

## ***TRIGONELLA FOENUM-GRAECUM* L. (ÇEMEN) TOHUM EKTRAKTİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN TAYİNİ\***

Perihan AKBAŞ<sup>1</sup>, Gözde ATILA<sup>2</sup>, Hamit USLU<sup>1</sup>, Hicran ALKAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu-Kars

<sup>2</sup>Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi-Kars

<sup>3</sup>Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi-Kars

[perihanakbas36@gmail.com](mailto:perihanakbas36@gmail.com)

### **Abstract**

*Trigonella foenum-graecum* seed was extracted with water-alcohol by maceration method. Its antimicrobial activity was tested by well diffusion technique against *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* bacteria and *Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis* yeast and standard antibiotics.

Extract of *Trigonella foenum-graecum* seed was detected to be effective against Gram (+) and Gram (-) bacteria and yeasts. Best antibacterial activity has been found against *P. multocida* (22 mm) and best activity for yeasts has been found against *R. glutinis* (20 mm) In general, the antimicrobial activity of *Trigonella foenum-graecum* seed extract is lower than penicillin and erythromycin antibiotics.

**Key words:** *Trigonella foenum-graecum* seed extract, antibacterial, antifungal.

\*Bu çalışma I. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi'nde özet bildiri olarak kabul edilmiştir

### **Giriş**

Antimikrobiyal kavramı hayatımıza 1930'lu yıllarda girmiş ve her yeni antimikrobiyal bileşiğin kullanımının devamında antimikrobiyal direnç gelişimi söz konusu olmuştur (Levy, 1982). Antimikrobiyal direnç gelişen ürünlerin etkisi azalacağından alternatif antimikrobiyal

madde arayışları devam etmektedir. Hurma, üzüm çekirdeği, kabak çekirdeği, alıç, pelin otu gibi günlük yaşantımızda da tükettiğimiz zengin protein kaynaklarının antimikrobiyal yönden araştırmaları yapılmıştır (Dülger vd. 1999, Furigaa et al. 2009, Xanthopoulou et al. 2009, Goncagül vd. 2010, Kchaou et al. 2016). Ancak *Trigonella foenum-graecum* açısından bu tür bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Bu açıdan bu çalışma bir ilktir.

Bitkiler, otlar, baharatlar gibi doğal önleyici içerikleri olan doğal antibakteriyal ürünlere artan bir ilgi vardır ve bu besinler karakteristik tatlarının yanı sıra antimikrobiyal aktiviteleri olduğu kadar antioksidan aktivite de gösterirler (Smid ve Gorris 1999). Bu nedenle doğal antimikrobiyal ürün arayışları gündemdeki yerini korumaktadır ve aynı zamanda bitki özütlerinde (üzüm çekirdeği ve yeşil çay özütleri gibi) bulunan kateşinlerin antimikrobiyal özelliğinin de olduğu bilinmektedir (Yılmaz, 2006).

Baklagiller familyasına ait olan *Trigonella foenum-graecum* baharat ve çeşni olarak kullanılmakla birlikte besleyici ve onarıcı özellikleri olduğu kabul edilmekte olup uzun yıllardan beri halk hekimliğinde kullanılmaktadır (Fazli and Hardman 1968, Petit et al. 1993). *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin tohum ve yapraklarının hipoglisemik, hipokolesterolemik, antioksidan, antiülser ve immunmodülatör etkileri olduğu belirtilmektedir (Mohamad et al. 2004, Pandian et al. 2002, Piao et al. 2016). Ayrıca *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının sapogeninler, trigonelline alkaloidi, fosfat, potasyum, bakır, protein, kolin, C vitamini, beta- karoten, nikotinik asit ve folik asit bakımından oldukça zengin olduğu ifade edilmektedir (Shankaracharya et al. 1973).

Özellikle günümüzde antimikrobiyal bileşiklerin uzun süreli kullanımında antimikrobiyal direnç gelişimi kaçınılmazdır bu nedenle son yıllarda alternatif antimikrobiyal madde arayışlarına bir yönelme söz konusudur. Yapılan bu çalışmada da hipoglisemik, hipokolesterolemik, antioksidan, antiülser ve immunmodülatör etkilerinin olduğu belirtilen *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin antibakteriyal ve antifungal aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

## **Yöntem**

Bütün kimyasal ve çözeltiler analitik saflıktadır. *Trigonella foenum-graecum* tohum ekstraktının antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi deneylerinde kullanmak amacıyla *Bacillus cereus* (ATCC-11778), *Bacillus subtilis* (ATCC-11774), *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC-4352), *Pasteurella multocida* (ATCC-12945), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538), *Yersinia enterocolitica* (ATCC-27729) bakterileri, *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Rhodotorula glutinis* (ACTT

28052) mayaları standart suşları kullanılmıştır. Bu suşlar Kafkas Üniversitesi Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Mikrobiyoloji Laboratuvarından ve Eğitim Fakültesi laboratuvarından temin edilmiştir.

### **1- *Trigonella foenum-graecum* Ekstraktının Hazırlanması**

*Trigonella foenum-graecum* tohumları ince toz haline getirilmiş, toz 1:5 oranında su ve etanol (su-etanol 2:8) karışımı ile sulandırılıp oda ısısında 48 saat çalkalama su banyosunda bekletilmiştir (Hamza et al. 2012). 48 saat sonra filtre kağıdından süzülüp, 50 C°'de indirgenmiş basınç altında evaporatörde, su ve alkol buharlaştırılmıştır, 250 ml maserasyondan sonuçta 9 gr ekstrakt elde edilmiştir.

### **2- Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Agar Kuyu Difüzyon Tekniği:**

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde agar kuyu difüzyon yöntemi uygulanmıştır (Submuth et al. 1987). Çalışmamızda besiyeri olarak bakteri ve mayaların antimikrobiyal aktivitesini belirlemede Mueller Hinton Agar kullanılmıştır.

Stok kültürlerden alınan bakteri suşları ayrı ayrı 5 ml. buyyonda süspansiyon edilerek, 2-5 saat etüvde inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu bakteriler için  $10^8$  cfu/ml, mayalar içinse  $10^6$  cfu/ml olacak şekilde ayar edildikten sonra petri kaplarına 100'er µL ekim yapılmıştır. Steril eküvyon, petri kabına sık aralıklarla taramak suretiyle 3 ayrı yönde sürülerek inoküle edilmiştir. Tüm petri plakları bundan sonra 5-15 dakika süre ile oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda agar üzerine 5 mm çapında açılan kuyucuklara *Trigonella foenum-graecum* ekstraktından 50 µL aktarılarak 24 ve 48 saat sonra oluşan zon çapları tespit edilmiştir. Bakterilerin inoküle edildiği plaklar 35°C'de 24 saat, mayaların inoküle edildiği plaklar ise 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuyucukların çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür. Aynı zamanda karşılaştırma amacıyla Penisilin 10 mg ve Eritromisin 15 mg olmak üzere iki standart antibiyotik diski kontrol olarak kullanılmış, çözücümüz olan su aynı besiyerine ekim yapılarak inhibisyon olup olmadığına bakılmıştır.

Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri üç kez tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

### **3. İstatistiksel Analizler**

Her bir deneme en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve her bir bulgu 2 tekrardan oluşmuştur. Elde edilen veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) ile analiz edilmiştir.  $p < 0,05$  olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilir. İstatistiksel analizler SPSS programı (standart versiyon 20) ile gerçekleştirilmiştir.

## Sonuç ve Tartışma

Çalışmada elde edilen bulgular **Tablo 1**'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi *Trigonella foenum-graecum*'dan hazırlanan su-alkol ekstresinin test bakteri ve mayalarına karşı düşük antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmüştür.

Tablo 1.	İnhibisyon Zonları (mm)			
	Çemen + Su	Su	Penisilin 10 mg	Eritromisin 15 mg
<i>Bacillus cereus</i>	10 b	R	34 g	40 h
<i>Bacillus subtilis</i>	10 b	R	30 f	42 h
<i>Escherichia coli</i>	8 a	R	34 g	28 f
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 b	R	34 g	40 h
<i>Pasteurella multocida</i>	22 d	R	30 f	44 ı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	30 f	40 h
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 b	R	48 j	50 j
<i>Yersinia enterocolitica</i>	14 c	R	48 j	50 j
<i>Candida albicans</i>	R	R	25 e	20 d
<i>Rhodotorula glutinis</i>	20 d	R	22 d	42 h

Farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklar  $p < 0,05$  seviyesinde önemlidir.

Çalışmada kullandığımız *Trigonella foenum-graecum* ekstraktının antibakteriyal aktivitesine baktığımızda; en yüksek zon çapının *P. multocida* (22 mm) tarafından oluşturulduğu, *P. aeruginosa* üzerine ise antibakteriyal etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. En yüksek antifungal aktivitenin ise *R. glutinis* (20 mm) üzerine olduğu ve bu zon çapının penisilin antibiyotiklerinin oluşturduğu zon çapına denk olduğu, ancak *C. albicans* üzerine antifungal aktivitesinin olmadığı görülmektedir. Standart antibiyotiklerle karşılaştırıldığında genel olarak *Trigonella foenum-graecum* ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi Penisilin ve eritromisin antibiyotiklerine göre düşüktür.

Elde edilen sonuçlar, çalışmada kullanılan *Trigonella foenum-graecum* ekstraktının antibakteriyal ve antifungal etkili olduğunu göstermektedir. Daha etkili sonuçlar elde etmek için farklı çözücülerle ekstraksiyonların da denemesi daha uygun olabilecektir. Bu çalışma ülkemizde de yetiştirilen ve günlük hayatımızda tükettiğimiz baharatların doğal ve ekonomik antibakteriyel madde kaynakları olarak kullanılabilirler konusunda fikir vermektedir.

## Kaynaklar

Dülger, B., Ceylan M., Altsaous, M. (1999). *Artemisia absinthium L.* (Pelin)'un Antimikrobiyal Aktivitesi, Tr. J. of Biology 23, 377–384.

Fazli, F. R. Y., & Hardman, R. (1968). The Spice, Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.): Its Commercial Varieties of Seed as a Source of Dihydrochalcones & Precursors of Diosgenin. *Tropical Science*, Vol.10, p. 66-78.

Furiga, A., Lonvaud-Funel, A., Badeta, C. (2009). In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract, *Food Chemistry* 113(4), 1037–1040.

Goncagül, G., Ayaz, E. (2010). Antimicrobial Effect of Garlic (*Allium sativum*) and Traditional Medicine; *Journal of Animal And Veterinary Advances* 9 / 1 Pages: 1-4.

Hamza, N., Berke, B., Cheze, C., Le Garrec, R., Umar, A., Agli, A. N., ... & Moore, N. (2012). Preventive and curative effect of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds in C57BL/6J models of type 2 diabetes induced by high-fat diet. *Journal of ethnopharmacology*, 142(2), 516-522.

Kchaou, W., Abbès, F., Mansour, R. B., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2016). Phenolic profile, antibacterial and cytotoxic properties of second grade date extract from Tunisian cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *Food chemistry*, 194, 1048-1055.

Levy SB., (1982). Microbial resistance to antibiotics. An evolving and persistent problem. *Lancet*, 10:83-88.

Mohamad, S., Taha, A., Bamezai, R. N. K., Basir, S. F., & Baquer, N. Z. (2004). Lower doses of vanadate in combination with trigonella restore altered carbohydrate metabolism and antioxidant status in alloxan-diabetic rats. *Clinica chimica acta*, 342(1), 105-114.

Pandian, R. S., Anuradha, C. V., & Viswanathan, P. (2002). Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 81(3), 393-397.

Petit, P., Sauvaire, Y., Ponsin, G., Manteghetti, M., Fave, A., & Ribes, G. (1993). Effects of a fenugreek seed extract on feeding behaviour in the rat: metabolic-endocrine correlates. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 45(2), 369-374.

Piao, C. H., Bui, T. T., Song, C. H., Shin, H. S., Shon, D. H., & Chai, O. H. (2016). *Trigonella foenum-graecum* alleviates airway inflammation of allergic asthma in ovalbumin-induced mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*.

Shankaracharya, N. B., Anandaraman, S., & Natarajan, C. P. (1973). Chemical composition of raw and roasted fenugreek seeds. *Journal of food science and technology*.

Smid, E. J., & Gorris, L. G. M. (1999). Natural antimicrobials for food preservation. In M. Shafiur Rahman (Ed.), *Handbook of food preservation* (pp. 285–308). New York: Marcel Dekker.

Submuth, R.; Eberspaecher, J.; Haag, R.; and Springer, W. (1987). *Biochemisch Mikrobiologisches Prakticum*. Thieme Verlag-Stuttgart, 409s.

Xanthopoulou, MN., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Antonopoulou, S. (2009) Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts, *Food Research International* 42 / 5-6, Pages: 641-646.

Yilmaz, Y. (2006) Novel uses of catechins in foods, *Trends in Food Science and Technology*, 17, 64-71.