ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดบัวหลวงและบัวผุด

Antibacterial activities of *Nelumbo nucifera* Gaertn. and *Rafflesia kerrii* Meijer. extracts

มารุต ตั้งวัฒนาชุลีพร* และภิษณี วิจันทึก

Marut Tangwattanachuleeporn* and Pitsanee Wichantuk

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา 20131

Department of Medical Science, Faculty of Science, Burapha University, Thailand. 20131

บทคัดย่อ

บัวหลวงและบัวผุดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ชาวเอเชียนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ รวมทั้งใช้รักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อประเมินหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดบัวหลวงและบัวผุดในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแปดชนิด (*Serratia marcescens, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella* Enteritidis, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus mirabilis*) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียถูกทดสอบโดยใช้วิธี disc diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยห้าเปอร์เซ็นต์เอทานอลจากบัวหลวงและสารสกัดด้วยเอทานอลจากบัวผุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด สารสกัดจากบัวผุดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสูงกว่าสารสกัดบัวหลวง สิ่งที่น่าสนใจในงานวิจัยนี้คือสารสกัดบัวผุดที่ความเข้มข้น 2 mg/disc สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus mirabilis* มากกว่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 30 μg/disc ซึ่งเป็นยามาตรฐานสำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, บัวหลวง, บัวผุด

Abstract

Nelumbo nucifera Gaertn. and *Rafflesia kerrii* Meijer. have been used in Asian traditional medicine for treatment other diseases, including the treatment of bacterial infection. The objective of this study was to evaluate the antibacterial activities of *Nelumbo nucifera* Gaertn. and *Rafflesia kerrii* Meijer. extracts against eight bacterial species (*Serratia marcescens, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella* Enteritidis, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*). Antibacterial activities was tested using disc diffusion method. The results showed that *Nelumbo nucifera* Gaertn. (5% ethanol extract) and *Rafflesia kerrii* Meijer. (absolute ethanol extract) potentially inhibited the growth of some bacterial species. *Rafflesia kerrii* Meijer. extract showed higher activity for inhibit bacterial growth than *Nelumbo nucifera* Gaertn. extract. Interestingly, *Rafflesia kerrii* Meijer. extract at 2 mg/disc could inhibit *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis* more than those of the standard antibacterial drug, Chloramphenicol at 30 μg/disc ($p<0.05$).

Keyword : antibacterial activity, *Nelumbo nucifera* Gaertn., *Rafflesia kerrii* Meijer.

* **Corresponding author.** E-mail : marutt@buu.ac.th

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทนำ

ปัจจุบันพบอุบัติการณ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพมากขึ้น ในบางกรณีแบคทีเรียสามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายๆ ชนิดพร้อมกัน (multiple-drug resistant) เช่น เชื้อ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Vancomycin resistant Enterococci (VRE) เป็นต้น การที่แบคทีเรียดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดพร้อมกันจึงก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขเป็นอย่างมาก เช่น แพทย์ต้องเปลี่ยนแผนการรักษาจากยาต้านจุลชีพเดิมที่มีราคาถูกเป็นยาต้านจุลชีพชนิดใหม่ ซึ่งบางครั้งอาจต้องสั่งนำเข้าจากต่างประเทศ จึงส่งผลให้ผู้ป่วยต้องเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลที่แพงมากขึ้น ผู้ป่วยต้องพักรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลาที่นานกว่าปกติ ซ้ำยังมีอัตราการเสียชีวิตที่เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาทางเศรษฐกิจของชาติตามมาด้วย ดังที่กล่าวถึงปัญหาของการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียมาข้างต้น การวิจัยหายาชนิดใหม่มาใช้แทนที่ยาต้านจุลชีพเก่าที่เชื้อดื้อยาไปแล้ว จึงเป็นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้ความสนใจเป็นอย่างมาก การใช้สมุนไพรก็เป็นทางเลือกหนึ่งที่นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้ความสนใจ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีอากาศร้อนชื้นซึ่งเป็นภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญงอกงามของพันธุ์ไม้นานาชนิด โดยเฉพาะพืชสมุนไพรที่มีอยู่มากมายทั่วทุกภาคของไทย สมุนไพรบางชนิดสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาแผนปัจจุบันได้และอีกหลายชนิดถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณ ภูมิปัญญาชาวบ้านของคนไทยเกี่ยวกับการใช้สมุนไพรมีมาอย่างช้านานโดยการสังเกต ลองผิดลองถูก เมื่อพบพืชชนิดใดใช้ได้ผลหรือไม่ได้ผลอย่างไรก็จะมีการจดจำและบอกเล่าสืบต่อกันมา การใช้สมุนไพรไทยในการรักษาโรคนั้นยังไม่เป็นที่ยอมรับและนิยมทั้งนี้เนื่องจากยังขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์หรือทางการแพทย์มาสนับสนุน

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) เป็นพืชสมุนไพรที่หาได้ไม่ยาก นิยมนำมาใช้ในการรักษาโรค โดยมักถูกใช้ในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี ไม่เว้นแม้แต่ในประเทศไทย สรรพคุณทางการแพทย์ของบัวหลวงมีมากมาย เช่น สารสกัดจากเมล็ดบัวสามารถต้านอนุมูลอิสระ (Rai *et al.*, 2006) ยับยั้งกระบวนการการแบ่งตัวของเซลล์ การแสดงออกของยีนที่สร้าง cytokine และการเพิ่มจำนวนของ peripheral blood mononuclear cell (PBMC) ของมนุษย์ได้ (Liu *et al.*, 2004) สารสกัดจากรากบัวสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูปกติ และหนูที่เป็นเบาหวานได้ (Mukherjee *et al.*, 1997) ส่วนสารสกัดจากใบบัวสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส HIV (Kashiwada *et al.*, 2005) ลดความอ้วนได้ทั้งในหนู rat และ mice (Ono *et al.*, 2006) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ (Cho *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2003) ส่วนต่างๆ ของบัวหลวง เช่น เกสรตัวผู้ เหง้า เมล็ด สามารถมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้ (Dhawan *et al.*, 1977; Chen *et al.*, 1989; Saeed *et al.*, 1993) แต่ยังไม่มีรายงานการทดสอบประสิทธิภาพของใบบัวต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

บัวผุด (*Rafflesia kerrii* Meijer.) เป็นพืชสมุนไพรที่หาได้ยาก ลักษณะเด่นของบัวผุดคือเป็นพืชที่มีดอกขนาดใหญ่ที่สุดในโลก ภูมิปัญญาชาวบ้านของชาวพื้นเมืองในประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย และไทย มีความเชื่อว่าดอกตูมของบัวผุดสามารถรักษาโรคได้หน่ออ่อนเมื่อนำมาต้มกับน้ำสามารถฟื้นฟูมดลูกของหญิงที่เพิ่งผ่านการคลอดลูกให้กลับสู่ปกติได้ในเร็ววัน (Viriyarattanaporn, 2004) จากการสอบถามชาวพื้นเมืองอย่างไม่เป็นทางการถึงเรื่องฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่าชาวบ้านนำดอกบัวผุดมาดองเป็นยาโดยใช้ดองกับเหล้าขาว 40 ดีกรีเพื่อดื่มกิน ชาวบ้านเชื่อว่าจะทำให้เสริมสมรรถภาพทางเพศ เป็นยาอายุวัฒนะ รักษาอาการปวดท้อง รักษาโรคติดเชื้อ เมื่อไม่นานมานี้มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับดอกบัวผุดโดยพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกบัวผุดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (มารอนี อาแซ, 2547)

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดจากบัวหลวงและบัวผุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่ายังมีข้อมูลไม่มาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ของสารสกัดใบบัวหลวงและสารสกัดดอกบัวผุด ทั้งนี้เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบบัวหลวงและดอกบัวผุดนอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นพื้นฐานในการพัฒนายาจากสมุนไพรเพื่อทดแทนยาต้านจุลชีพเดิมที่ปัจจุบันประสบปัญหาการดื้อยาที่เพิ่มมากขึ้นต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อแบคทีเรีย

Serratia marcescens, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella Enteritidis, *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus mirabilis* ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Burapha University

การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

- การสกัดสารจากใบบัวหลวง

นำใบบัวหลวงแห้งปริมาณ 50 กรัม มาต้มกับ 5% เอทานอล ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารสะลายที่ผ่านการกรองไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใส่สารสกัดใบบัวหลวงแต่ละครั้งปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ สกัดจนกระทั่งสารสกัดลดลงเหลือประมาณ 125 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ผ่านการระเหยแล้วเก็บไว้ในขวดปากกว้าง จากนั้นนำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายแข็งแล้วจึงนำไประเหิดตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Lyophilizer จนได้สารสกัดในรูปผง เก็บสารสกัดผงที่ได้ในขวดปากกว้างแล้วนำไปเก็บในตู้ดูดความชื้น (desiccator)

- การสกัดสารจากดอกบัวผุด

นำดอกบัวผุดมาล้างทำความสะอาด แล้วนำมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ บางๆ นำไปตากแดดจนกระทั่งแห้งสนิท จากนั้นนำไปอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งสมุนไพรแห้ง 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุ absolute ethanol ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทำการปิดปากขวดโดยใช้แผ่นพาราฟิน หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนดนำสารละลายที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบางและทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator นำไปอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยเปิดฝาขวดทิ้งไว้นานข้ามคืน จนกระทั่ง absolute ethanol ระเหยออกจนหมด จากนั้นปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปเก็บไว้ที่ตู้ดูดความชื้น

การเตรียมดิสค์ของสารสกัดใบบัวหลวงและสารสกัดดอกบัวผุด

นำสารสกัดที่ได้มาละลายน้ำ โดยเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 100, 50 และ 25 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มากรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร เก็บสารละลายที่ผ่านการกรองไว้ในขวดที่ปราศจากเชื้อ และนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการทดสอบให้หยดสารละลายของสารสกัดจากสมุนไพรลงบนดิสค์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (Whatman, UK) ดิสค์ละ 20 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายในแต่ละดิสค์เท่ากับ 2, 1 และ 0.5 มิลลิกรัม / ดิสค์ กระทำตามขั้นตอนนี้จนกระทั่งได้จำนวนดิสค์ตามต้องการ นำแผ่นดิสค์ที่ผ่านการหยดสารละลายแล้วไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที รอจนกระทั่งดิสค์ของสารสกัดจากสมุนไพรหายร้อน จึงนำไปใช้ทำการทดลองต่อไป

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยวิธี disc diffusion

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียใน Nutrient agar plate (Criterion, USA) นำมาบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มนานข้ามคืน นำเชื้อที่เพาะเลี้ยงไว้มาทำการตรวจสอบเพื่อบ่งชี้ชนิดของเชื้อ เขี่ยเชื้อที่ผ่านการตรวจสอบแล้วมาใส่ลงใน Nutrient broth (Criterion, USA) เพื่อทำการเปรียบเทียบความขุ่นกับ Standard McFarland No. 0.5 ($1.5x10^8$ CFU/ml)โดยหลอดที่มีเชื้อต้องมีความขุ่นใกล้เคียงกับหลอดที่บรรจุ Standard McFarland No. 0.5 เมื่อผ่านการเปรียบเทียบแล้วนำ cotton swap ที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงไปในหลอดอาหารแล้วบิด cotton swap กับข้างหลอดพอหมาดๆ นำมาระบายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (Criterion, USA) ประมาณ 5-6 ระนาบจนทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำดิสค์ยามาตรฐาน Chloramphenicol (Oxoid, UK) และ Kanamycin (Oxoid, UK) ที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัม / ดิสค์ และดิสค์ที่ใส่น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 20 ไมโครลิตร วางลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม วางดิสค์ที่มีสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยในหนึ่งจานวางดิสค์ยา 3 ความเข้มข้น คือ 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ ลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่วางดิสค์ยาแล้วไปบ่มที่ตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน เมื่อครบกำหนดนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ถูกยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น หน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดลองทุกความเข้มข้นของสารสกัดทั้งสองชนิดโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการยับยั้งแบคทีเรียแสดงค่าเป็น inhibition zone ± S.E.M. และหาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย student's t-test ด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบบัวหลวงและดอกบัวผุดที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแปดชนิด โดยใช้วิธี disc diffusion agar ดังได้แสดงในตารางที่1 พบว่าสารสกัดทั้งสองที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม / ดิสค์ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งแปดชนิดที่นำมาทดสอบได้ สารสกัดใบบัวหลวงที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / ดิสค์ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 2 ชนิด คือ *B. cereus* และ *B. subtilis* และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม /

Burapha University

ตารางที่ 1 *ผลการยับยั้งแบคทีเรียโดยสารสกัดจากใบบัวหลวง ดอกบัวผุด และยาต้านแบคทีเรีย* *

	DW	Kanamycin 30 μg	Chloramphenicol 30 μg	สารสกัดจากใบบัวหลวง (mg)			สารสกัดจากดอกบัวผุด (mg)		
				0.5	1	2	0.5	1	2
Bacillus cereus	NI	24.67±0.88	25.33±0.88	NI	7±0.50	10.33±0.33[a]	NI	8.67±0.17	10.67±0.33[b]
Bacillus subtilis	NI	23±0.58	27±0	NI	6.83±0.17	8.33±0.67	NI	8.17±0.17	10±0[b]
Staphylococcus aureus	NI	22±0	25±0	NI	NI	9.67±0.67	NI	10±0	12.33±0.33[b]
Pseudomonas aeruginosa	NI	NI	8.17±1.01	NI	NI	8.33±0.67	NI	9.83±0.17	13.5±0.29[b,c]
Proteus mirabilis	NI	26±1	8±0.58	NI	NI	7.67±0.33	NI	9.67±0.33	12.67±0.33[b,c]
Escherichia coli	NI	27.67±0.33	33±0.58	NI	NI	NI	NI	NI	7.33±0.33
Salmonella Enteritidis	NI	16.33±0.33	29.33±0.67	NI	NI	NI	NI	9±0	10.83±0.17[b]
Serratia marcescens	NI	26±0	22±0	NI	NI	NI	NI	NI	NI

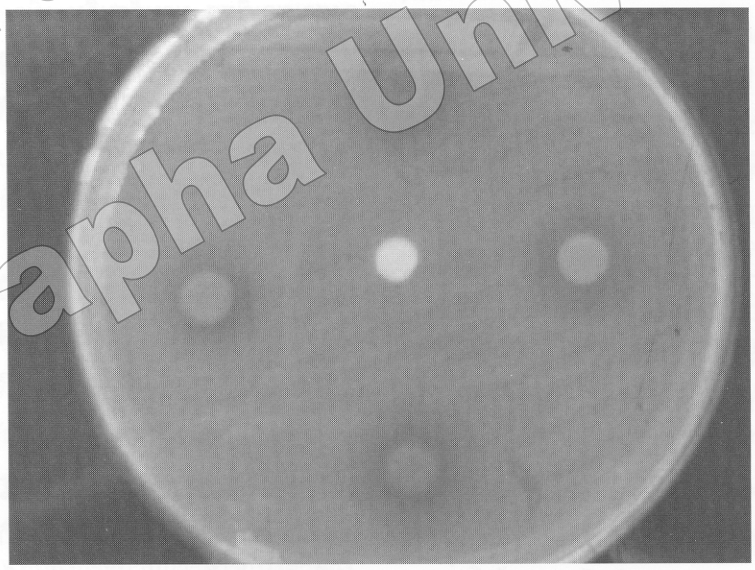
*, แสดงค่าเป็น inhibition zone ± S.E.M. หน่วยเป็นมิลลิเมตร

NI, no inhibition zone; เส้นผ่านศูนย์กลางของดิสค์เท่ากับ 6 มิลลิเมตร

[a], $p < 0.05$ (บัวหลวง 1 mg vs 2 mg)

[b], $p < 0.05$ (บัวผุด 1 mg vs 2 mg)

[c], $p < 0.05$ (บัวผุด 2 mg vs Chloramphenicol 30 μg)



ภาพที่ 1 การยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ด้วยสารสกัดจากดอกบัวผุด (ดิสค์บนและล่าง คือ สารสกัดจากดอกบัวผุดความเข้มข้น 2 mg/disc ดิสค์ซ้ายและขวา คือ สารสกัดจากดอกบัวผุดความเข้มข้น 1 mg/disc ดิสค์กลาง คือ Kanamycin ความเข้มข้น 30 μg/disc)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ดิสค์ พบว่าสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียได้ 5 ชนิด คือ *B. cereus, B. subtilis, S. aureus, P. aeruginosa* และ *P. mirabilis* ส่วนสารสกัดดอกบัวผุดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / ดิสค์ สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 6 ชนิด คือ *S. aureus, S.* Enteritidis, *B. cereus, B. subtilis, P. aeruginosa* และ *P. mirabilis* ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ สามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งหมดยกเว้น *S. marcescens*

การยับยั้งเชื้อ *B. cereus* โดยสารสกัดจากใบบัวหลวงที่ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการยับยั้งขึ้นกับปริมาณของสารสกัด (dose dependent) ส่วนสารสกัดของดอกบัวผุดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / ดิสค์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ทั้งหมดยกเว้นเชื้อ *S. marcescens* และ *E. coli* แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ การยับยั้งเชื้อของสารสกัดของดอกบัวผุดก็เป็นไปแบบ dose dependent

สิ่งที่น่าสนใจอย่างมากจากการทดลองคือการที่เชื้อ *P. aeruginosa* ดื้อต่อยาต้านแบคทีเรียมาตรฐานทั้งสองชนิดที่นำมาทดสอบ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *P. mirabilis* ก็ดื้อต่อยา Chloramphenicol เช่นกัน แต่สารสกัดจากใบบัวหลวงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดื้อยาทั้งสองได้ ส่วนสารสกัดจากดอกบัวผุดสามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้เช่นเดียวกันกับสารสกัดจากใบบัวหลวง แต่การยับยั้งของสารสกัดจากดอกบัวผุดมีประสิทธิภาพสูงกว่า โดยที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้ดีกว่ายา Chloramphenicol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดดอกบัวผุดนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของมารอนี อาแซ ที่กล่าวไว้ว่าที่ระดับความเข้มข้น 4.1 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ของสารสกัดดอกบัวผุดโดยใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ (มารอนี อาแซ, 2547) รายงานการวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรในประเทศมาเลเซียพบว่าสารสกัดจาก *Rafflesia hasseltii* Suring. ซึ่งเป็นดอกไม้ที่มีสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันกับ *Rafflesia kerrii* Meijer. ที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งชนิดของแบคทีเรียที่เหมือนกันอย่างมาก คือ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / ดิสค์ ของสารสกัดดอกบัวผุดชนิด *Rafflesia kerrii* Meijer. ด้วยเอทานอล และสารสกัดดอกบัวผุดชนิด *Rafflesia hasseltii* Suring. ด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus, B. subtilis, S. aureus* และ *P. aeruginosa* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ (Wiart *et al.*, 2004)

จากผลการศึกษานี้รวมทั้งของมารอนี อาแซ (2547) และ Wiart *et al.* (2004) ทำให้สันนิษฐานได้ว่าในดอกบัวผุดมีสารเคมีบางชนิดที่สามารถละลายได้ทั้งในเอทานอลและเมทานอล ซึ่งสารเคมีนี้น่าจะมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการรายงานถึงสารเคมีที่พบในดอกบัวผุด

รายงานการวิจัยที่เกี่ยวกับสมุนไพรทั้งสองชนิดนี้ที่ปรากฏอยู่ในฐานข้อมูล Pubmed มีอยู่น้อยมาก โดยบัวหลวงมีเพียง 60 เรื่องเท่านั้น และไม่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดใบบัวหลวงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ส่วนบัวผุดที่เป็นชนิด *Rafflesia kerrii* Meijer. ซึ่งเป็นดอกไม้ท้องถิ่นของไทย ไม่มีรายงานการวิจัยอยู่ในฐานข้อมูลเลย รายงานการวิจัยนี้จึงเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ชิ้นหนึ่งที่ใช้ยืนยันภูมิปัญญาชาวบ้านของคนไทยและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบบัวหลวงและดอกบัวผุดเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย

สรุป

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบบัวหลวงและดอกบัวผุดต่อการเจริญของแบคทีเรียแปดชนิด ด้วยวิธี disc diffusion agar พบว่าสารสกัดของบัวทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม / ดิสค์ ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม / ดิสค์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดที่นำมาทดสอบ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้มากชนิดขึ้นและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่สูงขึ้นตามด้วย เชื้อ *P. aeruginosa* ที่นำมาทดสอบเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา Chloramphenicol และ kanamycin ส่วนเชื้อ *P. mirabilis* เป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา Chloramphenicol แต่เชื้อทั้งสองนี้สามารถถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดใบบัวหลวงและดอกบัวผุด โดยสารสกัดจากดอกบัวผุดที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม / ดิสค์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้ดีกว่ายา Chloramphenicol ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัม / ดิสค์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ดำเนินการวิจัยขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียที่นำมาศึกษา และ ผศ. ดร. เพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้วิธีการสกัดและสารสกัดเหลวจากใบบัวหลวงมาใช้ในการศึกษา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารอ้างอิง

มารอนี อาแซ. (2547). *ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากกระทกรกและบัวผุด*. สงขลา : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

Chen, C. P., Lin, C. C., & Namba, T. (1989). Screening of Taiwanese crude drugs for antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. *J. Ethnopharmacol, 27*(3), 285-295.

Cho, E. J., Yokozawa, T., Rhyu, D. Y., Kim, S. C., Shibahara, N., & Park, J. C. (2003). Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine, 10*(6-7), 544-551.

Dhawan, B. N., Patnaik, G. K., Rastogi, R.P., Singh, K. K., & Tandon, J. S. (1977). Screening of Indian plants for biological activity: part VI. *Indian J. Exp Biol, 15*(3), 208-219.

Kashiwada, Y., Aoshima, A., Ikeshiro, Y., Chen, Y. P., Furukawa, H., Itoigawa, M., Fujioka, T., Mihashi, K., Cosentino, L. M., Morris-Nastschke, S. L., & Lee, K. H. (2005). Anti-HIV benzylisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids. *Bioorg Med Chem, 13*(2), 443-448.

Liu, C. P., Tsai, W. J., Lin, Y. L., Liao, J. F., Chen, C. F., & Kuo, Y. C. (2004). The extracts from *Nelumbo nucifera* suppress cell cycle progression, cytokine genes expression, and cell proliferation in human peripheral blood mononuclear cells. *Life Sci, 75*(6), 699-716.

Mukherjee, P. K., Saha, K., Pal, M., & Saha, B. P. (1997). Effect of *Nelumbo nucifera* rhizome extract on blood sugar level in rats. *J. Ethnopharmacol, 58*(3), 207-213.

Ono, Y., Hattori, E., Fukaya, Y., Imai, S., & Ohizumi, Y. (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *J. Ethnopharmacol, 106*(2), 238-244.

Rai, S., Wahile, A., Mukherjee, K., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2006). Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *J. Ethnopharmacol, 104*(3), 322-327.

Saeed, A., Omer, E., & Hashem, A. (1993). Investigation of lipid and biological activity of nymphaea hybrida Tach. V. and *Nelunbo nucifera* Gaertn. *Bull Fac Pharm (Cairo Univ.), 31*(3), 347-351.

Viriyarattanaporn, T. (2004, June-July). Wonderful Rafflesia of Khao Sok. *National Park Bulletin*, 3.

Wiart, C., Mogana, S., Khalifah, S., Mahan, M., Ismail, S., Buckle, M., Narayana, A. K., & Sulaiman, M. (2004). Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia, 75*(1), 68-73.

Wu, M. J., Wang, L., Weng, C. Y., & Yen, J. H. (2003). Antioxidant activity of methanol extract of the lotus leaf (*Nelumbo nucifera* Gertn.). *Am J. Chin Med, 31*(5), 687-698.

Burapha University