



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ปริญญา

เทคโนโลยีชีวภาพ
สาขา

เทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา

เรื่อง ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อไวรัส
ในกุ้งกุลาดำ

Efficacy of Crude Herbal Extracts on Growth Inhibition of *Vibrio* spp. in
Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius)

นามผู้วิจัย นางสาวสมลรัตน์ กระพีแดง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

ไพฑูริย์ วัฒนธนา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D.)

กรรมการ

ดร. ชัย

(อาจารย์สุธาวดี จิตประเสริฐ, Ph.D.)

กรรมการ

ดร. หิมา

(อาจารย์ขรรษา มหากาญจนกุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

อ. หิมา วัฒนธนา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิรัตน์ วาณิชศรีรัตน, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

ดร. อารมณ์

(รองศาสตราจารย์วินัย อากงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ๑๔ เดือน กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๔๙

สมรัตน์ กระพี้แดง 2549: ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตของ
เชื้อไวรัสโวกซ์ในกุ้งกุลาดำ ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D. 123 หน้า
ISBN 974-16-2598-7

คัดเลือกสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของสมุนไพร จำนวน 31 ชนิด ที่ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp.
10 สายพันธุ์ โดยวิธี well assay พบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ สมอไทย ผางแสน ใบพลู ลูกใต้ใบ
และเจตมูลเพลิง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้มากกว่า 5 สายพันธุ์ หากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัด
หยาบสมุนไพรที่คัดเลือกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ยับยั้ง *V. harveyi* 02 พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสมอไทย ลูก
ใต้ใบ เจตมูลเพลิง ผางแสน และใบพลู มีค่าเท่ากับ 2.5, 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม)
ตามลำดับ และหากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยและผางแสนที่ยับยั้ง *V. harveyi* 02 (10^4 cfu/ml) โดย
วิธี 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 เมื่อความ
เข้มข้นของ *V. harveyi* 02 เพิ่มขึ้นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเพิ่มขึ้นด้วย ยิ่งกว่านั้นยังศึกษาผลของตัวทำ
ละลายต่างชนิด (เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำ) ต่อฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัด
พบว่าการสกัดสมอไทยด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อทดสอบ หลังจากนั้นแยกลำดับ
ส่วนสารสกัดสมอไทยด้วยโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ และวิเคราะห์สารยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยโครมาโทกราฟี
ชนิดของเหลวสมรรถภาพสูงคือ กรดแทนนิก (tannic acid) นอกจากนี้ยังศึกษาการสกัดสมอไทยและผางแสน
ภายใต้สภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิและเวลาในการสกัด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ อุณหภูมิ 60
องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท เมทานอล เอทานอล และน้ำ นอกจากนี้ยังศึกษา
ผลของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด ต่อการต้านทาน *V. harveyi* 02 ในกุ้งกุลาดำโดย
การให้อาหารที่มีสารสกัดสมุนไพร 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนทำ
ให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02 ที่ 5×10^6 cfu/ml เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับสารสกัด
สมุนไพรมีการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีการรอดชีวิตเพียง 20 เปอร์เซ็นต์

Sumolrut Krapeedang 2006: Efficacy of Crude Herbal Extracts on Growth Inhibition of *Vibrio* spp. in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Master of Science (Biotechnology), Major Field: Biotechnology, Department of Biotechnology. Thesis Advisor: Assistant Professor Penkhae Wanchaitanawong, Ph.D. 123 pages. ISBN 974-16-2598-7

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.

Sumolrut Krapeedang
Student's signature

Penkhae Wanchaitanawong 13 / 07 / 06
Thesis Advisor's signature