

Proc. 11
11/11/11
4.471(11)
พริษฐ์ (12)
ริฟ

การประยุกต์ใช้สารสกัดพืชสมุนไพรในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย

Application of Medicinal Plant Crude Extracts on Mosquitoes' Larvae Control

(*Aedes aegypti* L.)

ภัทรวดี แก้วกฤษณ์¹ นุชจรี รอดคุ้ม วันเพ็ญ ตรงต่อกิจ เซาวลิต พึ่งแดง ไร่ไพ โกฏสืบ และพิสิษฐ์ พูลประเสริฐ¹

Pattaravadee Gawgunchorn, Noodjaree Rodkhum, Wanphen Trongtorkit, Chawalit Puentang,

Rampai Kodsueb and Pisit Poolprasert¹

บทคัดย่อ

สารสกัดสมุนไพรจากใบเสลดพังพอน ย่านาง รางจืด และ ที่สกัดด้วย Soxhlet ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ถูกนำมาใช้ทดสอบอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย ระยะที่ 3 - 4 โดยวิธี Drops of solution ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (1.5, 0.75, 0.375, 0.1875 และ 0.09375 เปอร์เซ็นต์ (w/v)) พบว่าสารสกัดสมุนไพรจากใบย่านาง รางจืด และเสลดพังพอน มีค่า LC_{50} (%) (w/v) ต่อลูกน้ำยุงลายที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0.363 ($Y = 9.903 + 69.015X$), 0.265 ($Y = 15.045 + 72.161X$) และ 0.273 ($Y = 13.616 + 72.817X$) เปอร์เซ็นต์ (w/v) ตามลำดับ พบว่าอัตราการตายของสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าลูกน้ำยุงลายโดยมีผลทำให้ลูกน้ำยุงลายตาย 100 เปอร์เซ็นต์หลังการทดลองที่ 24 จากผลการทดลองในครั้งนี้ สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงลายได้

คำสำคัญ : ใบเสลดพังพอน ใบย่านาง ใบรางจืด ลูกน้ำยุงลาย

Abstract

The medical plant crude extracts from leaves of *Clinacanthus nutans*, *Tiliacora triandra* and *Thumbergia laurifolia* were extracted by Soxhlet's extraction using ethanol 95% as a solvent system. The extracts were trailed with the 3rd-4th mosquitoes' larvae (*Aedes aegypti* L.) by drops of solution against extract concentrations (1.5%, 0.75%, 0.375%, 0.1875% and 0.09375 % (w/v)). The mosquitoes' larvae exhibited LC_{50} (24 hr) ca. 0.363% w/v ($Y = 9.903 + 69.015X$) for the *Clinacanthus nutans* extract, 0.265% w/v ($Y = 15.045 + 72.161X$) for the *Tiliacora triandra* and 0.273% w/v ($Y = 13.616 + 72.817X$) for the *Thumbergia laurifolia*, respectively. Based on the mortality rate, the concentration at 1.5 % w/v of all extracts had a high effectiveness in controlling the mosquitoes' larvae with 100% after 24 hours exposure. In this study, all herbal extracts are likely to be applied for controlling the larval mosquitoes.

Keywords: *Clinacanthus nutans* *Tiliacora triandra* *Thumbergia laurifolia* mosquitoes' larvae

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Corresponding author: E-mail : g4761008@hotmail.com

บทนำ

ยุงเป็นแมลงที่ก่อให้เกิดปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุข ก่อให้เกิดปัญหาและสร้างความรำคาญทั้งในคนและสัตว์ในหลายพื้นที่ทั่วโลกโดยอาจก่อให้เกิดโรคมalariaเรื้อรัง ไข้เลือดออก ไข้ฉุนๆ ไข้สมองอักเสบหรือโรคไข้เหลืองได้ (Bagavan and Rahuman, 2011) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่นำโดยยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* L.) ที่มีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคไข้เหลือง (yellow fever) และโรคไข้เลือดออก (dengue fever and dengue hemorrhagic fever) (Chareonviriyaphap *et al.*, 1999, Omena *et al.*, 2007; อุษาวดี, 2532, 2544) ยุงลายบ้านเป็นแมลงพาหะนำโรคไข้เลือดออกที่เกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี (Dengue virus) โรคดังกล่าวเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากปัจจุบันอัตราการเสียชีวิตด้วยโรคไข้เลือดออกของคนไทยมีจำนวนเพิ่มขึ้น ซึ่งโรคนี้ถือเป็นโรคอุบัติซ้ำ และยังไม่มีวัคซีนป้องกันโรคดังกล่าว ดังนั้นแนวทางป้องกันการระบาดของโรคคือการควบคุมพาหะนำโรค ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่นการทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง การป้องกันยุงโดยการใช้อุ้ง ทายากันยุง การใช้สารฆ่าแมลงแบบพ่นหมอกหรือควัน หรือใช้สารฆ่าแมลง เคมีฟอส (ทรายอะเบท[®]) ฆ่าลูกน้ำยุงลายเป็นต้น (กรมควบคุมโรค, 2552) ปัจจุบันการใช้สารฆ่าแมลงในการควบคุมลูกน้ำยุงลายเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม แต่สารออกฤทธิ์ (Active ingredient) ของสารเคมีดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งยังพบรายงานการต้านทานของลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีดังกล่าวอีกด้วย (Braga *et al.*, 2004) จึงจำเป็นต้องศึกษาวิจัยและพัฒนาหาแนวทางอื่นๆ เพื่อใช้เป็นตัวเลือกในการควบคุมยุงลายมากขึ้น นอกจากจะช่วยลดปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังช่วยลดการนำเข้าและลดอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม การเลือกใช้พืชสมุนไพรในการควบคุมยุงลายพาหะนำโรคไข้เลือดออก จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งเป็นสิ่งที่มีอยู่ในท้องถิ่น หาได้ง่าย สะดวกและไม่มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยุงพาหะนำโรคยังไม่มีความรู้ความเข้าใจด้านทานทำให้ลดปัญหาการติดต่อสารเคมี ลดภาวะเสี่ยงที่เกิดจากการใช้สารเคมีของผู้สัมผัสสารเคมี รวมทั้งลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศได้อีกด้วย

การศึกษาในครั้งนี้จึงเลือกพืชสมุนไพรมา 3 ชนิดได้แก่ ย่านาง รางจืด และเสลดพังพอน เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชดังกล่าวที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลาย ทั้งนี้สามารถนำสารสกัดที่ได้จากการเปรียบเทียบและมีฤทธิ์สูงสุดในการควบคุมลูกน้ำยุงลายนำไปศึกษาประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

สัตว์ที่ใช้ในการทดลองสำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัด ได้แก่ ลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti* L.) โดยนำลูกน้ำยุงลายที่อาศัยอยู่ในน้ำขังหรือตามบริเวณบ้าน จากนั้นทำการสังเกตการเคลื่อนที่ของลูกน้ำที่พบ เนื่องจากลูกน้ำยุงลายจะมีการเคลื่อนที่แบบตัว S เสมอเพื่อป้องกันความผิดพลาดจะต้องทำการสังเกตลักษณะต่างๆของลูกน้ำที่พบให้ถูกต้อง โดยระยะที่ใช้ในการทดลอง ลูกน้ำยุงลายจะต้องอยู่ในช่วงวัย 3-4 ซึ่งจะเหมาะสำหรับการทดสอบมากที่สุดที่จะนำไปใช้ทดลองได้ โดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง อย่างละ 10 ตัว ในแต่ละระดับความเข้มข้น 3 ซ้ำ

การเตรียมพืชตัวอย่าง

พืชที่ใช้ในการทดลองสำหรับเป็นวัตถุดิบในสัปดาห์ ได้แก่ เสดคพังพอนตัวเมีย (*Clinacanthus nutans* (Burm.f) Lindau.) ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels) และรางจืด (*Thumbergia laurifolia* Lindl.) นำ ใบสดพังพอน ใบย่านางและใบรางจืดที่สด ไปตากให้แห้ง โดยทำให้แห้งสนิทด้วยการตากแห้งประมาณ 4-5 วัน จนใบพืชแห้งสนิท จากนั้นจึงนำมาบดให้ละเอียด และนำผงสมุนไพรละเอียดมาชั่งเพื่อสกัดสารในวิธีแบบ Soxhlet ต่อไป

การสกัดสารจากพืชตัวอย่าง

นำพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ มาสกัดสารโดยใช้วิธี Soxhlet ด้วยตัวทำละลายเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ นำส่วนของพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ ที่บดละเอียด ไปสกัดในตัวทำละลายเอธานอล โดยวิธี Soxhlet ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองและระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum evaporator) นำสารที่ได้ไปใส่ในจานขนาดเล็ก ก่อนนำไประเหยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) อีกครั้ง เพื่อแยกตัวทำละลายที่อาจหลงเหลืออยู่ออกให้หมด

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด

นำสารที่สกัดจากพืชสมุนไพรมาเจือจางความเข้มข้นเป็นลำดับ (Serial dilution) โดยแต่ละสารสกัดให้มีความเข้มข้นเป็น 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875 และ 0.09375 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร; w/v) ทำการทดสอบประสิทธิภาพต่อลูกน้ำยุงลาย โดยวิธี Drops bioassay วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จากนั้นทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย LC_{50} ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายที่มีผลทำให้ลูกน้ำตายร้อยละ 50 ภายหลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง โดยใช้โปรแกรม Probit-analysis ข้อมูลที่ได้นำมาคำนวณหาสมการเชิงเส้นตรง เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (X) และอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย (Y) อีกทั้งทำการทดสอบความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA: F-test) ของอัตราการตายที่เกิดด้วยโปรแกรมทางสถิติ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลายโดยวิธีการ drop solution ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ควบคุม), 0.09375, 0.1875, 0.375, 0.75 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และตรวจผลหลังจากทดสอบแล้วที่ 24 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายเมื่อทดสอบกับสารสกัดจากใบย่านาง เท่ากับ 0, 0, 3.33, 86.66, 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายเมื่อทดสอบกับสารสกัดจากใบรางจืด เท่ากับ 0, 0, 13.33, 86.66, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายเมื่อทดสอบกับสารสกัดจากใบเสลดพังพอน เท่ากับ 0, 3.33, 6.66, 83.33, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1, ตารางที่ 1) สำหรับค่า LC_{50} (เปอร์เซ็นต์ (w/v)) ของสารสกัดที่ได้จากใบย่านาง รางจืดและ เสดคพังพอนนั้น มีค่าเท่ากับ 0.363, 0.265 และ 0.273 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) การทดลองยังพบอีกว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) สำหรับสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 3 ชนิด นั้น สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลายที่จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปสู่ระยะถัดไปได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เมื่อทดสอบความแปรปรวนของความเข้มข้น

ของสารสกัดที่ได้ทั้ง 3 ชนิด พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบเสลดพังพอน ย่านาง และรางจืด มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงลาย และมีแนวโน้มที่จะนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงลายได้ ซึ่งสามารถที่จะพัฒนาสารสกัดจากพืชสมุนไพรเหล่านี้ไปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ป้องกันกำจัดแมลงที่สำคัญทาง การแพทย์หรือทางการเกษตรได้ต่อไปในอนาคต

สรุปผลการทดลอง

การควบคุมลูกน้ำยุงลายด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพรจากใบย่านาง รางจืดและเสลดพังพอนที่ความเข้มข้น 0, 0.09375, 0.1875, 0.375, 0.75 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นั้นมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายโดยมีผลทำให้ลูกน้ำยุงลายตายถึง 100 เปอร์เซ็นต์หลังการทดลองที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อทดสอบความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียวของอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันในแต่ละพืชสมุนไพรนั้น พบว่า อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.) สำหรับตัวอย่างลูกน้ำยุงลาย สำหรับการทดสอบของงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมโรคติดต่อ. (2552). รายงานประจำปี 2552 กรมควบคุมโรค. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.
- อุษาวดี ดาวระ. 2532. การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของยุงลายในประเทศไทย ใน: การทบทวนเทคโนโลยีและรูปแบบการควบคุมยุงลายพาหะนำโรคให้เล็ดออกในประเทศไทย พ.ศ. 2501-2532. นนทบุรี: กองกึ่งวิทยาศาสตร์ทางแพทย์, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หน้า 5-16.
- อุษาวดี ดาวระ. 2544. ยุงลายพาหะ ใน: ชีววิทยาและการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาสาธารณสุข. นนทบุรี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. หน้า 1-24.
- Bagavan, A., & Rahuman, A.A. (2011). Evaluation of larvicidal activity of medicinal plant extracts against three mosquito vectors. *Asian Pacific Journal of Tropical Medical*, 29-34.
- Braga, I.A., J.B.P. Lima, S.S. Soares & D. Valle, (2004). *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe and Alagoas, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 99, 199-203.
- Chareonviriyaphap T, Aum-aung B., & Ratanatham, S. (1999). Current insecticide resistance patterns in mosquito vectors in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medical Public Health*, 30, 131-141.

Omena, M.C., Navarro, D.M.A.F., Paula, J.E., Luna, J.S., Ferreira, M.R., & Ana, A.E.G. (2007). Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *Bioresource Technology*, 98, 2549-2556.

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการตายของลูกน้ำยุงลาย

พืชสมุนไพร	การตาย (%) ที่ความเข้มข้น (%(w/v))						LC ₅₀ (%(w/v))	สมการรีเกรสชัน ^{1/}	r ^{2/}	R ^{23/}
	0	0.09375	0.1875	0.375	0.75	1.5				
ย่านาง	0	0	3.33	86.66	70	100	0.363	Y= 9.903 + 69.015X	0.824	0.679
รางจืด	0	0	13.33	86.66	100	100	0.265	Y= 15.045 + 72.161X	0.808	0.652
เสลดพังพอน	0	3.33	6.66	83.33	100	100	0.273	Y= 13.616 + 72.817X	0.816	0.666

^{1/}สมการรีเกรสชันเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย (Y) ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร (X) ที่ 24 ชั่วโมง

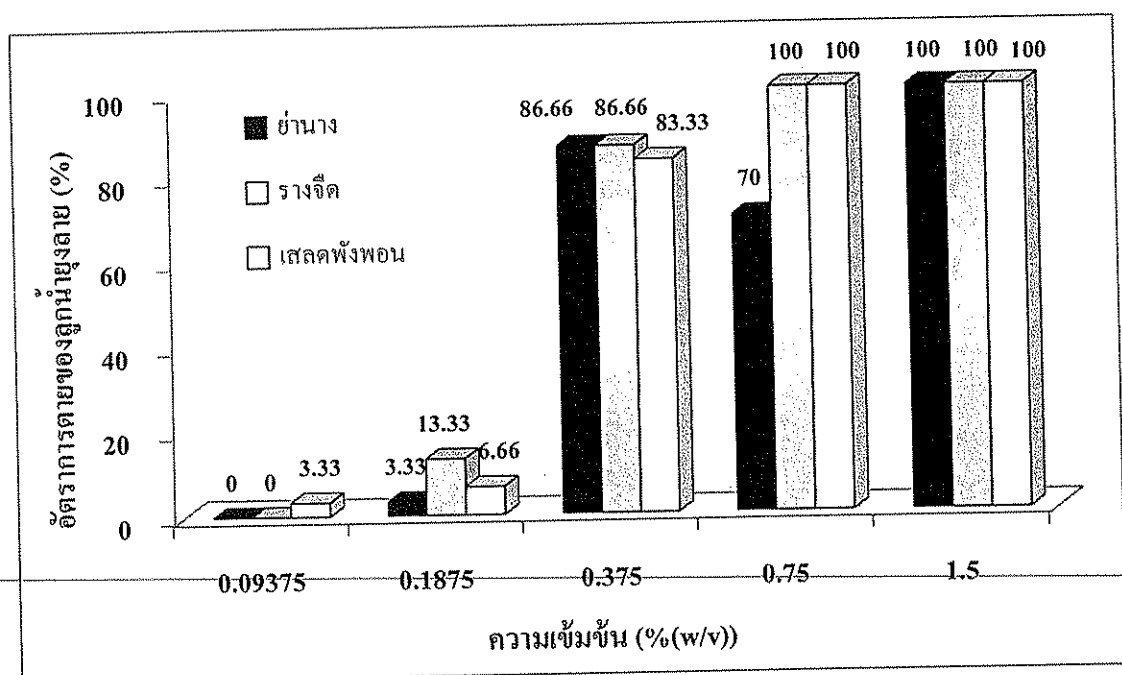
^{2/}r คือ สหสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายกับระดับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร

^{3/}R² สัมประสิทธิ์ตัวกำหนดของสมการรีเกรสชัน

ตารางที่ 2 ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (F-test) ของอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย หลังจากการทดสอบที่ 24 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

S.O.V	SS	df	MS	F
Treatment	380.667	5	76.133	274.08*
Error	3.333	12	0.278	
Total	384.000	17		

* Significant different ($P < 0.05$)



ภาพที่ 1 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย (%) เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรในแต่ละระดับความเข้มข้น (% (w/v))