

Bazı Bitkilerin Etil Alkol Ekstrelerinin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Özlem Gülmez^{1*} Ömer Faruk Algur¹

¹Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

*e-mail: ozlmg90@gmail.com

Geliş tarihi/Received:18/04/2019

Kabul tarihi/Accepted:12/07/2019

Özet

Bu çalışmada Erzurum ve çevresinden temin edilen; kocayemiş (*Arbutus unedo L.*), kızsöğüt (*Alnus glutinosa L.*), ayı üzümü (*Vaccinium myrtillus L.*), atkuyruğu (*Equisetum arvense L.*), livor (*Sambucus nigra L.*) ve ökse otu (*Viscum album L.*) bitkilerinin alkol özütleri elde edilmiş ve 5, 10, 20, 40, 60 µl konsantrasyonlarda *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella oxycota*, *Arthobacter agilis* bakterileri ve *Candida albicans* mayası üzerindeki antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. Bitkilerin teşhisi Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır. En iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olan bitki özütünün kızsöğüt bitkisine ait olduğu ve herhangi bir etki göstermeyen bitki özütünün ise ayı üzümü olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimler: Bitki alkol özütü, Antimikrobiyal, Antifungal

Determination of Antimicrobial Properties of Ethyl Alcohol Extracts of Some Plants

Abstract

In this study, obtained from Erzurum and its environs; alcohol extracts of plants kocayemiş (*Arbutus unedo*), kızsöğüt (*Alnus glutinosa*), ayı üzümü (*Vaccinium myrtillus*), atkuyruğu (*Equisetum arvense*), livor (*Sambucus nigra*) and ökse otu (*Viscum album*) were obtained. Antimicrobial effects of different concentrations (5, 10, 20, 40, 60 µl) of plants extracts were determined on *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella oxycota*, *Arthobacter agilis* bacteria and *Candida albicans* yeast. Plants were identified at the Biology Department of Atatürk University. It is determined that the plant extract with the best antimicrobial activity belongs to the kırmızı söğüt plant and the plant extract that does not show any effect belong to ayı üzümü.

Keywords: Plant alcohol extract, Antimicrobial, Antifungal.

Giriş

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde aşırı antibiyotik kullanımı ile birlikte antibiyotiklere dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması dünyanın yüzleştiği ciddi sağlık problemlerinden biridir. Ticari antibiyotiklere karşı çoklu dirençli olan bakterilerin artması ve yayılması hastalıkların tedavisinin uzun sürmesine hatta ölümlere sebebiyet vermektedir (Valle ve ark., 2015; Alsnafi, 2016). Tedavi için kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler yan etki göstermekte ve oldukça da pahalıdır. Bu nedenle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde potansiyel olarak etkili olabilecek diğer alternatif kaynaklar araştırılmaktadır. Bu amaçla kullanılabilir en iyi kaynaklar bitkilerdir (Moussaoui ve Alaoui, 2015; Sermeniuc ve ark., 2017; Abreu ve ark., 2017).

Bitkiler çok eski zamanlardan beri tedavi amaçlı kullanılmış, günümüzde de alternatif tıpta halen kullanılmaktadır (Taylor ve ark., 2013). Tıbbi ve aromatik bitkiler doğal floranın büyük bir kısmını oluşturmakta, farmakoloji, parfümeri, kozmetik endüstrisinin temel kaynağı durumundadır (Swemy ve Sinniah, 2016).

Besleyici özelliklerinin dışında bitkiler sahip oldukları sekonder metabolitler, flavonoidler, alkaloidler, terpenler ve uçucu yağlar içermeleri ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaları nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Sepahvand ve ark., 2014). Bu amaçla bitki kök, gövde, yaprak, kabuk ve meyveleri çeşitli bakteri ve funguslara karşı antimikrobik unsur olma potansiyeli araştırılmakta ve şaşırtıcı sonuçlar elde edilmektedir (Abreu ve ark., 2017).

Son yıllardaki çalışmalarda bitki kısımlarının dışında bitki özütlerinin antifungal, anti bakteriyel, antiviral ve biyoaktif özellikleri incelenmektedir (Oliveira ve ark. 2016). Soğan, zencefil, zerdeçal, tarçın, aloe vera, hint defnesi, böğürtlen, yavşan, hasırotu, mersin bitkisi gibi birçok bitki türünün biyoaktif madde içerikleri belirlenmeye çalışılmıştır (Gomathi ve ark. 2015; Sharifi Rad ve ark., 2017).

Çevremizde bulunan ve kocayemiş (yaban mersini), kızılsöğüt, ökse otu, ayı üzümü, atkuyruğu ve livor halk isimleriyle bilinen bitkilerin çeşitli kısımlarının bitki özütlerinin antimikrobiyal içeriklerinin belirlenmesi bu çalışmanın amacıdır.

Materyal ve Yöntem

Bitki materyalleri

Çalışmada kullanılan bitkiler Erzurum çevresinden temin edilmiş ve özüt elde edilen kısımları Çizelge 1’de verilmiştir.

Kullanılan bitkilerin kodları; kocayemiş (KY), kızılsöğüt (KS), ayı üzümü meyve (AÜM), yaprağı (AÜY) at kuyruğu (AK), ökse otu (ÖO) ve livor için (LVR) kullanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada materyal olarak kullanılan bitkiler ve özüt elde edilen kısımları

Halk Arasındaki Adı	Familyası	Bitkinin Tür Adı	Kullanılan Kısım
Koca yemiş	Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Meyve
Kızıl söğüt, kızıl ağaç	Betulaceae	<i>Alnus glutinosa</i>	Yaprak
Ayı üzümü, yaban mersini	Ericaceae	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Meyve ve yaprak
Livor, Mürver, Şahmelik otu	Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i>	Meyve
Atkuyruğu	Equisetaceae	<i>Equisetum arvense</i>	Yaprak
Ökse otu, purç, gökçe, gevelek	Santalaceae	<i>Viscum album</i>	Yaprak

Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı mikroorganizma kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar; *E. coli* (yerel izolat), *K. Oxygota* (yerel izolat), *B. cereus* (BC-On Ozdal ve ark., 2016a), *A. agilis* (A17 Ozdal ve ark., 2017) bakterileri ve *C. albicans* (yerel izolat) mayasıdır. Tüm denemelerde 18 saatlik aktif kültürlerden yararlanılmış ve bitki özütleri her mikro organizma için ayrı ayrı test edilmiştir.

Bitki Özütlerinin Eldesi

Her bir bitki materyalinden 150 gr tartılmış yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 500 ml etanolün içine konulmuş ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalanmıştır. Daha sonra 3000 rpm’de 5 dk süreyle santrifüj edilmiş süpernatant kısmı watman no1 filtre kağıdından geçirilerek tekrar üzerine 30 ml etanol konulmuş 50 °C’lik evaporatörden geçirilerek +4 °C’de muhafaza edilmiştir (Basri ve Fan 2005). Etanol ekstraheleri, distile suda çözülerek antimikrobiyal çalışmalarında kullanılmıştır.

Antimikrobiyal Etkilerin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları disk difüzyon metodu kullanılarak yapılmıştır (Bauer- Kirby, 1966). Bitki özütleri 5, 10, 20, 40, 60 µl olacak şekilde 6mm’lik boş streil disklerle emdirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite testi için Müeller-Hinton Agar (bakteri için) ve Sabouraud Dextrose Agar (maya için) kullanılmıştır. Tüm denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve inkubasyon sonrası, oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden kayıt altına alınmıştır.

Bulgular

C. albicans mayası için bitki özütlerinin antifungal etkileri Çizelge 2’de verilmiş olup ayı üzümü yaprak ve meyve özütü, atkuyruğu özütü antifungal etki göstermemiştir.

Çizelge 2. *C. albicans* için özütlerin antifungal etkileri

<i>C.albicans</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	0,4	-	0,6	-	-	-	-
20µL	0,5	-	0,8	-	-	-	-
40µL	0,7	-	11	-	-	0,3	-
60µL	10	-	13	-	-	0,6	0,5

E. coli bakterisi için bitki özütlerinin antibakteriyal etkileri belirlenmiş ayı üzümü bitki özütünün hiçbir konsantrasyonu antibakteriyal etki göstermemiştir (Çizelge 3.).

Çizelge 3. Bitki özütlerinin *E.coli* üzerindeki etkisi

<i>E.coli</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	0,3	-	-	-	-
20µL	-	-	0,7	-	-	-	-
40µL	0,5	-	10	-	0,3	0,5	-
60µL	0,8	-	15	-	0,5	10	0,7

B. cerreus bakterisi için bitki özütlerinin antibakteriyel etkileri çizelge 4’de özetlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda etki gösteren bitki kıızılsöğüt (KS) olurken hiç etki göstermeyen bitki özütü ayı üzümü (AÜM ve AÜY) olmuştur.

Çizelge 4. Bitki özütlerinin *B.cerreus* üzerindeki etkisi

<i>B.cerreus</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	-	-	-	-	-
20µL	-	-	0,7	-	-	-	-
40µL	0,5	-	11	-	0,5	0,5	-
60µL	10	-	15	-	0,7	12	10

Bitki özütlerinin antibakteriyel etkisi kıızılsöğütün dört farklı konsantrasyonda *K. oxycota*’yı etkilemişken ayı üzümünün hiçbir konsantrasyonu bu bakterinin gelişmesini etkilememiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Bitki özütlerinin *K. oxycota* üzerindeki etkisi

<i>K.oxycota</i>	İnhibisyon zonları(mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	0,3	-	-	-	-
20µL	-	-	0,6	-	-	-	-
40µL	0,5	-	12	-	-	0,5	-
60µL	0,8	-	17	-	0,7	10	10

A. *agilis* içinde en iyi sonuçları veren kıızılsöğüt olup sonuçlar Çizelge 6’da verilmiştir.

Çizelge 6. Bitki özütlerinin *A. agilis* üzerindeki etkisi

<i>A.agilis</i>	İnhibisyon zonları (mm)						
	KY	AÜM	KS	AÜY	AK	ÖO	LVR
5µL	-	-	-	-	-	-	-
10µL	-	-	-	-	-	-	-
20µL	-	-	0,6	-	-	-	-
40µL	0,7	-	10	-	-	0,5	-
60µL	10	-	20	-	0,9	10	10

Tartışma ve Sonuç

Farklı bitkilerin farklı kısımları (kök, gövde, meyve) biyoaktif maddeler içermektedir. Bu biyoaktif bileşenler; flavonoidler, terpenler, karotenoidler, uçucu yağlar olabilir. Bitkilerin sekonder metabolitleri ve bitki özütleri çeşitli çalışmalarda patojen bakteri ve funguslara karşı denenmiş ve belli konsantrasyonlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur (Konyalıoğlu ve ark., 2005; De Martino ve ark., 2009; Oliviera ve ark., 2016; Sharifi Rad ve ark., 2017).

Bitkilerin yaprak ve meyveleri antioksidan madde içerdiklerinden dolayı gram pozitif ve gram negatif bakterilerin büyüme ve gelişmesini engellemektedir (Al Matani ve ark., 2015).

Çalışmamızda kullanılan kocayemiş (*Arbutus unedo*), bitki özütünün 40 µl ve daha sonraki konsantrasyonda antimikrobiyal etki göstermiş olup literatür çalışmalarına paralellik göstermektedir (Dib ve ark., 2013). Bölgemizden elde edilen *Alnus glutinosa* (kızılsöğüt) bitki özütünün antibakteriyal ve antifungal etkiye sahip olduğu ve hemen hemen her konsantrasyonda mikroorganizmaların gelişimini engellediği belirlenmiştir (Çizelge 2, 3, 4, 5, ve Çizelge 6). Çalışma sonucumuz literatür bilgileriyle örtüşmektedir (Dahija ve ark., 2014).

Ayı üzümü (*Vaccinium myrtillus*), bitkisinin hem meyve hem de yapraklarını özütü kullanılmış hiçbir konsantrasyonda antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. *V. Myrtillus*'un antimikrobiyal çalışmalarıyla karşılaştırıldığında Erzurum çevresinden toplanan bitkinin antimikrobiyal etkiye sahip olmaması bölgesel farklılıklardan olabileceği ihtimalini düşündürmektedir (Vuvic ve ark., 2013). Ya da çalışmada kullandığımız konsantrasyonlar üzerinde antimikrobiyal etki gösterebileceği veyahut etil alkol yerine başka çözücüler kullanılarak özüt eldesinde farklı antimikrobiyal etki göstereceği düşünülmektedir (Çizelge 2, 3, 4, 5, ve 6).

Atkuyruğu (*Equisetum arvense*) düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkiye sahip olmayan atkuyruğu özütü 40 ve 60 µl 'de aktivite göstermiştir. Daha önceki çalışmalarda gram pozitif bakterilerin gelişimini gram negatif bakterilere göre daha fazla inhibe ettiği bulunmuştur (Pereira ve ark., 2012). Sonuçlarımız bulguları desteklemektedir. Ayrıca antifungal özelliğe sahip olmadığı bulunmuştur (Çizelge 2, 5 ve 6).

Livor (*Sambucus nigra*) bitki özütünün 60 µl 'si hem antifungal hem de antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2, 3, 4, 5 ve 6). Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkileri çalışılmış günümüzde de tıbbi ve aromatik bitki özütlerinin antimikrobiyel etkisi çalışılmaktadır. Bu bitkilerden olan ökse otunun çeşitli çözücülerdeki özütleri farklı mikroorganizmalara karşı kullanılmış ve etkili sonuçlar bulunmuştur (Hussain ve ark. 2011). Bu çalışmada da ökse otunun etil alkol özütü kullanılmış ve 40 µl den sonra antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 2, 3, 4, 5 ve 6).

Çalışmamızda Erzurum çevresinden toplanan bitkilerin alkol özütleri elde edilerek, 5, 10, 20, 40, 60 µl konsantrasyonlarda *E.coli*, *B. Cerreus*, *K. Oxycota*, *A. agilis* bakterileri ve *C. albicans* mayasının büyüme ve gelişmesini engelleyip engellemediğine bakılmış ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarımıza göre; sadece ayı üzümü bitkisinin çalışmada kullanılan konsantrasyonlarının hiç birinin büyüme ve gelişmeyi durdurmadığı bulunmuştur. Kızılsöğütü en iyi antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği söylenebilir.

Ayrıca çalışmada etanol özütleri kullanılmış olup farklı organik çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkileri belirlenebilir ayı üzümü bitkisinin daha yüksek konsantrasyonlarının antimikrobiyal etkileri bulunabilir.

Kaynaklar

Abreu, O. A., Sánchez, I., Barreto, G., Campal, A. C. (2017). Poor antimicrobial activity on seven cuban plants. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 8(1), 11.

- Al-Matani, S. K., Al-Wahaibi, R. N. S., Hossain, M. A. (2015). Total flavonoids content and antimicrobial activity of crude extract from leaves of *Ficus sycomorus* native to Sultanate of Oman. *Karbala International Journal of Modern Science*, 1(3), 166-171.
- Al-Snafi, A. E. (2016). Medicinal plants with antimicrobial activities (part 2): Plant based review. *Sch Acad J Pharm*, 5(6), 208-239.
- Basri, D. F., Fan, S. H. (2005). The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian journal of Pharmacology*, 37(1), 26.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4-ts), 493-496.
- Bessa Pereira, C., Gomes, P. S., Costa-Rodrigues, J., Almeida Palmas, R., Vieira, L., Ferraz, M. P., Fernandes, M. H. (2012). Equisetum arvense hydromethanolic extracts in bone tissue regeneration: in vitro osteoblastic modulation and antibacterial activity. *Cell proliferation*, 45(4), 386-396.
- Dahija, S., Čakar, J., Vidic, D., Maksimović, M., Parić, A. (2014). Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Alnus incana* (L.) Moench and *Alnus viridis* (Chaix) DC. extracts. *Natural product research*, 28(24), 2317-2320.
- De Martino, L., De Feo, V., Fratianni, F., Nazzaro, F. (2009). Chemistry, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of volatile oils and their components. *Natural product communications*, 4(12), 1741-50.
- Dib, M. E. A., Allali, H., Bendiabdellah, A., Meliani, N., Tabti, B. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(4), 381-385.
- Gomathi, D., Kalaiselvi, M., Ravikumar, G., Devaki, K., Uma, C. (2015). GC-MS analysis of bioactive compounds from the whole plant ethanolic extract of *Evolvulus alsinoides* (L.) L. *Journal of food science and technology*, 52(2), 1212-1217.
- Hussain, M. A., Khan, M. Q., Hussain, N., Habib, T. (2011). Antibacterial and antifungal potential of leaves and twigs of *Viscum album* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(23), 5545-5549.
- Konyalioğlu, S., Sağlam, H., Kivçak, B. (2005). α -tocopherol, flavonoid, and phenol contents and antioxidant activity of *Ficus carica*. leaves. *Pharmaceutical biology*, 43(8), 683-686.
- Moussaoui, F., Alaoui, T. (2016). Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), 32-37.

- Oliveira, B. D. Á., Rodrigues, A. C., Cardoso, B. M. I., Ramos, A. L. C. C., Bertoldi, M. C., Taylor, J. G., Pinto, U. M. (2016). Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of *Rubus rosaefolius* phenolic extract. *Industrial Crops and Products*, 84, 59-66.
- Ozdal, M., Ozdal, O. G., Sezen, A., Algur, O. F. (2016a). Biosynthesis of indole-3-acetic acid by *Bacillus cereus* immobilized cells. *Cumhuriyet Science Journal*, 37, 212-222.
- Ozdal, M., Ozdal, O. G., Algur, O. F. (2016b). Isolation and characterization of α -endosulfan degrading bacteria from the microflora of cockroaches. *Polish Journal of Microbiology*, 65, 63-68.
- Semeniuc, C. A., Pop, C. R., Rotar, A. M. (2017). Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal Of Food And Drug Analysis*, 25(2), 403-408.
- Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Veiskarami, G. H., Ghasemian-Yadegari, J. (2014). Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S491-S496.
- Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., Ayatollahi, S. A., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, M., Afdjei, M. H., Sharifi-Rad, M., Iriti, M. (2017). Plants of the Melaleuca genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475-1494.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- Taylor, P., Arsenak, M., Abad, M. J., Fernández, Á., Milano, B., Gonto, R., ... & Michelangeli, F. (2013). Screening of Venezuelan medicinal plant extracts for cytostatic and cytotoxic activity against tumor cell lines. *Phytotherapy Research*, 27(4), 530-539.
- Valle Jr, D. L., Andrade, J. I., Puzon, J. J. M., Cabrera, E. C., Rivera, W. L. (2015). Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, 5(7), 532-540.