการภายใต้ความรับผิดชอบของผู้ร่วมโครงการ

1.5.2 องค์ความรู้ใหม่ในการประเมินความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสู่การเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ

บทที่ 2
วิธีดำเนินงานวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 ใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง
2.1.2 ขวดแก้วปากกว้างมีฝาปิดสำหรับแช่สิ่งสกัด
2.1.3 อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่างสิ่งสกัด เช่น กะละมัง กรรไกร ถาด
2.1.4 จานเพาะเชื้อ (petri dish)
2.1.5 96 - well microtiter plate
2.1.6 แผ่น disc สำเร็จรูป ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
2.1.7 เข็มเขี่ยเชื้อ
2.1.8 ขวดก้นกลมสำหรับระเหยตัวทำละลาย
2.1.9 อลูมิเนียมแผ่นบาง
2.1.10 กระดาษกรอง
2.1.11 กรวยกรอง
2.1.12 หลอดหยด
2.1.13 เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (vernier caliper)
2.1.14 หลอดเซนทริฟิวจ์

2.2 เครื่องมือ

2.2.1 เครื่องสปกโทรโฟโตมิเตอร์ U - 1800
2.2.2 เครื่องระเหยสุญญากาศ
2.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2.2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
2.2.5 ตู้อบลมร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (hot air oven)
2.2.6 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
2.2.7 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
2.2.8 เตาให้ความร้อน (hot plate)
2.2.9 ตู้เย็น (refrigerator)
2.2.10 เครื่องดูด - จ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette)
2.2.11 เครื่องปั่นละเอียด

2.3 สารเคมี เชื้อทดสอบ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3.1 ตัวทำละลายสำหรับสกัด ได้แก่ Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol และน้ำกลั่น

2.3.2 เชื้อทดสอบจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่ *Vibio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae*

2.3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Brain Heart Infusion agar (BHI agar), Brain Heart Infusion agar (BHI agar) +1.5% NaCl, Brain Heart Infusion broth (BHI broth), Brain Heart Infusion broth (BHI broth) +1.5% NaCl, Mueller Hinton agar (MHA), Mueller Hinton agar (MHA) +1.5% NaCl, Mueller Hinton broth (MHB), Mueller Hinton broth (MHB) +1.5% NaCl

2.4 การเตรียมตัวอย่างและการสกัด

2.4.1 ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์

เก็บตัวอย่างใบ ดอก ผล เสม็ดขาวและเสม็ดแดง บริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง โดยให้ใบ ดอก ผล อยู่ในกิ่งเดียวกันแล้วส่งวิเคราะห์ลักษณะทางกายวิภาคเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์

2.4.2 การเตรียมตัวอย่าง

2.4.2.1 เก็บตัวอย่างใบเสม็ดขาวและใบเสม็ดแดง บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ อย่างละ 10 กิโลกรัม โดยวิธีการเด็ด และเก็บเฉพาะในเวลา 06.00 - 09.00 น. เท่านั้น (เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพรเอามาเป็นยา) เลือกเด็ดเฉพาะส่วนใบที่ไม่อ่อนหรือไม่แก่เกินไป (ใบเพสลาด)

ใบเสม็ดขาว

ใบเสม็ดแดง

2.4.2.2 เก็บตัวอย่างดอกเสม็ดขาวและดอกเสม็ดแดง บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ อย่างละ 10 กิโลกรัม โดยวิธีการเด็ด และเก็บเฉพาะในเวลา 06.00 - 09.00 น. เท่านั้น (เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพรเอามาเป็นยา) เลือกเด็ดเฉพาะดอกที่เพิ่งเริ่มบาน

ดอกเสม็ดขาว

ดอกเสม็ดแดง

2.4.2.3 เก็บตัวอย่างผลเสม็ดขาวและผลเสม็ดแดง บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ อย่างละ 10 กิโลกรัม โดยวิธีการเด็ด และเก็บเฉพาะในเวลา 06.00 - 09.00 น. เท่านั้น (เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพรเอามาเป็นยา) เลือกเด็ดเฉพาะผลแก่จัด

ผลเสม็ดขาว

ผลเสม็ดแดง

2.4.3 การเตรียมสารสกัด

เมื่อนำส่วนใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง มาล้างทำความสะอาดผึ่งลมให้แห้ง และนำมาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง นำมาสกัดด้วยวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายตามอัตราส่วนดังแสดงในตารางที่ 2.1 โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน, เอทิลอะซิเตท เอทานอล และเมทานอล ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เขย่าเป็นครั้งคราว กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำมาระเหยตัวทำละลายออก คำนวณหา % yield ดังนี้

$$\%\text{yield} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้งที่ใช้ในการสกัด}}$$

ตารางที่ 2.1 แสดงอัตราส่วนของการเตรียมสารสกัด

ตัวอย่าง		ปริมาณตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณตัวทำละลาย (มิลลิลิตร)
เสม็ดขาว	ใบ	3,000	6,000
	ดอก	1,000	2,000
	ผล	2,000	4,000
เสม็ดแดง	ใบ	3,000	6,000
	ดอก	1,000	2,000
	ผล	2,000	4,000

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา

2.5.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion method (Brantner, *et al.*, 1994)

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion method (Brantner, *et al.*, 1994) โดยใช้เชื้อทดสอบจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การทดสอบ

2.5.1.1 การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย ดัดแปลงจาก Sritunyalucksana, *et al.*, 2005

- นำหัวเชื้อแบคทีเรียมา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart infusion agar (BHI agar) (เชื้อ *Vibrio ssp*. ต้องเติม 1.5% NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อ) แล้วบ่ม 18 - 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 °C

- หลังจากบ่มแล้วให้นำ 5 colony ของแบคทีเรียมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller - Hinton Broth (MHB) (เชื้อ *Vibrio ssp*. ต้องเติม 1.5% NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อ) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ล้วบ่มบน rotary shaker ที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

- นำเชื้อหลังจากการบ่ม 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller - Hinton Broth (MHB) (เชื้อ *Vibrio ssp*. ต้องเติม 1.5% NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อ) ปริมาตร 49 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มต่อบน rotary shaker ที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

- ปั่นล้าง (centrifuge) ด้วยน้ำเกลือ 0.85% NaCl 2 ครั้ง (เชื้อ *Vibrio ssp*. ต้องเติม 1.5% NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

- ปรับความขุ่นของเชื้อที่ได้โดยเปรียบเทียบกับ McFarland standard No. 0.5 ซึ่งจะมีความขุ่นของเชื้อประมาณ 1 x 10^8 เซลล์ต่อนาที

2.5.1.2 วิธีการทดสอบ

- นำสำลีพันก้านที่ฆ่าเชื้อแล้วมาจุ่มในสารละลายเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยอย่าให้โดนขอบหลอด

- นำสำลีที่มีเชื้อมา swab ถี่ๆ บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller - Hinton agar (MHA) ที่มี 1.5% NaCl เพื่อให้เกิดพื้นที่ของการเจริญของแบคทีเรีย

- ปล่อยให้จานอาหารแห้งประมาณ 5 นาที

- เจาะรูขนาด 6 มิลลิเมตร โดยใช้แท่งเหล็ก หยอดสารสกัดที่มีความเข้มข้น 10 mg/ml ลงไป 40 ไมโครลิตรต่อหลุม

- บ่ม 18 - 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35°C

2.5.1.3 วิธีการแปลผล

- หลังจากบ่มจานอาหารแล้ว ให้นำมาวัดขนาด zone of inhibition (มิลลิเมตร) โดยพิจารณาจาก clear zone รอบๆ หลุมสารสกัดซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ในบริเวณนั้น

2.5.2 ทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth Micro dilution susceptibility test (ดัดแปลงจาก Eloff, 1998 และ NCCLS, 2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ : Mueller Hinton broth (MHB) (เชื้อ *Vibrio ssp*. ต้องเติม 1.5 % NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อ)

2.5.2.1 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบให้อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ตามวิธีของ Sritunyalucksana, *et al*. (2005) ให้มีเชื้อประมาณ10^5 CFU/mlโดยเทียบความขุ่นของเชื้อที่ได้เริ่มต้นกับ 0.5 McFarland standard (ความขุ่นเทียบเคียงได้กับเชื้อประมาณ 1x10^8 CFU /ml) จากนั้นเจือจาง 1,000 เท่า

2.5.2.2 ตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ทดสอบ

เตรียมสารสกัดที่ใช้ทดสอบ โดยละลายใน DMSO ให้ได้ความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ 1 เท่า กรณีนี้คือ 50,000 μg/ml

2.5.2.3 ขั้นตอนการทดสอบ

- เติมสารสกัดใน well 1 และ2 จากนั้นทำการเจือจางสารสกัดที่ใช้ทดสอบใน 96 - well microtiter plate โดยวิธี 2 - fold serial dilution ด้วยอาหาร MHB
- เจือจางสารสกัดที่ใช้ทดสอบจาก well 2 ถึง well 12 แล้ว mix เบาๆ 20 ครั้ง แต่ละ well มีปริมาตร 50 ไมโครลิตร
- เติมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ (~10^5 CFU/ml) ที่ละลายใน MHB 50 ไมโครลิตร ในทุกๆ well
- mix เบาๆ 10 ครั้ง ปิดฝา Microplate แล้วพันด้วย paraffin จากนั้นบ่มที่ 35°C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง
- ตรวจสอบความขุ่นของแบคทีเรีย หลังจากนั้นใส่ *p* - iodonitrotetrazolium violet (0.2 mg/ml) เพื่อยืนยันการเจริญของแบคทีเรีย โดยดูจากการเปลี่ยนสีถึงการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย
- ความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะหรือยาฆ่าเชื้อพิจารณาจาก dilution ที่มีความขุ่นของแบคทีเรียน้อยที่สุดและไม่มีการเปลี่ยนสีหลังจากการเติม *p* - Iodonitrotetrazolium violet คือค่า Minimal inhibitory concentration (MIC)

2.5.3 การทดสอบหาค่า Minimal bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี Micro bicidal activity test (ดัดแปลงจาก NCCLS, 2000)

ขั้นตอนการทดสอบ ดำเนินการต่อจากการหาค่า MIC

- เลือก dilution ของสารสกัดที่ใสและที่ไม่มีการเปลี่ยนสีเมื่อเติม *p* - Iodonitrotetrazolium violet มา 5 dilutions
- ทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธี streak plate โดยนำสารละลายในแต่ละ dilution มาทำการ streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA (เชื้อ *Vibrio ssp*. ต้องเติม 1.5% NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อ)
- บ่มที่ 35°C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง
- ตรวจสอบการเจริญของแบคทีเรียในแต่ละ dilution บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยพิจารณาจาก colony ที่เกิดขึ้น ถ้า dilution ใดไม่มี colony เกิดขึ้นเลย dilution นั้นคือค่า MBC value

2.6 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ศึกษาความแตกต่างของแต่ละชุดการทดลอง โดยนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Duncan, 1995)

บทที่ 3
ผลการทดลองและการอภิปรายผล

1. การเตรียมตัวอย่างสาหร่ายและการสกัด

ตัวอย่างใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี ลักษณะของสารสกัด และ % yield ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 % yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ลักษณะของสารสกัด	% yield
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	ของแข็งสีเขียวเข้ม	1.57
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเขียวเข้ม	5.83
		Ethanol	ของแข็งสีเขียวเข้ม	11.76
		Methanol	ของแข็งสีเขียวเข้ม	6.01
	ดอก	Hexane	ของแข็งสีเหลือง	1.17
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเหลือง	8.05
		Ethanol	ของแข็งสีเหลือง	12.94
		Methanol	ของแข็งสีเหลือง	19.41
	ผล	Hexane	ของแข็งสีน้ำตาล	1.62
		Ethyl acetate	ของแข็งสีน้ำตาล	2.54
		Ethanol	ของแข็งสีน้ำตาล	6.87
		Methanol	ของแข็งสีน้ำตาล	3.50
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	ของแข็งสีเขียว	0.25
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเขียว	1.26
		Ethanol	ของแข็งสีเขียว	1.66
		Methanol	ของแข็งสีเขียว	6.61
	ดอก	Hexane	ของแข็งสีเหลือง	0.72
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเหลือง	4.14
		Ethanol	ของแข็งสีเหลือง	5.00
		Methanol	ของแข็งสีเหลือง	3.70
	ผล	Hexane	ของแข็งสีน้ำตาล	3.41
		Ethyl acetate	ของแข็งสีน้ำตาล	1.02
		Ethanol	ของแข็งสีน้ำตาล	8.97
		Methanol	ของแข็งสีน้ำตาล	12.59

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา

2.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion method (Brantner, *et al*., 1994)

เมื่อนำสารสกัด/สารทดสอบที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion method พบว่าสารสกัดจากผลเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายในการสกัด สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายในการสกัด สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด และสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V.harveyi*, *V.parahaemolyticus*, *A.hydrophila* และ *S.agalactiae* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 20.06 ± 0.11, 16.93 ± 0.08, 9.37 ± 0.12 และ 27.50 ± 0.07 มิลลิเมตร ตามลำดับ เทียบกับยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเท่ากับ 21.25 ± 0.04, 18.06 ± 0.02, 21.75 ± 0.03 และ 31.38 ± 0.03 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ (Antibacterial activity) ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

Sample			Inhibition zone (mm)			
พืช	**ส่วนของพืช**	**ตัวทำละลาย**	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*	*S. agalactiae*
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	8.94 ± 0.09 ^{s}	9.38 ± 0.04 ^{n}	6.58 ± 0.15 ^{o,p}	11.25 ± 0.10 ^{s}
		Ethyl acetate	13.56 ± 0.07 ^{k}	11.19 ± 0.09 ^{j}	7.06 ± 0.11 ^{l,m}	13.44 ± 0.16 ^{m}
		Ethanol	15.31 ± 0.09 ^{h}	13.06 ± 0.09 ^{f}	9.81 ± 0.19 ^{g}	11.50 ± 0.18 ^{r}
		Methanol	15.37 ± 0.07 ^{h}	11.01 ± 0.09 ^{k}	9.44 ± 0.19 ^{h}	12.03 ± 0.05 ^{q}
	ดอก	Hexane	11.56 ± 0.07 ^{o}	9.52 ± 0.09 ^{m}	8.45 ± 0.08 ^{i}	11.13 ± 0.10 ^{s}
		Ethyl acetate	17.01 ± 0.03 ^{d}	16.93 ± 0.08 ^{b}	10.82 ± 0.09 ^{f}	18.75 ± 0.06 ^{f}
		Ethanol	17.50 ± 0.07 ^{c}	12.06 ± 0.07 ^{i}	14.13 ± 0.08 ^{c}	14.69 ± 0.10 ^{k}
		Methanol	16.00 ± 0.06 ^{f}	16.06 ± 0.05 ^{c}	19.37 ± 0.12 ^{b}	17.69 ± 0.12 ^{i}
	ผล	Hexane	11.00 ± 0.12 ^{q}	9.50 ± 0.08 ^{m}	7.63 ± 0.11 ^{j}	12.37 ± 0.08 ^{o}
		Ethyl acetate	20.06 ± 0.11 ^{b}	13.04 ± 0.07 ^{f}	12.69 ± 0.11 ^{d}	20.88 ± 0.04 ^{e}
		Ethanol	16.88 ± 0.10 ^{e}	13.18 ± 0.09 ^{e}	12.19 ± 0.18 ^{e}	18.07 ± 0.12 ^{h}
		Methanol	15.88 ± 0.07 ^{g}	12.31 ± 0.04 ^{g}	12.18 ± 0.18 ^{e}	16.37 ± 0.08 ^{j}

ตารางที่ 3.2 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ (Antibacterial activity) ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)

Sample			Inhibition zone (mm)			
พืช	**ส่วนของพืช**	**ตัวทำละลาย**	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*	*S. agalactiae*
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	8.25 ± 0.08 ^{t}	7.00 ± 0.07 ^{p}	6.93 ± 0.16 ^{m,n}	18.38 ± 0.12 ^{g}
		Ethyl acetate	14.19 ± 0.03 ^{i}	10.81 ± 0.06 ^{l}	6.50 ± 0.14 ^{p}	14.00 ± 0.14 ^{l}
		Ethanol	14.19 ± 0.05 ^{i}	12.19 ± 0.03 ^{h}	7.25 ± 0.14 ^{k,l}	12.13 ± 0.07 ^{p,q}
		Methanol	13.75 ± 0.07 ^{j}	13.56 ± 0.10 ^{d}	9.32 ± 0.17 ^{h}	12.25 ± 0.10 ^{o,p}
	ดอก	Hexane	6.50 ± 0.13 ^{u}	6.50 ± 0.05 ^{s}	6.75 ± 0.13 ^{n,o}	22.57 ± 0.06 ^{c}
		Ethyl acetate	10.69 ± 0.04 ^{r}	6.88 ± 0.07 ^{q}	7.13 ± 0.07 ^{l,m}	22.19 ± 0.12 ^{d}
		Ethanol	13.31 ± 0.09 ^{l}	6.00 ± 0.01 ^{t}	6.00 ± 0.00 ^{q}	18.31 ± 0.02 ^{g}
		Methanol	15.25 ± 0.07 ^{h}	7.00 ± 0.03 ^{p}	6.00 ± 0.00 ^{q}	18.13 ± 0.09 ^{h}
	ผล	Hexane	12.50 ± 0.09 ^{m}	10.81 ± 0.09	9.37 ± 0.03 ^{h}	27.50 ± 0.07 ^{b}
		Ethyl acetate	12.13 ± 0.07 ^{n}	7.81 ± 0.06 ^{o}	7.43 ± 0.16 ^{k}	18.75 ± 0.10 ^{f}
		Ethanol	11.25 ± 0.07 ^{p}	6.88 ± 0.06 ^{q}	7.25 ± 0.10 ^{k,l}	12.38 ± 0.09 ^{o}
		Methanol	13.31 ± 0.08 ^{l}	6.75 ± 0.07 ^{r}	6.00 ± 0.00 ^{q}	12.56 ± 0.08 ^{n}
Negative Control : DMSO			6.00 ± 0.00 ^{v}	6.00 ± 0.01 ^{t}	6.00 ± 0.00 ^{q}	6.00 ± 0.00 ^{t}
Positive Control : Oxytetracycline			21.25 ± 0.04 ^{a}	18.06 ± 0.02 ^{a}	21.75 ± 0.03 ^{a}	31.38 ± 0.03 ^{a}

<u>หมายเหตุ</u> : ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.2 การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth Micro dilution susceptibility test (ดัดแปลงจาก Eloff, 1998 และ NCCLS, 2000)

เมื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal inhibitory concentration; MIC) พบว่าสารสกัดจากดอกและผลเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V.harveyi* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 195.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V.parahaemolyticus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 390.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *A.hydrophila* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 781.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพต่ำกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V.harveyi*, *V.parahaemolyticus* และ *A.hydrophila* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.7813, 1.5625 และ 0.7813 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.agalactiae* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.0060 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพดีกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.agalactiae* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.1953 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal inhibitory concentration; MIC)

Sample			Minimal inhibitory concentration (µg/ml)			
พืช	**ส่วนของพืช**	**ตัวทำละลาย**	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*	*S. agalactiae*
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	3,125.00	3,125.00	6,250.00	24.41
		Ethyl acetate	1,562.50	12,500.00	6,250.00	781.25
		Ethanol	1,562.50	1,562.50	6,250.00	1,562.50
		Methanol	3,125.00	3,125.00	6,250.00	1,562.50
	ดอก	Hexane	781.25	3,125.00	3,125.00	97.66
		Ethyl acetate	195.31	390.63	1,562.50	97.66
		Ethanol	1,562.50	1,562.50	3,125.00	1,562.50
		Methanol	781.25	781.25	781.25	390.63
	ผล	Hexane	3,125.00	6,250.00	6,250.00	390.63
		Ethyl acetate	195.31	781.25	1,562.50	195.31
		Ethanol	1,562.50	781.25	1,562.50	390.63
		Methanol	1,562.50	781.25	1,562.50	390.63

ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal inhibitory concentration; MIC) (ต่อ)

Sample			Minimal inhibitory concentration (µg/ml)			
พืช	**ส่วนของพืช**	**ตัวทำละลาย**	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*	*S. agalactiae*
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	6,250.00	12,500.00	6,250.00	195.31
		Ethyl acetate	1,562.50	3,125.00	12,500.00	1,562.50
		Ethanol	3,125.00	1,562.50	6,250.00	390.63
		Methanol	1,562.50	1,562.50	6,250.00	390.63
	ดอก	Hexane	3,125.00	12,500.00	6,250.00	48.83
		Ethyl acetate	3,125.00	25,000.00	6,250.00	390.63
		Ethanol	3,125.00	1,562.50	12,500.00	781.25
		Methanol	3,125.00	3,125.00	12,500.00	390.63
	ผล	Hexane	1,562.50	3,125.00	3,125.00	0.0060
		Ethyl acetate	3,125.00	12,500.00	6,250.00	97.66
		Ethanol	6,250.00	6,250.00	12,500.00	3,125.00
		Methanol	1,562.50	3,125.00	12,500.00	1,562.50
Negative Control : DMSO			250,000.00	250,000.00	250,000.00	250,000.00
Positive Control : Oxytetracycline			0.7813	1.5625	0.7813	0.1953

2.3 การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี Micro bicidal activity test (ดัดแปลงจาก NCCLS, 2000)

เมื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal bactericidal concentration; MBC) พบว่าสารสกัดจากผลเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *V.harveyi* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 390.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากผลเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตและเอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *V.parahaemolyticus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 781.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *A.hydrophila* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3,125.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพต่ำกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *V.harveyi*, *V.parahaemolyticus* และ *A.hydrophila* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.7813, 3.1250 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *S.agalactiae* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.0954 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพดีกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *S.agalactiae* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.3906 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 3.4

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ตารางที่ 3.4 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal bactericidal concentration; MBC)

Sample			Minimal bactericidal concentration (µg/ml)			
พืช	**ส่วนของพืช**	**ตัวทำละลาย**	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*	*S. agalactiae*
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	3,125.00	3,125.00	6,250.00	24.41
		Ethyl acetate	3,125.00	12,500.00	25,000.00	1,562.50
		Ethanol	12,500.00	12,500.00	50,000.00	12,500.00
		Methanol	12,500.00	12,500.00	50,000.00	12,500.00
	ดอก	Hexane	781.25	3,125.00	12,500.00	97.66
		Ethyl acetate	781.25	781.25	6,250.00	195.31
		Ethanol	6,250.00	6,250.00	12,500.00	3,125.00
		Methanol	1,562.50	1,562.50	3,125.00	3,125.00
	ผล	Hexane	3,125.00	6,250.00	50,000.00	390.63
		Ethyl acetate	390.63	781.25	12,500.00	1,562.50
		Ethanol	1,562.50	781.25	12,500.00	6,250.00
		Methanol	1,562.50	1,562.50	25,000.00	6,250.00

ตารางที่ 3.4 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดจากตัวทำละลายต่างชนิดกันต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิดในสัตว์น้ำ (Minimal bactericidal concentration; MBC) (ต่อ)

Sample			Minimal bactericidal concentration (µg/ml)			
พืช	**ส่วนของพืช**	**ตัวทำละลาย**	*V. harveyi*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*	*S. agalactiae*
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	6,250.00	12,500.00	12,500.00	195.31
		Ethyl acetate	6,250.00	12,500.00	50,000.00	25,000.00
		Ethanol	12,500.00	12,500.00	12,500.00	6,250.00
		Methanol	12,500.00	12,500.00	12,500.00	6,250.00
	ดอก	Hexane	3,125.00	12,500.00	12,500.00	48.83
		Ethyl acetate	3,125.00	25,000.00	25,000.00	390.63
		Ethanol	6,250.00	12,500.00	25,000.00	781.25
		Methanol	6,250.00	12,500.00	25,000.00	6,250.00
	ผล	Hexane	1,562.50	3,125.00	6,250.00	0.0954
		Ethyl acetate	3,125.00	12,500.00	12,500.00	97.66
		Ethanol	12,500.00	25,000.00	12,500.00	50,000.00
		Methanol	6,250.00	12,500.00	25,000.00	25,000.00
Negative Control : DMSO			250,000.00	250,000.00	250,000.00	250,000.00
Positive Control : Oxytetracycline			0.7813	3.1250	1.5625	0.3906

จากผลการทดลองพบว่าเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่ใช้ในการทดลองสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลาทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *A. hydrophila* และ *S. agalactiae* โดยสารสกัดจากผลเสม็ดขาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล และสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *A. hydrophila* และ *S. agalactiae* ได้ดีที่สุดตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kandhasamy และ Arunachalam (2008) และ Karthikaidevi, *et al*. (2009) ที่พบว่าเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่ให้ผลในการออกฤทธิ์ดีที่สุดในการสกัดสารเพื่อใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยังอาจเนื่องมาจากวิธีการสกัดที่ต่างกัน (อัญชลี, 2550)

สารออกฤทธิ์อื่นๆ เช่น โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) อัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แอนทราควิโนน (anthraquinone) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) ซาโปนิน (saponin) และสารอะซาไดแรคติน (azadirachtin) สารเหล่านี้มีสรรพคุณในการลดความเครียด เป็นสารต้านทานอนุมูลอิสระ ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำ ดังนั้นการนำไปใช้ประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงสามารถให้สารสกัดสมุนไพรโดยการผสมอาหาร แช่และฉีด อย่างไรก็ตามการให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มากเกินไปอาจจะส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำได้ (ชนกันต์, 2557)

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย การยับยั้งเชื้อรา การยับยั้งเชื้อไวรัส การป้องกันการอักเสบ อีกทั้งยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันและระบบประสาทได้อีกด้วย ทั้งนี้อาจส่งผลมาจากปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง ซึ่งมีการรายงานว่าสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ก่อโรคเรืองแสงในกุ้งในระดับห้องปฏิบัติการ (Saori, 2011) ยิ่งไปกว่านั้นสารอินทรีย์ชนิดนี้ยังสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Lysozyme (Lys), Crustin (Cru), Penaeidin-3a (Pen-3a), Prophenoloxidase (proPo)) ในกุ้งขาวแวนนาไมให้เพิ่มขึ้นด้วย (ชนกนันท์, 2562)

บทที่ 4
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการเก็บตัวอย่างใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง จากพื้นที่บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง แล้วนำมาสกัดด้วยตัวละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบ นำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งและปลา พบว่าสารสกัดจากดอกและผลเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V.harveyi* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 195.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *V.harveyi* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 781.25 และ 390.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V.parahaemolyticus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 390.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *V.parahaemolyticus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 781.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *A.hydrophila* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 781.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *A.hydrophila* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3,125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพต่ำกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V.harveyi*, *V.parahaemolyticus* และ *A.hydrophila* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.7813, 1.5625 และ 0.7813 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *V.harveyi*, *V.parahaemolyticus* และ *A.hydrophila* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.7813, 3.1250 และ 1.5625 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผลเสม็ดแดงที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.agalactiae* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.0060 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *S.agalactiae* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.0954 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพดีกว่ายาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.agalactiae* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.1953 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *S.agalactiae* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.3906 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น ในสภาวะที่มีการจำกัด และการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาโรคในปลาอย่างเข้มงวด สมุนไพรเป็นผลผลิตทางธรรมชาติที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้แทนยาปฏิชีวนะ เนื่องจากราคาไม่แพงและมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค สัตว์น้ำ และสิ่งแวดล้อม และมีความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ ความสามารถในการควบคุมโรคสัตว์น้ำ ความสามารถในการลดความเครียด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามการนำสมุนไพรไปใช้ในการป้องกัน และรักษาโรคในสัตว์น้ำตามสภาพจริงให้มีประสิทธิภาพสูงสุดยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติม เช่น ปริมาณ ระยะเวลา และรูปแบบการใช้สมุนไพรที่เหมาะสมต่อชนิดของสัตว์น้ำ และชนิดของโรคสัตว์น้ำ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กุ้งก้ามกราม. 2548. โรคกุ้งก้ามกราม. **วารสารสัตว์น้ำ**. 16 (185). 121 - 124.

แก้วตา ลิ้มเฮง, จุฑารัตน์ หิรัญวัฒนสุข และมนฤทัย อินทวัฒน์. 2559. ผลของสารสกัดกระเทียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio harveyi*. **วารสารแก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1**. 650 - 655.

จำเนียร กิ้วเส้ง, สุมาลี เลี่ยมทอง และศุภวรรณ พรหมเพรา. 2556. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสกุลไมร์ทาซีอี้ที่พบในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง. **วารสารวิชาการและวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ฉบับพิเศษ.** การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 5. 320 – 330.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2556. โรคปลานิล. **วารสารเชียงใหม่สัตวแพทยสาร**. 11(1). 75 - 86.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2557. ผลของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรต่อภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 18(2). 257-269.

ชนกันต์ จิตมนัส, กิติวรรณ ทองดอนเหมือน และวิชาญ นุ่นสังข์. 2548. การใช้สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการกำจัดเห็บระฆัง (*Trichodina sp*.) ในลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*). **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสงขลานครินทร์**. 27(1). 359 - 364.

ชนกนันท์ วัฒนะบูรณาพันธ์, นุจริน จงรุจา. 2562. การนำสารสกัดสาหร่ายและพืชน้ำละลายในน้ำมันปาล์ม และน้ำมันออริกาโน่ เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Vibrio parahaemolyticus ที่เป็นสาเหตุโรคกุ้ง. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20. วันที่ 15 มีนาคม 2562 มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ชาญณรงค์ รอดคำ. 2557. โรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ณัฏสรัณย์ วีรพลพัฒน์กุล. 2550. การยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* โดยใช้สารสกัดจากเปลือกส้มโอ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา. กรุงเทพ.

พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุลโสภณ และปาริชาติ พุ่มขจร. 2553. การใช้สมุนไพรในการป้องกันและรักษาโรคในปลา. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**. 12(4). 63 - 71.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และ สาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. **การประชุมทางวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นครั้งที่ 9**. 11 - 12 มิถุนายน 2551. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปริชาติ ผลานิสงค์. 2551. **ผลของสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดต่อการเติบโตของ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerugnosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis***. วิทยานิพนธ์ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปิยะวัฒน์ พรหมรักษา และโกสินทร์ พัฒนมณี. 2552. ป่าเสม็ดผืนป่าที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. **วารสารสิ่งแวดล้อม**. 13(3). 34 - 36.

เต็มดวง สมศิริ. 2540. การศึกษาฤทธิ์ของฟาทะลายโจรตอเชื้อวิบริโอ. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง.

ทินกร รสรื่น. 2552. สารยับยั้งจุลชีพที่สร้างโดยราเอนโดไฟต์จากใบและกิ่งเสม็ดขาว *Malaleuca cajuputi*. วิทยานิพนธวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

ลลิตา วีระเสถียร. 2552. ฤทธิ์ต้านเชื้อ Helicobacter pylori ของพืชที่ใช้เป็นอาหารท้องถิ่น. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

วารุณี หะยีมะสา, อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และสถาพร ดิเรกบุษราคม. 2547. **ผลของสารสกัดจากสาหร่ายบางชนิดต่อการยับยั้งไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 : สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. 283 - 288.

วิภาพร เสรีเด่นชัย และศิริวรรณ อธิคมกุลชัย. 2557. ฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ Zingiberaceae และ Myrtaceae. กรุงเทพมหานคร. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

วิศณุ บุญญาวิวัฒน์, ทินวรรธน์ ศรีสุข และวรวิทย์ วัชชวัลคุ. 2550. ประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิลในปลานิล. **วารสารคณะสัตวแพทย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 17(1). 21 - 30.

ภิรัตน์ มั่นใจอางค์. 2552. การทดลองใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus L.*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาพร ดิเรกบุษราคม, สมพร รุงกำเนิดวงศ, อังคณา หิรัญสาลี และลิลา เรืองแป้น. 2539. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุงกุลาดำ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 7. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตวน้ำชายฝง. 7 หนา.

สุจิตรา สหัสนฤภัยพงษ. 2541. การศึกษาประสิทธิภาพของ Tea Polyphenol ในการปองกันโรควิบริโอซิสในกุงกุลาดำ. วิทยานิพนธวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร. กรุงเทพมหานคร.

สุนันทา ข้องสาย. 2560. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง. รายงานผลการดำเนินงาน โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ประจำปีงบประมาณ 2560. 43 หน้า.

สุรางค์รัตน์ แดงจิระ. 2558. **องค์ประกอบทางเคมีการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของบอนหอม**. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

แสงดาว วงศ์ปัน. 2548. ศักยภาพของสารสกัดจากเสม็ด (Cajuput tree) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Microcystis aeruginosa* และ *Anabaena siamensis* (Antarikanonda). มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร. กรุงเทพมหานคร.

อดิเทพชัยย์การณ์ ภาชนะวรรณ และประณีต งามเสน่ห์. 2553. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่เป็นแบคทีเรียก่อนโรคในปลา. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง.** 4(1). 103 - 109.

อัครวิทย์ อิสสะโร. 2554. การพัฒนาเทคนิค Multiplex PCR ในการตรวจเชื้อก่อโรคสเตรปโตคอคโคซีสในปลาเศรษฐกิจของไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อัญชลี ธำมรงค์คงสถิต และจิราพร โรจน์ทินกร. 2550. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย *ใน* การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งก้ามกราม. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**. 1(2). 192 - 200.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, ประภัสสร รักถาวร, ยุพา มงคลสุข, สุดประสงค์ สุวรรณเลิศ และ นคร เหลืองประเสริฐ. 2546. การออกฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันพลู น้ำมันทีทรี และน้ำมันเสม็ดขาว. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาวิทยาศาสตร์ สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม กรุงเทพมหานคร. 284 - 291.

Abuseliana, A. F., Daud, H. H. M., Aziz, S. A., Bejo, S. K. and Alsaid, M. 2011. Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* Isolated from a Fish Farm in Selangor to Juvenile Red Tilapia (*Oreochromis sp*.). **Journal of Animal and Viterinary Advances**. 10(7) : 914 - 919.

Brantner, A., Pfeiffer, K., Brantner, H. 1994. Applicability of Diffusion Methods Required by the Pharmacopoeias for Testing Antibacterial Activity of Natural Compounds. **Pharmazie**. 49(7) : 512 - 516.

Brudeseth, B. E., Wiulsrod, R., Fredriksen, B. N., Lindmo, K., Lokling, K. E., Bordevik, M., Steine, N., Klevan, A. and Gravningen, K. 2013. Status and Future Perspectives of Vaccines for Industrialised Fin - Fish Farming. **Fish and Shellfish Immunology**. 35(6). 1759 - 1768.

Duncan, D.W. 1995. Multiple - range and multiple F - test. **Biometrics**. 11(1). 1 - 42.

Eloff, J. N. 1998. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. **Planta Method**. 64. 711 - 713.

Immanuel, G., Vincybai, V. C., Sivaram, V., Palavesam, A. and Marlan, M. P. 2004. Effect of Butanolic Extracts from Terrestrial Herbs and Seaweeds on the Survival, Growth and Pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) Load on Shrimp *Peneaus indicus juveniles*. **Aquaculture**. 236(1 - 4). 53 - 65.

Inglis, V., Ronald J., Robert, S. and Niall, R. Bromage. 1993. Bacterial diseases of fish. Blackell Scientific Publications. Oxford. 312 pp.

Kandhasamy, M., Arunachalam, K.D. 2008.Evaluation of In Vitro Antibacterial Property of Seaweeds of Southeast Coast of India. **African Journal of Biotechnology**. 7(12). 1958 - 1961.

Karthikaidevi, G., Manivannan, K., Thirumaran, G., Anantharaman, P., Balasubaramanian, T. 2009. Antibacterial Properties of Selected Green Seaweeds from Vedalai Coastal Waters; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve Global. **British Journal of Pharmacology**. 3(2). 107 - 112.

Luiz, C. A., Cleber, J., Róbson, R. T. and Antônio, L. P. 2013. Chemistry and Biological Activities of Essential Oils from *Melaleuca* L. Species. Agriculturae Conspectus Scientificus. 78(1). 11 - 23.

Mohammed, H., Olivares-Fuster, O., LaFrentz, S., and Arias, C. R. 2013. New Attenuated Vaccine Against Columnaris Disease in Fish: Choosing the Right Parental Strain Is Critical for Vaccine Efficacy. **Vaccine**. 31(45). 5276 - 5280.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Method for Dilution Antimicrobail Susceptibility Test for Bacterai That Growth Aerobically. Approved Stand -5th Edition **NCCLS**. 20(2). 26 pp.

Powell, A., Pope, E. C., Eddy, F. E., Roberts, E. C., Shields, R. J., Francis, M. J., Smith, P., Topps. S., Reid, J., and Rowley, A. F. 2011. Enhanced Immune Defences in Srikong, *et al.*, 2015. International Research Journal of Natural and Applied Sciences (IRJNAS). **ISSN**: (2349 - 4077).

Rattanachaikunsopon, P.and Phumkhachorn, P. 2010. Use of Herbs as Prophylactic and Therapeutic Agents in Fish. **Journal of Science and Technology**. 2(4). 63 - 71.

Saori, M. and Raj, B. 2011. Effect of Organic Acids on Shrimp Pathogen, *Vibrio harveyi*. **Current Microbiology**. 63. 1 – 7.

Srithaworn, M., Thuyhun, A., Chunhachart, O. and Preecharram, S. 2015. Antioxidant and Antibacterial Activities of Crude Extracts from Ya -Keaw Formula Against Shrimp pathogens. **SDU Research Journal Sciences and Technology**. 8(2). 117 - 132.

Sritunyalucksana, K., W. Gangnonnigw, S. Archakunakorn, D. Fegan and T. W. Flegel. 2005. Bacterail Clearance Rate and a New Differential Hemocyte Staining Method to Assess Immunostimulant Activity in Shrimp. **Diseases of Aquatic Organisms Journal**. 63 : 89 - 94.

Soonthornchareonnon, N., Wiwat, C. and Chuakul, W. 2012. Biological Activities of Medicinal Plants from Mangrove and Beach Forests. **Mahidol University Journal of Pharmaceutical Science**. 39(1). 9 - 18.

Tummarongkongsatid, A. and Rojtinnakorn, J. 2007. Efficacy of Thai Herbs Extracts to Inhibit Bacterial Pathogens in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium resenbergii*). **Journal of Fisheries Technology Research**. 1(2). 192 - 200.

Yin, G., Jeney, G., Racz, T., Xu, P., Jun, X. and Jeney, Z. 2005. Effect of Two Chinese Herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on Non - Specific Immune Response of Tilapia (*Orechromis niloticus*). **Journal of Aquaculture**. 253. 39 - 47.

ภาคผนวก ก
เสม็ดขาวและเสม็ดแดง

(a) (b) (c)

ภาพผนวกที่ ก1 ส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาว (a) ใบ (b) ดอก (c) ผล

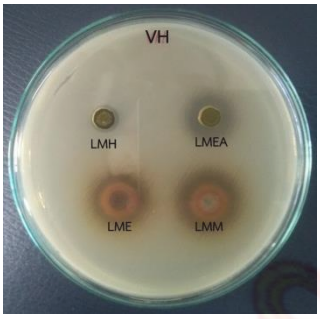
(a) (b) (c)

ภาพผนวกที่ ก2 ส่วนต่างๆ ของเสม็ดแดง (a) ใบ (b) ดอก (c) ผล

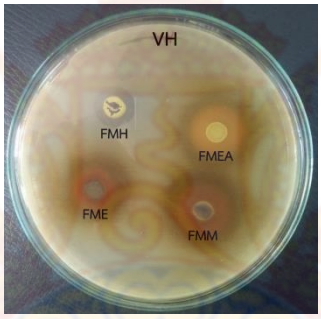
ภาคผนวก ข
การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Hole - plate diffusion method

(a)

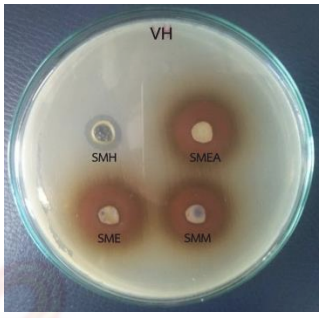
(b)



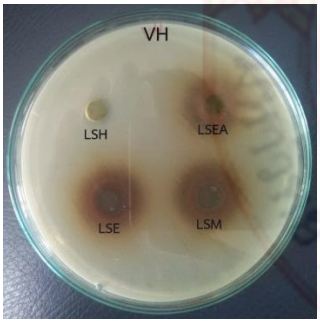
(c)



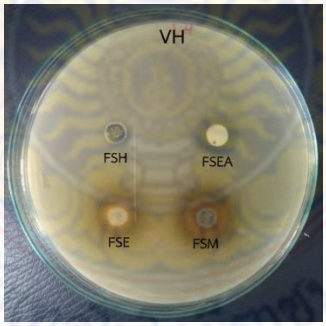
(d)



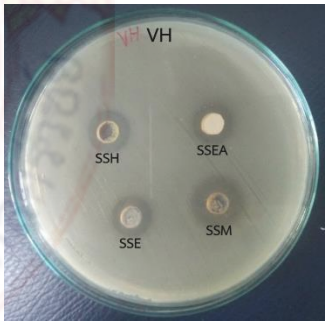
(e)



(f)

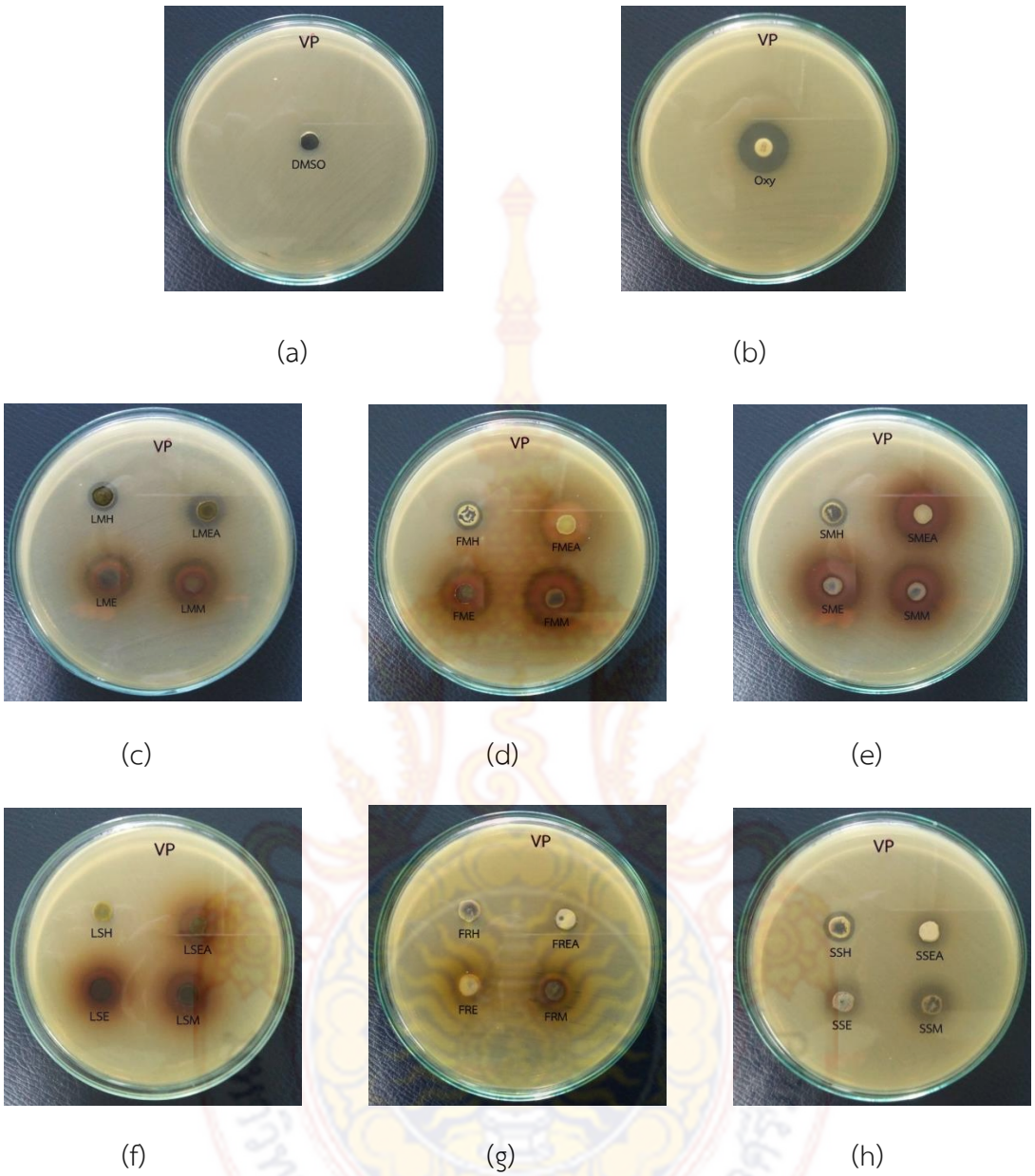


(g)

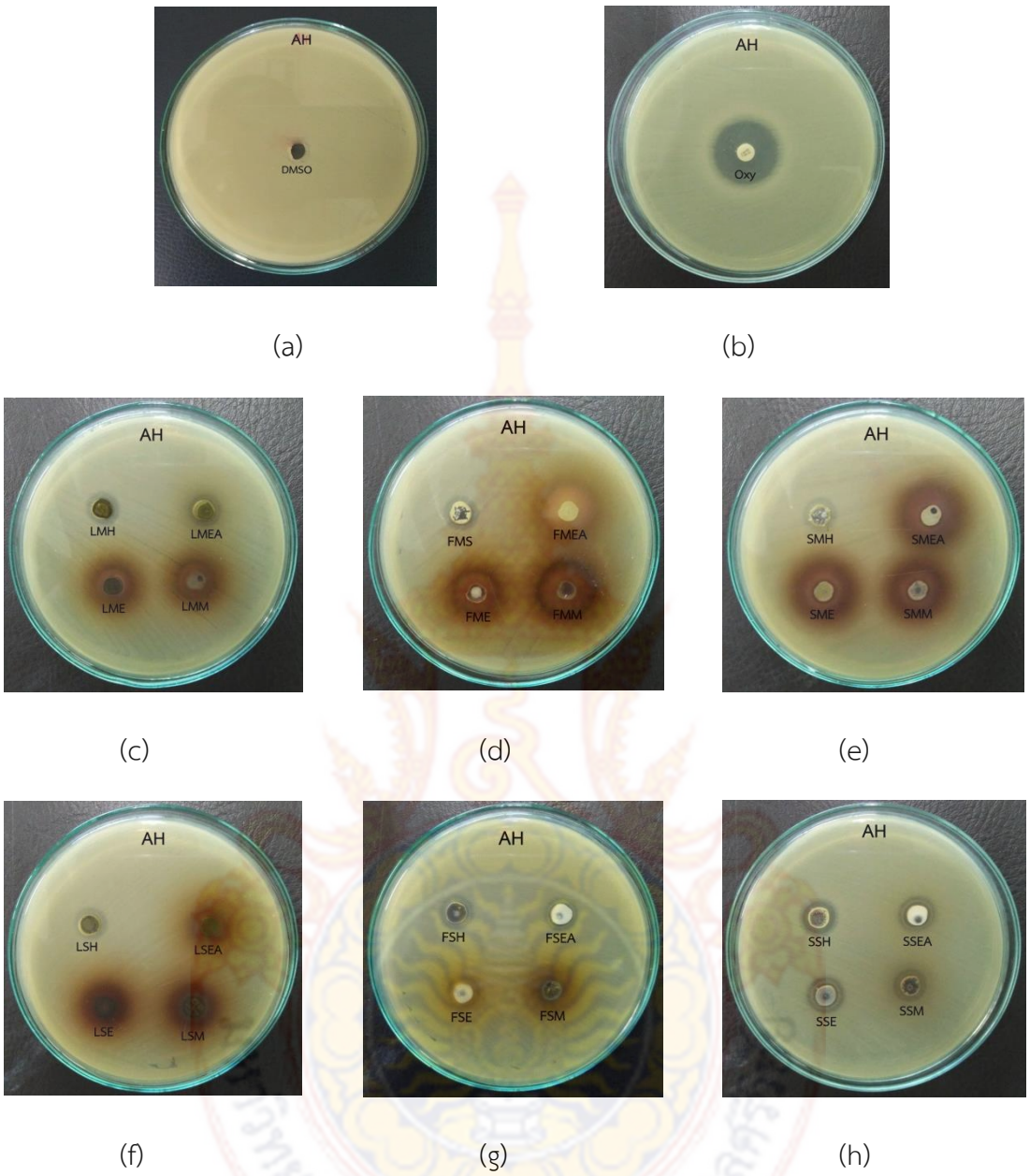


(h)

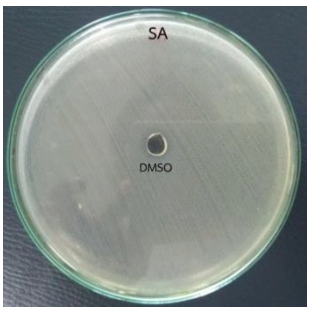
ภาพผนวกที่ ข1 ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* ของสารควบคุมและสารสกัด
(a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว
(e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

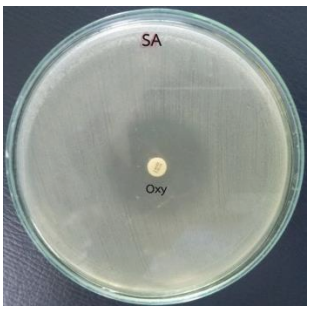


ภาพผนวกที่ ข2 ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของสารควบคุมและสารสกัด (a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว (e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

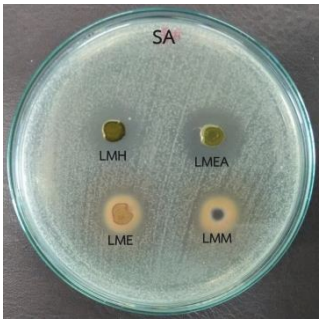


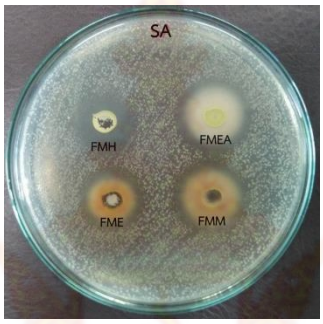
ภาพผนวกที่ ข3 ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ของสารควบคุมและสารสกัด (a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว (e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

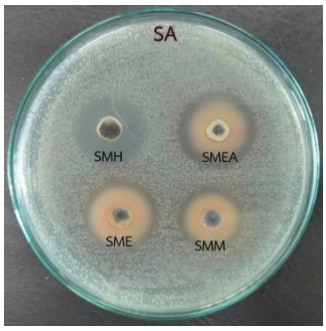




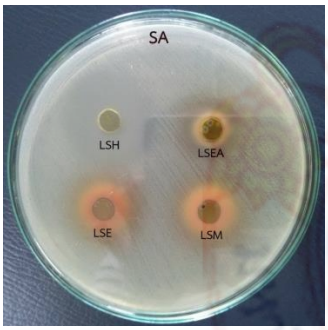
(b)

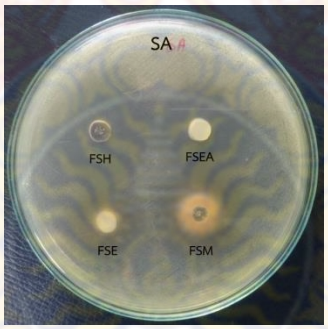


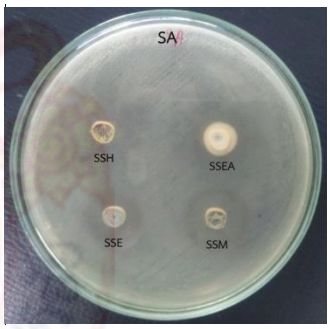




(c) (d) (e)







(f) (g) (h)

ภาพผนวกที่ ข4 ผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. agalactiae* ของสารควบคุมและสารสกัด (a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว (e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

ตารางผนวกที่ ข1 ขนาดวงใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำทั้ง 4 ชนิดของสารควบคุม และสารสกัด

Samples				Inhibition zone (mm)											
				V. harveyi			*V. parahaemolyticus*			*A.hydrophila*			*S. agalactiae*		
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
เสม็ดขาว	ใบ	เฮกเซน	MLH	8.84	8.95	9.02	9.34	9.42	9.39	6.48	6.75	6.52	11.32	11.29	11.13
		เอทิลอะซิเตต	MLEA	13.48	13.62	13.59	11.21	11.09	11.26	6.98	7.01	7.18	13.55	13.52	13.26
		เอทานอล	MLE	15.39	15.31	15.22	13.14	12.97	13.08	9.69	10.02	9.71	11.32	11.67	11.52
		เมทานอล	MLM	15.39	15.43	15.29	11.03	10.92	11.09	9.34	9.32	9.65	11.98	12.03	12.08
	ดอก	เฮกเซน	MFH	11.58	11.62	11.48	9.43	9.61	9.52	8.36	8.51	8.48	11.24	11.05	11.11
		เอทิลอะซิเตต	MFEA	16.98	17.04	17.01	16.91	16.87	17.02	10.92	10.79	10.75	18.69	18.81	18.76
		เอทานอล	MFE	17.56	17.53	17.42	12.08	11.98	12.12	14.23	14.09	14.08	14.61	14.66	14.81
		เมทานอล	MFM	15.94	16.06	16.01	16.05	16.12	16.02	19.38	19.49	19.25	17.66	17.58	17.82
	ผล	เฮกเซน	MSH	10.89	11.13	10.98	9.58	9.42	9.51	7.68	7.51	7.71	12.42	12.28	12.41
		เอทิลอะซิเตต	MSEA	19.94	20.08	20.15	13.05	13.11	12.97	12.69	12.79	12.58	20.85	20.92	20.86
		เอทานอล	MSE	16.98	16.78	16.87	13.18	13.26	13.09	12.28	11.98	12.31	18.03	18.21	17.98
		เมทานอล	MSM	15.94	15.88	15.81	12.35	12.32	12.27	12.25	12.32	11.98	16.38	16.29	16.45

ตารางผนวกที่ ข1 ขนาดวงใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำทั้ง 4 ชนิดของสารควบคุม และสารสกัด (ต่อ)

Samples				Inhibition zone (mm)											
				V. harveyi			*V. parahaemolyticus*			*A.hydrophila*			*S. agalactiae*		
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
เสม็ดแดง	ใบ	เฮกเซน	SLH	8.26	8.32	8.17	7.06	7.02	6.93	6.81	6.88	7.11	18.29	18.52	18.34
		เอทิลอะซิเตต	SLEA	14.16	14.19	14.21	10.81	10.76	10.87	6.37	6.48	6.65	13.89	13.94	14.16
		เอทานอล	SLE	14.21	14.23	14.13	12.15	12.21	12.21	7.11	7.26	7.39	12.15	12.05	12.18
		เมทานอล	SLM	13.68	13.75	13.82	13.67	13.54	13.48	9.21	9.51	9.23	12.26	12.35	12.15
	ดอก	เฮกเซน	SFH	6.62	6.51	6.37	6.55	6.51	6.45	6.77	6.61	6.86	22.58	22.51	22.62
		เอทิลอะซิเตต	SFEA	10.69	10.65	10.72	6.81	6.89	6.95	7.18	7.05	7.16	22.28	22.06	22.23
		เอทานอล	SFE	13.42	13.28	13.24	6.00	6.01	6.00	6.00	6.00	6.00	18.31	18.29	18.32
		เมทานอล	SFM	15.26	15.31	15.18	7.01	7.03	6.97	6.00	6.00	6.00	18.15	18.21	18.03
	ผล	เฮกเซน	SSH	12.61	12.45	12.45	10.75	10.91	10.78	9.33	9.39	9.39	27.43	27.51	27.56
		เอทิลอะซิเตต	SSEA	12.19	12.05	12.15	7.75	7.87	7.81	7.61	7.37	7.31	18.75	18.85	18.65
		เอทานอล	SSE	11.25	11.32	11.18	6.89	6.82	6.93	7.32	7.14	7.29	12.29	12.38	12.46
		เมทานอล	SSM	13.38	13.23	13.31	6.69	6.73	6.83	6.00	6.00	6.00	12.57	12.63	12.48
Dimethylsulfoxide			DMSO	6.00	6.00	6.00	6.00	6.01	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Oxytetracyclin			Oxy	21.29	21.21	21.25	18.05	18.05	18.09	21.78	21.74	21.72	31.41	31.35	31.37

ตารางผนวกที่ ข2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V.Harveyi*

Duncan[a]

Inhibition Zone	N	Subset for alpha = 0.05																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
DMSO	3	6.00																					
SFH	3		6.50																				
SLH	3			8.25																			
MLH	3				8.94																		
SFEA	3					10.69																	
MSH	3						11.00																
SSE	3							11.25															
MFH	3								11.56														
SSEA	3									12.13													
SSH	3										12.50												
SSM	3											13.31											
SFE	3											13.31											
MLEA	3												13.56										
SLM	3													13.75									
SLEA	3														14.19								
SLE	3														14.19								
SFM	3															15.25							
MLE	3															15.31							
MLM	3															15.37							
MSM	3																15.88						
MFM	3																	16.00					
MSE	3																		16.88				
MFEA	3																			17.01			
MFE	3																				17.50		
MSEA	3																					20.06	
Oxy	3																						21.25
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.915	1.000	1.000	.958	.074	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ตารางผนวกที่ ข3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V.parahaemolyticus*

Duncan[a]

Inhibition Zone	N	Subset for alpha = 0.05																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SFE	3	6.00																			
DMSO	3	6.00																			
SFH	3		6.50																		
SSM	3			6.75																	
SSE	3				6.88																
SFEA	3				6.88																
SLH	3					7.00															
SFM	3					7.00															
SSEA	3						7.81														
MLH	3							9.38													
MSH	3								9.50												
MFH	3								9.52												
SLEA	3									10.81											
SSH	3									10.81											
MLM	3										11.01										
MLEA	3											11.19									
MFE	3												12.06								
SLE	3													12.19							
MSM	3														12.31						
MSEA	3															13.04					
MLE	3															13.06					
MSE	3																13.18				
SLM	3																	13.56			
MFM	3																		16.06		
MFEA	3																			16.93	
Oxy	3																				18.06
Sig.		1.000	1.000	1.000	.951	1.000	1.000	1.000	.758	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.711	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ตารางผนวกที่ ข4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*

Duncan[a]

Inhibition Zone	N	Subset for alpha = 0.05																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
SFE	3	6.00																
SFM	3	6.00																
SSM	3	6.00																
DMSO	3	6.00																
SLEA	3		6.50															
MLH	3		6.58	6.58														
SFH	3			6.75	6.75													
SLH	3				6.93	6.93												
MLEA	3					7.06	7.06											
SFEA	3					7.13	7.13											
SSE	3						7.25	7.25										
SLE	3						7.25	7.25										
SSEA	3							7.43										
MSH	3								7.63									
MFH	3									8.45								
SLM	3										9.32							
SSH	3										9.37							
MLM	3										9.44							
MLE	3											9.81						
MFEA	3												10.82					
MSM	3													12.18				
MSE	3													12.19				
MSEA	3														12.69			
MFE	3															14.13		
MFM	3																19.37	
Oxy	3																	21.75
Sig.		1.000	.399	.102	.063	.062	.071	.088	1.000	1.000	.255	1.000	1.000	.946	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ตารางผนวกที่ ข5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุด การทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*

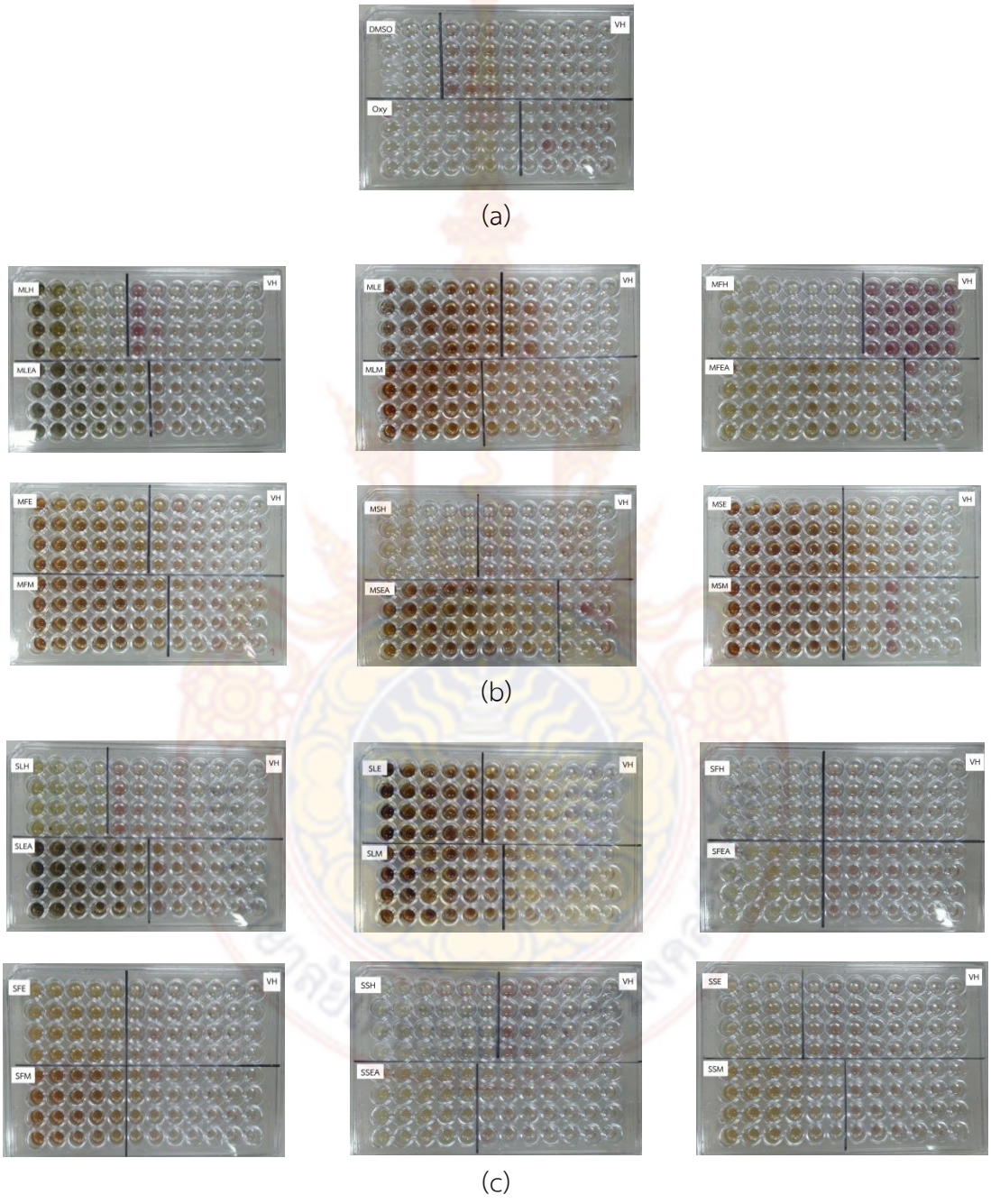
Duncan[a]

Inhibition Zone	N	Subset for alpha = 0.05																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
DMSO	3	6.00																			
MFH	3		11.13																		
MLH	3		11.25																		
MLE	3			11.50																	
MLM	3				12.03																
SLE	3				12.13	12.13															
SLM	3					12.25	12.25														
MSH	3						12.37														
SSE	3						12.38														
SSM	3							12.56													
MLEA	3								13.44												
SLEA	3									14.00											
MFE	3										14.69										
MSM	3											16.37									
MFM	3												17.69								
MSE	3													18.07							
SFM	3													18.13							
SFE	3														18.30						
SLH	3														18.38						
SSEA	3															18.75					
MFEA	3															18.75					
MSEA	3																20.88				
SFEA	3																	22.19			
SFH	3																		22.57		
SSH	3																			27.50	
Oxy	3																				31.38
Sig.		1.000	.154	1.000	.223	.112	.143	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.473	.333	.966	1.000	1.000	1.000	1.000	1.00

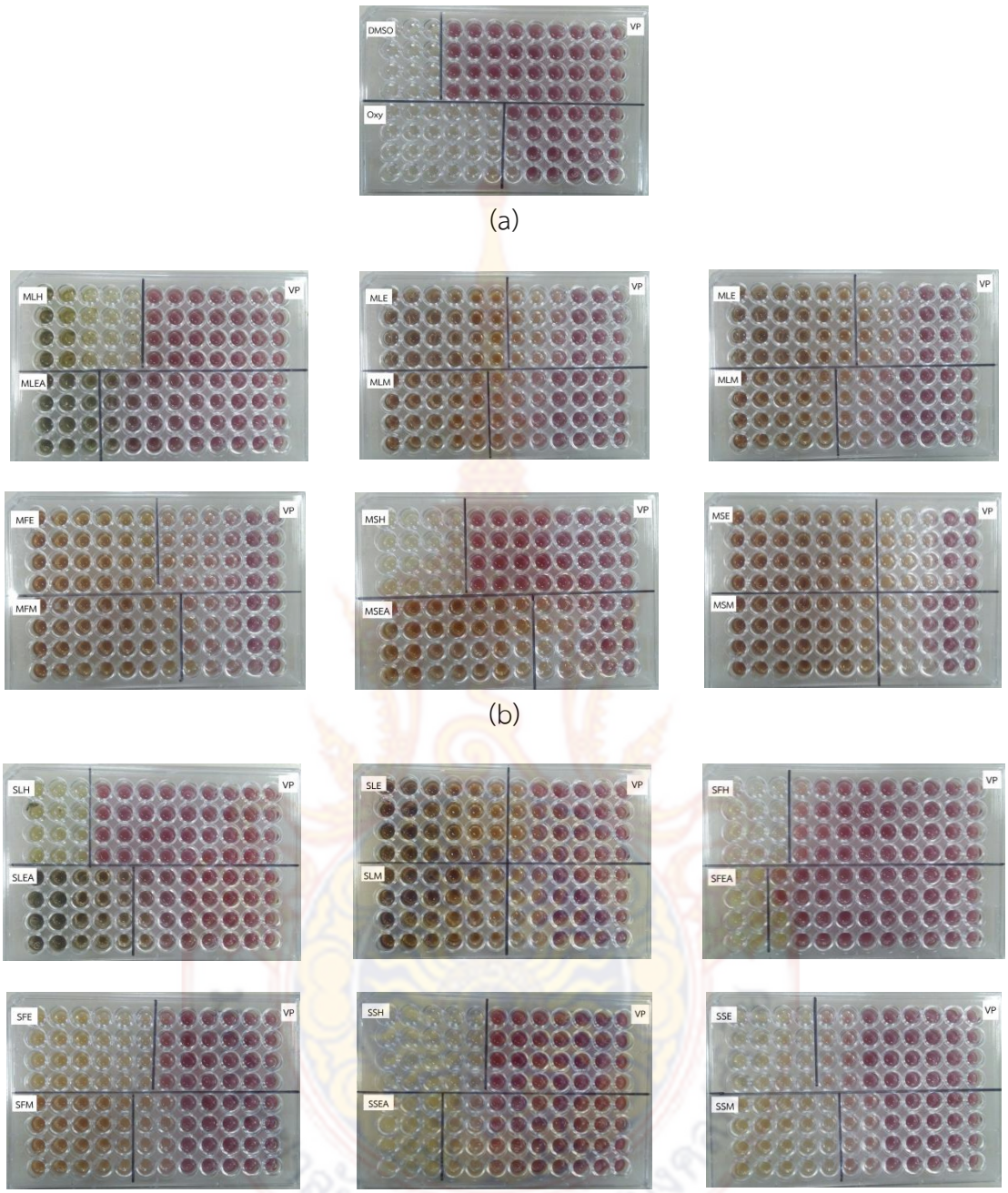
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

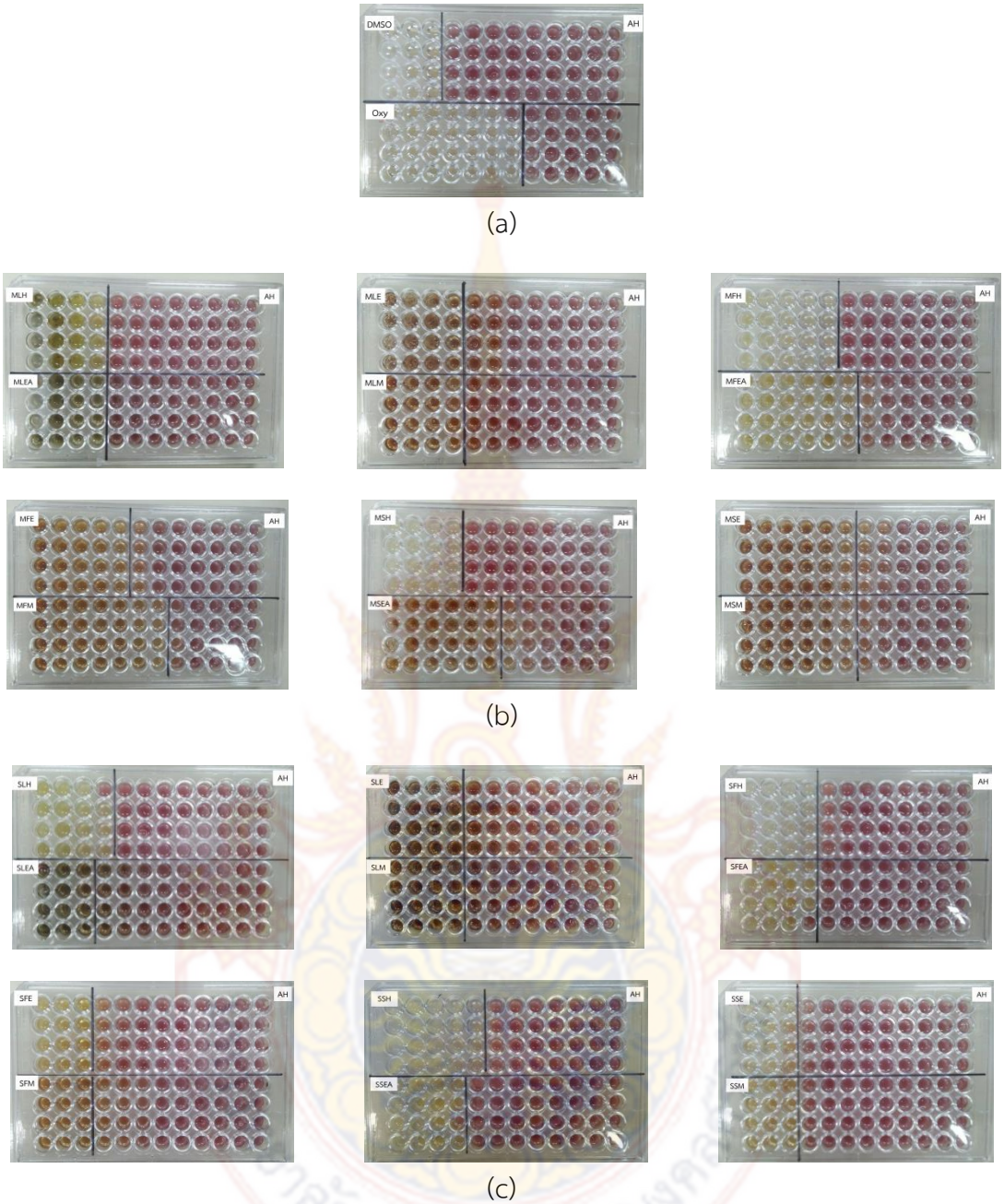
ภาคผนวก ค
การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth Micro dilution susceptibility test



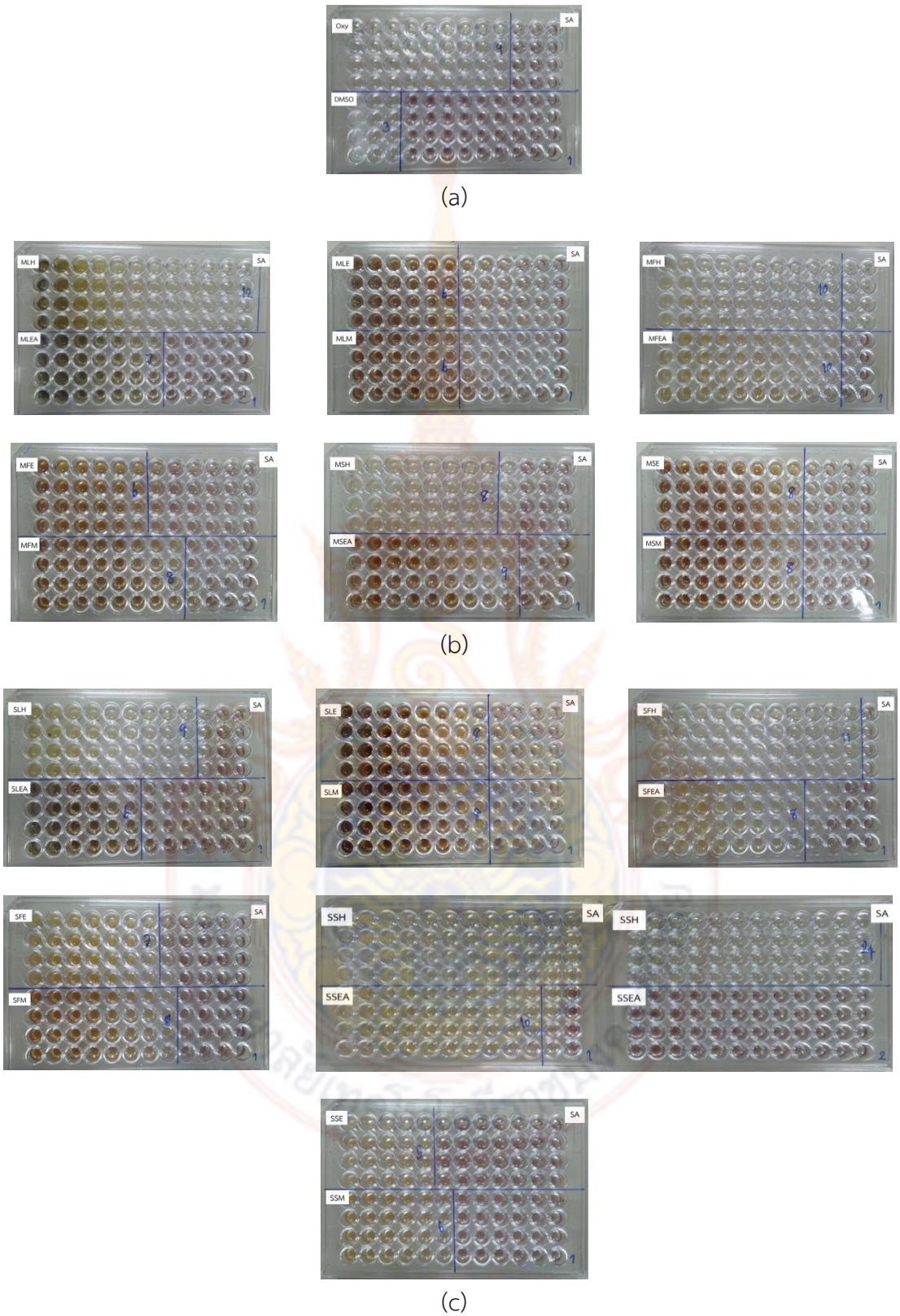
ภาพผนวกที่ ค1 การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *V. harveyi* ของ (a) สารควบคุม (b) สารสกัดเสม็ดขาว (c) สารสกัดเสม็ดแดง



ภาพผนวกที่ ค2 การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของ (a) สารควบคุม (b) สารสกัดเสม็ดขาว (c) สารสกัดเสม็ดแดง

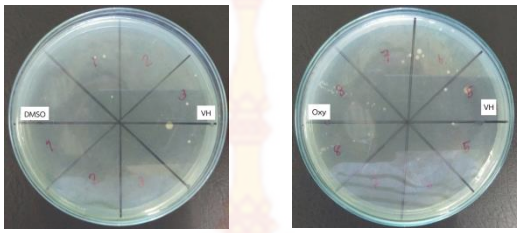


ภาพผนวกที่ ค3 การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *A. hydrophila* ของ (a) สารควบคุม (b) สารสกัดเสม็ดขาว (c) สารสกัดเสม็ดแดง

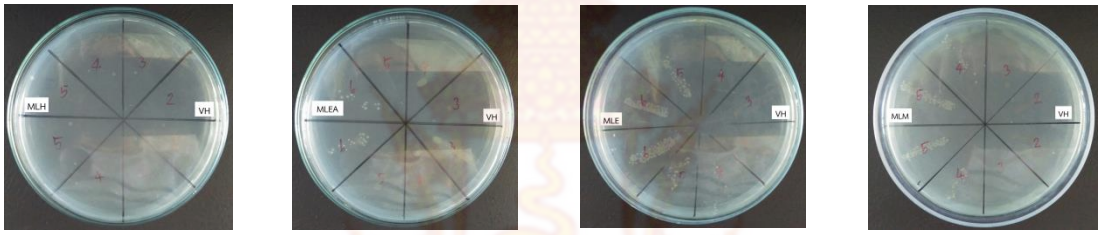


ภาพผนวกที่ ค4 การทดสอบ Minimal inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *S. agalactiae* ของ (a) สารควบคุม (b) สารสกัดเสม็ดขาว (c) สารสกัดเสม็ดแดง

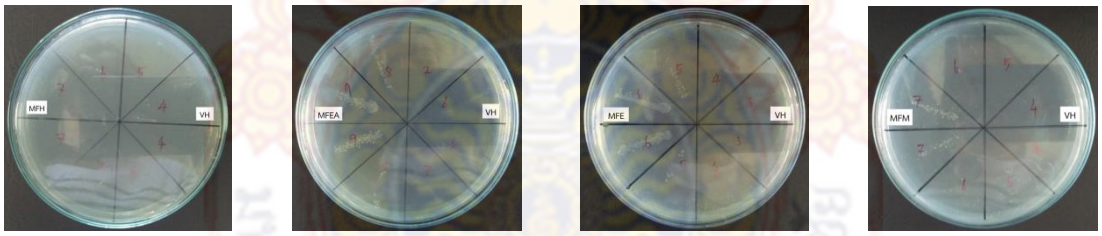
ภาคผนวก ง
การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี Micro bicidal activity test



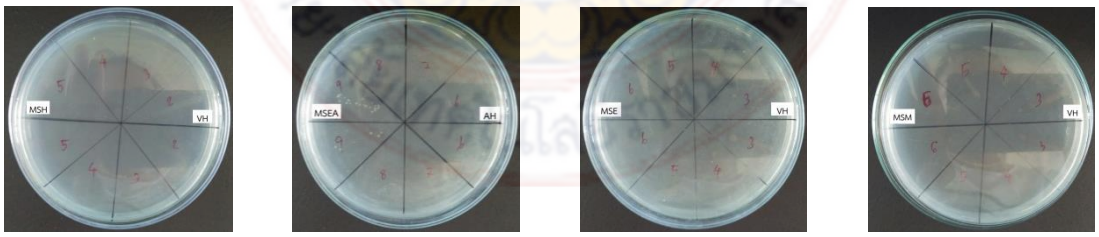
(a) (b)



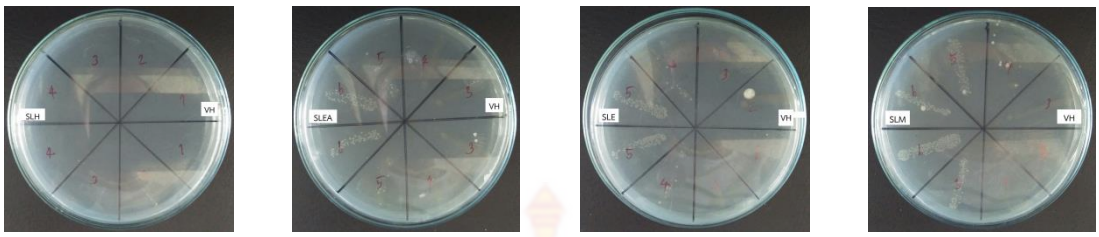
(c)



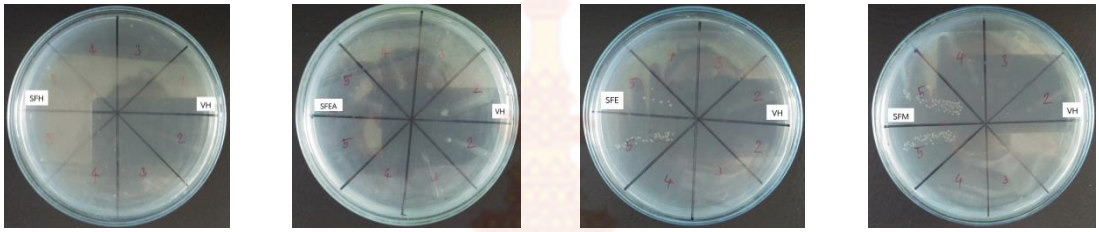
(d)



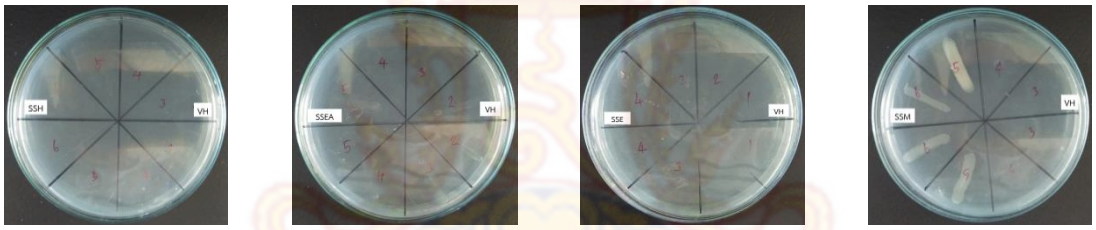
(e)



(f)

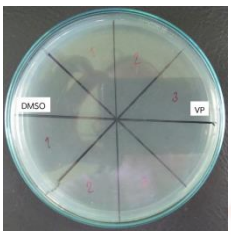


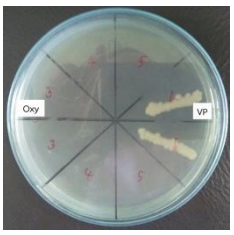
(g)



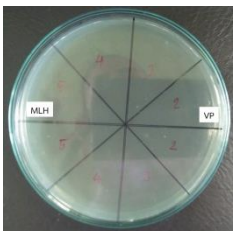
(h)

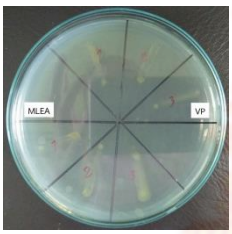
ภาพผนวกที่ ง1 การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *V. harveyi* ของสารควบคุมและสารสกัด
(a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว
(e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

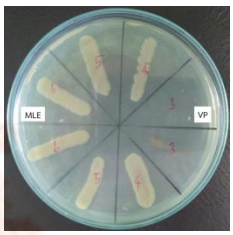

DMSO
VP

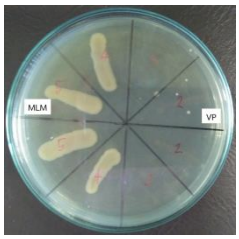

Oxy
VP

(a) (b)

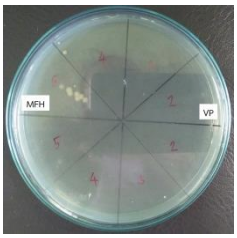

MLH
VP

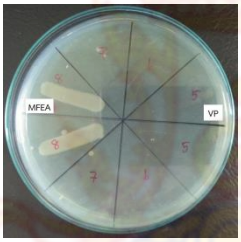

MLEA
VP

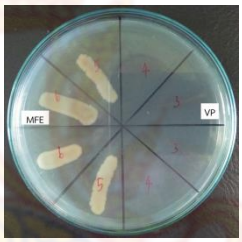

MLE
VP

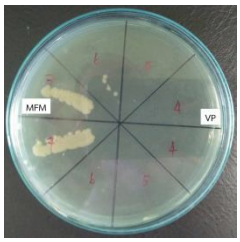

MLM
VP

(c)

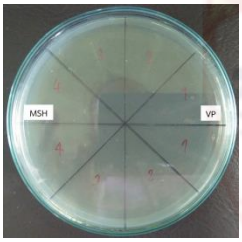

MFH
VP

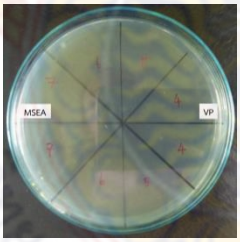

MFEA
VP

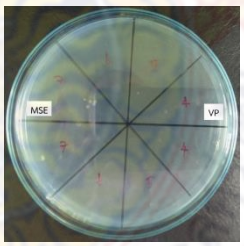

MFE
VP

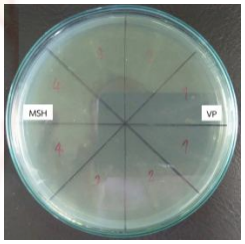

MFM
VP

(d)

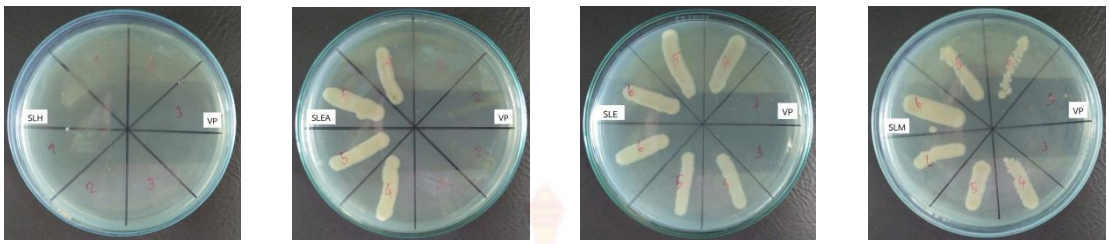

MSH
VP


MSEA
VP

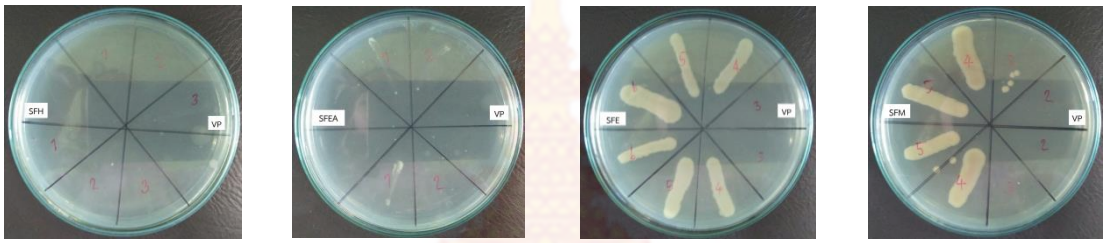

MSE
VP


MSH
VP

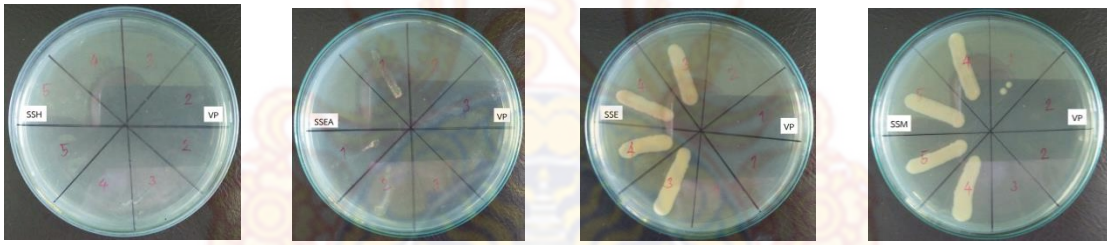
(e)



(f)

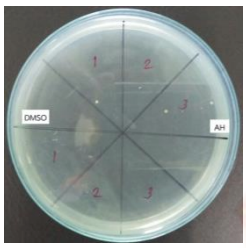


(g)

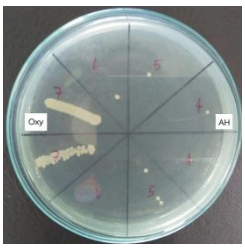


(h)

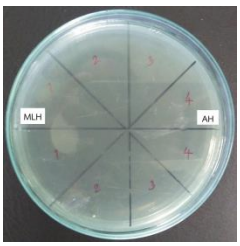
ภาพผนวกที่ ง2 การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของสารควบคุมและสารสกัด (a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว (e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

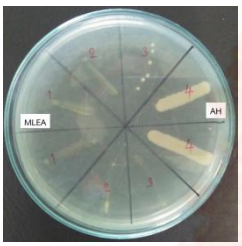

DMSO
AH

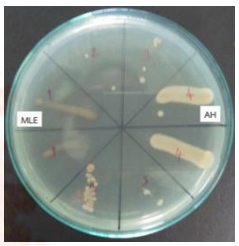
(a)

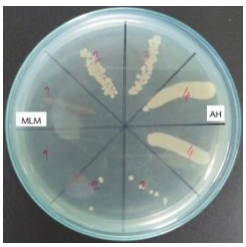

Oxy
AH

(b)

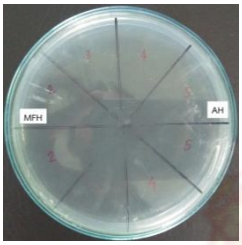

MLH
AH

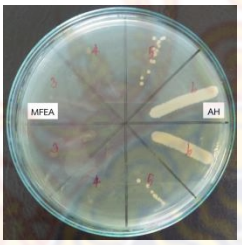

MLEA
AH

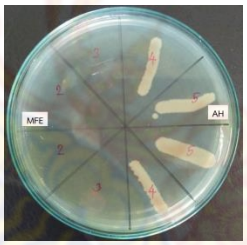

MLE
AH

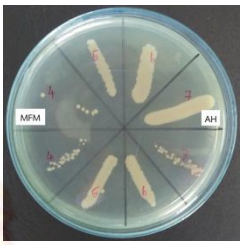

MLM
AH

(c)

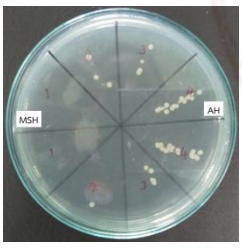

MFH
AH

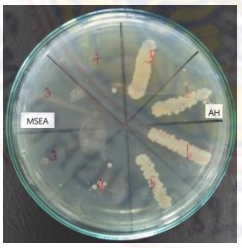

MFEA
AH

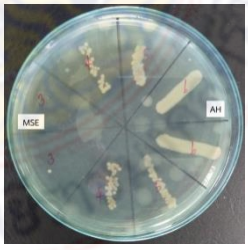

MFE
AH

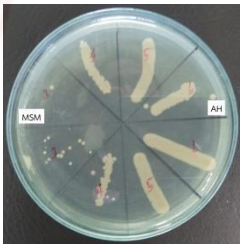

MFM
AH

(d)

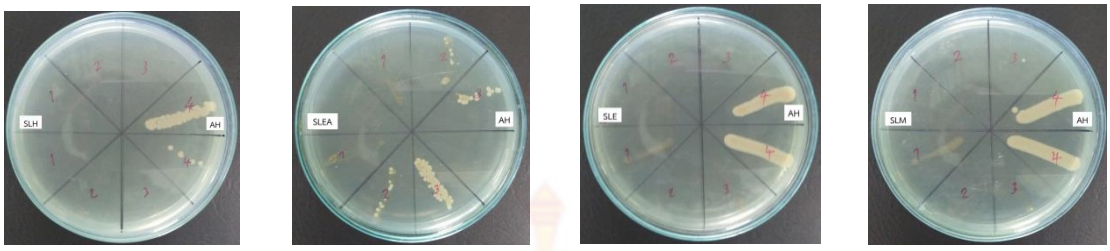

MSH
AH


MSEA
AH

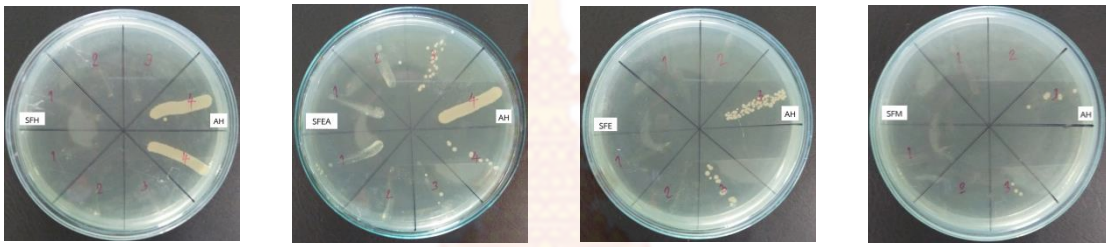

MSE
AH


MSM
AH

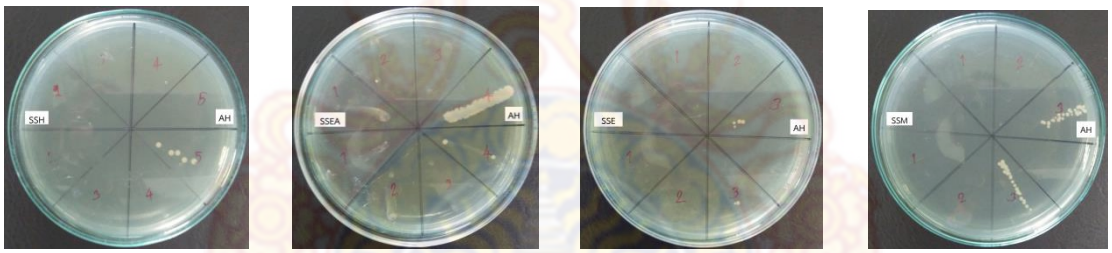
(e)



(f)

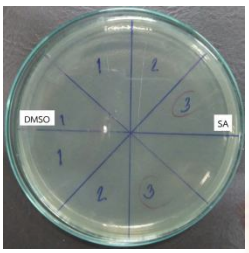


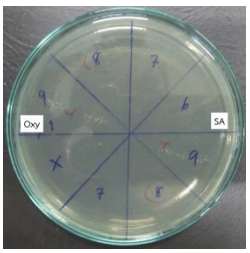
(g)



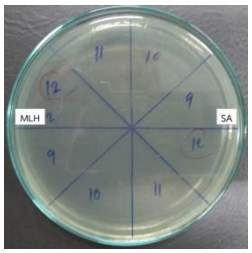
(h)

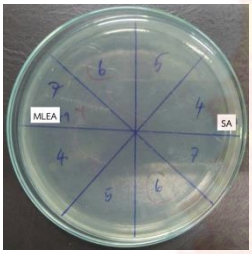
ภาพผนวกที่ ง3 การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *A.hydrophila* ของสารควบคุมและสารสกัด
(a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว
(e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง

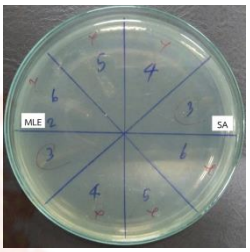

DMSO
SA

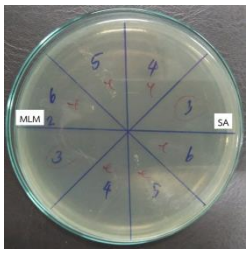

Oxy
SA

(a) (b)

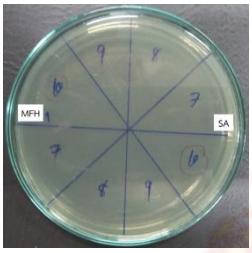

MLH
SA

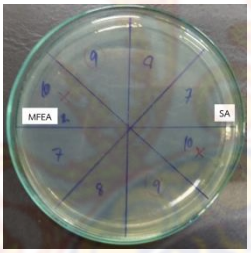

MLEA
SA

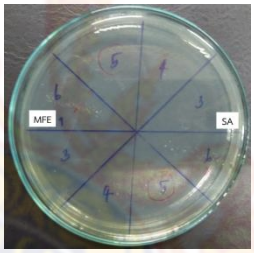

MLE
SA

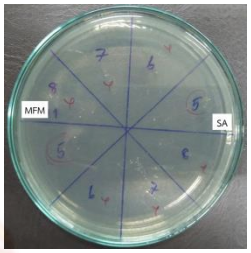

MLM
SA

(c)

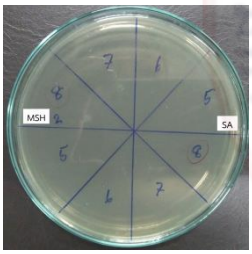

MFH
SA

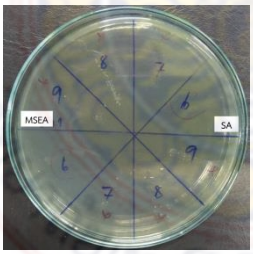

MFEA
SA

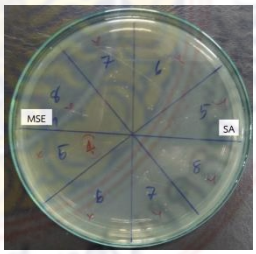

MFE
SA

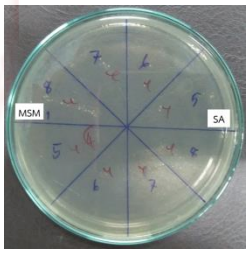

MFM
SA

(d)

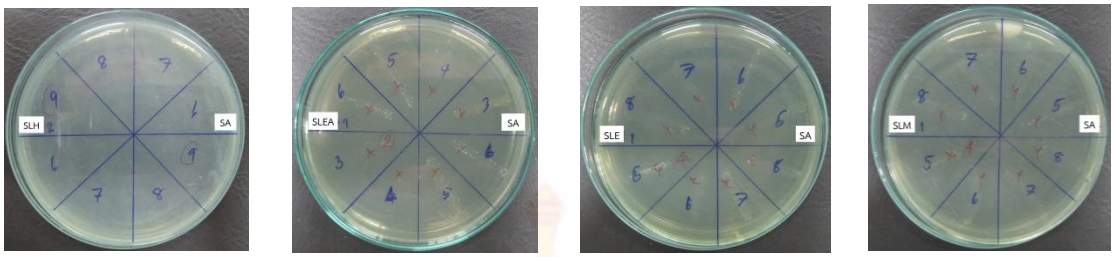

MSH
SA


MSEA
SA

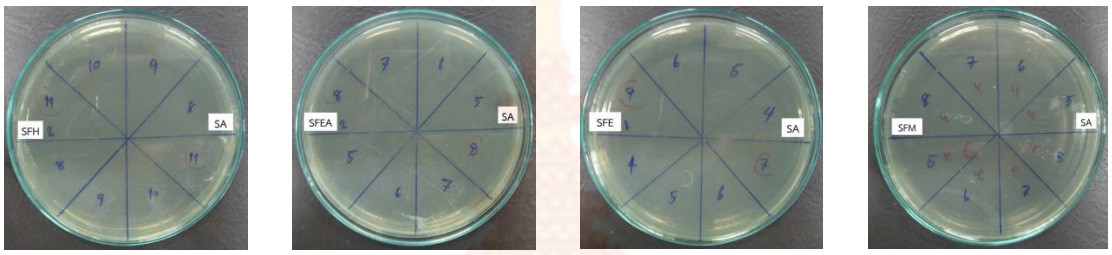

MSE
SA


MSM
SA

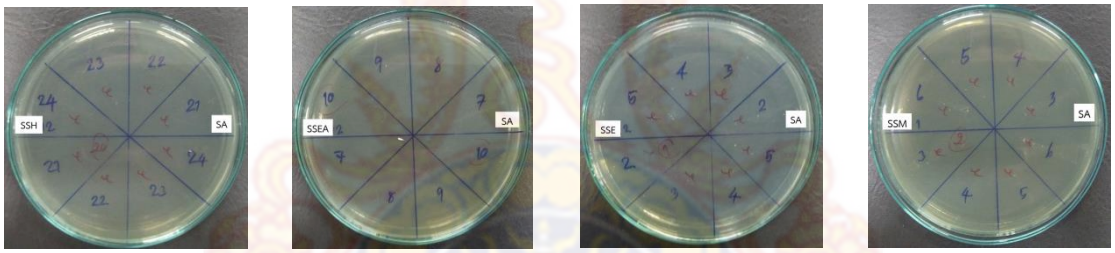
(e)



(f)



(g)



(h)

ภาพผนวกที่ ง4 การทดสอบ Minimal bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *S. agalactiae* ของสารควบคุมและสารสกัด (a) DMSO (b) Oxytetracycline (c) ใบเสม็ดขาว (d) ดอกเสม็ดขาว (e) ผลเสม็ดขาว (f) ใบเสม็ดแดง (g) ดอกเสม็ดแดง (h) ผลเสม็ดแดง