Received: 9 Aug 2022; **Revised:** 23 Aug 2022
Accepted: 30 Aug 2022

ประสิทธิศักย์ของสารสกัดหยาบจากใบกระท่อม *Mitragyna speciosa* Korth. ต่อการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* (L.)

พรพิณ เผ่าพันธ์แปลก[1], ฑิฆัมพร ห่วงแสง[2], กีรติ ตันเรือน[3], วิษณุ ธงไชย[4], วิโรจน์ ลิขิตตระกูลวงศ์[5] และ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ[6]*

บทคัดย่อ

ยุงลายบ้านเป็นยุงพาหะหลักที่นำโรคไข้เลือดออกซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศไทย ทั้งนี้ได้พยายามมีการประยุกต์ใช้สารเคมีจากสารสกัดจากพืชมาเป็นทางเลือกในการควบคุมยุงพาหะตั้งแต่อดีตจวบจนปัจจุบัน การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบกระท่อมที่สกัดด้วยเฮกเซน เมทานอล และเอทานอลต่อลูกน้ำลุงลายบ้านในวัยที่ 3-4 ด้วยวิธีหยดสารสะลายที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (0 125 250 500 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร) และอัตราการตายที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากใบกระท่อมที่สกัดด้วยเฮกเซน มีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบ เท่ากับ 1,879.22 2,014.22 และ 104.03 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่สารสกัดด้วยเมทานอลมีค่า LC_{50} เท่ากับ 404.66 81.14 และ 79.00 มิลลิกรัม/ลิตร และสารสกัดด้วยเอทานอลมีค่า LC_{50} เท่ากับ 17,747.43 111.83 และ 82.55 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้ยืนยันได้ว่าอัตราการตายของลูกน้ำยุงจากสารสกัดใบกระท่อมด้วยเมทานอลในแต่ละความเข้มข้นโดยรวมมีประสิทธิภาพสูงที่สุดของการศึกษาในครั้งนี้ และจะเห็นได้ว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำลายทั้งสามสารให้ผลการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ไม่แตกต่างกันในทุก ๆ ชั่วโมงของการทดสอบ ($p \geq 0.05$) โดยสารสกัดจากใบกระท่อมในครั้งนี้มีแนวโน้มที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านรวมทั้งแมลงอื่น ๆ ที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขในพื้นที่เสี่ยงต่อไปได้

คำสำคัญ: สารสกัดใบกระท่อม, ลูกน้ำยุงลายบ้าน, การทดสอบความเป็นพิษ

[1] นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก
[2] นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก
[3] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก
[4] รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก
[5] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก
[6] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก
Email: poolprasert_p@psru.ac.th โทร. 087-050-5429

Efficacy of Crude Extracts of *Mitragyna speciosa* Korth. Leaf Against *Aedes aegypti* (L.) Larvae

Phonphin Phaophanplaek[1], Thikamporn Huangsang[2], Keerati Tanruean[3], Wisanu Thongchai[4], Wirot Likittrakulwong[5] and Pisit Poolprasert[6]

Abstract

Aedes aegypti is a main vector of dengue hemorrhagic fever, a serious public health problem in Thailand. Application of active toxic agents from plant extracts as an alternative mosquito control strategy was available from ancient times. In this current research, the insecticidal of hexane, methanolic and ethanolic crude extracts of *Mitragyna speciosa* leaves were estimated for their toxicity of 3rd–4th instar larvae of *Aedes aegypti*. The percentage larval mortality was evaluated after 24, 48 and 72 h exposure at different concentrations (0, 125, 500 and 1,000 mg/L). It was revealed that *M. speciosa* leaf hexane extract EXHIBITED MEDIAN LETHAL CONCENTRATIONS TO KILL 50% (LC_{50}) OF THE TREATED LARVAE IN 24, 48 AND 72 H OF 1,879.22 2,014.22 and 104.03 mg/L. Meanwhile, *M. speciosa* METHANOLIC EXTRACT DISPLAYED LC_{50} OF THE TREATED LARVAE IN 24, 48 AND 72 H OF 404.66 81.14 and 79.00 mg/L and ethanolic extract showed LC_{50} OF THE TREATED LARVAE IN 24, 48 AND 72 H of 17,747.43 111.83 and 82.55, respectively. In this experiment, it was verified that methanolic extract of *M. speciosa* had the highest larval mortality against *Ae. aegypti*. Obviously, no significant difference in the mean total mortality of AE. AEGYPTI among three solvents in all times of exposure was explored ($p \geq 0.05$). At a result, crude extracts of *M. speciosa* leaf were likely to be further employed in controlling *Ae. aegypti* larvae and other insects of medicinal and veterinary importance in the risk areas.

Keywords: *Mitragyna speciosa* leaf extract, *Aedes aegypti* larvae, toxicity test

[1] Undergraduate, Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

[2] Undergraduate, Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

[3] Assistant Professor, Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

[4] Associate Professor, Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

[5] Assistant Professor, Animal Science, Faculty of Agricultural Technology Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

[6] Assistant Professor, Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok

Email: poolprasert_p@psru.ac.th Tel. 087-050-5429

บทนำ

โรคติดต่อนำโดยแมลง เป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย โดยเฉพาะโรคไข้เลือดออก (Dengue hemorrhagic fever) ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี (Dengue virus) โดยมียุงลาย (*Aedes* spp.) เป็นพาหะนำโรค (กองโรคติดต่อนำโดยแมลง, 2564; ดุษิต โพธิ์ทอง และคณะ, 2563; นิดา นันทกรปรีดา และคณะ, 2560; Tanruean et al., 2019) สำหรับการควบคุมยุงลายมีการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมยุงลายมีมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ซึ่งประเทศไทยมีรายงานการศึกษาใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดมาใช้ควบคุมยุงลาย (นิดา นันทกรปรีดา และคณะ, 2560; ยุวดี สีนวนขำ และคณะ, 2562; อภิวัฏ ธวัชสิน และคณะ, 2546; Tanruean et al., 2019; Silapanuntakul et al., 2016; Thongporn, and Poolprasert, 2015) ทั้งนี้การใช้พืชสมุนไพรในการควบคุมยุงลายพาหะนำโรคเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีได้ เพราะพืชสมุนไพรเป็นสิ่งที่มีอยู่ในท้องถิ่น หาได้ง่าย สะดวก และไม่มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยุงลายพาหะนำโรคยังไม่มีวิวัฒนาการสร้างความต้านทานต่อพืชสมุนไพร ทำให้ลดปัญหาการดื้อต่อสารเคมี ลดภาวะเสี่ยงที่เกิดจากการใช้สารเคมีของผู้สัมผัสสารเคมี รวมทั้งลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศด้วย ดังนั้นการที่จะหลีกเลี่ยงผลที่เป็นอันตรายเหล่านี้ จำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาและหาสารสกัดจากพืชธรรมชาติหรือภูมิปัญญาที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้แทนสารเคมี

กระท่อม (Kratom) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Mitragyna speciosa* Korth. เป็นพืชพื้นถิ่นที่พบมากในเขตป่าฝนของประเทศไทย มาเลเซีย เมียนมาร์ ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และเกาะนิวกินี กระท่อมเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง เปลือกต้นเรียบสีเทา ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ลักษณะหนาทึบ สีเขียวแก่ รูปใบเป็นรูปไข่ปลายแหลม ก้านใบและเส้นใบชัดเจนมีทั้งชนิดการสีแดงและสีเขียว แก่นและเนื้อไม้แข็ง ดอกเป็นช่อชนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 ซม. (สีเหลืองเหมือนดอกกระถิน) มีดอกย่อยประมาณ 120 ดอก ผลแบบแคปซูลภายในผลมีเมล็ดขนาดเล็กรูปร่างแบนเป็นจำนวนมาก กระท่อมเป็นพืชพื้นถิ่นที่รู้จักกันดีในแถบประเทศอาเซียน คนมาเลเซียรู้จักกระท่อมในชื่อ เบียค-เบียค (biak-biak) เกท่อม (ketom) กูทุม (kutum) หรือ คีทุมเบีย (ketumbia) และลาวเรียก ไนทุม (Nytum) ส่วนคนไทยรู้จักกระท่อมภายใต้ชื่อท้องถิ่น (Local name) หลายชื่อ อาทิ ท่อม ท้ม ต้นคอยโดน อีถ่าง อีด่าง อีแดง ไม้หลองเลาะ หรือกระอ่วม เป็นต้น (ดวงแก้ว ปัญญาภู และคณะ, 2559) สำหรับการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากใบกระท่อม มีรายงานอยู่อย่างจำกัด โดยพบว่าเริ่มมีการนำมาประยุกต์ใช้กับแมลงที่เป็นปัญหาสาธารณสุข อาทิ ในกลุ่มแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* ซึ่งเป็นแมลงวันในงานนิติ

วิทยาศาสตร์ (forensic entomology) โดยทำการศึกษาในเชิงกีฏพิษวิทยา (entomotoxicology) ทำการศึกษาโดยการออกแบบการทดสอบผสมกระท่อมต้มลงในตับวัวในปริมาณสารที่แตกต่างกันออกไป ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม) 20, 40 และ 60 กรัม ตามลำดับ เพื่อดูระยะเวลาในการพัฒนาของตัวอ่อนหนอนแมลงงวันจนกระทั่งไปเป็นตัวเต็มวัย (duration of development) พร้อมทั้งอัตราการอยู่รอด (survival rate) พร้อมทั้งตรวจหาสารไมทราไจนีน (mitragynine) อยู่ตกค้างในตัวอย่างแมลงวันหัวเขียว พบว่า กระท่อมที่ผสมลงในตับวัว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (growth rate) ของแมลงวันหัวเขียวได้ ทั้งนี้ยังได้ตรวจพบสารไมทราไจนีนในตัวอย่างหนอนแมลงวันหัวเขียวที่กินซากหรือตับวัวที่ชุบด้วยสารจากใบกระท่อมเป็นอาหารอีกด้วย (Rashid et al., 2012) สำหรับในกลุ่มของยุงพาหะ Jantan et al. (2003) ได้มีการนำสารสกัดจากเปลือกกระท่อมมาทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* พบว่า สารสกัดจากเปลือกกระท่อมที่ระดับความเข้มข้นช่วง 103-271 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านได้ (LC_{50} เท่ากับ 271.3 มิลลิกรัม/ลิตร) และเมื่อเร็ว ๆ นี้ Jalil et al. (2021) ยังได้พยายามคัดเลือกพืชที่มีศักยภาพในการเป็นสารไล่ (repellent) ยุงลายสวน *Aedes albopictus* โดยเลือกใช้สารสกัดจากใบกระท่อมที่สกัดด้วยน้ำและทำการทาสารสกัดที่ได้ลงบนผิวหนังของหนูทดลองที่ผ่านการโกนขน และทำการดูพฤติกรรมการดูดกินเลือดของยุงลายสวนในช่วงเวลา 3, 5 และ 10 นาทีตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากใบกระท่อมไม่สามารถลดจำนวนการดูดกินเลือดของยุงลายสวนได้เท่าไหร่นัก เป็นไปได้ว่า สารสกัดจากใบกระท่อมอาจยังไม่ได้เป็นสารสำหรับการไล่ยุงพาหะได้

อย่างไรก็ตามจากที่กล่าวมาข้างต้น คณะผู้วิจัยมองเห็นว่า กระท่อมยังคงเป็นพืชที่มีศักยภาพในการเป็นสารฆ่าแมลงได้เช่นเดียวกับพืชสมุนไพรอื่น ๆ ดังนั้นในการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาประสิทธิศักย์ของสารสกัดจากใบกระท่อมที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เมทานอล และเอทานอล ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านในวัยที่ 3-4 โดยผลการวิจัยในครั้งนี้อาจเป็นประโยชน์ในการวางแผนการควบคุมประชากรยุงลายแบบบูรณาการในเชิงพื้นที่ต่อไปได้

วิธีการดำเนินการวิจัย

1) การเตรียมตัวอย่างพืช

พืชที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ กระท่อม (*Mitragyna speciosa* Korth.) สายพันธุ์ก้านเขียว ซึ่งเก็บจากพื้นที่อำเภอเสนา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยเก็บส่วนใบมาล้างทำความสะอาด จากนั้นผึ่งลมให้แห้ง เป็นเวลา 2-3 วัน และนำมาหั่นหรือสับให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำไปชั่งแล้วห่อด้วยผ้าขาวบางและเก็บใส่ขวดโหลแก้วที่มีฝาปิด เพื่อรอทำการแช่ด้วยตัวทำละลายต่อไป

2) การเตรียมสารสกัดจากพืช

ทำการสกัดใบกระท่อมโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (hexane), เมทานอล (methanol) และเอทานอล (เอทานอล) โดยใช้พืชตัวอย่างและตัวทำละลายแต่ละชนิดในอัตราส่วน 1 : 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร; w/v) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำไปกลั่นระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) แล้วนำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนักและเก็บใส่ขวดสีชาพร้อมปิดฝา เก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอทำการทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน

3) การเตรียมตัวอย่างลูกน้ำยุงลายบ้าน

ใช้ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ โดยนำไข่ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ USDA จากห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณ ณ ห้องปฏิบัติการทางกีฏวิทยา สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก ภายใต้อุณหภูมิ $25 \pm 5\ ^{\circ}C$ แสงสว่าง 12 : 12 (สว่าง : มืด) และความชื้นสัมพัทธ์ที่ $80 \pm 10\%$ ทำการคัดเลือกลูกน้ำระยะวัย 3 - 4 แยกไว้ โดยใช้หลอดหยดสาร (dropper) ดูดลูกน้ำยุงเตรียมไว้ในแก้วทดสอบ จำนวนแก้วละ 10 ตัว เพื่อใช้ในการทดสอบกับสารสกัดที่ได้ในห้องปฏิบัติการ

4) การทดสอบทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด

นำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้านในวัย 3 – 4 ที่เตรียมไว้ ทำการทดสอบด้วยวิธีหยดสารละลายที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน ได้แก่ 0 (ควบคุม), 125, 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ทั้งนี้ในชุดควบคุมของกลุ่มสารสกัดจากตัวทำละลายทั้งหมดทำการผสมอะซิโตน (acetone) ประมาณ 1% และวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) การทดสอบแต่ละความเข้มข้นจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้าน 10 ตัวอย่าง โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผล ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ภายหลังการทดสอบ ตามลำดับ

5) วิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาคำนวณหาอัตราการตาย (% Mortality) จากสูตร

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านทดสอบที่ตาย}}{\text{จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ทดสอบทั้งหมด}} \times 100$$

ทำการคำนวณหาค่า LC_{50} (Median Lethal Concentration) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 % ภายหลังการทดสอบ โดยคำนวณตามสูตรดัดแปลงจาก Abbott (1925) โดยผ่านการวิเคราะห์หาค่าจุดตัดความเข้มข้นด้วยวิธี Probit analysis ของ Finney (1971) ทดสอบความแตกต่างของความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA: F-Test) ของอัตราการตายที่เกิดขึ้นและเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) นอกจากนี้ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตายจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันโดยวิธี t-test independent ด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS เวอร์ชั่น 25.0 (IBM Crop, 2017)

ผลการวิจัย

ผลของสารสกัดจากใบกระท่อมที่ทำการทดลองโดยใช้สารละลายเฮกเซน เมทานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย ตามระดับความเข้มข้น (0, 125, 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร) พบว่า ภายหลังการตรวจสอบที่ 24 ชั่วโมง อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่สกัดด้วยเฮกเซนมีค่าเท่ากับ 1.11, 23.33, 46.67, 43.33, และ 40.00% ภายหลังการตรวจสอบที่ 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 1.11, 30.00, 56.67, 53.33 และ 53.33% และภายหลังการทดสอบที่ 72 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 1.11, 50.00, 60.00, 56.67 และ 66.67% ตามลำดับ อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่สกัดด้วยเมทานอลพบว่าภายหลังการตรวจสอบที่ 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0.00, 36.67, 53.33, 56.67 และ 50.00 % ภายหลังการตรวจสอบที่ 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0.00, 46.67, 63.33, 70.00 และ 60.00% และภายหลังการตรวจสอบที่ 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.00, 53.33, 66.67, 83.33 และ 76.67 % ตามลำดับ สำหรับอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าภายหลังการตรวจสอบที่ 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0.00, 40.00, 40.00, 33.33 และ 40.00% ภายหลังการตรวจสอบที่ 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0.00, 53.33, 50.00, 50.00 และ 60.00% และภายหลังการตรวจสอบที่ 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.00, 60.00, 53.33, 53.33 และ 76.67% ตามลำดับ

ตารางที่ 1 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน หลังจากได้รับสารสกัดจากใบกระท่อมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เมทานอล และเอทานอล ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น (mg/L)	อัตราการตาย ($\bar{x}$± S.D)		
		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
เฮกเซน	1,000	40.00 ± 20.00bc	53.33 ± 20.81c	66.67 ± 15.28b
	500	43.33 ± 5.77bc	53.33 ± 5.77c	56.67 ± 5.77b
	250	46.67 ± 11.55c	56.67 ± 5.77c	60.00 ± 10.00b
	125	23.33 ± 5.77b	30.00 ± 0.00b	50.00 ± 10.00b
	Control	1.11 ± 1.92a	1.11 ± 1.92a	1.11 ± 1.92a
	LC_{50} (mg/L)	**1,879.22**	**2,014.22**	**104.03**
เมทานอล	1,000	50.00 ± 10.00c	60.00 ± 10.00c	76.67 ± 15.28cd
	500	56.67 ± 5.77c	70.00 ± 10.00c	83.33 ± 5.77d
	250	53.33 ± 5.77c	63.33 ± 5.77c	66.67 ± 5.77bc
	125	36.67 ± 5.77b	46.67 ± 5.77b	53.33 ± 5.77b
	Control	0.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00a
	LC_{50} (mg/L)	**404.66**	**81.14**	**79.00**
เอทานอล	1,000	40.00 ± 10.00b	60.00 ± 0.00b	76.67 ± 5.77c
	500	33.33 ± 5.77b	50.00 ± 0.00b	53.33 ± 5.77b
	250	40.00 ± 10.00b	50.00 ± 10.00b	53.33 ± 15.28b
	125	40.00 ± 10.00b	53.33 ± 5.77b	60.00 ± 10.00b
	Control	0.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00a	0.00 ± 0.00a
	LC_{50} (mg/L)	**17,747.43**	**111.83**	**82.55**

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

นอกจากนี้พบว่าสารสกัดจากใบกระท่อมที่สกัดด้วยเฮกเซน มีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบ เท่ากับ 1,879.22 2,014.22 และ 104.03 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่สารสกัดด้วยเมทานอลมีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 404.66 81.14 และ 79.00 มิลลิกรัม/ลิตร และสารสกัดด้วยเอทานอลมีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 17,747.43 111.83 และ 82.55 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้อัตราการตายที่เกิดขึ้นจากความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าให้ผลการตายที่แตกต่างกันออกไปอีกด้วย (ตารางที่ 1) เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี t-test independent ระหว่างอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้จากวิธีการสกัดสารจากตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ยังพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งเฮกเซน เมทานอล และเอทานอลให้ผลอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ไม่แตกต่างกันในทุก ๆ ชั่วโมงของการทดสอบ ($P \geq 0.05$) โดยเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงลายบ้านสัมผัสสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้งสองชนิดนานขึ้นอัตราการตายก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านจากการทดสอบสารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน เมทานอล และเอทานอล ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ

เวลา (ชั่วโมง)	ตัวทำละลาย	N	อัตราการตาย ($\bar{X}$± S.D.)	t	df	p-value
24	**เฮกเซน**	15	30.89 ± 19.81	-1.099	28	0.281
	เมทานอล	15	39.33 ± 22.19			
	เฮกเซน	15	30.89 ± 19.81	0.033	28	0.974
	เอทานอล	15	30.67 ± 17.51			
	เมทานอล	15	39.33 ± 21.19	1.187	28	0.245
	เอทานอล	15	30.67 ± 17.51			
48	**เฮกเซน**	15	38.89 ± 23.49	-0.991	28	0.330
	เมทานอล	15	48.00 ± 26.78			
	เฮกเซน	15	38.89 ± 23.49	-0.447	28	0.659
	เอทานอล	15	42.67 ± 22.82			
	เมทานอล	15	48.00 ± 26.78	0.587	28	0.562
	เอทานอล	15	42.67 ± 22.82			
	เฮกเซน	15	46.89 ± 25.68	-0.867	28	0.393

เวลา (ชั่วโมง)	ตัวทำละลาย	N	อัตราการตาย ($\bar{x}$± S.D.)	t	df	p-value
72	**เมทานอล**	15	56.00 ± 31.58			
	เฮกเซน	15	46.89 ± 25.68	-0.182	28	0.857
	เอทานอล	15	48.67 ± 27.74			
	เมทานอล	15	56.00 ± 31.58	0.676	28	0.505
	เอทานอล	15	48.67 ± 27.74			

อภิปรายผล

การศึกษาในครั้งนี้เป็นทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบกระท่อมด้วยการใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน โดยภาพรวมนั้นมีอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการได้ค่อนข้างดี ซึ่งอัตราการตายจะสูงขึ้นในทุกๆ ตัวทำละลาย เมื่อเวลาผ่านไป แม้กระนั้นก็ตามในรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Jamtan et al. (2003) ได้มีการนำสารสกัดจากเปลือกต้นกระท่อมในประเทศมาเลเซียมาทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* โดยทดสอบกับความเข้มข้นในช่วง 10–1000 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า สารสกัดจากเปลือกกระท่อมที่ระดับความเข้มข้นช่วง 103-271 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านได้ โดยมีค่าการตายที่ความเป็นพิษ LC_{50} (Lethal Concentration fifty) เท่ากับ 271.3 มิลลิกรัม/ลิตร และเมื่อเร็วๆ นี้ Jalil et al. (2021) ยังได้พยายามคัดเลือกพืชที่มีศักยภาพในการเป็นสารไล่ (repellent) ยุงลายสวน *Aedes albopictus* โดยหนึ่งในพืชที่คัดเลือกนั้น คือ สารสกัดจากใบกระท่อมด้วยน้ำ โดยทำการทาสารสกัดที่ได้ลงบนผิวหนังของหนูทดลองที่ผ่านการโกนขน และทำการดูพฤติกรรมการดูดกินเลือดของยุงลายสวนในช่วงเวลา 3, 5 และ 10 นาทีตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากใบกระท่อมไม่สามารถลดจำนวนการดูดกินเลือดของยุงลายสวนได้เท่าไหร่นัก เป็นไปได้ว่า สารสกัดจากใบกระท่อมอาจยังไม่ได้เป็นสารสำหรับการไล่ยุงพาหะได้ ทั้งนี้จากการศึกษาในครั้งนี้การใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เป็นผลทำให้มีอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่แตกต่างกันออกไปด้วย เป็นไปได้ว่าการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เป็นผลทำให้ตัวถูกสกัดหรือพืชถูกดึงสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ในประมาณที่แตกต่างกันออกไปตามหลักของความมีขั้วของตัวทำละลาย (solvent polarity) ตั้งแต่ความไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อยไปจนกระทั่งมีขั้วสูง อาทิ เฮกเซน/ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นสารไม่มีขั้วมักสกัดได้กลุ่มของน้ำมัน (essential oil) ในคลอโรฟอร์ม/เอทิลอะซีเตต จะมีขั้วปานกลาง ซึ่งสกัดได้สารในกลุ่ม

เสตียรอยด์ และอัลคาลอยด์ สำหรับการใช้น้ำเป็นตัวสกัดจะได้สารที่มีความเป็นขั้วสูง จึงมักได้ตะกอนโปรตีน และไกลแคน เป็นต้น (Ghosh et al., 2012) โดยจากการศึกษาในครั้งนี้มีข้อสังเกตว่า การใช้เมทานอลเป็นตัวสกัดเป็นผลทำให้มีค่า LC_{50} ที่น้อยที่สุดที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ (LC_{50} เท่ากับ 404.66) ซึ่งเป็นได้ว่า อาจสกัดได้สารอัลคาลอยด์รวมทั้งสารไมทราไจนีน (mitragynine) ที่ดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ อย่างไรก็ตาม เมื่อทดสอบทางสถิติ (t-test independent) กลับพบว่า อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านจากสารสกัดที่ตัวทำลายต่างกัน ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) แสดงให้เห็นว่า สามารถเลือกใช้ตัวทำละลายใดก็ได้ในการสกัดสารในพืชดังกล่าว

ทั้งนี้มีรายงานขององค์ประกอบทางเคมี (chemical composition) ของกระท่อมโดยรวมมากกว่า 40 ชนิด อาทิ ไมทราไจนีน (mitragynine) และ เฮปตา-ไฮดรอกซีไมทราไจนีน (7-hydroxymitragynine) เป็นต้น ซึ่งเป็นสาระสำคัญหลัก (Sharma and McCurdy, 2021; Todd et al., 2020) ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสำคัญเหล่านี้อาจส่งผลต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงได้ นอกจากนี้อาจสกัดสารเหล่านี้ออกมาได้ในปริมาณที่แตกต่างกันตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดและชัดเจนมากขึ้น ในการศึกษาครั้งต่อไปควรทำการแยกการทดสอบฤทธิ์ของสารเหล่านี้ และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งลูกน้ำยุงลายต่อไป อย่างไรก็ตามมีข้อแนะนำว่าการศึกษาวิจัยในครั้งต่อไปควรจะต้องศึกษาองค์ประกอบของสารเคมีอย่างละเอียดและแยกทดสอบ และพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการกำจัดยุงหรือไล่ยุงให้สะดวกต่อการใช้งานต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2565 มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม (RDI-2-65-40) คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร สำหรับความอนุเคราะห์ไข่ยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ USDA ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางกีฏวิทยา สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี พิษณุโลก สำหรับความอนุเคราะห์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กองโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2564). **แนวทางดำเนินงานเฝ้าระวังป้องกันควบคุมโรคติดต่อนำโดยยุงลาย สำหรับเจ้าหน้าที่สาธารณสุข พ.ศ. 2564**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์.

ดุษิต โพธิ์ทอง, นันทิดา คำศรี และ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ. (2563). **การทดสอบความไวยุงลายต่อสารเคมีในเขตพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย.** PSRU Journal of Science and Technology. 5(2), 1-13.

ดวงแก้ว ปัญญาภู, สุเมธี นามเกิด, นิตาภา อันชัย และ กุลศิริ ยศเสถียร (2559). **กระท่อม : สมุนไพรหรือยาเสพติด.** วารสารการแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก. 14(3), 242-256.

นิดา นันทกรปรีดา, สมฤทัย ในแสน, กีรติ ตันเรือน, พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ, มนตรา ศรีษะแย้ม, ดุษิต โพธิ์ทอง และยุวดี ตรงต่อกิจ. (2560). **ฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า (*Annona squamosa*) ที่หมักด้วยน้ำส้มควันไม้.** PSRU Journal of Science and Technology. 2(3), 33-40.

ยุวดี สีนวนขำ, กาญจนา เกตุอ่อน, กีรติ ตันเรือน, ทิวธวัฒ นาพิรุณ, วิษณุ ธงไชย, ณัฐดนัย ลิขิตตระการ และ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ. (2562). **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระท่อม *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) DC. ต่อการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* (L.).** วารสารผลิตกรรมการเกษตร. 1(3), 21-31.

อภิวัฏ ธวัชสิน, อุษาวดี ถาวระ, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, วิชัย คงงามสุข, จักรวาล ชมพูศรี, จิตติ จันทร์แสง และ สุพล เป้าศรีวงษ์. (2546). **รายงานการวิจัย “การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรป้องกันกำจัดยุง แมลงวัน และแมลงสาป”.** นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

Abbott, W.S. (1925). **A method of computing the effectiveness of an insecticide.** Journal of ECONOMIC ENTOMOLOGY. 18(2), 265-267.

Finney. D.J. (1971). **Probit Analysis**. (3rd ed). Cambridge: Cambridge University Press.

Ghosh, A., N. Chowdhury, and G. Chandra. (2012). **Plant extracts as potential mosquito larvicides.** The Indian Journal of Medical Research. 135(5), 581-598.

IBM Crop. (2017). **IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0.** Armonk. New York: IBM Crop.

Jantan, I., Ping, W.O., Visuvalingam, S.D. and Ahmad, N.W. 2003. **Larvicidal activity of the essential oils and methanol extracts of Malaysian plants on *Aedes aegypti*.** Pharmaceutical Biology. 41(4), 234-236.

Jalil, A.A., Zaki, Z.M., Hasan, M.K.N., Jin, C.B., Ramli, M.D.C., Rerang, T.L., Mohamed, A., Russelan, H., Ayob, M.K. and Li, A.R. (2021). **Screening of selected local plant extracts for their repellent activity against *Aedesalbopictus* mosquitoes.** Asian Journal of Pharmacognosy. 4(3), 30-37.

Rashid, R.A., Zulkifli, N.F., Rashid, R.A., bt Rosli, S.F., Sulaiman, S.H. and Ahmad, N.W. (2012). **Effects of Ketum extract on blowfly *Chrysomya megacephala* development and detection of mitragynine in larvae sample.** 2012 IEEE SYMPOSIUM ON BUSINESS, ENGINEERING AND INDUSTRIAL APPLICATIONS. 337-341.

Sharma, A. and McCurdy, C.R. (2021) **Assessing the therapeutic potential and toxicity of *Mitragyna speciosa* in opioid use disorder.** Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. 17(3), 255-257.

Silapanuntakul, S., Keanjoom, R., Pandii, W., Boonchuen, S. and Sombatsiri, K. (2016). **Efficacy of Thai neem oil against *Aedes aegypti* (L.) larvae.** The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health. 47(3), 410–415.

Tanruean, K., Napiroon, T., Phusing, S., Torres, J.R.D., Villanueva, P.M. and Poolprasert, P., (2019). **Larvicidal effects of *Paederia pilifera* Hook.f. leaf and *Cuscuta reflexa* Roxb. stem extracts against the dengue vector mosquito Aedes aegypti Linn.** The Journal of Applied Science. 18(1), 31-38.

Thongporn, C. and Poolprasert, P. (2015). **Phytochemical screening and Larvicidal activity of *Millingtonia hortensis* L.f. flower extract against *Aedes aegypti* Linn.** Kasetsart Journal (Natural Science). 49(4), 597-605.

Todd, D. A., Kellogg, J. J., Wallace, E. D., Khin, M., Flores-Bocanegra, L., Tanna, R. S., McIntosh, S., Raja, H. A., Graf, T. N., Hemby, S. E., Paine, M. F., Oberlies, N. H. and Cech, N. B. (2020). **Chemical composition and biological effects of kratom (*Mitragyna speciosa*): In vitro studies with implications for efficacy and drug interactions.** Scientific reports. 10(1), 19158.