

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Geliş: 21 Kasım 2022 | Kabul: 30 Kasım 2022

***Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) Ekstraktlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri**

Büşra Peksezer\*<sup>ORCID</sup>, Mehmet Tahir Alp<sup>ORCID</sup>, Deniz Ayas<sup>ORCID</sup>

Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yenişehir Mersin

\*Sorumlu yazar e-mail: peksezerb44@gmail.com

ÖZET

Makroalgler biyolojik aktivitelerinden dolayı önemli bir yere sahiptir. Makroalglerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız çalışmada, yeşil algler (Chlorophyta)'den *Ulva intestinalis*, kahverengi algler (Phaeophyceae)'den *Sargassum vulgare* türleri kullanılmıştır. Ekstraksiyon olarak aseton, etanol, kloroform ve metanol kullanılarak makroalglerin kuyucuk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemi ile gram pozitif bakteri suşlarından *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'e ve maya olarak da *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*'e karşı antimikrobiyal aktivitelere bakılmıştır. Sonuç olarak, antimikrobiyal aktivite değerleri yönüyle baktığımızda *Sargassum vulgare* (0.36 mm) *Enterococcus faecalis*'e karşı, *Ulva intestinalis* (0.23 mm) *Staphylococcus aureus*'a karşı olarak tespit edilmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Antimikrobiyal, Makroalg, *Ulva intestinalis*, *Sargassum vulgare*

**Antimicrobial Effects of Extracts from *Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) and *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) on Some Pathogenic Microorganisms**

ABSTRACT

Macroalgae have an important place due to their antimicrobial properties. In our study to determine the antimicrobial properties of macroalgae, green algae (Chlorophyta) *Ulva intestinalis* and brown algae (Phaeophyceae) *Sargassum vulgare* were used. Macroalgae, gram positive bacteria strains *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, gram negative bacterial strains *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and yeast parapsilobial activities against *Candida parapsilobial* activities by using acetone, ethanol, chloroform and methanol as extraction, well diffusion and spectrophotometric broth microdilution method in macroalgae. As a result, when we look at the antimicrobial activity values, *Sargassum vulgare* (0.36 mm) was determined against *Enterococcus faecalis*, *Ulva intestinalis* (0.23 mm) was determined against *Staphylococcus aureus*.

**KEYWORDS:** Antimicrobial, Macroalgae, *Ulva intestinalis*, *Sargassum vulgare*

**How to cite this article:** Peksezer, B., Alp, M.T., Ayas, D. (2022) *Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) Ekstraktlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri. *MedFAR.*, 5(2):54-64

## 1. Giriş

Dünya üzerinde türü ve sayısı bilinmeyen milyarlarca canlı yaşamını sürdürmektedir. Bu canlıların her birinin ekosistemde bir görevi bulunmakta ve böylelikle ekosistem döngüsünü devam ettirmektedir. Algler de ekosistem döngüsü içerisinde yer alan canlı gruplarından bir tanesidir ve sucul ekosistemin birincil üretim kaynağını oluştururlar (Bhadury ve Wright, 2004; Gül, 2019). Algler yapısal, hücre yönüyle ve doğal seçim üremeleriyle diğer bitkilerden farklılık gösterirler. Primer üretici olan bu canlılar yapısındaki pigmentler sayesinde su ortamındaki çözülmüş oksijen oranının ve besin değerinin artmasını sağlayarak kendi gelişimlerini de sağlamaktadır.

Alglerin gelişimi ve ekolojik dağılımına fiziksel, kimyasal ve dinamik olmak üzere üç etken etkilemektedir. Fiziksel faktörlerden turbidite, sıcaklık, ışık ve substrat etkilerken; kimyasal faktörlerden vitaminler, besleyici tuzlar, oligo elementler, suda çözülmüş halde bulunan gazlar, pH ve tuzluluk etkiler. Dinamik faktörlere bakıldığında ajitasyon, basınç ve emersiyon faktörlerinin etkilediği görülmüştür (Aktar ve Cebe, 2010; Cirik ve Cirik, 2011). Son yıllarda evsel, endüstriyel

ve tarımsal atıklardan kaynaklı ötrofikasyona neden olan etkenler alglerin dağılımını etkilemektedir. Aynı zamanda fitoplankton popülasyonlarının artışıyla birlikte kokusunda, renginde değişiklikten kaynaklı ekolojik dengesinin bozulması alglerin dağılımına etki eden diğer faktörlerden bir tanesidir (Aktar ve Cebe, 2010; Oğur, 2016).

Denizlerin önemli canlı kaynaklarından biri olan algler diğer deniz canlıları için büyük önem taşımaktadır. Algler endüstrinin hemen birçok alanında kullanılmaktadır. Uzakdoğu ve Güney Asya ülkelerinde gıda olarak kullanılan algler, tıpta, eczacılıkta ve kozmetik sanayinde, tarımda ve gübre üretiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Peksezer vd., 2021).

Dünya genelinde ticari olarak kullanılan alg gruplarından olan Phaeophyta (Kahverengi Algler) ve Chlorophyta (Yeşil Algler) sınıfından olan *Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützinger) J. Agardh 1889) türleri üzerinde çalışma yapıldı. Bu çalışma ile patojenlerle antimikrobiyal inhibitör aktiviteleri ve antimikrobiyal analizlerle alg türlerinin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyaller

Çalışmamızda Mersin ve Karataş sahillerinden toplanan *Ulva intestinalis* (Chlorophyta), *Sargassum vulgare* (Phaeophyceae) türleri toplanarak kullanılmıştır.

*Ulva intestinalis* boru şeklinde, kıvrımlı, bağırsak benzeri ve buruşuk görünümlü, yaprakları dallı alglerdir (Şekil 1.a). 10-30 cm uzunluğunda ve 6-18 mm genişliğinde alglerdir. Genellikle epilitik gelişen denizlerde ve acı sularda bulunan alglerdir (Turna, 2012).

*Sargassum vulgare* yaprakları, kaburga şeklinde uzanan, kenarları dalgalı ve az ya da çok derin girintilere sahiptir (Şekil 1.b). Yaprakların dibinde, küresel bir veziküller veya

yüzer, içi boş, kısa bir çiçek sapı tarafında taşlanır. 4-5 cm boyunda, 3-4 mm çapında talluslara sahiptir. Genellikle sığ sularda ve mercan resiflerinde yaşayan, ılıman ve tropik yerlerde dağılım gösteren alglerdir (Marinho vd., 2006).

Antimikrobiyal etkinlikler için Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 23235, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; Gram (-) bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27236 ve mantarlardan *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* kullanılmıştır.



**Bölüm:** Chlorophyta

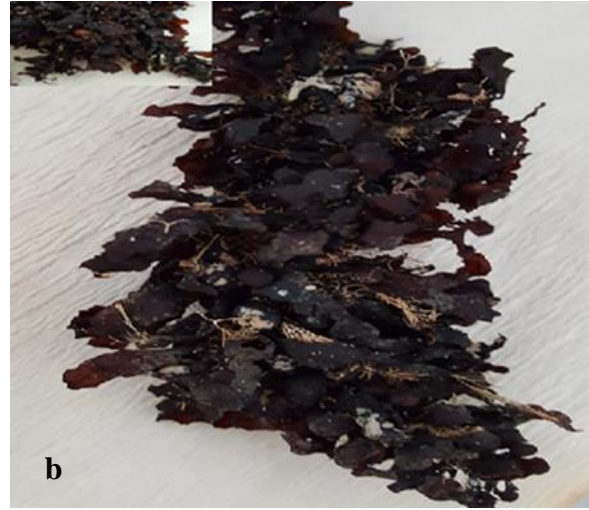
**Sınıf:** Ulvophyceae

**Takım:** Ulvales

**Familya:** Ulvaceae

**Cins:** Ulva

**Tür:** *Ulva intestinalis*, (Hudson) J.V.Lamoureaux 1809



**Bölüm:** Phaeophyta

**Sınıf:** Phaeophyta

**Takım:** Fucales

**Familya:** Sargasaceae

**Cins:** Sargassum

**Tür:** *Sargassum vulgare*, C.Agardh 1820

**Şekil 1. a)** *Ulva intestinalis* (Orijinal), **b)** *Sargassum vulgare* (Orijinal)

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Alglerin toplanıp saklanması

Mart ve ağustos aylarında Mersin (36°46'47"N 34°35'57"E) ve Karataş (36°33'59"N 35°22'22"E) sahillerinden toplanan *Ulva intestinalis*, *Sargassum vulgare* türleri soğuk zincir ile Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarına getirilmiştir. Örnekler yıkanıp arındırıldıktan sonra 35°C 'de 12 saat süreyle etüvde kurutulmuştur. Kurutulan alg örnekleri elekten geçirilerek kumlardan tamamen arındırılmıştır. Elekten geçirilen makroalg örnekleri öğütücüde un haline getirilerek analizlere hazır hale getirilmiş ve -4°C'de analiz yapılana kadar falkon tüpleriyle saklanmıştır.

### 2.2.2. Ekstraksiyonlar

Analiz için hazırlanan makroalg örnekleri 3 paralelli olarak çalışılmıştır. Aseton, etanol, kloroform ve metanol solventleri kullanılmıştır. 2 gr alg örneklerinden alınarak erlenlere bırakılmıştır üzerine 40 ml solvent eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 24 saat boyunca

mekanik çalkalayıcıda bekletilmiş alglerin çözülmesi sağlanmıştır. Ekstrakt örnekleri filtre kağıdından geçirilerek çözülmeyen partikül parçacıklardan arındırılmıştır.

GC-MS ile kimyasal analiz için ekstraksiyon yöntemi ise; 2 gr alg örneğinden alınarak erlenlere bırakılıp üzerlerine 20 ml etanol eklenmiştir. Solvent eklenen örnekler 24 saat boyunca mekanik çalkalayıcıda bekletilmiş ve 24 saat sonunda filtre kağıdından süzdürülüp mikrofiltreden geçirilmiştir. Sonra 80°C'de Rotary Evaporatör'de solvent ortamdan uzaklaştırılmıştır. Solventi uçurulan alg örneklerinin üzerine 20 ml'lik hekzan eklenmiştir. Ekstraktlar tüplere bırakılıp GC-MS 'de okunmaya bırakılmıştır.

### 2.2.3. Kimyasal Bileşen Analizi (GC-MS)

Analizde ayırma işlemi HP-5MS kolonu (30mx250µx0,25µm) ile gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dakika akış hızındaki helyum kullanılmıştır. Fırın sıcaklık programı çerçevesinde 60 °C den başlayıp, 2 dk bu sıcaklıkta bekletilen ve dakikada 10°C/dakika artışlarla 300 °C'ye çıkarılıp 6

dk bu sıcaklıkta bekletilen her bir örneğe ilişkin 2 ml, enjeksiyon hacmi 1 µl ve iyonlaşma voltajı ise 70 eV'dır. Ayrılmış bileşenler NIST 2008 (National Institute of Standards and Technology) ve Ulusal standartlar enstitüsü verileri ile kıyaslanarak yapılmıştır (Ragunathan vd., 2019).

### 2.2.4. Toplam Fenol Analizi

Hazırlanan ekstraktların toplam fenol içeriğine Yabalak ve Gizir (2017)'in uyguladığı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak bakılmıştır. 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ve 1 ml örnek çözeltiler tüplere bırakılıp karıştırılmıştır. 5 dk karanlıkta bekletilmiş; daha sonra 2 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (200 g/l) solüsyonu ve 2 ml distile su ilave edilerek tekrar karıştırılıp, 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. UV spektrofotometre kullanılarak 700 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Standart olarak Gallik asit kullanılmıştır. Ekstraktların konsantrasyonlarını hesaplamak için elde edilen sonuçlar miligram gallik asit olarak verilmiştir (mg GAE/100 g dw).

### 2.2.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Hazırlanmış olan ekstraktların antimikrobi-

yal aktiviteleri spektrofotometrik broth mikrodilüsyon ve agar kuyucuk dilüsyon yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır.

Agar kuyucuk yöntemi için, katı besiyerine önce 6 mm lik kuyucuklar açılır ve tüm besiyeri yüzeyine mikroorganizma ekimi yapılır. 6 mm lik kuyucuklara 50 mikrolitre örnek konulur. Tüm örnekler 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılır. Sonuçlar Images programında zon çapları ölçülerek değerlendirilir (Patton vd., 2005). Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon için makroalglerden elde edilen ekstraktlar için steril 96 kuyucuklu plakalar hazırlanmıştır. Mikroplakalardaki kuyucuklara besiyerinden 50 µl konularak ilk kuyucuğa ekstraktlardan 100 µl bırakılarak ilk on sıraya çift katlı dilüsyonu yapılmıştır. Besiyeri kontrolleri için negatif ve pozitif kontroller son iki sütuna bırakılmıştır. Daha sonra ekstrakt ve antibiyotik bulunan kuyucuklara 5 µl mikroorganizma eklenip inkübasyona bırakılmıştır. spektrofotometrik ölçümleri 600 nm'de alınmıştır. Yüzde inhibisyon değerler formülü ile hesaplanmıştır. Elde edilen doğrusal eğim çizgisi üzerinden R<sup>2</sup> ve ardından MİK (Minimum Inhibisyon Konsantrasyonu) hesabı yapılmıştır (Patton vd., 2005).

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \left( \frac{\text{OD}_{\text{test}}_{t_{24}-t_0}}{\text{OD}_{\text{kontrol}}_{t_{24}-t_0}} \right) \times 100$$

### 2.2.6. İstatiksel Analiz

Çalışmada IZ ve MİK verileri Tek Yönlü Anova (Tukey) testleri ile değerlendirilmiştir.

Farklılıklar P<0,05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. GC-MS ile Kimyasal Bileşen Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada makroalg ekstraktlarının analizinde Tablo 1'de görüldüğü gibi hidrokarbonlar ve polar çözücüler tespit edilmiştir. Hidrokarbonlar; yapısında sadece karbon ve hidrojen bulunduran bileşiklerdir. Hidrokarbonlar ve türevleri fosil yakıtların ana bileşen maddelerdendir (Ergüler, 2022). Polar

çözücüler ise dimetil sülfoksit organokükürt bileşigidir. Özellikle bölgesel ağrı kesici olarak kullanılan polar çözücülerin. antioksidan ve anti-enflamatuar özellikleri tespit edilmiştir (American Chemical Society, 2000).

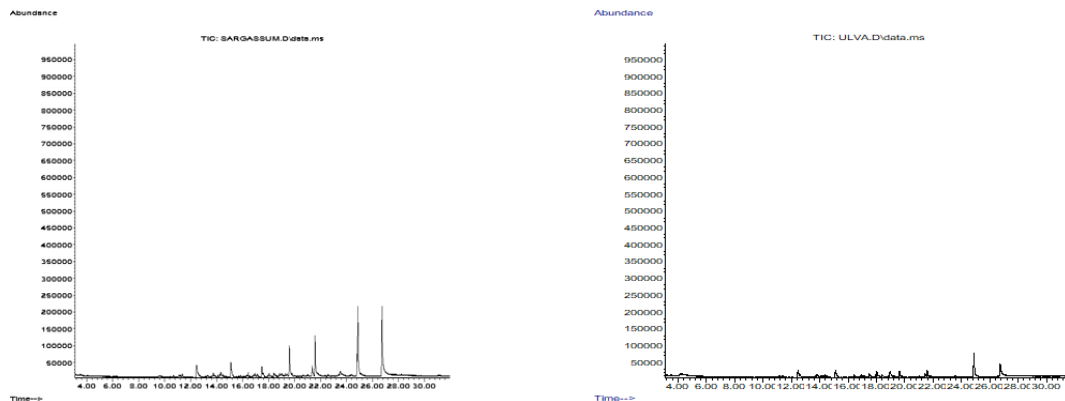
**Tablo 1.** *Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis*'in metanol ekstraktının GC-MS ile Kimyasal Bileşen Analizindeki Bileşikler

Bekleme süresi (RT)*	Bileşikler (Compounds)	<i>S. vulgare</i> (%)	<i>U. intestinalis</i> (%)
4.179	Dimethyl Sulfoxide	-	1.04
12.453	Heptadecane	5.08	-
12.465	Nonadecane, Hexadecane	-	8.59
13.741	Octadecane	0.56	-
15.100	Pentadecane	6.58	-
15.106	Nonadecane	-	10.09
15.854	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl	0.50	-
16.441	Eicosane	0.57	-
17.480	Triacotane, Nonadecane	1.71	-
17.486	Heneicosane, Nonadecane, Pentacosane	-	2.33
17.569	Octadecane,	0.18	-
18.940	1-Butanamine, N-butyl,	-	3.77
19.005	Glycine	-	3.47
19.302	Docosane	0.82	-
19.605	Hexadecanoic	9.87	-
21.362	10-Octadecenoic acid, methyl ester	3.24	-
21.581	Octadecanoic, ethyl ester	10.55	-
24.816	Bis(2-ethylhexyl) phthalate,	3.25	5.13
24.875	N,N-Bis(2-hydroxypropyl)-5-aminobe	18.96	-
24.881	2-Phenyl-5-methoxy-oxadiazol, N,N-Bis(2-hydroxypropyl)-5-aminobe	-	22.42
26.739	13-Docosenamide, 9-Octadecenamide	24.27	20.45

\*Bekleme süresi (dakika) (RT: Retention time); benzerlik oranı %60'ın üzerindeki alınmıştır

Literatür taramalarında kimyasal bileşen analizlerinde [El Shafay vd. \(2015\)](#) yapılan çalışma da *S.vulgare*'nin etanolik ekstraksiyonunun GC-MS analizinde etken maddesi di-n-octyl phthalate (48.26) olarak bulunmuştur. *S.vulgare*'nin etken maddesi ise 13-docosenamide'dir (24.27). [Taşçı \(2020\)](#) yaptığı çalışmada *S. vulgare*'nin GC-MS analizinde farklı hidroksialkan değerleri saptanmıştır. Konsantrasyon oranlarına göre değerler farklılık göstermiştir. SV1(*sargassum vulgare*) olarak belirtilen ekstraksiyonda etken madde tetradecane %32.74, SV64-65 (1250 µg/ml konsantrasyon oranı) olarak belirtilen

ekstraksiyonda etken madde propylene glycol DITMS %48.57 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızdaki *S. vulgare*'deki etken madde 13-Docosenamide olarak farklılık göstermiştir, bu farklılığın nedeni farklı konsantrasyonlarda ekstraksiyonların olması ya da farklı yöntemler kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, *U. intestinalis*'le ilgili bir çalışmada GC-MS analizi sonucu 43 bileşik tanımlanmıştır. Etken madde olarak fitol (%21.404) ve 2-monopalmitin (%13.139) tespit edilmiştir ([Kulkarni vd., 2021](#)).

**Şekil 2.** *Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis*'in GC-MS İle Kimyasal Bileşen Grafiği

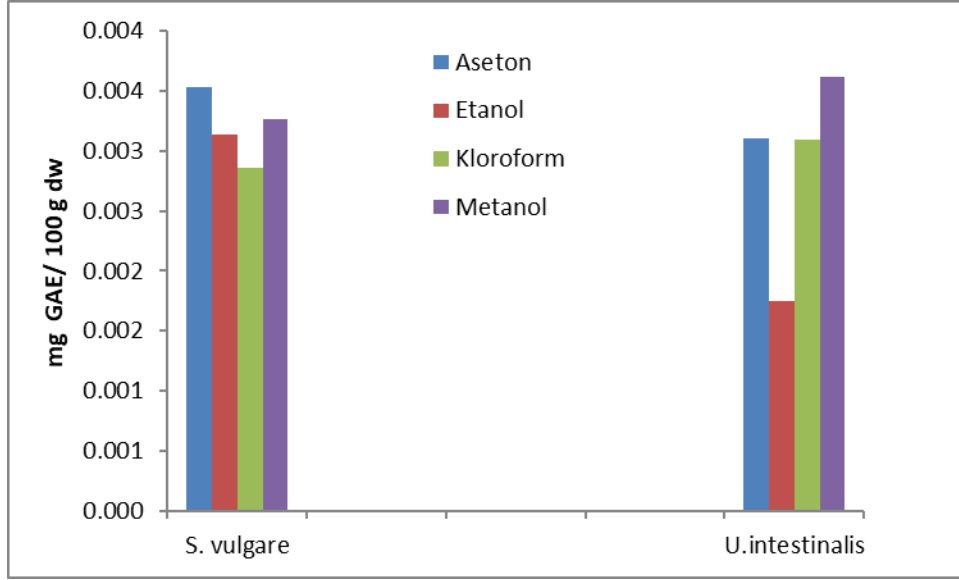
Çalışmamızda *S. vulgare* ve *U. intestinalis*'le yapılan GC-MS analiz sonucunda bulunan etken maddelerin farklı olması yöntem

farklılığından kaynaklanmış olabilir. *S. vulgare* ve *U. intestinalis* 'in GC-MS analiz grafikleri Şekil 2'de gösterilmiştir.

### 3.2. Makroalg Ekstraktlarının Toplam Fenol Miktarları

*Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlardaki toplam fenolik içerik Şekil 3'te verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, ekstraktların toplam fenolik içerikleri, kuru ağırlık bazında *S. vulgare*'de aseton için 0.004 mg GAE/100 g, etanol için 0.003 mg GAE/100 g, kloroform için 0.003 mg GAE/100 g ve metanol için 0.003 mg GAE/100 g; *U. İntestinalis*'de aseton için 0.003 mg GAE/100 g, etanol için

0.002 mg GAE/100 g, kloroform için 0.003 mg GAE/100 g ve metanol için 0.004 mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir. Caf'ın 2014 yılında yaptığı bir çalışmada metanol ekstratı kullanılmış olan *S. vulgare*'nin toplam fenolik içeriği 16.04 mg GAE/100 g olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada değerler arasındaki farklılık kullanılan solvent farklılıklarından dolayı olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3. *S. vulgare* ve *U. intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının toplam fenol miktarlarının gallik asit cinsinden değerleri.

### 3.3. Alg Ekstraktlarının Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde İnhibisyon Zon Çapları ve MİK Değerleri

Kuyucuk difüzyon analizi ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizlerinde kontrol gruplarında; bakterilere karşı pozitif ampisilin antibiyotiği (128 µg/ml), inhibisyon zonu 10 ile 30 mm aralığında, MİK ise 32 ile 64 µg/ml aralığında bulunmuştur. Mantarlara karşı pozitif kullanılan Fukozonol antibiyotiği (128 µg/ml), inhibisyon zonu 5 ile 25 mm aralığında, MİK ise 32 ile 128 µg/ml aralığında bulunmuştur (Erdoğan Eliuz, 2021).

*Sargassum vulgare*'nin kuyucuk difüzyon testine göre en yüksek aktivitesi aseton ekstraksiyonunun *Enterococcus faecalis* (0.36

mm) bakterisine karşı olduğu tespit edilmiştir. *S. vulgare*'de *S. aureus* gram pozitif bakterisi aseton ekstraksiyonuna 0.32 mm, etanol ekstraksiyonuna 0.10 mm etkili olduğu görülmüşken kloroform ekstraksiyonu ve metanol ekstraksiyonuna karşı bir etki göstermediği görülmüştür. *S. vulgare*, *E. faecalis* gram pozitif bakterisi aseton ekstraksiyonuna karşı 0.36 mm etki göstermiştir. Etanol, kloroform ve metanol ekstraksiyonlarına karşı bir etki saptanmamıştır. *Escherichia coli* bakterisi (0.35 mm) ve *Candida parapsilosis* mantarı (0.29 mm) aseton ekstraksiyonuna karşı etki gösterirken etanol, kloroform ve metanol

ekstraksiyonuna karşı etki göstermemiştir. *S. vulgare*'de *Klebsiella pneumoniae* karşı hiçbir ekstraksiyonda etki göstermemiştir. *S. vulgare*, *Candida tropicalis*'e karşı aseton ekstraksiyonu 0.27 mm, etanol ekstraksiyonu

0.26 mm, kloroform ekstraksiyonu 0.21 mm, metanol ekstraksiyonu 0.24 mm olarak etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Sargassum vulgare*'nin IZ değerleri tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2** *Sargassum vulgare*'nin aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının patojenlere karşı inhibisyon zon çapları (mm).

<i>Sargassum vulgare</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<b>Aseton</b>	0.32 <sup>a</sup> ±0.14	<b>0.36<sup>a</sup>±0.03</b>	0.35 <sup>a</sup> ±0.01	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.29 <sup>a</sup> ±0.13	0.27 <sup>a</sup> ±0.02
<b>Etanol</b>	0.10 <sup>b</sup> ±0.09	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.26 <sup>a</sup> ±0.01
<b>Kloroform</b>	0.00 <sup>c</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.21 <sup>a</sup> ±0.01
<b>Metanol</b>	0.00 <sup>c</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.24 <sup>a</sup> ±0.02

*Sargassum vulgare*'nin spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizinde ekstraktlarının MİK değerleri tablo 3'de, *S. aureus*'a karşı 0.01 g/ml ve 0.68 g/ml; *E. faecalis*'a karşı 0.08 g/ml ve 1.20 g/ml; *E. coli*'ye karşı 0.44 g/ml ve 0.68 g/ml; *K. pneumoniae*'e karşı 0.03 g/ml ve 0.63 g/ml; *C. parapsilosis*'e karşı 0.30 g/ml ve 2.77 g/ml; *C. tropicalis*'e karşı 0.11 g/ml ve 1.17 g/ml aralığında

görülmüştür. *S. aureus*'a karşı en düşük (etikili) MİK değeri 0.01 g/ml olarak metanol ekstraktı, *E. faecalis*'e karşı MİK değeri 0.08 g/ml ile aseton ekstraktı, *E. coli*'ye karşı MİK değeri 0.44 g/ml aseton ekstraktı, *K. pneumoniae* 'e karşı MİK değeri 0.03 g/ml ile metanol ekstraktı, *C. parapsilosis*'e karşı MİK değeri 0.30 g/ml aseton ekstraktı, *C. tropicalis*'e karşı 0.02 g/ml metanol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 3.** *Sargassum vulgare*'nin aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının patojenlere karşı MİK değerleri (g/ml)

<i>Sargassum vulgare</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<b>Aseton</b>	0.45 <sup>a</sup> ±0.32	0.08 <sup>a</sup> ±0.08	0.44 <sup>a</sup> ±0.10	0.37 <sup>a</sup> ±0.21	0.30 <sup>a</sup> ±0.23	0.11 <sup>a</sup> ±0.08
<b>Etanol</b>	0.68 <sup>a</sup> ±0.49	0.32 <sup>a</sup> ±0.13	0.51 <sup>a</sup> ±0.26	0.63 <sup>a</sup> ±0.14	1.30 <sup>b</sup> ±0.39	0.45 <sup>a</sup> ±0.13
<b>Kloroform</b>	0.43 <sup>a</sup> ±0.23	1.20 <sup>b</sup> ±1.05	0.52 <sup>a</sup> ±0.20	0.50 <sup>a</sup> ±0.05	1.04 <sup>b</sup> ±0.41	1.17 <sup>b</sup> ±0.37
<b>Metanol</b>	0.01 <sup>a</sup> ±0.00	0.40 <sup>a</sup> ±0.20	0.68 <sup>a</sup> ±0.33	0.03 <sup>a</sup> ±0.04	2.77 <sup>b</sup> ±1.37	0.02 <sup>a</sup> ±0.01

Shafay vd. (2016) yaptığı çalışmada, metanol, etanol ve kloroform ekstraksiyonlarını farklı konsantrasyonlarda (50-75 mg/l, 100 µl) kullanarak *Staphylococcus aureus* antimikrobiyal etkisine bakmışlardır. Ekstraksiyonları hazırlanırken 5 gr makroalg, 40 ml çözücü kullanmışlardır. Kloroform ekstraksiyonunda 11.83 mg/ml konsantrasyonda MİK

değerini bulmuşlardır. Metanol ve etanol ekstraksiyonlarında MİK değerleri 0 olarak tespit edilmiştir. Kullanılan örnek miktarının ve konsantrasyonlardaki farklılıktan dolayı değerlerdeki etki miktarı değişmektedir. Aras ve Sayın (2020) yaptığı çalışmada *S. vulgare*'nin *S. aureus*'a ve *E. coli*'ye karşı anti-

mikrobiyal etki göstermediğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan çözücülerin ve antimikrobiyal analizler için kullanılan yöntemlerin farklılığından kaynaklı etki değerleri olabileceği düşünülmüştür. Taşçı'nın 2020'deki çalışmasında *S.vulgare*'nin antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. Antimikrobiyal etkileri için *E. coli* (ATCC® 25922™), *S. aureus* (ATCC® 25923™) patojenleri kullanılmıştır. Ekstraksiyonların farklı konsantrasyonlarına göre etkilerine bakılmış, SV-7(1875 µg/ml konsantrasyon oranı), SV-27(830 µg/ml konsantrasyon oranı) bileşikleri ve SV-64-65(1250 µg/ml konsantrasyon oranı) nolu fraksiyonları *S.aureus*'a karşı etkin bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada da metanol ekstraksiyonundaki en etkili değer *S.aureus* 'da görülmüştür. Bu durum, Taşçı (2020)'nin çalışmasıyla paralellik göstermiş-

tir. Literatür taramalarında ve yaptığımız çalışmada varılan sonuca göre *S.vulgare* türü antimikrobiyal açıdan etkili bir tür olduğu düşünülmüştür.

*Ulva intestinalis*'in ise kuyucuk difüzyon testine göre en yüksek aktivitesi kloroform ekstraksiyonunun *S. aureus* bakterisine karşı 0.23 mm olduğu tespit edilmiştir. *U. intestinalis*'in *S. aureus* bakterisine karşı aseton ekstraksiyonu 0.18 mm, kloroform ekstraksiyonu 0.23 mm, metanol ekstraksiyonu 0.20 mm olarak tespit edildi. *E. coli* sadece etanol ekstraksiyonunda 0.18 mm olarak tespit edilmiş ve diğer ekstraksiyonlarda etkisi görülmemiştir. *C. tropicalis* aseton ekstraksiyonunda 0.19mm etkisi tespit edilmiştir. *Ulva intestinalis*'in IZ değerleri tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** *Ulva intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının patojenlere karşı inhibisyon zon çapları (mm).

<i>Ulva intestinalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<b>Aseton</b>	0.18 <sup>a</sup> ±0.01	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.19 <sup>a</sup> ±0.01
<b>Etanol</b>	0.00 <sup>b</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.18 <sup>b</sup> ±0.08	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00
<b>Kloroform</b>	0.23 <sup>a</sup> ±0.02	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00
<b>Metanol</b>	0.20 <sup>a</sup> ±0.02	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>a</sup> ±0.00	0.00 <sup>b</sup> ±0.00

*U. intestinalis* ekstraktlarının mik değerleri tablo 5'de, *S.aureus*'a karşı 0.25 g/ml ve 0.67 g/ml; *E. faecalis*'a karşı 0.02 g/ml ve 0.21 g/ml; *E. coli*'ye karşı 0.01 g/ml ve 0.30 mg/ml; *K. pneumoniae*'e karşı 0.03 g/ml ve 1.78 g/ml; *C. parapsilosis*'e karşı 0.18 g/ml ve 0.22 g/ml; *C. tropicalis*'e karşı 0.02 g/ml ve 0.22 g/ml aralığında bulunmuştur. *S. aureus*'a karşı en düşük (etkili) MİK değeri 0.25 g/ml olarak kloroform ekstraktı, *E.faecalis*'e karşı MİK değeri 0.02 g/ml ile kloroform ekstraktı, *E. coli*'ye karşı MİK değeri 0.01 g/ml aseton ekstraktı, *K. pneumoniae* 'e karşı MİK değeri 0.03 g/ml ile metanol ekstraktı, *C. parapsilosis*'e karşı MİK değeri 0.18 g/ml

aseton ekstraktı, *C. tropicalis*'e karşı 0.02 g/ml metanol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Aras ve Sayın (2020) yaptığı çalışmada *U. intestinalis*'in yağını çalışılmışlardır. *S.aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini, *E.coli*'ye karşı aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Yaptığımız çalışmada *U. intestinalis*'in *S.aureus* ve *E.coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur. Bu durum, alg yağlarının ve ekstraktların farklı antimikrobiyal etkiler oluşturacağını göstermiştir. Doğal olarak yağ ve ekstrakt içerikleri kimyasal olarak farklıdır.



**Tablo5.** *Ulva intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol patojenlere karşı MİK değerleri (g/ml)

<i>Ulva intestinalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<b>Aseton</b>	0.38 <sup>a</sup> ±0.61	0.11 <sup>a</sup> ±0.13	0.01 <sup>a</sup> ±0.00	1.18 <sup>b</sup> ±0.68	0.18 <sup>a</sup> ±0.13	0.10 <sup>a</sup> ±0.13
<b>Etanol</b>	0.67 <sup>a</sup> ±0.32	0.21 <sup>a</sup> ±0.12	0.04 <sup>a</sup> ±0.02	0.44 <sup>a</sup> ±0.20	0.21 <sup>a</sup> ±0.03	0.18 <sup>a</sup> ±0.15
<b>Kloroform</b>	0.25 <sup>a</sup> ±0.13	0.02 <sup>a</sup> ±0.01	0.30 <sup>a</sup> ±0.10	1.78 <sup>b</sup> ±1.47	0.19 <sup>a</sup> ±0.06	0.22 <sup>a</sup> ±0.32
<b>Metanol</b>	0.66 <sup>a</sup> ±0.47	0.07 <sup>a</sup> ±0.10	0.08 <sup>a</sup> ±0.13	0.03 <sup>a</sup> ±0.02	0.22 <sup>a</sup> ±0.05	0.02 <sup>a</sup> ±0.01

Aydın (2021) yaptığı çalışmada *U. intestinalis*'den elde edilen metanol ekstraksiyonun etkisi *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* patojenleri üzerine araştırılmıştır. *U. intestinalis*'in metanol ekstraktlarından elde ettiğimiz MİK değerlerini Aydın'ın yaptığı çalışmayla kıyasladığımızda bulunan değerler doğrultusunda çalışmanın daha etkili olduğu görülmüştür. Aydın (2021) çalışmasında ekstrat metodu olarak, kurutulmuş algler 2 hafta boyunca metanol içerisinde bekletilmiş, elde edilen ekstraksiyon filtre kağıdından geçirildikten sonra 50°C'de buharlaştırılmış. Saflaştırılan algler 250 mg/ml DMSO içinde çözdürülmüş ve enson olarak 0.45 mm'lik şırınga filtreden geçirmişlerdir. Çalışmamızla Aydın'ın çalışmasındaki ekstraksiyon arasındaki farklılıktan dolayı etkinlik düzeyleri farklılık göstermiş olabileceği gibi, bu farklılığın nedeni ekstraksiyonlardaki etken maddelerin farklılığından da kaynaklanmış olabilir. MİK'in çalışmamızda daha düşük olması (etkili) ekstraksiyonun içindeki 2-Phenyl-5-methoxy-oxadiazol etken maddesinden kaynaklanmış olabilir.

Çınar (2012) *U. intestinalis* metanol ekstraktının inhibisyon zonlarını şöyle belirledi: *E. coli* (21 mm), *E. faecalis* (14 mm) ve *S. aureus* (17 mm). Bu çalışmada ise *E. faecalis* ve *E. coli* bakterileri *U. intestinalis* kloroform ve metanol ekstraktlarına karşı dirençli idi (0 mm). Ancak, her iki ekstrakt *S. aureus* bakterisi üzerinde inhibisyon etkiye sahipti (*U. intestinalis*'in kloroform özütü ve metanol özütünün *S. aureus* üzerinde IZ'ları sırasıyla

0.23 mm ve 0.20 mm. Bu durum bu çalışmada kullanılan ekstrakt konsantrasyonun farklılığından kaynaklanmış olabilir. Çünkü, Çınar (2012) çalışmasında algleri 10-15 gram'lık ağırlıklarda çözücülere eklerken (2:3); bu çalışmada 2 gramlık alg miktarları 40 ml çözücüde kullanıldı.

Kurutulmuş *U. intestinalis* algi ile metanol/kloroform/saf su (1:1:0,9) karışımı oluşturulmuş ve bu özütün antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada, *E. coli* bakterisi *U. intestinalis* özütüne karşı hassas iken, *S. aureus* oldukça dirençli bulunmuştur (Aras 2020). Bizim çalışmamızda ise, sadece *U. intestinalis* etanol ekstraktı *E. coli*'yi inhibe etti. Ancak, *U. intestinalis* metanol/kloroform/saf su ekstraksiyonunun aksine, *U. intestinalis* aseton (0.18 mm), kloroform (0.23 mm) ve metanol ekstraktı (0.20 mm) *S. aureus* için etkili bir ajandı. Bu etki düşük olsa da, daha yoğun bir konsantrasyonla etki iyileştirilebilir.

Ayrıca, *Ulva*'nın başka bir türü olan *Ulva lactuca* ile hazırlanan 6 farklı ekstraktın (metanol ekstraktı, damıtma metanol, distile su ekstraktı, dimetil sulfoxid ekstraktı, aseton ekstraktı ve damıtma aseton) *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* gibi birçok patojene karşı etkisiz olduğu belirlenmiştir (Ak-söz, 2016). Çalışmamızda da *U. intestinalis* benzer şekilde *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *C. parapsilosis* için etkisiz bir ajandı. Ancak, *U. intestinalis*'in aseton, kloroform ve metanol ekstraktları *S. aureus* üzerinde etkili bulundu

#### 4. Sonuçlar ve Öneriler

Hızla artan dünya nüfusu ve küresel iklim krizi ile birlikte gıda hammaddelerinin azalması dolayısıyla insanlığın gıda erişimine ulaşımının zorlaşmasının her geçen yıl daha fazla olacağı öngörülmektedir. Gelecekte gıda güvenliği ve sağlığı açısından ürünlerin bozulmadan saklanabilmesi ve mikrobiyal olarak kontaminasyonun engellenmesi için antimikrobiyal ajanların doğal kaynaklardan elde edilebilmesi önemli araştırma konularından biri olacağı düşünülmektedir. Bu yönüyle, makroalgler antimikrobiyal özelliklerinden dolayı endüstriyel kullanımda bugün olduğu gibi gelecekte de önemli bir yere sahip olacaktır. Gerek ekonomik olarak birçok sektöre hammadde sağlaması gerekse ikincil metabolitlerinin antimikrobiyal ajan olarak kullanılma potansiyeli nedeni ile makroalgler önemli doğal kaynaklardan biridir ve keşfedilmeyi bekleyen önemli canlı kaynaklardan biridir.

Bu çalışmada toplanan makroalg türlerinin antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. *Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis* türlerine ait ekstraksiyonlardan agar kuyucuk dilüsyon yöntemi ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak gram pozitif bakteri suşlarından *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'e ve maya olarak da *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteler tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *S.vul-*

*gare* ve *U.intestinalis* üzerinde de yapılan antimikrobiyal etkilerle ilgili çalışmalar farklı yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir. Bu yöntemler birbirleri arasında kıyaslanarak en etkili antimikrobiyal oranlar karşılaştırılabilir.

Çalışmada ekstraksiyonların alg türlerine karşı etkilerinin farklı olduğu görülmektedir. Bu anlamda antimikrobiyal etkilere bakılırken ekstraksiyon türlerini artırarak alglerdeki antimikrobiyal etki değerleri kıyaslanabilir.

Gıda, tarım, ilaç, eczacılık, sanayi ve kozmetikte kullanılan makroalgler, denizlerin altın değerindeki kaynaklarından biridir. Algler ikincil metabolitler yönüyle zengin olduklarından dolayı birçok alanın gelişmesinde kullanılabilir ürünlerdir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, alglerin anti inflamatuvar, antikanser, antitümör, anti oksidan, anti-viral, antikoagülan gibi birçok biyolojik özellikleri ortaya çıkarılmalı ve biyoteknolojik uygulamalarda önemli bir kaynak olarak daha fazla kullanılmalıdır.

Çalışmada kullanılan alg türleri antibakteriyel aktivite özelliği göstermesinden dolayı umut vericidir. Bu alglerle ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Geleneksel tıp sistemini bilimin ışığında standart bir ilaç sistemine dönüştürmek için algler önemli bir rol oynayabilir. Bu nedenle, bu alglerin antimikrobiyal aktivitesinin varlığını doğrulayan bu çalışma, ileriye dönük gerçekleştirilecek olan çalışmalar için bir kaynak görevi göreceği düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi BAP tarafından 2020-1-TP3-4043 numaralı proje ile desteklenmiştir.

#### Kaynaklar

Aktar, S., Cebe, G.E. (2010) Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi. 39(3):237-264.

American Chemical Society (2000) Dimethyl sulfoxide (dmsol) a "new" clean, unique, superior solvent. Washington, DC.

- Aras, A., Sayın, S. (2020) Geleceğin Fonksiyonel Ürünleri için Bazı Denizel Makroalgelerin Potansiyellerinin Belirlenmesi. *MedFAR*. 3(1):22-35.
- Aydın, B. (2021) Antibacterial Activities of Methanolic Extracts of Different Seaweeds from Iskenderun Bay. *International Journal of Secondary Metabolite*, 8(2):120–126.
- Bhadury, P., Wright, P.C. (2004) Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*. 219:561- 578.
- Cirik Ş., Cirik S. (2011) Su bitkileri I- Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi ve Yetiştirme Teknikleri, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları.
- Çınar, B.E. (2012) Deniz alglerinin antimikrobiyal, antitümoral, antiprotozoal ve asetilkolinesteraz aktiviteleri. Yüksek lisans Tez, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
- Erdoğan Eliuz, E. (2021) Antimicrobial Activity and Mechanism of Essential Oil of Endemic *Salvia hypargeia* Finc. and Mey. in Turkey. *Indian J Microbiol* <https://doi.org/10.1007/s12088-021-00939-1>.
- Ergüler, G.K. (2022) Açık Denizde Plankton Varlığı ile Hidrokarbon Enerji Kaynaklarının Belirlenmesi Çalışmaları: Doğu Karadeniz Örneği. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 34(2):206-216.
- Gül, E. (2019) Algler nedir? Görevleri nelerdir? 17 Mayıs Ekim 2022 tarihinde <https://www.bilgiustam.com /algler-nedir-gorevleri-nelerdir/#comments> adresinden erişildi.
- Kulkarni, S. A., Krishnan, S. B., Chandrasekhar, B., Banerjee, K., Sohn, H., Madhavan, T. (2021) Characterization of Phytochemicals in *Ulva intestinalis* L. and Their Action Against SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Receptor-Binding Domain. *Frontiers in Chemistry*. 9, Article 735768. doi: 10.3389/fchem.2021.735768.
- Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A., Moreira, W.S.C. (2006). Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technology*. 97:2402–2406.
- Oğur S. (2016) Kurutulmuş alglerin besin değeri ve gıda olarak kullanımı. *Ege su ürünleri ve balıkçılık dergisi*. 33(1):67-79.
- Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., Moran, N. (2005) Use of a Spectrophotometric Bioassay for Determination of Microbial Sensitivity to Manuka Honey, *J Microbiol Methods*. 64(2006):84-95.
- Peksezer, B., Alp, M.T., Ayas, D. (2021) The Economic Importance of Macroalgae. *Advanced Underwater Sciences*. 1(1): 21-26.
- Ragunathan, V., Pandurangan, P., Ramakrishnan, T. (2019) Gas Chromatography-mass spectrometry Analysis of Methanol Extracts from Marine Red Seaweed *Gracilaria corticata*. *Pharmacogn J*. 11(3):547-554.
- Shafay, S. M., Ali, S.S., Sheekh, M. M. (2016) Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bacteria. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 42:65-74.
- Taşçı, A.Y. (2020) *Sargassum vulgare*'den elde edilen sekonder metabolitlerin yapılarının aydınlatılması ve sitotoksik, antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Turna, İ.İ., Durucan, F., Kuşat, M. (2012) Çayağzı Deresi'nin (Antalya) ekonomik yeşil algleri konusunda bir ön çalışma. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. 8(1):57-62