

**EFFECT OF HOLARRHENA ANTIDYSENTERICA EXTRACT
ON THE GROWTH OF LOCAL THAI ISOLATE OF
ENTAMOEBIA HISTOLYTICA**

JIRAPORN KULJIRARUK

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ผลของสารสกัดจากสมุนไพรโมกหลวงต่อเชื้อ *Entamoeba histolytica* ในหลอดทดลอง (EFFECT OF HOLARRHENA ANTIDYSENTERICA EXTRACT ON THE GROWTH OF LOCAL THAI ISOLATE OF ENTAMOEBIA HISTOLYTICA)

จิราภรณ์ กุลจิราภรณ์ 4537231 TMTM/M

วท.ม. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ธารีรัตน์ กะถัมพะเหติ, Ph.D., นิตยา ธรรมพาลีศ, M.Sc., มนัส จงสงวน, Ph.D.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรโมกหลวงต่อเชื้อเอนตามีบา ฮิสโตไลดิก้า สายพันธุ์ S และเชื้อเอนตามีบา มอสคอฟสกี สายพันธุ์ LA ในหลอดทดลอง และศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรโมกหลวงต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยนำสารสกัดจากสมุนไพรที่อยู่ในรูปผลึกมาบดให้ละเอียดและละลายในน้ำกลั่นจนเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำไปกรองโดยผ่านชุดกรองมิลลิพอร์เพื่อทำให้ปลอดเชื้อ แล้วนำไปทดสอบกับเชื้ออะมีบาทั้งสองสายพันธุ์ในหลอดทดลองที่เลี้ยงแบบอยู่ร่วมกับแบคทีเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของไข่ไก่ นำไปบ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับจำนวนเชื้ออะมีบาที่อยู่รอดและเชื้ออะมีบาที่ตายโดยย้อมสีทริปเฟนบลู เปรียบเทียบกับจำนวนเชื้ออะมีบาในหลอดทดลองที่ไม่ได้รับสารสกัดสมุนไพร ซึ่ง เป็นหลอดที่ให้ผลควบคุมผล และจำนวนเชื้ออะมีบาในหลอดทดลองที่ได้ขามาตรฐานเมโทรนิดาโซล ซึ่งเป็นหลอดที่ให้ผลควบคุมผล ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดสมุนไพรที่เจือจางที่ความเข้มข้น 15 mg/ml สามารถฆ่าเชื้อเอนตามีบา ฮิสโตไลดิก้า สายพันธุ์ S ได้หมด ส่วนเชื้อเอนตามีบา มอสคอฟสกี สายพันธุ์ LA จะตายหมดเมื่อใช้ สารสกัดสมุนไพรที่เจือจางที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไป คือ 30 mg/ml ส่วนยาเมโทรนิดาโซลจะฆ่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ได้หมดเมื่อใช้ความเข้มข้นเพียง 50 µg/ml

นอกจากนี้ได้ทดลองนำสารสกัดจากสมุนไพรโมกหลวงมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 8 ชนิดด้วยวิธี agar diffusion โดยเจาะรูที่ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อและหยอดสารสกัดสมุนไพร นำไปบ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง ถ้าพบเชื้อใดให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโต ให้นำเชื้อทำให้เจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ และนับจำนวนแบคทีเรียโดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่ใส่และไม่ใส่สมุนไพรสกัด ผลการทดสอบในแบคทีเรียพบว่าสารสกัดสมุนไพรนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้เลยโดยไม่เกิด inhibition zone แต่จะมีผลฆ่าเชื้อ *Plesiomonas shigelloides*, *Shigella flexneri* และ *Vibrio cholerae* ได้ทั้งหมด (bactericidal effect) ส่วนเชื้อ *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella choleraesuis* และ *Staphylococcus aureus* นั้น สารสกัดสมุนไพรมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตได้เพียงชั่วคราว (bacteriostatic effect) เท่านั้น

EFFECT OF HOLARRHENA ANTIDYSENTERICA EXTRACT ON THE GROWTH OF LOCAL THAI ISOLATE OF ENTAMOEBA HISTOLYTICA

JIRAPORN KULJIRARUK 4537231 TMTM/M

M.Sc. (TROPICAL MEDICINE)

THESIS ADVISORS : THAREERAT KALAMBAHETI, Ph.D., NITAYA THAMMAPALERD, M.Sc., MANAS CHONGSA-NGUAN, Ph.D.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the effects of *Holarrhena antidysenterica* extract to the growth of *Entamoeba histolytica* (S strain) and *E. moshkovskii* (LA strain) and 8 pathogenic bacteria *in vitro*. Crude extract was crushed and homogenously dissolved in distilled water. Water extract of herbal plant was sterilized by membrane filtering and then transferred to the aqueous phase of biphasic media which contained about 10^5 amoeba cells per ml. After 24 hours of exposure, living amoebae were counted by dye exclusion with Trypan blue stain. Comparative experiments consisted of the observation of viable trophozoites in negative control, without additional herbal extract and in positive control, with addition of metronidazole. The percentage of survival was calculated from the number of dead and viable cells. The results showed that diluted herbal aqueous extract of *H. antidysenterica* at a concentration of 15 mg/ml could completely kill *E. histolytica* (S strain) trophozoites, while *E. moshkovskii* (LA strain) trophozoites were completely killed by using concentration of 30 mg/ml. Metronidazole used as positive control, could kill both strains of *Entamoeba* trophozoites at a concentration of 50 μ g/ml.

Moreover, *H. antidysenterica* extract was tested along with 8 pathogenic bacteria by the agar diffusion method. The bacterial species that produce clear inhibition zones were subjected to determine the mechanism of growth inhibition by plate counting method in media agar with and without herbal extract. Herbal aqueous extract of *H. antidysenterica* was not able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. In contrast, it was able to inhibit the growth of *Plesiomonas shigelloides*, *Shigella flexneri* and *Vibrio cholerae* via the bactericidal mechanism. *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella choleraesuis* and *Staphylococcus aureus* were inhibited by herbal aqueous extract via the transient bacteriostatic mechanism.

KEY WORDS : HOLARRHENA ANTIDYSENTERICA / ENTAMOEBA HISTOLYTICA / ENTAMOEBA MOSHKOVSKII / PATHOGENIC BACTERIA

57 pp