

Juniperus L. (Ardıç) cinsine ait iki türün yapraklarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi

Antimicrobial activity of essential oils obtained from the leaves of two species of Juniperus L. (Juniper) genus

Neslihan TAŞAR¹ , Ferit Can YAZDIÇ¹ , Altuğ KARAMAN¹ , Osman GEDİK² 

¹Munzur Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tunceli

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Kahramanmaraş

Eser Bilgisi / Article Info

Araştırma makalesi / Research article

DOI: [10.17474/artvinofd.1138188](https://doi.org/10.17474/artvinofd.1138188)

Sorumlu yazar / Corresponding author

Neslihan TAŞAR

e-mail: ntasar@munzur.edu.tr

Geliş tarihi / Received

01.07.2022

Düzeltilme tarihi / Received in revised form

25.08.2022

Kabul Tarihi / Accepted

27.08.2022

Elektronik erişim / Online available

28.10.2022

Anahtar kelimeler:

Juniperus

Uçucu yağ

Antimikrobiyal

Keywords:

Juniperus

Essentials oil

Antimicrobial

Özet

Juniperus L. cinsi; yaprakları sivri ve uzun, meyveleri kozalak şeklinde parlak siyah renkte, boyu ortalama 8-9 metre uzunlukta, çok uzun yıllar yaşayabilen bir ağaçtır. Bu çalışmada geleneksel tıpta kullanımı çok eskiden beri bilinen, *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* M.Bieb. ve *Juniperus foetidissima* Willd. bitkilerinin doğal ortamından toplanan yapraklarından elde edilen uçucu yağlar antimikrobiyal etkileri yönüyle araştırılmıştır. Çalışma materyalini oluşturan uçucu yağlar Neo-Clevenger cihazında ekstrakte edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteleri, oyuk agar yöntemi kullanılarak gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerde tıbbi olarak önemli olan 6 patojen ve mikrobiyal kirleticisine karşı (*Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13075), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Serratia marcescens* (ATCC 13880)) değerlendirilmiştir. Her iki bitkinin uçucu yağlarının tüm patojenlere karşı antibakteriyel aktivite sergilediği görülmüştür (8.13±0.67-13.43±0.31 mm). Ancak Gram negatif bakterilerin *J. excelsa* subsp. *excelsa* ve *J. foetidissima*'ya karşı daha hassas olduğu belirlenmiştir.

Abstract

Juniperus L. genus; It is a tree with pointed and long leaves, cone-shaped bright black fruits, an average of 8-9 meters in length, and can live for many years. In this study, essential oils obtained from the leaves of *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* M.Bieb. and *Juniperus foetidissima* Willd. plants, which have been known for a long time in traditional medicine, were investigated in terms of their antimicrobial effects. The essential oils that make up the study material were extracted in the Neo-Clevenger device. Their antimicrobial activities were evaluated against 6 medically important pathogens (*Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13075), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Serratia marcescens* (ATCC 13880)) and microbial contaminants in food, cosmetics and pharmaceutical products using the hollow agar method. It was observed that the essential oils of both plants exhibited antibacterial activity against all pathogens (8.13±0.67-13.43±0.31 mm). However, it was determined that Gram-negative bacteria were more sensitive to *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* and *Juniperus foetidissima*.

GİRİŞ

Türkiye'de geniş bir habitata sahip olan ardıç (*Juniperus L.*) cinsi üyeleri Cupressaceae familyasında yer alır. Yayılış alanları daha çok kuzey yarım küre olan *Juniperus* türleri; genellikle Japonya ve Doğu Asya'dan başlayıp, Asya ve Avrupa'yı içine alan bir habitatta dağılım göstermektedir. Cupressaceae familyasına ait olan *Juniperus* cinsinin Dünya üzerinde bu cinsin 70 kadar türü bulunmaktadır. (Adams 2008, Sela F 2015). Ülkemizde ise bu cinsin 15 türü bulunmaktadır (Mataracı 2012). Türkiye'de ardıç ormanlarının %82'sini oluşturan *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* halk arasında boylu ardıç, boz ardıç olarak

bilinmektedir (Gülser ve ark. 2012). *Juniperus foetidissima* türü ise kokarardıç olarak adlandırılmaktadır. Bu cinse ait türlerde uçucu yağ olarak; bol miktarda tanen, flavanoit, reçine, lignan ve triterpen bulunması bu cins ile yapılan araştırmaları ön plana çıkarmıştır. (Hegnauer 1986).

Juniperus üyelerinin tıbbi ve aromatik bitki olarak nitelendirilmesi, aslında yapısında buldukları biyokimyasal etken maddeleri ile ilgilidir. Özellikle farklı yapıda olan sekonder metabolitler, bu bitkilerin tıbbi ve aromatik özelliklerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Çünkü bu türlerin yapraklarında, gövdelerinde ve çiçeklerinde salgı tüyleri bulunur. Bu salgı tüylerindeki yağ

bezeleri sayesinde, bu bitkiler diğer birçok türe göre daha fazla koku ve tat verebilirler (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011). Aynı zamanda bu salgı tüylerinin içeriğindeki bileşimler sayesinde de birçok ilacın hammaddesini oluştururlar.

Çok yıllık olan *juniperus* cinsine ait türler, ülkemizde ve dünyada çok eski zamanlardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *J. excelsa* birçok bölgede, yüksek tansiyonun ve ateşin düşürülmesinde, karın ve baş ağrısının giderilmesinde, cilt hastalıklarının tedavisinde, tüberküloz ve sarılık hastalığında kullanıldığı bilinmektedir (Zahara ve ark. 2017, Weli ve ark. 2014). Bronşit, şiddetli öksürük ve astım gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde bu bitkinin yapraklarından elde edilen ekstraksiyon tüketilmektedir. Romatizmal hastalıklarda ise bitkilerin dalları tütsü şeklinde yakılarak koklanmaktadır. Ağrı kesici olarak bitkinin yapraklardan elde edilen macun sürülmektedir. Ayrıca bitkiye ait meyveler, susam yağı ile karıştırılarak iştah güçlüğüne iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. Amerika'da bitkiden elde edilen kurutulmuş yapraklar sıcak suyla demlenerek genital hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Tümen 2011).

Uçucu yağlar ve bileşenlerinin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu ve bu nedenle de çok çeşitli potansiyel uygulamalara sahip olduğu gösterilmiştir. Farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrilerinde, biyolojik koruyucular ve doğal ilaçlar olarak uzun süreli kullanılmaktadırlar (Raut ve Karuppaiyil 2014, Ribeiro-Santos ve ark. 2018). Antibiyotiklerin kullanımına yönelik son zamanlarda ortaya çıkmaya başlayan ve önlenemeyen direnç sorunu, daha güvenli ve toksitesi daha az olan antimikrobiyal bileşiklerin gerekliliği her geçen gün artırmaktadır (Bakkali ve ark. 2008). Bitkisel kaynaklı uçucu yağlarla ilgili bilimsel çalışmalar, bitkilerin tıbbi özellikleri, düşük toksisiteleri, farmakolojik aktiviteleri ve ekonomik canlılıkları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bu tür çalışmalarda, bitki özlerinden elde edilen fitokimyasalların faydalı özelliklerine ve insan sağlığı üzerindeki etkilerine

odaklanmıştır. Yaygın antibiyotik kullanımı, halk sağlığını etkileyen önemli bir sorun olan antibiyotiklere karşı direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur (De Billerbeck ve ark. 2007). Toplum ve hastane kaynaklı patojenler kategorisine dahil edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus*, *Shigella*, *Enterococcus* sp. ve *Escherichia coli* çoklu ilaca direncinin ana bakterilerden bazıları arasındadır (Fisher ve Phillips 2008). Bunun bir sonucu olarak, kullanıcılar tarafından patojenlere karşı güçlü yeni antibiyotik talebiyle sonuçlanmıştır ve bilimsel araştırmalarda antimikrobiyal özelliklere sahip bitkisel ilaçların kullanımına ilgi gelişmiştir (Fisher ve Phillips 2008, Chouhan ve ark. 2017). Bitkiler, çok çeşitli karmaşık ve yapısal olarak çeşitli bileşikler sağlayabilir. Bitki özleri ve uçucu yağları, antifungal, antibakteriyel ve antiviral özelliklere sahiptir. Buda onları antimikrobiyal bileşiklerin potansiyel kaynakları yapmaktadır. Uçucu yağların önemli antiseptik, antibakteriyel, antiviral, antioksidan, anti-parazitik, antifungal ve böcek öldürücü aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Benjilali ve ark. 1986, Burt 2004).

Önceki çalışmalarda, uçucu yağların yaprak ve çiçeklerinin polifenol antioksidanları bakımından zengin olduğu, çiçek etanolik ekstraktının ise büyük olasılıkla lipofilik bileşenlerin yüksek içeriğinden dolayı en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koyulmuştur (Blažeković ve ark. 2010 ve 2011). Bununla birlikte uçucu yağların içerikleri ve potansiyel biyomedikal değeri hala bilimsel olarak araştırılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışma, *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* ve *Juniperus foetidissima* bitkilerinin uçucu yağlarının antibakteriyel etkileri araştırılarak bitkinin etkinliğinin ortaya konması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Örnekleri

Çalışmaya konu olan uçucu yağların temini için kullanılan bitki materyallerinin lokaliteleri Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. *J. excelsa* subsp. *excelsa* ve *Juniperus foetidissima* türlerinin lokaliteleri

Juniperus excelsa subsp. *excelsa*: Kahramanmaraş, Nurhak ilçesi, Karaağaç ormanlık bölgesi, Haziran 2021, OG1001.

Juniperus foetidissima: Kahramanmaraş, Nurhak ilçesi, Karaağaç ormanlık bölgesi, Temmuz 2021, OG1002.

Uçucu Yağ Ekstraksiyonu

Bitkilerden uçucu yağ elde etme işlemi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesinde bulunan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada kullanılan ardıç türlerine ait kuru yapraklar öğütülmüş ve su distilasyonu yöntemi kullanılarak üç saat süresince Neo-Clevenger cihazında ekstrakte edilmiştir. Bu işlem için 50 gram öğütülmüş bitki materyali üzerine 500 ml saf su eklenerek hidrodistilasyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen uçucu yağlar çalışma düzeneği kurulana kadar buzdolabında -18 °C de depolanmıştır.

Agar Kuyusu Difüzyon Test Yöntemi

Uçucu yağ ekstraksiyonları ürünlerinin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesinde agar kuyucuk difüzyon test yöntemi kullanılmıştır (Russo ve ark. 2013). Antibakteriyel aktivite ATCC (American Type Culture Collection) suşları olan *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13075), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Serratia marcescens* (ATCC 13880) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bakteri suşları için Muller Hinton agar (MHA) kullanılmıştır. Kısaca, 100 µl log fazındaki patojen örnekleri 20 ml MHA besiyerine eklenerek petri kaplarına dökülmüştür. Daha sonrasında MHA petrilere oyuk

Çizelge 2. *J. excelsa* subsp. *excelsa* ve *J. foetidissima* bitkileri ve patojen mikroorganizmalar arasındaki inhibisyon bölgesi (mm±SD)

Mikroorganizmalar	Uçucu yağ asitleri	Standart Antibiyotikler
<i>E. aerogenes</i> (ATCC 13048)	<i>J. excelsa</i> subsp. <i>excelsa</i> 11.67±0.97	<i>J. foetidissima</i> 12.60±0.26 Ampicillin (10)¹ 20.87±0.35^a
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	9.93±1.47	10.20±0.53 17.60±0.44^a
<i>S. enteritidis</i> (ATCC 13075)	9.97±0.61a	9.57±0.70 NIZ
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (ATCC 25923)	8.20±0.44	10.63±0.75 17.53±0.45^a
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	9.80±0.53	13.43±0.31 16.87±0.93^a
<i>S. marcescens</i> (ATCC 13880)	8.13±0.67	10.27±0.97 20.10±0.53^a

Çalışmalarımız, *J. excelsa* subsp. *excelsa* ve *J. foetidissima* esansiyel yağlarının, başlıca patojenik ajanlar olan *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Serratia marcescens*'e karşı

açmak için steril mantar delici (6 mm çap) kullanılmış ve her kuyuya 10 µL uçucu yağ asidi ilave edilmiştir. Test edilen organizmaların duyarlılığını kontrol etmek için pozitif kontrol olarak Ampicillin-10 µg kullanılmıştır. Petriler gece boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite, her bir kuyunun etrafındaki temiz bölgenin boyutu ölçülerek değerlendirilmiştir (Balouiri ve ark. 2016). Tüm testler üç kopya halinde yapılmış ve sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart hataları olarak ifade edilmiştir.

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Sonuçlarımız, *J. excelsa* subsp. *excelsa* ve *J. foetidissima* türlerinin esansiyel yağının, ampisilin antibiyotiği ile kıyaslandığında *Salmonella enteritidis*'e karşı daha güçlü, olağanüstü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu açıkça göstermiştir. Uçucu yağların ve monoterpenoid bileşenlerinin antimikrobiyal aktivite mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsa da, esas olarak hücresel membranı kararsızlaştırdıkları böylelikle zar taşınması, enerji üretimi, hücre sinyali ve geçirgenlik gibi zarla ilişkili fonksiyonları bozduğu bildirilmiştir (Swamy ve ark. 2016). Mikroorganizmaların uçucu yağa duyarlılığındaki farklılıklar, uçucu yağ bileşeninin hücre duvarından penetrasyon hızındaki değişkenliği ve hücre zar yapılarına atfedilebilir.

bakterisidal aktivite gösterdiğini göstermiştir. *E. faecalis*, en önemli hastane kaynaklı çoklu ilaca dirençli organizmalardan birisidir. Bu patojenler genellikle eşzamanlı hastalıklar nedeniyle güçten düşmüş ve uzun süre hastanede yatan hastaları etkiler (Arias ve Murray

2012). *S. aureus*, yüksek enfeksiyon ve ölüm oranlarına sahip patojenik gram pozitif bir bakteridir (Kong ve ark. 2016). *Enterobacter aerogenes* gastrointestinal enfeksiyonlara, idrar yolu enfeksiyonlarına, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, solunum yolu enfeksiyonlarına ve yetişkin menenjitine neden olabilirler (Ghazvini ve Farsiani 2020). *Salmonella enteritidis* dünya çapında en yaygın gıda kaynaklı patojenlerden biri olup, kamu güvenliği için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Gu ve ark. 2022). *Escherichia coli*, kolesistit, bakteriyemi, kolanjit, idrar yolu enfeksiyonu, ishal, yenidoğan menenjit ve zatürree gibi klinik enfeksiyonlar dahil olmak üzere birçok enfeksiyonun nedenlerinden biridir (Sabbagh ve Berakdar 2015). *Serratia marcescens*, genellikle çocuk, yenidoğan ve diğer yoğun bakım ünitelerinde görülen solunum yolu, üriner sistem ve bakteriyemilerden sorumlu olan bir hastane enfeksiyon etkenidir (Cullen ve ark. 2005).

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, *Juniperus* cinsine ait iki türün yapraklarından elde edilen uçucu yağlarda, çalışılan patojen mikroorganizmalara göre farklılık göstermekle birlikte antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir. Bitkinin yapraklarından elde edilen uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisi, test edilen mikroorganizma çeşidine göre değişkenlik göstermektedir. Bitki uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesine yönelik araştırma bulguları genel olarak pozitif yöndedir. Bundan dolayı bitkilerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal olarak kullanımının etkili çözüm yollarından biri olabileceği kabul edilmektedir. Bitki uçucu yağlarının çoğunda mutajenik etkinin görülmemesi, bu yağların tıp endüstrisinde sentetik kimyasalları azaltmak için tıp uygulamalarına potansiyel bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Adams RP (2008) Junipers of the world: The genus *Juniperus*. 2nd Ed., Trafford Publ., Vancouver, B.C., Canada
- Arias CA, Murray BE (2012) The rise of the enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology* 10(4): 266-278
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem. Toxicol.* 46:446-475
- Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK (2016) Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(2):71-79

- Benjlali B, Tantaoui-Elaraki A, Ismaili-Alaoui M, Ayadi A (1986) Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant. Med. Phytother* 20:155-167
- Burt S (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3):223-253
- Chouhan S, Sharma K, Guleria S (2017) Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives. *Medicines* 4(3):58
- Cullen MM, Trail A, Robinson M, Keane M, Chadwick PR (2005) *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit prompting review of decontamination of laryngoscopes. *Journal of Hospital Infection* 59(1):68-70
- De Billerbeck VG (2007) Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie* 5(5):249-253
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS (2011) Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 11 (1):52-67
- Fisher K, Phillips C (2008) Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?. *Trends in Food Science & Technology* 19(3):156-164
- Ghazvini K, Farsiani H (2020) Clinical and pathogenesis overview of enterobacter infections. *Reviews in Clinical Medicine* 6(4):146-154
- Gu K, Song Z, Zhou C, Ma P, Li C, Lu Q, ... Wang H (2022) Development of nanobody-horseradish peroxidase-based sandwich ELISA to detect *Salmonella Enteritidis* in milk and in vivo colonization in chicken. *Journal of Nanobiotechnology* 20(1):1-18
- Gülser F, Çiğ A, Türkoğlu N (2012) Van'da doğal olarak yetişen ardıç (*Juniperus excelsa* Bieb.) bitkisinin meyvelerinin besin elementi içerikleri ile yetiştirme ortamının toprak özelliklerinin belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2(2): 93-98
- Kong C, Neoh HM, Nathan S (2016) Targeting staphylococcus aureus toxins: a potential form of anti-virulence therapy. *Toxins* 8:E72
- Mataracı T (2012) *Juniperus*. <http://www.bizimbitkiler.org.tr>. Erişim Tarihi 23 Haziran 2022
- Raut JS, Karuppaiyl SM (2014) A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod*, 62:250-64
- Ribeiro-Santos R, Andrade M, Ramosde Melo N, Regianedos Santos F, de Araújo Neves I, Geraldode Carvalhoe M, Sanches-Silva A (2018) Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. *Ind. Crops Prod.* 97:201-210
- Russo A, Formisano C, Rigano D (2013) Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food Chem Toxicol* 55:42-47
- Sabbagh G, Berakdar N (2015) Docking studies of flavonoid compounds as inhibitors of β -ketoacyl acyl carrier protein synthase I (Kas I) of *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 61:214-223
- Sela F (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Juniperus excelsa* Bieb. (*Cupressaceae*) grown in R. Macedonia. *Pharmacognosy Research* 7(1):74-80
- Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR (2016) Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 1-21
- Tümen İ (2011) Tıbbi bitkilerin ekonomik değeri: "Ardıç" örneği. *Bitkilerle Tedavi Sempozyumu Bildiri Kitapçığı, İstanbul, Türkiye*, pp 123-139

Vladimir-Knežević S, Blažeković B, Bival Štefan M, Alegro A, Kőszegi T, Petrik J (2011) Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected Micromeria species from Croatia. *Molecules*, 16(2):1454-1470

Weli A, Al-Hinai S, Hossain M, Sabahi J (2014) Composition of essential oil of Omani *Juniperus excelsa* fruit and antimicrobial activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Taibah University for Science* 8(3):225-230

Zahara K, Bibi Y, Qayyum A, Manaf A (2017) An insight into therapeutic potential of *Juniperus excelsa* M. Bieb. *Journal of Medicinal and Spice Plants* 22(2): 93-96