

คัดเลือกสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของสมุนไพร จำนวน 31 ชนิด ที่ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. 10 สายพันธุ์ โดยวิธี well assay พบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ สมอไทย ผ่างเสน ใบพลู ลูกใต้ใบ และเจตมูลเพลิง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้มากกว่า 5 สายพันธุ์ หากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่คัดเลือกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ยับยั้ง *V. harveyi* 02 พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสมอไทย ลูกใต้ใบ เจตมูลเพลิง ผ่างเสน และใบพลู มีค่าเท่ากับ 2.5, 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) ตามลำดับ และหากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยและผ่างเสนที่ยับยั้ง *V. harveyi* 02 (10^4 cfu/ml) โดยวิธี broth dilution ในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดทั้งสองชนิด มีค่าเท่ากับ 0.625 และ 1.250 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) สำหรับอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และ 0.010, 0.039 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) สำหรับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นของ *V. harveyi* 02 เพิ่มขึ้นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเพิ่มขึ้นด้วย ยิ่งกว่านั้นยังศึกษาผลของตัวทำละลายต่างชนิด (เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำ) ต่อฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัด พบว่าการสกัดสมอไทยด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อทดสอบ หลังจากนั้นแยกลำดับส่วนสารสกัดสมอไทยด้วยโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ และวิเคราะห์สารยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถภาพสูงคือ กรดแทนนิก (tannic acid) นอกจากนี้ยังศึกษาการสกัดสมอไทยและผ่างเสนภายใต้สภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิและเวลาในการสกัด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท เมทานอล เอทานอล และน้ำ นอกจากนี้ยังศึกษาผลของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด ต่อการต้านทาน *V. harveyi* 02 ในกุ้งกุลาดำโดยการให้อาหารที่มีสารสกัดสมุนไพร 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนทำให้ติดเชื้อด้วย *V. harveyi* 02 ที่ 5×10^6 cfu/ml เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรมีการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีการรอดชีวิตเพียง 20 เปอร์เซ็นต์

Crude ethanol extracts of 31 herbs were screened for growth inhibition of 10 strains of *Vibrio* spp. by the well assay method. Of these plants tested, crude ethanol extracts of five, namely *Terminalia chebula* Retz., *Caesalpinia sappan* Linn., *Phyllanthus amarus*, *Piper betle* L., *Plumbago indica* Linn. exhibited antimicrobial activity against more than 5 tested microorganism. Minimum inhibition concentrations (MICs) of the selected crude herbal extracts with various concentrations against *Vibrio harveyi* 02 were determined. MICs of *T. chebula*, *P. amarus*, *P. indica*, *C. sappan* and *P. betle* were 2.5, 2.5, 5.0, 10 and 20 % (ml/ml), respectively. MICs of *T. chebula* and *C. sappan* against *V. harveyi* 02 (10^4 cfu/ml) were also examined by the broth dilution method using NB+1.5 % NaCl and 1.5 % NaCl solution. The results showed that MICs of these two extracts were 0.625, 1.250 % (ml/ml) for NB+1.5 % NaCl and 0.010, 0.039 % (ml/ml) for 1.5 % NaCl, respectively. It was found that MICs also increased when concentration of *V. harveyi* 02 increased. In addition, the effect of different solvents (hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol and water) on antimicrobial activity of the extracts was carried out. Methanol extract of *T. chebula* was found to be the most effective against test strains. Subsequently, the extract was fractionated by column chromatography and antimicrobial compound was analysed by high performance liquid chromatography as tannic acid. Furthermore, the extraction of *T. chebula* and *C. sappan* were investigated under various conditions, including temperatures and extraction times. It was found that the optimum conditions were 60°C for 48 hours for ethyl acetate, methanol, ethanol and water. Moreover, the effect of crude ethanol extracts of these two herbs on *V. harveyi* 02 resistance in black tiger shrimp was examined by feeding with 16.67 % and 33.33 % (ml/g) for 4 weeks before a challenge with *V. harveyi* 02 at 5×10^6 cfu/ml for 1 h infection. The results showed that the shrimps receiving herbal extracts had 80 % survival whereas the control showed only 20 % survival.