

บทที่ 4 สรุปและข้อเสนอแนะ

ในการทดลองในปีที่ 2 นี้ ผู้ทำการวิจัยได้ศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรเพิ่มเติมจากการทดลองในปีแรก 20 ชนิด รวมเป็น 40 ชนิด ซึ่งจากการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรเบื้องต้นจำนวน 40 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำ และ 75% เอทานอล (80 ตัวอย่าง) ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์จากแผลของปลาอุกติดเชื้อ 2 ชนิด คือ *Aeromonas caviae* และ *A. sobria* ด้วยวิธี agar well diffusion assay พบว่า สารสกัดจำนวน 35 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. caviae* โดยจัดเป็นสารที่สกัดด้วยน้ำจำนวน 18 ชนิด คือ ทับทิม หนุมารนั่งแท่น ชมพู่ ฝรั่ง มะค่าไก่ น้ำมันราชสีห์ น้ำมันราชสีห์เล็ก มะเหมี่ยว ยูคาลิปตัส ฟ้าทลายโจร หูปลาช่อน ลูกใต้ใบ ไผ่ขจร มะขม บัวบก สาบเสือ รางจืด และมะขามป้อม และสารที่สกัดด้วย 75% เอทานอลจำนวน 17 ชนิด คือ ทับทิม หนุมารนั่งแท่น ชมพู่ ฝรั่ง มะค่าไก่ น้ำมันราชสีห์ น้ำมันราชสีห์เล็ก มะเหมี่ยว สาบเสือ รางจืด ผักหวานบ้าน ผักกะสัง ถุน เอื้องหมายนา มะขามป้อม ว่านธรณีศาล และมังคุด นอกจากนี้พบว่า สารสกัดจำนวน 23 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. sobria* โดยเป็นสารสกัดด้วยน้ำจำนวน 13 ชนิด คือ ทับทิม ชมพู่ ฝรั่ง มะค่าไก่ น้ำมันราชสีห์ มะเหมี่ยว ยูคาลิปตัส หูปลาช่อน ลูกใต้ใบ ไผ่ขจร มะขม น้ำมันราชสีห์เล็ก และมะขามป้อม และสารที่สกัดด้วย 75% เอทานอล 10 ชนิด คือ ทับทิม หนุมารนั่งแท่น ชมพู่ ฝรั่ง มะค่าไก่ น้ำมันราชสีห์ น้ำมันราชสีห์เล็ก มะเหมี่ยว ยูคาลิปตัส และบอระเพ็ด อีกทั้งจากผลการทดลองยังพบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. caviae* และ *A. sobria* สูงที่สุด 3 ชนิด คือ สารสกัดด้วยน้ำจากทับทิม ชมพู่ และมะค่าไก่ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. caviae* และ *A. sobria* สูงกว่าสารสกัด 3 ชนิด คือ สารสกัดด้วยน้ำจากฝรั่ง น้ำมันราชสีห์ และ ลูกใต้ใบ ที่ได้จากการทดลองในปีแรก

เมื่อทำการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่แยกได้จากแผลปลาติดเชื้อ โดยทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดต่อเชื้อแบคทีเรียอีก 10 ชนิด คือ *A. hydrophila*, *Streptococcus agalacatiae* KKU 01002, *S. agalacatiae* KKU 04003, *S. agalacatiae* KKU 04024, *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05056, *S. agalacatiae* KKU 05057, *S. agalacatiae* KKU 06036, และ *S. agalacatiae* KKU 06059 ด้วยวิธี agar well diffusion assay พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากทับทิมสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อีก 5 ชนิด คือ *S. agalacatiae* KKU 01002, *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05056, และ *S. agalacatiae* KKU 06059 สารสกัดน้ำจากชมพู่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 7 ชนิด คือ *A. caviae*, *A. sobria*, , *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05056, *S. agalacatiae* KKU 06036, และ *S. agalacatiae* KKU 06059 และสารสกัดน้ำจากมะค่าไก่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 7 ชนิด คือ *A. caviae*, *A. sobria*, *S. agalacatiae* KKU 01002, *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05056, และ *S. agalacatiae* KKU 06059

จากการศึกษาค่า MIC และ MBC ของสารสกัด ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาทั้ง 12 ชนิด พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากเปลือกหับทิมมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย 6 ชนิดได้ดีที่สุดโดยพิจารณาจากค่า MBC ที่มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด โดยแบคทีเรียดังกล่าวคือ *A. caviae*, *A. sobria*, *S. agalacatiae* KKU 01002, *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05055 และ *S. agalacatiae* KKU 06059 ซึ่งมีค่า MBC เท่ากับ 6.25, 12.5, 6.25, 12.5, 12.5 และ 6.25 mg/ml ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันสารสกัดด้วยน้ำจากชมพูมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย 4 ชนิดได้ดีที่สุดโดยพิจารณาจากค่า MBC ที่มีค่าต่ำสุดต่อแบคทีเรีย *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05056 และ *S. agalacatiae* KKU 06036 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 12.5 mg/ml ต่อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด สำหรับการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*, *S. agalacatiae* KKU 04003, *S. agalacatiae* KKU 04024, และ *S. agalacatiae* KKU 05057 พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้

เมื่อศึกษาผลของยาปฏิชีวนะ 2 ชนิดคือ ออกซิเตตราซัยคลินและคลอแรมฟินิคอล ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 12 ชนิด พบว่ายาปฏิชีวนะออกซิเตตราซัยคลินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6 ชนิดคือ *A. caviae*, *A. hydrophila*, *S. agalacatiae* KKU 04003, *S. agalacatiae* KKU 05053, *S. agalacatiae* KKU 05056, และ *S. agalacatiae* KKU 06036 และคาดว่าเชื้อแบคทีเรียอีก 6 ชนิดคือ *A. sobria*, *S. agalacatiae* KKU 01002, *S. agalacatiae* KKU 04024, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05057, และ *S. agalacatiae* KKU 06059 คือตัวยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน สำหรับการศึกษาผลของยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล พบว่ายาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 5 คือ *A. caviae*, *A. sobria*, *A. hydrophila*, *S. agalacatiae* KKU 04024, และ *S. agalacatiae* KKU 05053 และเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าคือตัวยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอลคือ *S. agalacatiae* KKU 01002, *S. agalacatiae* KKU 04003, *S. agalacatiae* KKU 05055, *S. agalacatiae* KKU 05056, *S. agalacatiae* KKU 05057, *S. agalacatiae* KKU 06036, และ *S. agalacatiae* KKU 06059

เมื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดด้วยน้ำจากหับทิม ชมพู และมะค่าไค้ ทั้งแบบ *in vitro* (เซลล์ NIH 3T3) และ *in vivo* (โรน้าเค็ม) จากการศึกษาคือความเป็นพิษต่อเซลล์ NIH 3T3 พบว่าสารสกัดหับทิมมีค่า Lethal concentration (LC_{50}) คือ 7.17 mg/ml สูงกว่าค่าความเข้มข้น MBC (6.25 mg/ml) ของเชื้อแบคทีเรีย *A. caviae*, *S. agalacatiae* KKU 01002 และ *S. agalacatiae* KKU 06059 ดังนั้นคาดว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากหับทิมที่ค่า MBC จะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ ในขณะที่สารสกัดจากชมพูและมะค่าไค้ มีค่า LC_{50} ต่ำมากคือ 2.95 และ 2.45 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งค่าดังกล่าวมีค่าความเข้มข้นต่างจากค่า MBC ของสารสกัดต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 12 ชนิด แสดงว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ NIH 3T3 สูง สำหรับการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อ nauphii ของโรน้าเค็ม (*in vivo*) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากหับทิม ชมพู และมะค่าไค้ มีค่า LC_{50} เป็น 17.45, 18.29 และ 11.14 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งค่าความเข้มข้นดังกล่าวมีค่าสูงกว่าค่า LC_{50} ของสารสกัดต่อเซลล์ NIH 3T3 ซึ่งเป็นไปตามที่คาดไว้ เนื่องจากการศึกษาที่ทำในระดับเซลล์ย่อมมีความไวต่อสารสกัดมากกว่าการศึกษาที่ทำในระดับสิ่งมีชีวิต ทั้งนี้พบว่าค่า LC_{50} ของสารสกัดหับทิมและชมพู

ต่อไรน้ำเค็มมีค่าสูงกว่าค่า MBC ของสารทั้งสองต่อเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นสารสกัดจากพืชทั้งสองจึงน่าจะนำไปใช้ในการศึกษาการควบคุมเชื้อแบคทีเรียในปลา

เมื่อทำการวิเคราะห์เบื้องต้นถึงกลุ่มของสารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด พบว่าเป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในสารสกัดทับทิม เป็นสารเคมีในกลุ่ม sterol glycoside, proanthocyanidins, และ phenolic compounds ส่วนกลุ่มของสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในสารสกัดชมพูและมะค่าไก่อ เป็นสารเคมีในกลุ่ม sterol glycoside และ proanthocyanidins เนื่องจากในการศึกษานี้ยังไม่ได้แยกสารออกฤทธิ์แบบบริสุทธิ์ ซึ่งต้องทำการวิจัยต่อไปเพื่อให้ทราบสารออกฤทธิ์ที่แท้จริง

ข้อเสนอแนะและการศึกษาในปีต่อไป

สำหรับแนวทางการศึกษาในอนาคตมีดังนี้

- 1) แยกบริสุทธิ์สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัด และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. caviae* และ *A. sobria*
- 2) ศึกษาผลความเป็นพิษของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อลูกปลา (*in vivo study*)
- 3) เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในลูกปลาได้
- 4) เปรียบเทียบผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในลูกปลาของสารสกัดพืชสมุนไพรและยาปฏิชีวนะ