

***Ferula Longipedunculata* Peşmen Türünün Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi**

Ali Göçeri¹  Ekrem KİRECÇİ²  Mehmet Hakkı ALMA³ 

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyomühendislik ve Bilimleri, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye
² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye
³ Iğdır Üniversitesi, 76410, Türkiye

(İlk Gönderim / Received: 17. 02. 2020, Kabul / Accepted: 20. 07.2020, Online Yayın / Published Online: 27. 07. 2020)

Anahtar Kelimeler
Antimikrobiyal
aktivite,
Disk difüzyon,
Ferula
longipedunculata
Peşmen

Özet: Bu çalışmada Kahramanmaraş ilindeki Berit Dağı'nda yetişen ve o bölgede endemik olan *Ferula longipedunculata* Peşmen bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Bu bitkinin kök, yeşil ve sap kısımlarından ekstraktların (25 µl) antimikrobiyal etkilerini belirlemek için disk difüzyon metodu kullanıldı. Antimikrobiyal aktivite analizinde, bitkinin kök kısmı ekstraktının yeşil ve sap kısmı ekstraktlarına göre daha iyi antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bitkinin sap kısmının antimikrobiyal etkisi yeşil kısma göre daha iyi sonuç vermiştir. Ayrıca kök kısmının funguslara oranla bakterilerden daha az antimikrobiyal etki gösterdiği ve bitkinin yeşil kısmının funguslara karşı etkili olmadığı belirlenmiştir. Kök kısmı en iyi aktiviteyi metanol ve aseton ekstraktında *Staphylococcus aureus* Cowan1 bakterilerine (27-24 mm) karşı göstermiştir. Çalışma sonucunda coğrafyamızın zenginlik kaynakları olan tıbbi ve aromatik bitkilerin değerlendirilip yeni bilimsel çalışmalara yön verebileceği fikrini vermiştir.

The Determination of Antimicrobial Activity of *Ferula Longipedunculata* Peşmen

Keywords:
Antimicrobial
activity,
Disk diffusion,
Ferula
longipedunculata
Peşmen

Abstract: In this study, the antimicrobial activity of the *Ferula longipedunculata* Peşmen plant, which grows on the Berit Mountain in Kahramanmaraş and is endemic in that region was investigated. The disc diffusion method was used to determine the antimicrobial effects of extracts (25 µl) from the root, green, and stem parts of this plant. In the activity study, it was determined that the root part of the plant extract activity had better antimicrobial effect than the green and stem part extracts. The antimicrobial effect of the stem of the plant was better than the green part. Moreover, the root extracts were more effective against bacteria than fungi and the green part of the plant is not effective against the fungi. The root part showed the best activity against *Staphylococcus aureus* Cowan1 (27-24 mm) in methanol and acetone extract. As a result of the study, it has been suggested that the medicinal and aromatic plants which are the richness of our geography can be evaluated and give direction to new scientific studies

*İlgili yazar: goceriali@gmail.com

1. GİRİŞ

Ferula türlerinin Dünya genelinde yaklaşık 180-185 türü olduğu bilinmektedir (Pimenov et al., 2004). *Ferula* türleri Dünyada ve Türkiye’de genellikle kimyasal karakterizasyon ve belirlenen bileşiklerin tıp alanında kullanılması üzerine birçok çalışmaya konu olmuştur. Anadolu’da *Ferula* bitkisi halk arasında kök ve yaprakları afrodisyak etki ve sperm sayısını artırmak için çay olarak içildiği, keçi ve koyunlarda süt verimi ile doğurganlığı artırmak için kullanıldığı ve bünyesindeki uçucu yağların hangi hastalıklar üzerinde etkisinin olduğu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Baytop, 1999; Göçeri, 2018). *Ferula* cinsine ait olan bitkilerin büyük çoğunluğu Dünya’da ve Türkiye’nin birçok yerinde şifalı bitki olarak kullanılmaktadır (Kılıç ve ark., 2013). *Ferula* drogları ayrıca antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, antifungal etkilerinin olduğu yapılan bazı çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Özkan ve ark., 2008; Çakar, 2010; Süzgeç-Selçuk ve ark., 2014; Heidari et al., 2014; Golfakhrabadi et al., 2015). Öksürük sökücü, mide problemleri, vücut güçlendirici, idrar yolu hastalıkları, hemoroid, kabızlık gibi birçok hastalıkta kullanılmıştır (Demetzos et al., 2000; Taran ve ark., 2010). Antimikrobiyal çalışmaların amacı genel olarak enfeksiyon hastalıklarına neden olan organizmaların negatif etkilerini azaltan veya yok edecek bileşikler tespit etmektir. Bu amaçla, *Ferula longipedunculata* bitkisinin kök, yeşil ve sap kısımlarının metanol ve aseton örneklerine ait ekstraktları, 8 bakteri ve 4 fungus türü üzerindeki etkisi incelenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitki Örnekleri

Çalışmada kullanılan *F. longipedunculata* Peşmen (Çakşır otu) Kahramanmaraş ilinde bulunan Berit Dağında ve 2100-2409 metre rakımda toplanmıştır. Bitkinin herbaryum örneği standartlara uygun olarak kurutulmuş ve KSÜ Orman Fakültesi herbaryumuna 1416 kod no ile kaydedilmiştir. Bitkinin kök, sap ve yeşil

kısımları ayrıştırılarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur.

2.2. Test Mikroorganizmaları

Antimikrobiyal aktivite çalışması için kullanılan mikroorganizma suşları Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı koleksiyonundan temin edilmiştir. Mikroorganizma isimleri, *Bacillus megaterium* DSM32, *Enterococcus faecium* saha izolatu, *Klebsiella pneumonia* FMC5, *Escherichia coli* ATTC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071, *Staphylococcus aureus* Cowan1, *Micrococcus luteus* LA2971, *Bacillus subtilis* IMG22 bakteri suşları ile *Candida albicans* ATCC1023, *Candida utilis* NRRL-Y-900, *Saccharomyces cerevisiae* WET136, *Yarrowia lipolytica* NCIM3589 mayaları kullanılmıştır.

2.3. Bitki Kısımlarının ve Antibiyotik Disklerin Hazırlanışı

Ferula longipedunculata bitkisinin tür teşhisi yapıldıktan sonra bitkinin parçaları temizlenerek yabancı maddelerden arındırılmış ve oda sıcaklığında kurutmaya bırakılmıştır. Sterilizasyon göz önünde bulundurularak çelik paslanmaz öğütücü ile toz haline getirilmiştir (Tamer ve ark., 1990). Bitkinin kök, yeşil ve sap kısımlarından 10’ar gram alınarak her bir kısım için 100 ml metanol ve aseton (Merck) içerisinde Soxhlet cihazı ile 2 saat boyunca ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Rotary evaporatör cihazı yardımı ile çözücüler ekstrelerden uzaklaştırılmıştır (Khan et al., 1988). Elde edilen ekstrelerden mikropipet yardımı ile 6 mm çapındaki steril boş diskler 25 µl emdirilmiştir (İlçim ve ark., 1998). Kontrol grubu olarak su, metanol ve aseton emdirilen diskler kullanılmıştır. Karşılaştırma yapmak için standart antibiyotikler test edilen mikroorganizmaların insan hastalıklarında kullanılan tedavi seçeneklerine göre belirlendi ve bakteriler için bakteri hücre duvarına etkili Ampisilin antibiyotiği ile bakteri hücre içi

ribozomlara bağlanan Gentamisin antibiyotiği kullanıldı. Maya formundaki mantarlara ise antifungal özellikli bir antimikrobiyal olan Nistatin kullanıldı.

2.4. Antibiyotik Duyarlılığı Testi

Bakteri suşları Nutrient Broth (Difco)'a inoküle edilerek 37°C'de 24 saat, maya suşları ise malt ekstrakt Broth (Difco)'a inoküle edilerek 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Erlen mayer kaplarında steril edilen Müller Hilton Agar (Oxoid) 45-50°C'ye kadar soğutulmuş ve daha sonra disk difüzyon metoduna göre bakteri (10^3 - 10^4 kob/ml) ve maya (10^2 kob/ml) suşlarından 25 µl alınarak 9 cm çapındaki steril petri kaplarına steril mikro pipetlerle eklenmiş ve homojen bir şekilde dağıtılması sağlanmıştır. Katılaştıran agar üzerine ekstreler emdirilmiş diskler hafifçe bastırılarak yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları +4°C'de 1 saat bekledikten sonra bakteri ekimi yapılan plaklar 35°C'de 24 saat, maya ekimi yapılan plaklar ise 37°C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan zonlar mm olarak hesaplanmıştır (Eliopoulos et al., 1989).

2.5. Antibiyotik Duyarlılığı Testi

Antibiyotik duyarlılık testi çalışması uluslararası CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, eski adı NCCLS) standartlarına göre çalışılmıştır (CLSI 2020). Antibiyotik duyarlılık testi için CLSI tarafından uygun görülen ampicilin (10µg/disk), gentamisin (10µg/disk) ve nistatin'e (100U/disk) karşı oluşan inhibisyon zonları incelenmiştir. Her mikroorganizma için taze kültürler hazırlanmış ve solüsyonlar 0,5 McFarland bulanıklığına göre ayarlanıp otomatik pipetler ile besi yerine aktarılmıştır. Diskler uygun aralıklar ile aseptik biçimde yerleştirilmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen inhibisyon zonları dijital kumpas ile mm cinsinden hesaplanmıştır. Çalışmada elde edilen veriler için SPSS istatistik paket programı

kullanıldı ve karşılaştırmalarda U testi ve varyans analizi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Disk difüzyon metodu ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmasında elde edilen bulgular Tablo 1'de verilmiştir. *F. longipedunculata* bitkisinin kök, yeşil ve sap kısımlarının metanol ve aseton ile elde edilen ekstraktlarının Gram(+) ve Gram(-) organizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir. Bitkinin yeşil kısmının funguslara karşı herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Sap kısmı ekstraktlarının *C. utilis* (12 mm), *S. cerevisiae* (12 mm) ve *Y. lipolytica* (11 mm)'e karşı elde edilen aktivitesi standart antibiyotiği olan nistatin'e (13-18 mm) göre daha az aktivite göstermiştir. Gram(+) olan *B. megaterium* DSM32 tüm ekstraktların standart antibiyotikleri olan ampiciline (7 mm) göre daha fazla, gentamisine (35 mm) göre ise daha az aktivite göstermiştir. Gram(+) olan *E. faecium* saha izolatu standart antibiyotiği gentamisine (31 mm) göre daha az aktivite göstermiştir. Gram(-) olan *K. pneumonia* FMC5 ve *E. coli* ATCC 25922 bakterileri standart antibiyotiği olan gentamisine (46-36 mm) göre daha az aktivite göstermiştir. Gram(-) olan *P. aeruginosa* DSM50071 standart antibiyotiği ampiciline (6 mm) göre daha fazla, gentamisine (35 mm) göre daha az aktivite göstermiştir.

Gram(+) olan *S. aureus* Cowan1, *M. luteus* LA2971 ve *B. subtilis* IMG22 standart antibiyotiği ampiciline (7-10-6 mm) göre daha fazla, gentamisine (38-36-40) göre daha az aktivite göstermiştir. Kontrol amacıyla kullanılan sadece çözenlerin emdirildiği disklerin çevresinde herhangi bir inhibisyon zonu gözlenmemiştir.

Tablo 1. *Ferula longipedunculata* bitkisinin kök, yeşil ve sap kısmı ile kıyaslanan standart antibiyotiklerin duyarlılıkları

Organizmalar	Duyarlılık inhibisyon zonları (mm)						Standart Antibiyotikler		
	Kök kısmı		Yeşil kısmı		Sap kısmı		İnhibisyon zonları (mm)		
	Metanol	Aseton	Metanol	Aseton	Metanol	Aseton	Ampisilin (10µg/ml)	Gentamisin (10µg/ml)	Nistatin (100U)
<i>Bacillus megaterium</i> DSM32	20	17	12	11	18	11	7	35	-
<i>Enterococcus faecium</i> clinical isolate	21	15	12	-	13	12	-	31	-
<i>Klebsiella pneumonia</i> FMC5	17	16	11	11	12	11	-	46	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	23	17	11	11	17	12	-	36	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM50071	22	15	13	-	17	12	6	35	-
<i>Staphylococcus aureus</i> Cowan1	27	24	11	13	12	11	7	38	-
<i>Micrococcus luteus</i> LA2971	20	16	13	-	19	12	10	36	-
<i>Bacillus subtilis</i> IMG22	19	16	11	-	15	13	6	40	-
<i>Candida albicans</i> ATCC1023	11	-	-	-	-	-	-	-	15
<i>Candida utilis</i> NRRL- Y-900	-	-	-	-	12	-	-	-	18
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> WET136	10	20	-	-	-	12	-	-	14
<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM3589	11	15	-	-	-	11	-	-	13

*Rakamlar mm cinsinden olup inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup 25 µl ekstrakt emdirilmiştir (-): İnhibisyon yok

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan literatür araştırmasına göre, Demirci ve ark., (2000), yılında *F. asparagifolia*, *F. galbanifera*, *F. humilis* ve *F. trachycarpa*'dan elde ettikleri uçucu yağların antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini 15 mikroorganizmaya karşı denemişler ve sonuç olarak uçucu yağların *E. coli*, *E. aerogenes*, *C. albicans*, *G. graminis var. tritici*, *S. rolfsii* ve *F. moniliforme* organizmalarına karşı aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Ferula badrakema türünden elde edilen ekstraktın yapılan antimikrobiyal testinde esansiyel yağların *S. aureus*, *B. cereus* gibi Gram(+) bakterilere karşı az da olsa aktivite göstermişlerdir. *C. albicans* fungusuna karşı sırasıyla 3.125 mg/ml, 12.5 mg/ml and 6.25 mg/ml (MICs) aktivite göstermişlerdir. Gram(-) bakteriler (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) bu yağların önleyici etkisine duyarlı olmadığı görülmüştür (Javad et al., 2009).

Sonuç olarak *F. longipedunculata* bitkisinin genel olarak tüm kısımlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Hastalıkları tedavi etmede tıbbi faydası olan bitkiler eski zamanlardan beri sıkça kullanılmıştır. Yapılan bu tip çalışmaların yaygınlaştırılarak türlerin antimikrobiyal aktiviteleri belirlenip tıp, eczacılık, kozmetik ve birçok sanayi alanında kullanılabilme imkânlarının geliştirilmesi ve ülkemizin zengin bitkisel kaynaklarının değerlendirilmesi hususunda onlardan gerektiği gibi yararlanmamız ve fikir sahibi olmamız mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

Anonim, (2020). Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard—30th ed. CLSI document M100. 26:1. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, (January,2020).

Asili J., Sahebkar A., Bazzaz B., SF Sharifi S., Iranshahi, M. (2009). Identification of essential oil components of *Ferula badrakema* fruits by GC-MS and ¹³C-NMR methods and evaluation

of its antimicrobial activity. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 12(1), 7-15.

Baytop T. (1999). Türkiye’de Bitkilerler Tedavi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul-Türkiye, No:2, s.348-34.

Çakar B. (2010). *Ferulago idea* ve *Ferulago trojana* bitkilerindeki sekonder metabolitlerin izolasyonu, antioksidan ve antikolinesteraz aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Demetzos C., Perdetzoglou D., Gazouli M., Tan K., Economakis C. (2000). Chemical analysis and antimicrobial studies on three species of *Ferulago* from Greece. Planta Medica, 66, 560-563.

Demirci F., İşcan G., Güven K., Kırmıner N., Demirci B., Başer KHC. (2000). Antimicrobial activities of *Ferulago essential* oils. Zeitschrift für Naturforschung. C, 55, 886-889.

Eliopoulos GM. (1989). Enhancement of Cefetoxamine and Other Cephalosporins Against *Enterococcus faecalis* by Blood Supplemented M.H.A. Diagnostic. Microbiology and Infectious Disease, 12 (2), 149-156.

Golfakhrabadi F., Khanavi M., Ostad S.N., Saeidnia S., Vatandoost H., Abai M.R., Hafizi M., Yousefbeyk F., Rad Y.R., Baghenegadian A., Ardekani MRS. (2015). Biological activities and composition of *Ferulago carduchorum* essential oil. Journal of Arthropod-Borne Diseases, 9(1), 104-115.

Göçeri A. (2018). Çakşır Otu (*Ferula longipedunculata* Peşmen)’nun Kastrasyon Yapılmış Ratlarda Erektile Disfonksiyon Üzerine Etkisi ve Bazı Farmakolojik Özelliklerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

Heidari S., Akrami H., Gharaei R., Jalili A., Mahdiuni H., Golezar E. (2014). Anti-tumor activity of *Ferulago angulata* Boiss. extract in gastric cancer cell line via induction of apoptosis. Iranian Journal Pharm Research, 13(4): 1335-1345.

- İlçim A., Dığrak M., Bağcı E. (1998). Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 22, 119-125.
- Javad A., Amirhossein S., Bibi SFB., Sirus S., Mehrdad I. (2009). Identification of Essential Oil Components of *Ferula badrakema* Fruits by GC-MS and 13C-NMR Methods and Evaluation of its Antimicrobial Activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(1), 7-15.
- Khan NH., Rahman M., Kamal Nur-E. (1998). Antibacterial activity of *Euphorbia thymifolia* Linn. *Indian Journal Medical Research*, 87, 395-397.
- Kilic O., Behce L., Bagci E. (2013). Essential oil compounds of three *Nepeta* L. Taxa From Turkey, and Their Chemotaxonomy. *Asian Journal of Chemistry*, 25(14), 8181-8183.
- Özkan AMG., Demirci B., Demirci F., Başer KHC. (2008). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferulago longistylis* Boiss. fruits. *Journal Essent Oil Research*, 20, 570-573.
- Pimenov MG., Leonov MV. (2004). The Asian Umbelliferae Biodiversity Database (ASIUM) with particular reference to South-West Asian Taxa. *Turkish Journal of Botany*, 28: 139–145.
- Süzgeç-Selçuk S., Özsoy N., Akalın E. (2014). Antioxidant activity of *Ferulago humulis* Boiss. growing in Turkey. Fourth International Meeting on Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4) Abstract Book, İstanbul, p: 169.
- Tamer AÜ., Gücin F., Solak MH. (1990). *Ganoderma lucidum* (Leys. ex Fr.) Karst. Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi. X. Ulusal Biyoloji Kongresi, 18–20 Temmuz, Erzurum.
- Taran M., Ghasempour HR., Shirinpour E., (2010). Antimicrobial Activity of Essential Oil of *F. angulata* subsp. *carduchorum*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(1), 10-14.
- Znati M., Jannet HB., Cazaux S., Bouajila J., (2014). Chemical Composition, Biological and Cytotoxic Activities of Plant Extracts and Compounds Isolated from *Ferula lutea*. *Molecules*, 19(3), 2733-2747