



## İzmir'de Yetiştirilen *Plantago lanceolata* Yaprak Ekstraktının Gram(+) ve Gram(-) Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitelerinin İncelenmesi

Investigation of Antibacterial and Antifungal Activities of *Plantago lanceolata* Leaf Extract Grown in Izmir on Gram(+) and Gram(-) Pathogenic Microorganisms.



ANTALYA  
İL MİLLÎ EĞİTİM MÜDÜRLÜĞÜ

### ÖZET

Bitkiler antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinden dolayı yüzyıllardır birçok hastalığın tedavisinde kullanılan temel kaynaklar olmuşlardır. Özellikle geleneksel tıpta yaraları iyileştirici ve enfeksiyon giderici etkilerinden dolayı kullanımları yaygındır. Son yıllarda antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki yan etkileri ve mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı oluşturdukları direnç sebebiyle de araştırmalarda bitkilerin kullanımı ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada İzmir bölgesinden toplanan *Plantago lanceolata* (*P. lanceolata*) bitkisinin antibakteriyel ve antifungal aktivitesi incelendi. Bitki yaprağından metanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktı olmak üzere 3 farklı ekstrakt elde edildi. Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, patojen mikroorganizmalar *Candida albicans*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelendi. Elde edilen bulgulara göre bitkinin metanol ve etil asetat ekstraktına karşı en duyarlı bakterinin 28mm ve 23mm inhibisyon zonu ile *E. faecium* olduğu sonrasında sırasıyla *S. aureus*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ve *E.coli*' e karşı farklı düzeylerde zon çapı oluşturduğu *C. albicans*'a karşı ise inhibisyon zonu oluşturmadığı belirlendi. Hiçbir mikroorganizmanın n-hekzan ekstraktına karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edildi. Ayrıca *P.lanceolata*' a ait hiçbir ekstrakt bağırsak mikrobiyotasında yer alan probiyotik özellikteki *Lactobacillus plantarum* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadı. Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen verilerden yola çıkılarak İzmir bölgesinde yetiştirilen *P. lanceolata*'nın mikrobiyota dengesine zarar vermeden gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı önemli bir antimikrobiyal potansiyele sahip olduğu söylenebilir. Elde edilen bu sonuçların ileri çalışmalar için temel oluşturması beklenmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** *Plantago lanceolata*, Antibakteriyel, Antifungal.

### ABSTRACT

The Plants have been the main sources used in the treatment of many diseases for centuries due to their antimicrobial and antioxidant properties. Especially in traditional medicine, they are widely used due to their wound healing and anti-infection effects. In recent years, the use of plants in research has come to the fore due to the side effects of antibiotics on the intestinal microbiota and the resistance of microorganisms to antibiotics. In this study, antibacterial and antifungal activity of *Plantago lanceolata* (*P. lanceolata*) plant collected from Izmir region was investigated. According to the findings, the most sensitive bacterium to the methanol and ethyl acetate extract of the plant was *E. faecium* with 28mm and 23mm inhibition zones, followed by *C. albicans*, it was determined that it did not form an inhibition zone. It was determined that none of the microorganisms showed antimicrobial activity against the n-hexane extract. In conclusion, based on the data obtained from this study, it can be said that *P. lanceolata* grown in the Izmir region has an important antimicrobial potential against gram (+) and gram (-) bacteria without harming the microbiota balance. These results are expected to form the basis for further studies.

**Keywords:** *Plantago lanceolata*, Antibacterial, Antifungal.

\*Bu çalışma 16 Aralık 2023 tarihinde Bilim Armonisi Uluslararası Gençlik Kongresi'nde sunulmuştur.

## 1. GİRİŞ

İnsanlarda sıklıkla karşılaşılan bir hastalık, patojen bir mikroorganizmanın canlı vücuduna girip üreyip çoğalması sonucu oluşan enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonların bakteri kaynaklı olması durumunda tedavi amaçlı antibiyotikler kullanılmaktadır. Son zamanlarda, bu tedavilerdeki en önemli problemlerden biri antibiyotik ilaçlara karşı patojen mikroorganizmaların direnç kazanmasıdır (Başkaya 2015). Bu durum araştırmacıları geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip yeni kaynak arayışına yöneltmektedir. Yeni kaynak arayışında bitkiler antimikrobiyal özelliklerinden dolayı tarih boyunca birçok hastalığın tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar olmuşlardır. Yan etkilerinin az olması, bulunmalarının kolay ve maliyetlerinin düşük olması gibi sahip oldukları avantajlar sayesinde eczacılık, tıp, farmasötik, kozmetik vb. alanlarda kullanılmışlardır.

Bitkilerin kullanımının ön plana çıkmasındaki bir başka faktör antibiyotiklerin mikrobiyota gelişimi ve değişimi üzerindeki en önemli etkenlerden biri olmasıdır (Süzük-Yıldız ve Öztaş 2018). Mikrobiyotadaki faydalı/zararlı bakteri oranının bozulması ve dolayısıyla gelişen değişimler disbiyozis olarak adlandırılmaktadır (Süzük-Yıldız ve Öztaş 2019). Disbiyozisin en yaygın nedenlerinden biri de antibiyotiklerdir. Antibiyotikler sadece hedeflenen patojene karşı değil, bağırsak florası üzerinde de olumsuz etkilere sahiptirler (Kılıç ve Altındış 2017). Uzun süreli antibiyotik kullanımı doğuştan gelen bağışıklığa zarar vererek bağırsak mikrobiyotasının dengesini bozulmasına neden olabilmektedir (Liu vd. 2017, Çakmak ve İnkaya 2021). Bağırsak mikrobiyotası, vücudumuzdaki sistemlerin işleyişinin düzenli bir şekilde sürdürülebilmesi ve patojen etkilere karşı korunmasında büyük bir önem taşır. Bu nedenle bağırsak mikrobiyotasının korunması gerekmektedir. Yapılan birçok araştırmada da belirtildiği üzere disbiyozis; obezite (Süzük-Yıldız ve Öztaş 2019), kanser, parkinson hastalığı, enflamatuvar bağırsak hastalığı, astım, diyabet, çölyak hastalığı, otoimmün hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır (Yılmaz ve Altındış 2017). Antibiyotiklerin kullanımı sonucu bağırsak mikrobiyotasındaki bu olumsuz etkilerin ortaya çıkmasının engellenmesi amacıyla alternatif olarak çeşitli biyolojik etkilere sahip bitkilerin kullanımı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir (Sekar ve Kandavel 2010).

*Plantaginaceae* familyasının bir üyesi olan *Plantago lanceolata* dünya genelinde yetişmekte olan şifalı bitkilerden biridir (Aşkar ve Deveboynu 2019, Stewart 1996). Halk arasında daha çok "damar otu" veya "sinir otu" ismiyle bilinmektedir. Yetiştirilmesi hızlı olan bir tür olmakla birlikte, çok çeşitli topraklarda yetişir ve kuraklığa ve yaygın

hastalıklara karşı dayanıklıdır. Bunun yanı sıra bu bitki deri ve enfeksiyon hastalıklarında, yara ve yanıklarda, iltihaplanmalarda, idrar yolu enfeksiyonlarında, soğuk algınlığı ve viral enfeksiyonlarında bitkisel kaynaklı tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Çayı yapılarak veya uygun olgunlukta yenerek tüketilebilmektedir (Akbalık vd. 2021).

*S. aureus* gram-pozitif, katalaz-pozitif, oksidaz-negatif, fakültatif anaerob olan mezofil bir bakteridir. Şekli ovale yakındır ve hareketsizdir. Optimum üreme pH'sı 6-7 olup optimum üreme sıcaklığı ise 37°C'dir. Bunun dışında çoğalabildiği farklı sıcaklık ve pH'lar da mevcuttur. *S. aureus* insan vücudunda deri ve cilt hastalıkları, dolaşım sistemi enfeksiyonları (bakteriyemi, endokardit ve perikardit), kas ve iskelet, merkezi sinir sistemi, solunum sistemi ve üriner sistem enfeksiyonları na neden olabilmektedir (Yılmaz 2020).

*Enterobacteriaceae* familyasından olan *P. mirabilis* gram-negatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob, basil olan bir bakteridir. Optimum üreme sıcaklığı 36±1 °C ve pH'sı 7.0-7.5 arasındadır. Hareketli bir türdür. Bu türün sık görüldüğü enfeksiyonlar idrar yolu enfeksiyonları olmakla birlikte nozokomiyal enfeksiyonlarda da görülürler (Aygül 2018).

*E.coli* Gram-negatif, katalaz-pozitif, oksidaz negatif, fakültatif anaerob olan mezofil bir bakteridir. Kısa ve uzun şekillidir, yavaş hareket ederler. Optimum üreme sıcaklığı 37°C ve pH'sı 7-7.2'dir. *E.coli*'nin sebep olduğu hastalıklar arasında en yaygınlarından bazıları üriner sistem enfeksiyonu, menenjit, gastroenterit ve sepsistir. Bağırsak mikrobiyotasında bulunan, çoğu zararsız olan bir mikroorganizmadır (Karaynir 2021).

*Cryptococcaceae* familyasından olan *Candida* gram-pozitif bir maya türüdür. Şekli tek hücreli organizmalardır. Nazokomiyal enfeksiyon etkeni olan bir türdür (Ardıç 2020, Karankı 2013).

*Pseudomonadaceae* familyasından olan *Pseudomonas aeruginosa* gram-negatif, sporsuz ve aerob bir bakteridir. Hareketli olmakla birlikte çomak şekline sahiptir. Optimum üreme sıcaklığı yaklaşık 37°C'dir. Bu tür son yıllarda artan antibiyotik direnç oranlarıyla dikkat çekmektedir. Aynı zamanda tedavisi zor enfeksiyonların etkeni olarak kabul edilmektedir. Daha çok nazokomiyal enfeksiyonların etkenidir. İdrar yolu, göz ve yara enfeksiyonları, osteomyelit, bronşit ve menenjit gibi hastalıklara da sebebiyet verebilmektedir (Özsoy 2021, Oyadı 2021).

*Enterococcus faecium* gram-pozitif, katalaz negatif ve spor içermeyen koklardır. Optimum çoğalma sıcaklıkları 10 ila 45°C arasında olup, optimum pH'larında 9,6'dır. Kısa zincirler halinde görülürler. Neden oldukları enfeksiyonlar; intraabdominal yara enfeksiyonları ve üriner sistem enfeksiyonları

olarak sıralanabilmektedir. *E. faecium*, bağırsak mikrobiyotasını oluşturan bakterilerden biridir (Ateş 2017).

*L. plantarum* gram-pozitif, anaerobik, katalaz negatif, mezofilik laktik asit bakterileridir. Optimum üreme sıcaklıkları 30°C'dir (Özkan 2020). Çubuk şeklinde ve hareketsiz olup spor üretmezler. Probiyotik özellik gösteren bir türdür. İnsan ve hayvanların bağırsak mikrobiyotasında bulunabilmekle birlikte buralarda zararlı etki göstermezler (Kuşçu 2021).

*P. lanceolata* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır. Şinasi Aşkar ve Şeyma Nur Deveboynu (2019) yaptıkları bir çalışmada; *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea europaea* ticari bitki ekstraktlarının disk difüzyon testine göre nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan bazı bakterilere karşı in-vitro antibakteriyel etkileri ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda *Plantago lanceolata* ekstraktı disk difüzyon sadece MRSA (Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*)'ya karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kassaw, Yohannes ve Bizualem (2018) yaptıkları bir çalışmada; *P. lanceolata* bitkisinin bazı patojenik bakterilere karşı antibakteriyel etkisi incelenmiş ve test edilen tüm mikroorganizmaların bitkiye duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Hassawi ve Kharma (2006) gerçekleştirdikleri bir çalışmada; farklı dozlarda hazırlanan bazı bitki ekstraktlarının *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiş ve hiçbir dozdaki *P.lanceolata* ekstraktının etkili olmadığı kaydedilmiştir. Fayera vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada; *P. lanceolata* bitkisinin bazı bakteri ve fungusların antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Ham ekstreler fitokimyasal taramaya tabi tutularak ve yerel halk tarafından iddia edilen faaliyetlerden sorumlu olabilecek steroidler, alkaloidler, flavonoidler, saponinler, glikozitler, fenoller, tanenler ve terpenoid bileşiklerinin varlığını ortaya çıkarılmıştır. Dört bakteri türüne (Gram negatif bakteriler: *Escherichia coli* ve *Salmonella thyphei*; Gram pozitif bakteriler: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ve iki mantar türüne *Aspergillus niger* ve *Fusarium solani* karşı antimikrobiyal etkisi test edilmiştir. Elde edilen ekstraktların ve bileşiklerin mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bulunarak *Plantago lanceolata*'nın tıbbi bitki kullanımı bu çalışmayla desteklenmiştir. Abebe ve Mekonnen'e (2016) ait bir çalışmada *Plantago lanceolata*'nın %70 metanol ekstraktlarının antibakteriyel etkileri *Streptococcus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *Salmonella* gibi seçilmiş bakteriler üzerinde test edilmiş ve seçilmiş patojenlere karşı iyi bir antibakteriyel aktive gösterdiği tespit edilmiştir. Deribew, Endale, ve Melaku (2018) ait bir çalışmada *Plantago lanceolata*' ya ait ekstraktlar, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*

*pneumonia ve Proteus miabilis*'e karşı antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak in vitro olarak değerlendirilmesi sonucunda standart Ciprofloxacine (23 mm) kıyasla *S. aureus*'a karşı 20 mm inhibisyon zonu oluştuğu gözlenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Bitki Örneğinin Toplanması

Araştırmada kullanılacak olan *P.lanceolata*'ya ait yapraklar İzmir Karşıyaka bölgesinden toplandı. tür teşhisi Flora of Turkey'e (Davis 1982) göre yapıldı.

#### 2.1.2 Çözücüler

N-hexane, metanol ve etilasetat ticari olarak temin edildi.

#### 2.1.3 Besiyeleri

Çalışmada bakterilerin (*S. aureus*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *Candida*, *P. aeruginosa*, *E. faecium* ve *L. plantarum*) gelişimlerini sağlamak için hazır Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri kullanıldı. *Lactobasillus plantarum* için ise hazır kanlı agar besiyeri kullanıldı.

#### 2.1.4 Mikroorganizmalar

Araştırmada kullanılacak olan mikroorganizmalar Bakırçay Üniversitesi Çiğli Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na ait klinik örneklerden elde edildi.

#### 2.1.5 Ekstrakt İçin Kullanılan Diskler ve Antibiyotik Diskler

Ticari olarak elde edilen 6mm çapındaki boş antibiyogram diskleri (Bioanalyse Antimicrobial Susceptibility Test Discs) kullanıldı. *S.aureus* için gentamisin, *P.mirabilis* *P. aeruginosa* ve *E.coli* için amikasin, *Lactobasillus plantarum* için siprofloksasin ve *E. faecium* için vankomisin kullanıldı.

## 2.2 Materyal ve Metot

### 2.2.1 Bitki Örneklerinin Ekstraksiyon İçin Hazırlanması

Ekstraksiyon Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde gerçekleştirildi. *P. lanceolata* yaprakları üstü açık bir biçimde oda sıcaklığında güneş ışığından uzak olarak kurutulmuştur. Kurutulan yapraklar 100g olarak tartıldıktan sonra bir mikser yardımıyla öğütülerek toz haline getirildi.

### 2.2.2 Sıralı Ekstraksiyon

Bitki ekstraksiyonu, bitki içerisinde bulunan madde ya da maddeleri saf olarak elde etmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada ekstraksiyonda kullanılan solventler bitki içeriğindeki bileşiklerin düşük polariteden yüksek

polariteye doğru elde edilmesi amaçlandı. Bu nedenle sırasıyla n- hexane, etilasetat ve metanol çözücüleri kullanıldı.

Toz halindeki bitki 1000ml lik solvent ile ıslatılmıştır. Ultrasonik su banyosunda oda sıcaklığında (1er saatten 3 defa) ekstre edilmesi sağlandı. Karışım Whatman no1 filtre kağıdı ile süzüldü ve rotary evaporatör'de 40°C'de solventin uçurulması sağlandı. Bu işlem ayrı ayrı n-hexane, etilasetat ve metanol kullanılarak gerçekleştirildi ve sonucunda 1,37 gr n-hexane, 2,01 gr etil asetat, 28,74 gr metanol ekstraktı olmak üzere 3 farklı bitki ekstraktı elde edildi. Bitki ekstraktları araştırmanın diğer aşamalarında kullanılmak üzere 4°C'de muhafaza edildi.

Hazırlanan ekstraktlar % 20'lik DMSO (Dimetil Sülfoksit) içerisinde 125 mg/mL, 250 mg/mL, 500 mg/mL oranlarında çözdürüldü. Farklı oranlarda hazırlanan ekstrakt konsantrasyonları 20µL eppendorf tüpler içerisinde disklerle emdirilerek analizlerde kullanılmaya hazır hale getirildi. Negatif kontrol için disklere %20'lik DMSO'ya emdirildi. Pozitif kontrol için ticari olarak elde edilen vankomisin, amikasin, antimasin, siprofloksasin antibiyogram diskleri kullanıldı. Hazırlanan diskler UV ışığı altında 15 dk bekletilerek steril olması sağlandı.

### 2.2.4 Antimikrobiyal Aktivitenin Disk Difüzyon Yöntemi İle Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan mikroorganizmaların antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Kirby-Bauer tarafından geliştirilen bu yöntem örneklerin disklerle emdirilerek bakteri inoküle edilen besiyerlerine difüze olması temeline dayanmaktadır.

Bu yöntemde disk etrafında oluşan zon çapı ölçülerek örneklerin mikroorganizmalar üzerindeki duyarlılıkları değerlendirilebilmektedir.(Ünlü, 2016)

Antimikrobiyal aktivite testleri için Bakırçay Üniversitesi Çiğli Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm suşlardan bulanıklığı McFarland 0.5'e ayarlanmış mikrobiyal süspansiyonlar elde edildi. Mueller-Hinton agar yüzeyine steril eküvyon çubuğu ile ekim yapıldı. Sadece laktobasil plantarum için kanlı besi yeri kullanıldı. Diskler besiyerlerine EUCAST (2015) standartlarına uygun şekilde

yerleştirildi. 37°C etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonunda inhibisyon zonları ölçülerek kayıt altına alındı. Bu çalışmada gerçekleştirilen analizler 3 paralel 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. İstatiksel analizler için SPSS 22.0 paket programı ile p<0,05 anlamlılık seviyesinde t testi ve %95 güven aralığında tek yönlü anova testi uygulandı.

### 3. BULGULAR

*P.lanceolata* bitkisine ait farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlarının *Candida albicans*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde disk difüzyon testi sonucu antimikrobiyal aktivitelerine ait inhibisyon zon çapları Çizelge 1'de gösterilmektedir.

*P. lanceolata* metanol ekstratinin *E.faecium*'a karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 28 mm (0,5 mg/ml), 26 mm (0,125 mg/ml), 23mm (0,25 mg/ml) olduğu görülmektedir. *P. lanceolata* etil asetat

**Çizelge 1.** Disk Difüzyon Testine Ait Sonuçlar Yerel kolejlere kayıt, 2005

| Ekstraktlar                | <i>S. aureus</i> | <i>E. faecium</i> | <i>L. plantarum</i> | <i>P.mirabilis</i> | <i>E.coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>C. albicans</i> |
|----------------------------|------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------|----------------------|--------------------|
| <i>P. lanceolata</i> M 0,5 | 12               | 28                | -                   | 11                 | -             | 9                    | -                  |
| M 0,25                     | 10               | 23                | -                   | 9                  | -             | 6                    | -                  |
| M 0,125                    | 8                | 26                | -                   | 7                  | -             | -                    | -                  |
| <i>P. lanceolata</i> H 0,5 | -                | -                 | -                   | -                  | -             | -                    | -                  |
| H 0,25                     | -                | -                 | -                   | -                  | -             | -                    | -                  |
| H 0,125                    | -                | -                 | -                   | -                  | -             | -                    | -                  |
| <i>P. lanceolata</i> E 0,5 | 10               | 23                | -                   | 7                  | 8             | 8                    | -                  |
| E 0,25                     | 9                | 20                | -                   | 6                  | -             | 7                    | -                  |
| E 0,125                    | 8                | 14                | -                   | -                  | -             | 8                    | -                  |
| PK*                        | 23               | 30                | 20                  | 25                 | 20            | 22                   | -                  |

NK

(M: metanol ekstraktı, H: n-hekzan ekstraktı, E: etil asetat ekstraktı, NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol \*: *S.aureus* için gentamisin, *P.mirabilis* *P. aeruginosa* ve *E.coli* için amikasin, *Lactobasillus plantarum* için siprofloksasin ve *Enterococcus faecium* için vankomisin kullanıldı.(Zon çapları mm cinsinde belirtilmektedir.)

ekstratının *E.faecium*'a karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 23 mm (0,5 mg/ml), 20 mm (0,25 mg/ml), 14mm (0,125 mg/ml) olduğu görülmektedir. Farklı miktarlarda hazırlanan hiçbir n-hekzan ekstratına karşı zon oluşumu gözlenmedi. Pozitif kontrol (vankomisin) 30 mm oluşurken negatif kontrolde zon oluşumu gözlenmedi.

*P. lanceolata* metanol ekstratının *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 11 mm (0,5 mg/ml), 9 mm (0,25 mg/ml), 7 mm (0,125 mg/ml) olduğu görülmektedir. *P. lanceolata* etil asetat ekstratının *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 7 mm (0,5 mg/ml), 6 mm (0,25 mg/ml), 0 mm (0,125 mg/ml) olduğu görülmektedir. Farklı miktarlarda hazırlanan hiçbir n-hekzan ekstratına karşı zon oluşu gözlenmedi. Pozitif kontrol (amikasin) 25 mm oluşurken negatif kontrolde zon oluşumu gözlenmedi.

*P. lanceolata* metanol ekstratının *P. aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 9 mm (0,5 mg/ml), 6 mm (0,25 mg/ml), 0 mm (0,125 mg/ml) olduğu görülmektedir.

*P. lanceolata* etil asetat ekstratının *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 8 mm (0,5 mg/ml), 8 mm (0,125 mg/ml), 7mm (0,25 mg/ml) olduğu görülmektedir. Farklı miktarlarda hazırlanan hiçbir n-hekzan ekstratına karşı zon oluşumu gözlenmedi. Pozitif kontrol (amikasin) 22mm oluşurken negatif kontrolde zon oluşumu gözlenmedi.

*P. lanceolata* metanol ekstratının farklı miktarlarından hiç biri *E.coli*'ye karşı zon oluşturmamıştır. *P. lanceolata* etil asetat ekstratının *E.coli*'ye karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 8 mm (0,5 mg/ml), 0 mm (0,25 mg/ml), 0 mm (0,125 mg/ml) olduğu görülmektedir. Farklı miktarlarda hazırlanan hiçbir n-hekzan ekstratına karşı zon oluşumu gözlenmedi. Pozitif kontrol (amikasin) 20mm oluşurken negatif kontrolde zon oluşumu gözlenmedi.

*P. lanceolata* metanol ekstratının *S. aureus*'a karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 12 mm (0,5 mg/ml), 10 mm (0,25 mg/ml), 7 mm (0,125 mg/ml) olduğu görülmektedir. *P. lanceolata* etil asetat ekstratının *S. aureus*'a karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 10 mm (0,5 mg/ml), 9 mm (0, 25 mg/ml), 8 mm (0,25 mg/ml) olduğu görülmektedir. Farklı miktarlarda hazırlanan hiçbir n-hekzan ekstratına karşı zon oluşumu gözlenmedi. Pozitif kontrol (gentamisin) 22 mm oluşurken negatif kontrolde zon oluşumu gözlenmedi.

*C.albicans* hiçbir bitki ekstratına karşı zon oluşturmadı.

*L.plantarum* hiçbir *P. lanceolata* ekstratına karşı

inhibisyon zonu oluşturmadı. Pozitif kontrol (siprofloksasin) 20 mm oluşurken negatif kontrolde zon oluşumu gözlenmedi.

#### 4. SONUÇ ve TARTIŞMA

Son yıllarda patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direncinin artması nedeniyle bu patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların önüne geçilmesi güçleşmektedir. Bunun yanı sıra antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki zararlı etkilerinden kaçınmak için araştırmacılar günümüzde bitkisel tedavi yöntemlerine yönelmişlerdir. Özellikle zengin bitki çeşitliliğine sahip olan ülkemizde bitkisel tedavi yöntemlerinin araştırılması önem kazanmaktadır (Konak vd. 2017). Bu araştırmada da, İzmir yöresindeki çoğu yerde ve her mevsim yetişen *Plantago lanceolata* bitkisinin n-hekzan, etil asetat ve metanol ekstraktları hazırlanarak bazı gram (+) ve gram (-) patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenerek rapor edilmektedir.

Metanolün 500mg/mL'lik ekstraktı *E. faecium*'a karşı 28 mm zon çapıyla en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösterirken en düşük aktiviteyi 14 mm zon çapıyla etil asetatın 125mg/mL'lik ekstraktı gösterdi.

Metanolün 500mg/mL'lik ekstraktı *P. mirabilis*'e karşı 11mm zon çapıyla en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösterirken en düşük aktiviteyi 6mm zon çapıyla etil asetatın 250mg/mL'lik ekstraktı gösterdi. Etil asetatın 125mg/ml ekstratı bu bakteriye karşı hiç etki göstermedi.

Metanolün 500mg/mL'lik ekstraktı *P. aeruginosa*' karşı 9 mm zon çapıyla en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösterirken, 6 mm zon çapıyla en düşük aktiviteyi metanolün 250mg/mL'lik ekstraktı gösterdi.

Sadece etil asetatın 500mg/mL'lik ekstraktı *E. coli*'ye karşı 8 mm zon çapıyla antibakteriyel etki gösterdi.

Metanolün 500mg/mL'lik ekstraktı *S. aureus*'a karşı 12mm zon çapıyla en yüksek antibakteriyel aktiviteyi gösterirken en düşük aktiviteyi 1mm zon çapıyla metanolün 125mg/mL'lik ekstraktı gösterdi.

Hiçbir bitki ekstraktı *C. albicans* karşı zon çapı oluşturmayarak antifungal aktivite göstermedi.

Yapılan çalışma sonucu elde edilen bulgulara göre bitkiye duyarlılığı en fazla olan bakteri *E. faecium*, en az olan ise *E. coli* olarak belirlendi. Bitki bağırsaklarımızda bulunan yararlı bakterilerden biri olan *L. plantarum*'da herhangi bir antibakteriyel aktiviteye sebep olmamıştır. Birçok antibiyotiğin aksine kullanılan bitki ekstratının

bağırsak mikrobiyotasında bulunan bu bakteriye zarar vermemesi, antibiyotiklere alternatif olarak kullanılması için yol gösterici olabilir. *S. aureus*, *P. mirabilis* ve *P. aeruginosa* ise bitkinin metanol ve etanol ekstraktlarına karşı farklı oranlarda inhibisyon zonu oluşturdu. Bakterilerden ayrı olarak *C. albicans* hiçbir derişimdeki ekstrakta karşı inhibisyon zonu oluşturmaması bitkinin antifungal özelliğe sahip olmadığını gösterebilir.

Kullanılan mikroorganizmaların çoğu metanol ve etil asetat ekstraktlarına karşı inhibisyon zonu oluştururken hiçbiri n-hekzan ekstraktlarına karşı inhibisyon zonu oluşturmadı. Bu aktivite farklılıklarının sebebi bitkilerin içerdiği antimikrobiyal madde oranlarındaki değişimler olabilir (Keleş vd. 2001). Bunun yanı sıra kullanılan

mikroorganizmalardan gram (+) olanların antimikrobiyal etkilerinin daha güçlü olduğu gözlemlenmiştir. Gram (+) patojenlerin gram (-) göre daha çok duyarlılık gösterdikleri önceki araştırmalarda da belirtilmiş olup bu araştırmadaki sonuçlar da daha önceki çalışmalara paralellik göstermektedir (Keleş vd. 2001, Rabe ve van Staden 1997). *P. mirabilis* metanol ekstraktına karşı duyarlılık gösterirken n-hekzan ekstraktına karşı duyarlılık göstermemiştir. Bunun temel nedeni solventlerin bitkide aktifleşmesine neden olduğu unsurların değişkenlik göstermesi olabilir (Keleş vd. 2001).

Bu çalışmada elde edilen, bitkinin antibakteriyel etkilerinin varlığı ve düzeyi ile ilgili bulgular; yapılan bazı araştırmalardaki sonuçlar ile farklılık göstermektedir. Nostro, Germanó, D'Angelo, Marino ve Cannatelli (2000) yapmış oldukları çalışmada *P. lanceolata* bitkisinin metanol ekstraktının *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiş ve ekstraktın belirtilen mikroorganizmalardan hiçbirine karşı etkili olmadığı kaydedilmiştir. Fakat bu verilerin aksine bu araştırmada *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın bitkinin metanol ekstraktına karşı duyarlı olduğu tespit edildi. Pehlivan Karakaş, Yıldırım ve Türker (2012) yapmış oldukları çalışmada *P. lanceolata* bitkisinin metanol ekstraktının *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel etkisi incelenmiş ve ekstraktın hiçbirine karşı etkili olmadığı kaydedilmiştir. Bu sonuçların aksine bu araştırmada *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın bitkinin metanol ekstraktına karşı duyarlı olduğu tespit edildi. Asressu (2013) yapmış olduğu çalışmada *P. lanceolata* bitkisinin metanol ekstraktı *S. aureus*

ve *E. coli*'ye karşı etkili olmuştur. Buna karşın bu araştırmada *E. coli* bitkinin metanol ekstraktına karşı duyarlılık göstermedi. Elde edilen bulgulardaki farklılığın temel nedeni bitkinin yetiştiği toprak ve iklim koşulları, çalışmada kullanılan ekstraksiyon ve antimikrobiyal test yöntemlerinin farklılık göstermesi olabilir. Bu faktörler farklı duyarlılık sonuçlarına sebebiyet verebilmektedir (Stanojević vd. 2008).

Sonuç olarak *P. lanceolata* bitkisi belirtilen patojen mikroorganizmaların çoğu üzerinde etkili olurken bağırsak sağlığı için faydalı olan *L. plantarum* karşı etkili olmadığı görüldü. Bu sonuç, bitkinin patojen bakterilere karşı kullanımı sırasında bağırsak mikrobiyotasının dengesi üzerinde olumsuz bir etki yaratmayacağını gösterebilir. Ayrıca *P. lanceolata*'nın *E. faecium* karşı pozitif kontrol kadar yüksek antimikrobiyal aktivite göstermesi bu patojen bakterinin neden olduğu hastalıkların tedavisi için *P. lanceolata*'nın güçlü bir kaynak olabileceğini gösteren önemli bir sonuçtur. Enterokoklar insan ve hayvanların gastrointestinal sistem florasının doğal üyeleri olup aynı zamanda fırsatçı patojen konumundadırlar (Fernandes ve Dhanashree 2013). *E. faecium* hastane kaynaklı enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biri haline gelmektedir. (Peng ve Yang 2022). Üriner sistem enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, endokardit ve bakteriyemiye neden olmaktadır. Son yıllarda hastane enfeksiyonlarının önemli bir etkeni olan *E. faecium*, *E. faecalis*'e göre antimikrobiyal ajanlara daha dirençli olduğu görülmektedir (Paganelli vd. 2016). Enterokoklar klindamisin, penisilin, aminoglikozitler ve sefalosporinler olmak üzere birçok antibiyotiğe karşı intrensek dirençli olmalarıyla beraber diğer antibiyotiklere de kolaylıkla direnç geliştirebilir (Gök vd. 2020). Bu veriler ışığında *P. lanceolata* bitkisinin antibiyotiklere kolay direnç geliştiren *E. faecium* karşı sahip olduğu yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip etki mekanizmasının aydınlatılması ve bitki bileşiklerinin belirlenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmakta olup bu çalışmayla elde edilen verilerin ileride yapılacak olan çalışmalara yol gösterici olması beklenmektedir.

## Teşekkür

*Plantago lanceolata* ekstraksiyon işlemlerinde çalışmamıza destek olan Ege Üniversitesi Eczacılık fakültesi Öğ. Üyesi Dr. Serdar Demir' e teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Abebe, E. and Mekonnen, N. (2016). "In vitro antibacterial activity of *Rumex nervosus*, *Plantago lanceolata*, *Solanum incanum* and *Lepidium sativum* against selected bacterial pathogens of human and animals" *Ethiopian Veterinary Journal*, 20(2), 119-131.
- Akbalık, C., Kireççi, O. A., Fırat, M., Şahin, İ. H. ve Çelikezen, F.Ç. (2021). "Bitlis yöresinde yetişen *Plantago lanceolata* (yılan otu) bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması" *BEU Fen Bilimleri Dergisi*, 10(2), 287-295
- Ardıç, B. (2020). "İnvaziv *Candida* enfeksiyonu saptanan hastalarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi, izole edilen candidaların virulans faktörlerinin ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması". Uzmanlık tezi, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Erzurum.
- Asressu, K. H. (2013). "Antimicrobial activity and phytochemical screening of crude extracts of medicinal plants grown in Eastern Ethiopia". *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(4), 326-333.
- Aşkar, Ş. ve Deveboynu, Ş. N. (2019). "Türkiye'de yetişen *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea europaea* yaprağından elde edilen ticari ekstraktların in-vitro antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması". *Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 76(1), 85-92. doi: 10.5505 TurkHijyen.2018.53367
- Ateş, S. (2017). "İdrar ve gaita örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarının ısı şok proteinlerinin sds-page yöntemi ile analizi". Yüksek lisans tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Aygül, A. (2018). "Doğal kaynaklı bazı bileşiklerin *Proteus mirabilis* kökenleri üzerine antibakteriyel ve antivirülans etkinliklerinin incelenmesi". Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Başkaya, Y. (2015). "Bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkili antimikrobiyal maddeler üretebilen mikroorganizmaların topraktan izolasyonu". Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- Çakmak, B. ve İnkaya, B. (2021). "Mikrobiyotanın hastalıklar üzerindeki etkisi". *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 45(1), 96-108. doi: 10.33483/jfpau.808595
- Davis P.H., (1982). *Flora of Turkey*. Edinburg Univ., vol. 7.
- Deribew, F., Endale, M., and Melaku, Y. (2018). "Antibacterial and antioxidant phenylpropanoid derivative from the leaves of *Plantago lanceolata*". *Nat Prod Chem Res*, 6(315), 2.
- Ekonomi Bakanlığı-Ticarete İvme Kazandıranlar Çalıştayı / ITO, (2019). "bitkisel ekstraktların elde edilme yöntemleri ve millileştirilmesi esnasında yapılan analizler" .
- Eucast (2015). "Antimikrobik Duyarlılık Testine Yönelik Disk Difüzyon Yöntemi". Sürüm 5.0.
- Fernandes SC and Dhanashree B. (2013) "Drug resistance & virulence determinants in clinical isolates of *Enterococcus* species". *Indian J Med Res*;137(5):981-5.
- Fayera, S., Babu, G. N., Dekebo, A., and Bogale, Y. (2018). "Phytochemical investigation and antimicrobial study of leaf extract of *Plantago lanceolata*". *Natural Products Chemistry and Research*, 6(2), 1-8.
- Gök, Ş. M., Dağı, H., Kara, F., Arslan, U., ve Fındık, D. (2020). "Klinik Örneklerden İzole Edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* İzolatlarının Antibiyotik Direnci ve Virülans Faktörlerinin Araştırılması". *Mikrobiyoloji Bülteni*, 54(1), 26-39.
- Hassawi, D. and Kharmah, A. (2006). "Antimicrobial activity of some medicinal plants against *Candida albicans*". *Journal of Biological Sciences*, 6(1), 109-114.
- Karankı, E. (2013). "Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Baharatların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi". Yüksek lisans tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Karaynir, A. (2021). "Çevresel örneklerden *Escherichia coli* dh10b suşuna karşı litik bakteriyofaj izolasyonu ve klinik *Escherichia coli* suşlarına karşı etkinliklerinin belirlenmesi". Yüksek lisans tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kassaw, E., Yohannes, T. and Bizualem, E. (2018). "In-vitro antibacterial activity of *Plantago lanceolata* against some selected standard pathogenic bacterial". *The International Journal of Biotechnology*, 7(1), 44-50. doi: 10.18488/journal.57.2018.71.44.50
- Keleş, O., Ak, S., Bakırel, T. ve Alpınar, K. (2001). "Türkiye'de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel

- etkisinin incelenmesi". *Turk J Vet Anim Sci*, 25, 559-565.
- Kılıç, Ü. ve Altındış, M. (2017). "Antibiyotik kullanımı ve mikrobiyota". *J Biotechnol and Strategic Health Res.*, 1(Special issue), 39-43.
- Konak, M., Ateş, M. ve Şahan, Y. (2017). "Yenilebilir yabani bitki *Gundelia tournefortii*'nin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi". *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31(2), 101-108.
- Koohsari, H., Ghaemi, E. A., Sadegh Sheshpoli, M., Jahedi, M. and Zahiri, M. (2015). "The investigation of antibacterial activity of selected native plants from North of Iran". *Journal of Medicine and Life*, 8(Spec Iss 2), 38-42
- Kuşçu, M. M. (2021) "Mikroenkapsüle *Lactobacillus Plantarum* Süpernatantı ile Propolis Ekstraktı Kombinasyonlarının Balıkta Bozulmaya Neden Olan Bakteriler Üzerindeki Antibakteriyel Etkileri. (Yüksek lisans tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Liu X, Steele JC, Meng XZ (2017) "Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: a review". *Environ Pollut* 223,161-169.
- Nostro, A., Germanó, M. P., D'Angelo, V., Marino, A. ve Cannatelli, M. A. (2000). "Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity". *Letters in Applied Microbiology*, 30, 379-84.
- Oyardı, Ö. (2021). "Cerageninler ve antimikrobiyal peptidlerin insan havayolu epitel hücresi üzerinde oluşturulan *pseudomonas aeruginosa* biyofilmi üzerine etkileri" Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Özbakır, G. (2011). "Staphylococcus epidermidis, Proteus mirabilis ve Candida albicans suşlarının tanımlanması, antimikrobiyal ajanlara karşı dirençliliklerinin ve oluşturdukları biyofilmlerin araştırılması".Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Özkan, F. (2020). "Turşulardan izole edilmiş *Lactobacillus plantarum* suşlarının probiyotik ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi".Yüksek lisans tezi, Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muş.
- Özsoy, E. (2021). "Pseudomonas aeruginosa izolatlarında virulans faktörlerinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması". Yüksek lisans tezi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tokat.
- Paganelli FL, Huebner J, Singh KV, Zhang X, van Schaik W, Wobser D. (2016) "Genome-wide screening identifies phosphotransferase system permease BepA to be involved in Enterococcus faecium endocarditis and biofilm formation". *J Infect Dis*;214(2), 189-95.
- Peng, Z., Yan, L., Yang, S., Yang, D. (2022). "Antimicrobial-resistant evolution and global spread of Enterococcus faecium clonal complex (CC) 17: progressive change from gut colonization to hospital-adapted pathogen". *China CDC Weekly*, 4(2), 17-21.
- Pehlivan Karakaş, F., Yıldırım, A. Ve Türker, A. (2012). "Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities". *Turkish Journal of Biology*, 36, 641-652. Doi:10.3906/biy-1203-16
- Rabe, T. Ve van Staden J. (1997). "Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes". *Journal of Ethnopharmacology*, 56, 81-87.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M. (1996). "Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils". *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1202-1205.
- Stanojević, L. P., Stanković, M. Z., Nikolić, V. D. Ve Nikolić L. B. (2008). "Anti-oxidative and antimicrobial activities of Hieracium pilosella L. Extracts". *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73(5), 531-540.
- Stewart, A. V. (1996). "Plantain (*plantago lanceolata*) – a potential pasture species". *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 58, 77-86.
- Süzük-Yıldız, S., Öztaş, D. (2019). "Antibiyotik kullanımı ve obezite arasındaki köprü: mikrobiyota mı?". *Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 76(1), 99-108. doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.67689
- Ünlü, Ü. (2016). "Bazı tıbbi bitkilerin farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması". Yüksek lisans tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- Yılmaz, K. ve Altındış, M. (2017). "Sindirim sistemi mikrobiyotasi ve fekal transplantasyon". *Nobel Medicus*, 13(1), 9-15.
- Yılmaz, Ö. (2020). "Laktik asit bakterileri ve hücresiz süpernatantlarının yara enfeksiyonlarına yol açan önemli patojenlere karşı potansiyel probiyotik etkilerinin araştırılması".Doktora tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.