

ผลของสารสกัดจากกระท่อมนา กรวยป่า และฝรั่ง ต่อการยับยั้ง  
เชื้อรา *Colletotrichum capsici*

Effect of *Mitragyna diversifolia* (Wall. ex. G. Don), *Casearia  
grewiifolia* Vent. and *Psidium guajava* Linn. Extracts on Fungal  
Growth Inhibition of *Colletotrichum capsici*

ประณีต พิมชาติ<sup>1</sup> พิษชานันท์ ปันใจเย็น<sup>1</sup> ศาสตรา ลาดปะละ<sup>1\*</sup> และสุชี สุขดี<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง

ตำบลชมพู อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง 52100

<sup>2</sup>สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง

ตำบลชมพู อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง 52100

### บทคัดย่อ

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกระท่อมนา กรวยป่า และฝรั่งต่อเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของพริก ได้รับการทดสอบด้วยวิธี เจือสารทดสอบในอาหารวุ้น ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต ของพืชทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. capsici* ได้ โดยสารสกัดหยาบเฮกเซนของกระท่อมนา กรวยป่า และฝรั่ง มีเปอร์เซ็นต์ การยับยั้งเท่ากับ 74.92, 68.70 และ 82.12 ตามลำดับ และสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต ของพืชทั้งสามชนิดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 77.38, 79.44 และ 69.11 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบเมทานอลของพืชไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา

คำสำคัญ : กระท่อมนา กรวยป่า ฝรั่ง แอนแทรกโนส *C. capsici*

## Abstract

Bioactivity of crude extraction of *Mitragyna diversifolia* (Wall. ex. G. Don), *Casearia grewiifolia* Vent. And *Psidium guajava* Linn. Against *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, were investigated for their antifungal activity by using poisoned food technique. The results showed that crude hexane and ethyl acetate extracts of all three plants, when applied at a concentration of 20,000 ppm, had the inhibitory effect on the growth of *C. capsici* mycelium. The hexane extracts of *M. diversifolia* (Wall. ex. G. Don), *C. grewiifolia* Vent. and *P. guajava* Linn. had an inhibitory effect with 74.92% 68.70% and 82.12%, respectively while the ethyl acetate extracts of these plants had a fungal growth inhibition with 77.38%, 79.44% and 69.11%, respectively. The crude methanol extracts of all tested plants had no antifungal activity.

**Keywords :** *Mitragyna diversifolia* (Wall. ex. G. Don), *Casearia grewiifolia* Vent., *Psidium guajava* Linn, Anthracnose, *Colletotrichum capsici*

## บทนำ

พริก เป็นพืชในตระกูล Solanaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum frutescens* L. (Paul et al., 1951) เป็นพืชเศรษฐกิจของไทยอีกชนิดที่สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร (กมล 2550) แต่ในการปลูกพริกก็พบปัญหาด้านโรคต่าง ๆ ของพืช เช่นโรคแอนแทรคโนสหรือโรครักงักแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ซึ่งทำลายทุกส่วนของต้นพริก การกำจัดโรคโดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมี (จิรเดช 2546) แต่เนื่องจากการใช้สารเคมีทำให้เกิดผลกระทบต่ออันตรายตามมาแก่เกษตรกร ผู้บริโภค และทำลายธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม นอกจากนั้นแล้วยังทำให้เกษตรกรต้องเพิ่มต้นทุนในการแก้ไขปัญหาของโรคพืชที่เกิดขึ้นคณะผู้วิจัยจึงคิดหาแนวทางในการแก้ปัญหาโรคพืชที่เกิดขึ้น จึงนำสารสกัดจากต้นพืชที่สามารถต้านทานเชื้อรา *C. capsici* ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคแอนแทรคโนสหรือโรครักงักแห้ง การใช้สารสกัดจากพืชจะไม่เป็นอันตรายต่อเกษตรกร ผู้บริโภค ไม่ส่งผลกระทบต่อธรรมชาติ สิ่งแวดล้อมและยังช่วยลดต้นทุนการผลิตให้กับเกษตรกรได้

พืชที่เลือกนำมาศึกษาในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านทานเชื้อรา *C. capsici* ผู้วิจัยได้เลือกพืชสามชนิด ได้แก่ กระท่อมนา กรวยป่า และฝรั่ง จากการสืบค้นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ได้มีการศึกษาวิจัยไปแล้วนั้น พบว่าพืชที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา และแบคทีเรียได้ดีนั้นจะมีองค์ประกอบของสารสำคัญ คือ กลุ่มสารประกอบเทอร์ปีน โพลีฟีนอลและอัลคาลอยด์ และจากข้อมูลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระท่อมนา *Mitragyna diversifolia* (Wall. ex G. Don) พบสารกลุ่มเทอร์ปีนอัลคาลอยด์ และโพลีฟีนอล เช่น Mitragynine, 7-hydroxymitragynine, arjunolic acid, 3 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid, 3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid, 3-oxo-6 $\beta$ -19 $\alpha$ -dihydroxy-urs-12-en-28-oic acid, 3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-24, 28-dioic acid 24-methyl ester, 3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 19 $\alpha$ , 24-tetrahydroxy-urs-12-en-28-oic acid, rotundic acid, 23-nor-24-exomethylene- 3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid และ pololic acid เป็นต้น (Xing-fen et al., 2014) และมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของกระท่อมนาพบมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* (Gong et al., 2012) การศึกษาพืชกรวยป่าพบสารกลุ่มโพลีฟีนอลและเทอร์ปีน เช่น butanolide, caseargrewiins E-M และ esculentin B เป็นต้น (Somdej et al., 2007; Thanesuan et al., 2017; สุชี และคณะ 2551) และพบว่ากรวยป่ามีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสามารถต้านแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* และ anti-staphylococcal ได้ (Anupap et al., 2015; ชาลิสสา และคณะ 2557) ขณะที่พืชฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) พบสารกลุ่มเทอร์ปีนอัลคาลอยด์และโพลีฟีนอล เช่น guajanoic acid,  $\beta$ -

sitosterol, uvaol, oleanolic acid, aursolic acid,  $3\beta$ -p-E-coumaroyloxy-2 $\alpha$ -methoxyurs-12-en-28-oic acid, saponins, 11-hydroxy-35-tricontpentatriacontanoate, hexaeicosan-16-ol, tricosan-17-ene-5-ol, nonacosan-23-ene-3ol, morin-3-O-lyxoside, morin-3-O-arabinoside, quercetin และ quercetin-3-O-arabinoside (Khadhri et al., 2014; Chalannavar et al., 2014) และพบว่าฝรั่งมีการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราและแบคทีเรีย เช่น *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, *Sporotrix schenckii*, *Aspergillus niger* และ *Penicillium* spp. เป็นต้น (Morais-Brag et al., 2016)

ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุของโรคแอนแทรกคโนสหรือโรคกุ้งแห้งในพริกของสารสกัดจากกิ่งกระพุ่มนา กิ่งกรวยป่า และใบฝรั่ง ซึ่งจากข้อมูลการศึกษาวิจัยของพืชดังที่ได้กล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าพืชทั้งสามมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ โดยการศึกษาสารสกัดในครั้งนี้เป็นการทดลองขั้นพื้นฐานเพื่อศึกษาปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน ได้แก่ เฮกเซน แยกสารกลุ่มไม่มีขี้ เอทิลอะซิเตต แยกสารกลุ่มมีขี้ต่ำ และเมทานอล แยกสารกลุ่มมีขี้สูง ตามลำดับ เพื่อให้ได้ข้อมูลสารสกัดในการยับยั้งเชื้อราในห้องปฏิบัติการ เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี และลดสารพิษตกค้าง ให้มีความปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

## วัตถุประสงค์ในการศึกษา

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นกระพุ่มนา กรวยป่า และฝรั่งต่อการยับยั้งโรคแอนแทรกคโนสของพริก

## วิธีดำเนินการวิจัย

สกัดสารจากพืชท้องถิ่นจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ กระพุ่มนา กรวยป่า และ ฝรั่ง โดยกระพุ่มนาและกรวยป่าจะใช้ส่วนกิ่งและฝรั่งใช้ส่วนใบซึ่งวิธีการสกัดสารได้ปรับปรุงตามการสกัดสารของ นันทวัน (2543) และปิยะ (2546) โดยนำมาหั่นและผึ่งลมให้แห้งแล้วบดละเอียดแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน 3 ครั้ง ๆ ละ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แต่ละครั้งกรองสารสกัดแล้วกำจัดตัวทำละลายออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ ได้สารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนและดำเนินการโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและเมทานอลตามลำดับนำสารสกัดหยาบมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี poisoned food technique โดยเตรียมอาหาร PDA แล้วผสมสารสกัดพืชในอาหาร PDA ให้ได้ความเข้มข้น 5,000, 10,000 และ 20,000

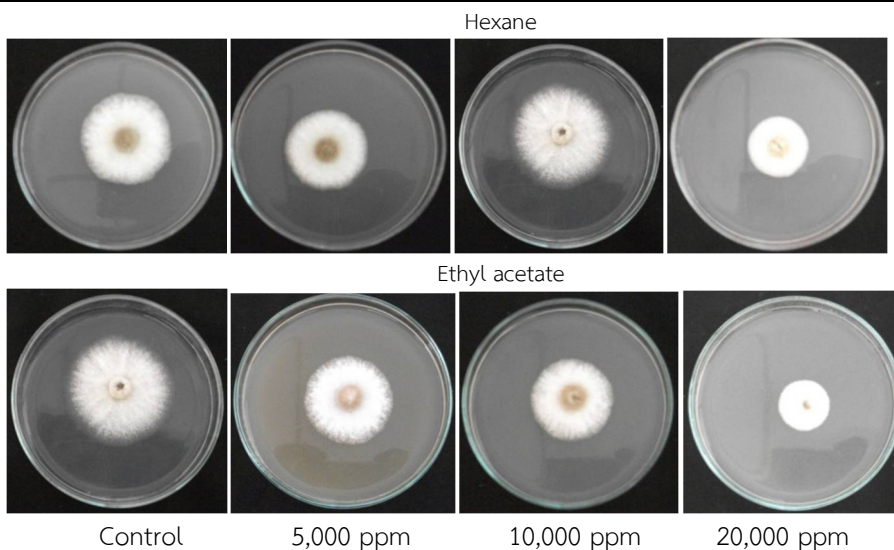
ppm จากนั้นเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อเมื่อผิวหน้าของอาหารแห้งสนิท นำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะเส้นใยรอบโคโลนีเชื้อรา *C. capsici* ที่มีอายุ 7 วัน วางลงบนผิวหน้าอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบ นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจสอบผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยทุก 24 ชั่วโมง จนชุดควบคุมเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ นำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (Harsha et al., 2014)

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

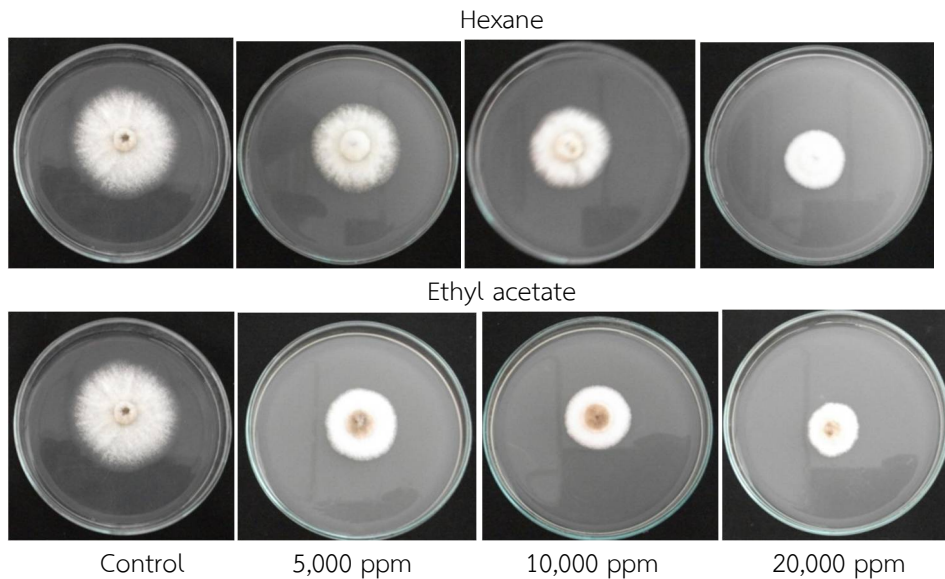
ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* โดยวิธี poisoned food technique และวัดขนาดของโคโลนีเชื้อรา พบว่าฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากพืชแต่ละชนิดในการยับยั้งเชื้อราให้ผลดังตารางที่ 1 และรูปที่ 1-3

**ตารางที่ 1** แสดงเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดจากพืช 3 ชนิดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

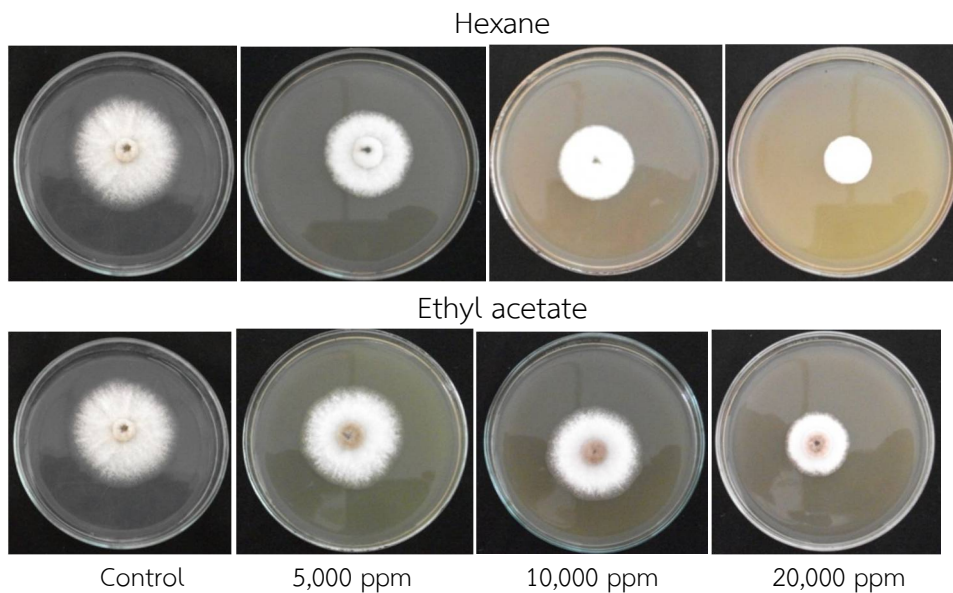
พืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง								
	เฮกเซน (ppm)			เอทิลอะซิเตด (ppm)			เมทานอล (ppm)		
	5,000	10,000	20,000	5,000	10,000	20,000	5,000	10,000	20,000
กระท้อนนา	48.64	49.21	74.92	41.98	50.35	78.38	0.00	0.00	0.00
กรวยป่า	35.33	48.57	68.70	65.60	71.61	79.44	0.00	0.00	0.00
ฝรั่ง	52.66	61.38	82.12	27.80	48.96	69.11	0.00	0.00	9.48



**ภาพที่ 1** การยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* โดยสารสกัดจากกระท้อนนา



ภาพที่ 2 การยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* โดยสารสกัดจากกรวยป่า



ภาพที่ 3 การยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* โดยสารสกัดจากฝรั่ง

สารสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตของพืชสมุนไพรทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสได้ทุก ระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยพบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* สูงสุดคือ ฝรั่ง และกระทุ่มนา เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถยับยั้งได้ 82.12% และ 74.92% ตามลำดับ ขณะเดียวกันสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสูงสุดคือ กรวยป่า และกระทุ่มนา เมื่อใช้ความเข้มข้น 20,000 ppm

สามารถยับยั้งได้ 79.44 และ 77.38 ตามลำดับขณะที่สารสกัดหยาบเมทานอลของพืชทั้งสามชนิดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา (ตารางที่ 1) การละลายสารจากพืชตัวอย่างนั้นคณะผู้วิจัยเห็นว่าสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเฮกเซนซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้วสามารถละลายสารกลุ่มเทอร์พีนที่ไม่มีขั้วออกมาจากพืชได้ สำหรับสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายมีขั้วที่สามารถละลายสารกลุ่มเทอร์พีนและอัลคาลอยด์ที่มีขั้วต่ำหรือขั้วไม่สูงมากนักออกมาจากพืชได้ และสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

จากข้อมูลที่มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกล้วยป่า พบมีสารกลุ่ม clerodane diterpene และ flavonoids มีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้ง anti-staphylococcal การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระท้อน พบมีสารกลุ่ม alkaloids, triterpenoids และ flavonoids มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย และใบฝรั่งพบน้ำมันหอมระเหยซึ่งประกอบด้วย caryophyllene cineol นอกจากนี้ยังมี tannin, sesquiterpenoids และ triterpenoid ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่มีการรายงานอาจเป็นผลทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อราได้ (El-Ahmady, S.H. et al., 2013) จากผลการทดลองที่ได้ต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อที่จะพิสูจน์ว่าสารบริสุทธิ์ใดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่จะก่อประโยชน์ให้กับเกษตรกรในการแก้ไขปัญหาด้านการเกษตรต่อไป

### สรุปผลการวิจัย

ผลของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นกล้วยป่ากระท้อน และ ฝรั่งมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตที่ความเข้มข้น 20,000 ppm มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* ได้สูงสุดส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลของพืชทั้งสามชนิดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง ขอขอบคุณ รศ.ดร.วิลาศ พุ่มพิมล และสาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง ที่สนับสนุนอุปกรณ์และสถานที่ในงานวิจัยนี้และขอขอบคุณ ผศ.ดร.กัลธิมา พิชัย คุณปัญญานุช เรือนทา และคุณชนากาณ ศรีเมือง มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ที่กรุณาให้คำแนะนำและคอยช่วยเหลือในการทำวิจัยนี้

## เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2546. การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. โครงการเกษตรกู่ชาติ โครงการถ่ายทอดการใช้เทคโนโลยีชีวภาพและชีวภัณฑ์ในการกำจัดศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. หจก.เอ พลัสทรี มีเดีย. นนทบุรี 194 หน้า.
- ชาลิสซา ชาญเขตรธรรม และอานุภาพ สกกิจขวา. 2557. ฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus Aureus* ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่น. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา นันทวัน บุญยประภัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543. สมุนไพรพื้นบ้าน (4) พิมพ์ครั้งที่ 1 ประชาชนจำกัด กรุงเทพฯ. 622-6.
- ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2546. หอมกลิ่นดอกไม้เมืองไทย. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT บริษัท จีรวัฒน์อิเล็กทรอนิกส์ จำกัด กรุงเทพฯ. 336 หน้า.
- สุชี สุขดี สมเดช กนกเมธากุล และขวัญใจ กนกเมธากุล. 2551. องค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งกรวยป่า. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Anupap, S., Chalisa, C., Chantimaporn, P., Nongluck, S., Kanya, K., Oracha, A. and Monton, V. 2015. Anti-staphylococcal Activity of Selected Thai Medicinal Plants. Burapha University International Conference. ST-P-023.
- Chalannavar, R. K., Venugopala, K. N., Baijnath, H. and Odhav, B. 2014. The Chemical Composition of Leaf Essential Oils of *Psidium guajava* L. (White and Pink fruit forms) from South Africa. *TEOP*. 1293-1302.
- El-Ahmady, S. H., Mohamed, L., Ashour and Michael W. 2013. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Psidium guajava* Fruits and leaves. *The Journal of Essential Oil Research*.1-7.
- Gong, F., Gu, H., Xu, Q. and Kang, W. 2012. Genus *Mitragyna* : Ethnomedicinal uses and pharmacological studies. *Phytopharmacology*. 3(2). 263-272.
- Harsha, T. S., Prashanth, M. S., Sandeepa, K. H., Sharath, H.V. and Prashith Kekuda, T. R. 2014. Antifungal Activity of Leaf Extract of Three Citrus Plants Against *Colletotrichum capsici*. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. 3(4). 368-370.
- Khadhri, A., Mokni, R. E., Almeida, C. and Nogueira, J. M. F. 2014. Chemical



- composition of essential oil of *Psidium guajava* L. growing in Tunisia. *Industrial crops and Products*. 52. 29-31.
- Morais-Brag, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Machado, A. J. T., Santosa Antonia, T. L., Sales, D. L., Lima, L. F., Figueredo, F. G. and Coutinho, H. D. M. 2016. *Psidium guajava* L., from ethnobiology to scientific evaluation : Elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms. *Journal of Ethnopharmacology*. 194.10.1016/j. jep. 2016.11.017.
- Somdej, K., Kwanjai, K. and Mongkol, B. 2007. Cytotoxic Clerodane Diterpenoids from Fruits of *Casearia grewiiifolia*. *J. Nat. Prod.* 70. 1122-1126.
- Thanesuan, N., Benjamat, C., Anumart, B. and Songchan, P. 2017. Cytotoxicity of clerodane diterpenoids from fresh ripe fruits of *Casearia grewiiifolia*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 34(4).517-521.
- Wang, F., Chen, Y., Zhang, Y., Deng, G., Zou, Z., Li, A., Xu, D. and Li, H. 2014. Chemical components and Bioactivities of *Psidium guajava*. *International Journal of food Nutrition and Safety*. 5(2). 98-114.
- Xing-fen, C., Jun-Song, W., Peng-Ran, W. and Ling-Yi, K. 2014. Triterpenes from the stem bark of *Mitragyna diversifolia* and their cytotoxic activity. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 12(8). 628-631.