

بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اتانولی عنب (Ziziphus jujuba)، یونجه (Medicago sativa)، ریواس (Reum ribes) و زوفا (Hyssopus officinalis) بر روی برخی از باکتری‌های استاندارد گرم مثبت و منفی در شرایط آزمایشگاهی

جواد سیاحی^{۱*}، هایده مبین^۲، بهبود جعفری^۳، ابوالفضل جعفری ثالث^۱

^۱ باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران، آگروه میکروبیولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، آگروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۰۶/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: امروزه با افزایش مقاومت به داروهای سنتتیک، میزان تقاضا برای جایگزین‌های طبیعی و بی‌خطر این داروها افزایش پیدا کرده است. لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اتانولی عنب (Ziziphus jujuba)، یونجه (Medicago sativa)، ریواس (Reum ribes L.) و زوفا (Hyssopus officinalis) بر روی برخی از باکتری‌های استاندارد گرم مثبت و منفی در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۸، در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر انجام شد. گیاهان پس از جمع‌آوری از رویشگاه‌های طبیعی به وسیله گیاه شناسان شناسایی و عصاره‌گیری با روش سوکسوله انجام و اثرات ضد میکروبی عصاره‌ها با روش انتشار از چاهک و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی (MIC/MBC) بر روی باکتری‌های استاندارد مورد آزمایش در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس و کای اسکور، تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: عصاره‌های گیاهان عنب و یونجه بر باکتری‌های گرم منفی و عصاره‌های گیاهان زوفا و ریواس بر باکتری‌های گرم مثبت موثر بوده است که با افزایش غلظت عصاره‌ها خاصیت ضدباکتریایی هم افزایش قابل توجهی می‌یابد. نتایج MIC/MBC نشان داد که عصاره گیاهان عنب و یونجه به سودوموناس آيروژینوزا و اشریشیا کلی و عصاره گیاهان ریواس و زوفا به استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بیشترین حساسیت را دارد.

نتیجه‌گیری: گیاهان عنب، یونجه، ریواس و زوفا دارای اثرات آنتی‌باکتریال قابل ملاحظه‌ای بودند، ولی برای معرفی این گیاهان به عنوان داروهای ضد باکتریایی نیازمند پژوهش‌های کامل‌تر و جامع‌تر در شرایط درون‌تنی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های استاندارد، عصاره، اثرات ضد باکتریایی، گرم مثبت، گرم منفی

*نویسنده مسئول: جواد سیاحی، اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان

Email: javad.sayyahi@yahoo.com

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های سنتی مانند پنی‌سیلین باعث ایجاد سویه‌های میکروبی مقاوم می‌شود. افزایش سویه‌های میکروبی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک، که حاصل از استفاده بی‌رویه و وسیع از آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک است، موجب شده است که کشف ترکیبات ضد میکروبی جدید از اهمیت دو چندانی برخوردار باشد (۱). گیاهان دارویی به علت طبیعی بودن، کم‌خطر بودن، ارزان و مقرون به صرفه بودن دارای مقبولیت بیشتری در جوامع انسانی است (۲-۴). در حقیقت، اعتقاد بر این است که در سراسر جهان حداکثر ۲۵۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ گیاه دارویی با اهداف درمانی به منظور پیشگیری، تسکین یا درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود (۵ و ۶). ترکیبات ضد میکروبی گیاهی دارای اثرات درمانی بی‌شماری هستند. این داروها نه تنها برای درمان بیماری‌های عفونی مفید هستند، بلکه از بسیاری از ترکیبات ضد میکروبی نیز عوارض جانبی کمتری دارند (۷). عصاره‌های جداسازی شده از گیاهان تأثیر قابل توجهی بر انواع باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا نشان می‌دهد (۸ و ۹). عناب با نام علمی *Ziziphus jujuba* از خانواده *Rhamnaceae*، از گیاهان چند منظوره با ارتفاع ۲ تا ۸ متر محسوب می‌شود که به عنوان غذا و دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه به طور عمده در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری آسیا کشت

می‌شود (۱۱ و ۱۰). از قسمت‌های مختلف این گیاه می‌توان به عنوان پادزهر، زیادکننده ادرار، داروی ملین، ادرار آور، درمان کننده بی‌اشتهایی، سستی، اضطراب، بی‌خوابی، تب، اسهال و درمان کننده زخم‌ها استفاده کرد. میوه این گیاه برای تصفیه خون و کمک به هضم مفید هستند (۱۲). میوه‌های خشک شده عناب خاصیت ضد سرطانی، تب بر و بند آورنده خون دارند (۱۳). در طب سنتی ایرانی از عناب به عنوان درمان کننده بیماری‌های عفونی و سرماخوردگی و در طب چینی به عنوان فعال کننده جگر استفاده می‌شود (۱۴ و ۱۵). عصاره میوه گونه‌های مختلف عناب، فعالیت‌های ضد قارچی و ضد باکتریایی را در عفونت‌های دخیل در بیماری و مسمومیت انسانی و دامی نشان می‌دهد (۱۶). یونجه با نام علمی *Medicago sativa* از تیره *Fabaceae*، گونه‌ای گیاهی علفی و چند ساله است که بومی آسیا و نواحی جنوبی ایران، آذربایجان، لرستان، کوه الوند، همدان و نواحی دیگر می‌باشد (۱۷). تولید جهانی این گیاه در سال ۲۰۰۶ حدود ۴۳۶ میلیون تن بود (۱۸). این گیاه غنی از موادی به نام ساپونین است که دارای اثرات ضد توموری بوده و می‌توانند سیستم ایمنی بدن را تقویت کنند، هم‌چنین ساپونین دارای اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروس است (۱۹). یونجه پروتئین‌های مختلف، کلسیم، عناصر معدنی، ویتامین‌های مختلف در گروه B، ویتامین‌های A، C، D،

غذا سودمند است. این گیاه برای درمان عفونت‌های باکتریایی نیز کاربرد دارد (۲۸). در صورتی که خواص ضدباکتریایی این گیاه بر روی برخی از باکتری‌های گرم منفی گزارش شده است (۲۹). زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* از خانواده Lamiaceae گیاهی مقاوم به خشکسالی با ارتفاع ۲۰ تا ۶۰ سانتی‌متر است، این گیاه در نواحی جنوبی اروپا، آسیای صغیر، ایران و روسیه می‌روید (۳۰). با وجود طعم تلخ، از زوفا به عنوان طعم دهنده غذا و در فرمولاسیون سس استفاده می‌شود. این گیاه به طور سنتی برای اهداف دارویی، دارای خواص درمانی ضد اسپاسم، معده، ضدقارچ، ضدالتهابی، ضدباکتری، ضدپیریتیک، ضداسپاسموتیک، ضدفشار خون، ضد سرطانی و سرفه استفاده می‌شود. به طور کلی، این مصارف درمانی و فواید سلامتی زوفا عمدتاً بر اساس فرهنگ عامیانه است تا مبنای علمی (۳۱-۳۳). این گیاه دارای ترکیبات پلی فنولیک و روغن اساسی است (۳۴). عصاره‌ها و اسانس جدا شده از زوفا فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد ویروسی در شرایط آزمایشگاهی از خود نشان دادند (۳۵ و ۳۶).

پژوهش‌های مدل حیوانی فعالیت‌های مهارکننده مایورلاکسانت، ضد پلاکت و α -گلوکوزیداز را برای این گیاه نشان داد (۳۲). از روغن اساسی به طور عمده برای طعم دهنده سازی و

E، K و آنزیم آمیلاز، امولسر، اینورتاز و پکتیناز و همچنین مقادیر بسیار کمی از آرسنیک و سیلیس است که به همین خاطر به طلای سبز نیز مشهور است (۲۱ و ۲۰). یونجه دارای متابولیت‌های ثانویه مانند کومارین‌ها، ایزوفلاون‌ها، نفتوکینون‌ها، آلکالوئیدها گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و تری‌ترپنوئیدها می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی هستند، می‌باشند (۲۲). یونجه به دلیل محتوای بالای فیبر، پروتئین‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، کلروفیل و کاروتنوئیدها به عنوان خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). ریواس با نام علمی *Rheum ribes L* از خانواده *Polygonaceae* که به رواش، ریواس و ریواند نامیده می‌شود. ریواس گیاهی علفی و چند ساله مقاوم می‌باشد که بومی آسیا می‌باشد و در ایران و ترکیه رشد می‌کند. در اکثر نقاط کوهستانی ایران مثل آذربایجان، کردستان، نیشابور به وفور یافت می‌شود (۲۴). برخی گزارش‌ها حاکی از فعالیت‌های ضد میکروبی خانواده *Polygonaceae* است (۲۵)، اما قبلاً اثرات ضد ویروسی عصاره‌های قسمت‌های مختلف این گیاه گزارش شده است (۲۴). همچنین گزارش‌هایی در مورد استفاده پزشکی از قسمت‌های مختلف این گیاه در ترکیه و ایران وجود دارد (۲۶ و ۲۷). ریواس از نظر ویتامین‌ها غنی بوده و دارای پتاسیم - کلسیم است. دمبرگ ریواس دارای اسیدهای آلی مانند اسید مالیک است که برای رفع تشنگی و آسان کردن هضم

۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به کمک حلال ۵ درصد DMSO برای استفاده در آزمون انتشار از چاهک انتشار تهیه شد. سوش‌های استاندارد این پژوهش شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC: 25923)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC: 1052)، *اشریشیا کلی* (ATCC: 25922) و *سودوموناس آیروژینوزا* (ATCC: 27853) از مرکز پژوهش‌های دانشگاه علوم پزشکی تبریز خریداری شد. سوش‌های باکتریایی یک روز قبل از انجام آزمایش روی محیط کشت آگار کشت داده شدند، سپس از کلنی‌ها سوسپانسیونی معادل کدرت استاندارد نیم مک فارلند تهیه و بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار پخش شد. سپس روی محیط کشت به فاصله ۲ سانتی‌متر چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر ایجاد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های عصاره به هر چاهک اضافه شد. آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و محلول DMSO به عنوان شاهد مثبت و منفی استفاده شد. انکوباسیون نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. هاله‌های عدم رشد با خطکش اندازه‌گیری و ثبت شدند. آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل کشندگی باکتری (MBC) بر روی مولر هیتون برات و مولر هیتون آگار بر روی سری رقت‌های ۰/۷۸ و ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر انجام شد. محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره شاهد مثبت و محیط کشت بدون باکتری به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد (۳۹). انکوباسیون

نگهداری مواد غذایی و مصارف گیاهی استفاده می‌شود (۳۷)، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اتانولی عناب (*Ziziphus jujuba*)، یونجه (*Medicago sativa*)، ریواس (*Reum ribes L.*) و زوفا (*Hyssopus officinalis*) بر روی برخی از باکتری‌های استاندارد گرم مثبت و منفی در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر انجام شد، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اتانولی عناب (*Ziziphus jujuba*)، یونجه (*Medicago sativa*)، ریواس (*Reum ribes L.*) و زوفا (*Hyssopus officinalis*) بر روی برخی از باکتری‌های استاندارد گرم مثبت و منفی در شرایط آزمایشگاهی بود.

گیاهان مورد نظر از رویشگاه‌های طبیعی شهرستان مرند جمع‌آوری و به وسیله گیاه‌شناسان دانشگاه آزاد واحد اهر در حد جنس و گونه‌شناسایی شدند. هر گیاه از یک منطقه جغرافیایی یکسان جمع‌آوری و به دور از نور مستقیم خشک و آسیاب شدند. عصاره‌گیری با روش سوکسوله همراه با ۳۰۰ گرم از پودر گیاهی و ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۸ ساعت انجام شد (۳۸). سپس اتانول مواد استخراج شده به وسیله دستگاه روتاری حذف شد. غلظت‌های

لوله‌های MIC به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام و لوله‌ای فاقد کدورت به عنوان MIC در نظر گرفته شد. از سه لوله ماقبل MIC نمونه‌ها به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل و پس از طی دوره انکوباسیون (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) پلیتی که در آن رشد باکتری مشاهده نگردید، به عنوان MBC در نظر گرفته شد، جهت کاهش خطای آزمایش هر یک از آزمایشات فوق ۵ مرتبه تکرار شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و کای اسکور تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

انتشار از چاهک، MIC و MBC عصاره‌ها نشان داد که گیاهان مورد نظر اثرات آنتی‌باکتریال خوبی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشتند، به گونه‌ای که با افزایش میزان غلظت عصاره‌ها میزان مهار رشد نیز افزایش می‌یافت. عصاره‌های اتانولی عناب و یونجه تأثیرات قابل ملاحظه‌ای بر روی باکتری‌های مورد نظر داشتند، به گونه‌ای که این تأثیرات بر باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آیروژینوزا* و *اشریشیا کلی* بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. عصاره‌های اتانولی ریواس و زوفا بر خلاف عصاره‌های عناب و یونجه بیشترین تأثیر را بر روی باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و

باسیلوس سرئوس داشتند. تمامی عصاره‌ها بیشترین قطر هاله عدم رشد را در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر داشتند (جدول ۱). آنالیز آزمون MBC / MIC همچون نتایج انتشار چاهکی نشان داد که عصاره گیاهان دارویی عناب و یونجه بیشترین حساسیت رو به باکتری *سودوموناس آیروژینوزا* و کمترین حساسیت رو به *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت. عصاره‌های ریواس و زوفا بیشترین حساسیت رو به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و کمترین حساسیت رو به *سودوموناس آیروژینوزا* داشت (جدول ۲).

بحث

در سال‌های اخیر با افزایش میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، گیاهان به عنوان محصولات طبیعی جایگزین می‌توانند مورد توجه قرار گیرند. برخی از عصاره‌های گیاهی و مواد شیمیایی گیاهی به عنوان خاصیت ضد میکروبی شناخته شده‌اند که می‌تواند از اهمیت بالایی در درمان بیماری‌ها برخوردار باشد. در سال‌های گذشته، پژوهش‌های مختلفی در کشورهای مختلف انجام شده است که نشان دهنده اثربخشی این نوع درمان است (۲۵)، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اتانولی عناب (*Ziziphus jujuba*)، یونجه (*Medicago sativa*)، ریواس (*Reum ribes L.*) و زوفا (*Hyssopus officinalis*) بر روی برخی از باکتری‌های استاندارد گرم مثبت و منفی در شرایط آزمایشگاهی بود.

جدول ۱: قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی به روش انتشار از چاهک (میلی‌متر)

عصاره اتانولی عناب (<i>Ziziphus jujuba</i>)						
باکتری / غلظت عصاره	۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	شاهد منفی	شاهد مثبت (میلی‌متر)
استافیلوکوکوس اورئوس	---	۶±۰/۷۰	۸/۲±۰/۸۳	۱۰/۶±۰/۸۹	-	۱۸
باسیلیوس سرئوس	۷/۲±۰/۸۳	۹/۶±۰/۵۴	۱۰/۸±۰/۸۳	۱۲/۴±۰/۸۹	-	۱۷
اشرشیا کلی	۱۰/۸±۰/۸۳	۱۱±۱/۴۱	۱۳/۸±۰/۸۳	۱۶/۶±۰/۸۹	-	۱۴
سودوموناس آئروژینوزا	۱۱/۲±۰/۸۳	۱۳/۲±۰/۸۳	۱۵/۸±۰/۸۳	۱۸±۰/۷۰	-	۱۳
عصاره اتانولی یونجه (<i>Medicago sativa</i>)						
استافیلوکوکوس اورئوس	---	---	---	---	-	۱۷
باسیلیوس سرئوس	---	---	۷/۶±۰/۸۹	۹/۴±۰/۵۴	-	۱۶
اشرشیا کلی	۶/۲±۰/۸۳	۸/۸±۱/۰۹	۱۰/۸±۱/۰۹	۱۳/۶±۰/۸۹	-	۱۵
سودوموناس آئروژینوزا	۹/۸±۰/۸۳	۱۱/۲±۰/۸۳	۱۳/۸±۰/۴۴	۱۷±۰/۷۰	-	۱۴
عصاره اتانولی ریواس (<i>Reum ribes L.</i>)						
استافیلوکوکوس اورئوس	۸±۰/۷۰	۹/۸±۰/۸۳	۱۲/۲±۰/۸۳	۱۳/۸±۰/۸۳	-	۱۸
باسیلیوس سرئوس	۷±۰/۷۰	۸/۴±۰/۵۴	۱۰/۴±۰/۸۹	۱۲/۸±۰/۸۳	-	۱۷
اشرشیا کلی	---	---	۷/۴±۰/۸۹	۹/۸±۰/۸۳	-	۱۴
سودوموناس آئروژینوزا	---	---	---	---	-	۱۳
عصاره اتانولی زوفا (<i>Hyssopus officinalis</i>)						
استافیلوکوکوس اورئوس	۹/۲±۰/۸۳	۱۱/۴±۰/۵۴	۱۳/۲±۱/۰۹	۱۵/۲±۰/۸۳	-	۱۷
باسیلیوس سرئوس	۷/۴±۰/۵۴	۹±۱/۲۲	۱۱±۱/۴۱	۱۳/۴±۱/۳۴	-	۱۶
اشرشیا کلی	---	۷/۴±۰/۸۹	۹/۶±۰/۸۹	۱۱/۴±۰/۸۹	-	۱۵
سودوموناس آئروژینوزا	---	---	۸/۲±۰/۸۳	۱۰/۸±۰/۴۴	-	۱۴

جدول ۲: آزمون MBC / MIC میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف

عصاره اتانولی عناب (<i>Ziziphus jujuba</i>)		
باکتری / غلظت	MIC میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	MBC میلی‌گرم بر میلی‌لیتر
استافیلوکوکوس اورئوس	۵۰	۱۰۰
باسیلیوس سرئوس	۲۵	۵۰
اشرشیا کلی	۱۲/۵	۵۰
سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۵	۲۵
عصاره اتانولی یونجه (<i>Medicago sativa</i>)		
استافیلوکوکوس اورئوس	---	---
باسیلیوس سرئوس	۵۰	۱۰۰
اشرشیا کلی	۱۲/۵	۵۰
سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۵	۲۵
عصاره اتانولی ریواس (<i>Reum ribes L.</i>)		
باکتری / غلظت	MIC میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	MBC میلی‌گرم بر میلی‌لیتر
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲/۵	۵۰
باسیلیوس سرئوس	۱۲/۵	۵۰
اشرشیا کلی	۵۰	۱۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	۲۵	۵۰
عصاره اتانولی زوفا (<i>Hyssopus officinalis</i>)		
استافیلوکوکوس اورئوس	۶/۲۵	۲۵
باسیلیوس سرئوس	۲۵	۵۰
اشرشیا کلی	۵۰	۱۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	۱۰۰	۲۰۰

عبدالرحیم و همکاران با بررسی ترکیبات شیمیایی و ضد میکروبی عصاره عنباب نشان دادند که این دانه‌ها منبع غنی فیبر و پروتئین هستند. پروتئین حاصل از این گیاه حاوی آمینو اسید ۴- هیدروکسی ایزولوسین است که تولید انسولین را تحریک می‌کند. نتایج آزمون آنتی‌باکتریال نشان داد که رشد *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب با مقدار ۷۲/۵ و ۴۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مهار می‌شود و به دنبال آن *اشریشیا کلی*، *پروتئوس ولگاریس*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* بیشترین مقدار MIC را نشان دادند (۴۰). دانشمند و همکاران نشان داد که عصاره عنباب دارای فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای در برابر میکروب‌های مورد مطالعه می‌باشد. *اشریشیا کلی* حساس‌ترین عصاره در بین میکروارگانیسم‌های آزمایش شده با MIC 0.75 ± 0.22 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم‌ترین سویه با MIC 2.26 ± 0.68 میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (۴۱). امیری و همکاران با مقایسه اثرات ضد میکروبی چند نوع عصاره گیاهی همراه با سیلورسولفادیازین در درمان سوختگی ناشی از *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند که عصاره گیاه عنباب سبب کاهش تعداد باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا* می‌شود (۴۲). دانشمند طی مطالعه‌ای با عنوان شناسایی و خالص‌سازی یک پپتید ضد میکروبی از عنباب نشان دادند که اسناکین‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و همچنین قارچ‌ها

است. در بین سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاومت بیشتری را به عملکرد این پپتید نشان داد (۴۳). در مطالعه حاضر مشاهده شده است که عصاره عنباب اثر ضد میکروبی کمتری بر روی باکتری‌های گرم مثبت دارد. این داده‌ها با سایر مقالاتی که عصاره مشابه را بررسی می‌کنند مشابه است (۴۴ و ۴۵)، اما مطالعه زامین همکاران نشان داد که عصاره آبی و اتانولی عنباب در برابر *سالمونلا تیفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای قدرت مهارتی است. حداکثر منطقه مهار از طریق عصاره آبی به وسیله *انتروکوکوس فکالیس* (۳۲ میلی‌متر) و به دنبال آن *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۸ میلی‌متر)، *سالمونلا تیفی موریوم* (۲۷/۵۲ میلی‌متر)، *کلبسیلا پنومونیه* (۱۹ میلی‌متر) و *اشریشیا کلی* (۱۹ میلی‌متر) به دست آمد. به همین ترتیب حداکثر منطقه مهار از طریق عصاره اتانولی به وسیله *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۸ میلی‌متر) و به دنبال آن *سالمونلا تیفی موریوم* (۲۷/۵۲) به دست آمد (۴۶). مطالعه چگینی و همکاران نشان داد که عصاره ریشه گیاه یونجه دارای خاصیت مهارتی روی *استرپتوکوک پنومونیه*، *هموفیلوس انفولانزا* و *موراکسلا کاتارالیس* با MIC = ۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. علاوه بر این، عصاره یونجه بر *استافیلوکوکوس اورئوس* تأثیری نداشت و در همه لوله‌ها کدورت و رشد مشاهده شد. که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۴۷). رضایی و همکاران بر خلاف یافته‌های مطالعه چگینی و همکاران نشان دادند که حداقل غلظت مهارکننده

غلظت باکتری کش (MBC) بر باکتری *انتروکوکوکوس فکالیس* محسوب می‌شوند (۵۳). فضلی بزاز و همکاران با بررسی فعالیت ضد باکتری عصاره ریواس حاصل از قسمت‌های مختلف گیاه در برابر پاتوژن‌های بالینی گرم منفی نشان دادند که غلظت‌های مختلف ریشه (۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم) و عصاره برگ (۵۰۰ میکروگرم) در تأثیر مشابهی بر *اشرشیا کلی* دارند که قابل مقایسه با شاهد مثبت (جنتامایسین) است. با این حال، اثر ضدباکتریایی کمتری در مقایسه با شاهد مثبت برای عصاره ساقه (۲۵۰ و ۵۰۰) مشاهده شد. همچنین نشان دادند که غلظت بالاتر عصاره ریشه (۵۰۰ میکروگرم) اثر ضد باکتری قابل توجهی بیشتری نسبت به شاهد مثبت در *کلبسیا پنومونیه* نشان می‌دهد (۵۴). علاءالدین نشان داد که مقادیر MIC عصاره‌های بیولوژیکی فعال ریواس به ترتیب ۵۰۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۶۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* بود. این عصاره *سودوموناس آئروژینوزا* را مهار نمی‌کنند و *اشرشیا کلی* را در بالاترین غلظت آزمایش شده، به ترتیب ۴۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مهار می‌کند (۵۵). بورفر طی مطالعه‌ای گزارش دادند که عصاره الکلی ریواس دارای خواص ضد باکتریایی روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیا پنومونیه* و *اشرشیا کلی* می‌باشد (۵۶). در یک مطالعه نشان داده شد که عصاره به دست آمده از برگ‌های ریواس به صورت معنی‌داری خاصیت ضدباکتریایی دارد (۲۹). صالحی و همکاران با مطالعه روی عصاره آبی و الکلی گیاه

رشد عصاره آبی گیاه یونجه بر باکتری‌های گرم مثبت *لیستریا منوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۲۰۶/۲۵ و ۶۶۰۰ میکروگرم بر میلی بوده و بر باکتری‌های گرم منفی تست شده در این مطالعه تأثیری ندارد (۴۸). علی احمدی و همکاران نشان دادند که دانه یونجه دارای فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی در برابر باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *انتروکوکوکوس فسیوم* داشته و اثر مهاری متوسط بر روی باکتری‌های گرم منفی نشان می‌دهد (۴۹). چاوان و همکاران در هند نشان دادند که عصاره یونجه بر روی *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* دارای قدرت مهاری می‌باشد (۵۰). در تحقیقی که به وسیله جوی و همکاران انجام شد، اثر ضد باکتریایی عصاره یونجه بر باکتری‌های مختلف از جمله *باسیلوس سرئوس*، *کلبسیا پنومونیه*، *لاکتوکوکوس لاکتیس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس لیکنی فورمیس* بررسی شد. آزمون MIC و انتشار دیسک نشان داد که این عصاره دارای خاصیت مهاری بر روی باکتری‌های مورد آزمایش می‌باشد (۱۹). سادوفسکا و همکاران، داس و همکاران و علی احمدی و همکاران نشان دادند که عصاره یونجه دارای خاصیت ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد (۵۲ و ۵۱، ۴۹). خالدی و همکاران با بررسی خواص آنتی‌باکتریال عصاره یونجه نشان دادند که دوز ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره یونجه به ترتیب به عنوان حداقل

ریواس نشان دادند که اثر مهارکنندگی عصاره‌های آبی و اتانولی ساقه و برگ ریواس بر *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به *اشرشیاکلی* بیشتر بود. بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به عصاره‌های اتانولی و آبی ساقه ریواس روی *باکتری استافیلوکوکوس اورئوس* بود که به ترتیب برابر با $23 \pm 1/3$ و $16 \pm 1/1$ میلی‌متر بود (۵۷). خبوه و همکاران طی مطالعه‌ای با عنوان اثرات شربت ریواس بر اسهال خونی در کودکان نشان دادند که شربت ریواس تب و اسهال را به طور قابل توجهی کمتر از گروه کنترل پایین می‌آورد (۵۸). باج و همکاران با بررسی اثرات آنتی باکتریال عصاره زوفا نشان دادند که عصاره این گیاه در برابر باکتری‌های گرم مثبت مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استرپتوکوک پپوژنز*، *استرپتوکوکوس پنومونیه* و *استرپتوکوکوس موتانس* فعال‌تر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (۵۹). بر اساس تحقیق دهقان زاده و همکاران اسانس گیاه زوفا دارای میزان قابل توجهی و تیمول، β -بیزابولول و کارواکرول می‌باشد که دارای خواص آنتی باکتریال قوی روی *باسیلیوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و گونه‌های *کلبسیلا* دارا می‌باشد (۶۰). بر اساس نتایج این تحقیق باکتری‌های گرم مثبت دارای حساسیت بیشتری در برابر عصاره‌های گیاهی می‌باشند که این نتیجه با نتایج پژوهش‌های پیشین در مورد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی یکسان است (۶۱ و ۶۲). نوری با بررسی نانولیپوزوم‌های

حاوی عصاره‌های زوفا نشان داد که باکتری‌های *استرپتوکوکوس اینیه* ($19/43$ میلی‌متر) و *استافیلوکوکوس اورئوس* ($18/38$ میلی‌متر) به ترتیب در حضور نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره زوفا هاله عدم رشد بیشتری در مقایسه با سایر باکتری‌ها از خود نشان دادند (۶۳). قیزیل و همکاران با مطالعه خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زوفا نشان دادند که این اسانس غنی از ایزوپینوکامفون و β -پینن است و *بسر* علیه *استرپتوکوکوس پپوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و *اشرشیا کلی* فعال است، در حالی که هیچ فعالیت علییه سودوموناس آئروژینوزا وجود ندارد (۳۳). همان طور که مشخص شد، روغن‌های اساسی مشتق از زوفا فعالیت ضد میکروبی متفاوتی دارند. با این حال، ممکن است استفاده از روغن خالص به دلیل سمیت عصبی آن محدود باشد. هوادیک و چلادک بیان کردند که گیاه زوفا دارای بیشترین اثر ضد باکتریایی بوده است (۶۴). حسن شاهیان و همکاران با بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه زوفا نشان دادند که حداکثر اثر مهارتی این عصاره‌ها در برابر باکتری‌های *استافیلوکوک اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. همچنین بیشترین اثرات مهارتی عصاره اتانولی زوفا در تشکیل بیوفیلم در برابر *اشرشیاکلی* (۹۵ درصد) مشاهده شد (۶۵). تجزیه و تحلیل اثرات آنتی باکتریال عصاره‌های عناب، یونجه، زوفا و ریواس نشان داد که این عصاره‌ها دارای فعالیت ضد باکتریایی بالاتری می‌باشند، که شناسایی ماده موثر

این گیاهان به عنوان یک ترکیب مؤثر ضد میکروبی و شناسایی اثرات ضد میکروبی دیگر گیاهان هم خانواده با این گیاهان ضروری به نظر می‌رسد.

محدودیت اصلی در این پژوهش، کار کردن با باکتری‌های بیماری‌زا و بوجه مالی ناکافی بود که با رعایت پروتکل‌های آزمایشگاهی و همکاری مالی دانشگاه آزاد واحد اهر برطرف شد. در این پژوهش تجربی حاضر اثر ضد باکتریایی گیاهان عناب، یونجه، ریواس و زوفا مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان اطلاعات کامل‌تری از خواص گیاهان مورد نظر را فراهم آورد، لذا در گام‌های بعدی باید به مطالعه اثر ضد میکروبی اندام‌های مختلف گیاهان مورد مطالعه بر گونه‌های میکروبی بیشتر، استفاده از روش‌های مختلف عصاره‌گیری و مطالعه اثرات ضد میکروبی اسانس گیاهان مورد نظر پرداخت.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی دانشجویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر با کد ۹۳۳۹۷ می‌باشد که با حمایت مالی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد اهر انجام گرفته است، لذا نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات مسئولین محترم باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد اهر کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

REFERENCES

1. Weinstein RA. Controlling antimicrobial resistance in hospitals: infection control and use of antibiotics. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7(2): 188.
2. Digrak M, Alma MH, İlçim A. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology* 2001; 39(5): 346-50.
3. Jafari B, Fatemi S, Pashazadeh M, Al-Snafi AE, Shariat A. Antibacterial effects of *Thymus vulgaris*, *Mentha pulegium*, *Crocus sativus* and *Salvia officinalis* on pathogenic bacteria: A brief review study based on gram-positive and gram-negative bacteria. *Jorjani Biomedicine Journal* 2020; 8(3): 58-74.
4. Jafari-Sales A, Pashazadeh M. Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology* 2020; 3(1): 62-9.
5. Borris RP. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *Journal of Ethnopharmacology* 1996; 51(1-3): 29-38.
6. Who. The promotion and development of traditional medicine. Technical Report Series 1978, 622.
7. Rios JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 100(1-2): 80-4.
8. Hancock RE, Diamond G. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends in Microbiology* 2000; 8(9): 402-10.
9. Marcus JP, Goulter KC, Green JL, Harrison SJ, Manners JM. Purification, characterisation and cDNA cloning of an antimicrobial peptide from *Macadamia integrifolia*. *European Journal of Biochemistry* 1997; 244(3): 743-9.
10. Ghaly IS, Said A, Abdel-Wahhab MA. *Zizyphus jujuba* and *Origanum majorana* extracts protect against hydroquinone-induced clastogenicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2008; 25(1): 10-9.
11. Yoon JI, Al-Reza SM, Kang SC. Hair growth promoting effect of *Zizyphus jujuba* essential oil. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48(5): 1350-4.
12. Tripathi M, Pandey M, Jha R, Pandey V, Tripathi P, Singh J. Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus jujuba*. *Fitoterapia* 2001; 72(5): 507-10.
13. Hung CF, Hsu BY, Chang SC, Chen BH. Antiproliferation of melanoma cells by polysaccharide isolated from *Zizyphus jujuba*. *Nutrition* 2012; 28(1): 98-105.
14. Liang J, Han Y, Li J, Xu X, Rees HH, Lai R. A novel bradykinin-like peptide from skin secretions of rufous-spotted torrent frog, *Amolops loloensis*. *Peptides* 2006; 27(11): 2683-7.
15. Pawlowska AM, Camangi F, Bader A, Braca A. Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L and *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd (Rhamnaceae) fruits. *Food Chemistry* 2009; 112(4): 858-62.
16. Hatano T, Kusuda M, Inada K, Ogawa TO, Shiota S, Tsuchiya T, et al. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry* 2005; 66(17): 2047-55.
17. Lin J, Opoku A, Geheeb-Keller M, Hutchings A, Terblanche S, Jäger AK, et al. Preliminary screening of some traditional zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 68(1-3): 267-74.
18. Ghani A, Ahmad SB. Determination and identification of phytochemical properties of *medicago sativa* L.(alfalfa) leaf, stem and root extracts against various pathogens. *Pakistan Journal of Phytopathology* 2019; 31(1): 97-103.
19. Joy GSJGS, George PGDP. Antimicrobial screening of Alfalfa (*Medicago sativa*) in various bacterial strains. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis* 2014; 2(2): 65-9.
20. Amraie E, Farsani MK, Sadeghi L, Khan TN, Babadi VY, Adavi Z. The effects of aqueous extract of alfalfa on blood glucose and lipids in alloxan-induced diabetic rats. *Interventional Medicine and Applied Science* 2015; 7(3): 124-8.
21. Farsani MK, Amraie E, Kavian P, Keshvari M. Effects of aqueous extract of alfalfa on hyperglycemia and dyslipidemia in alloxan-induced diabetic Wistar rats. *Interventional Medicine and Applied Science* 2016; 8(3): 103-8.
22. Avato P, Bucci R, Tava A, Vitali C, Rosato A, Bialy Z, et al. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp.: structure-activity relationship. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 2006; 20(6): 454-7.
23. Caunui A, Pribac G, Grozea I, Gaitin D, Samfira I. Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from six varieties of *Medicago sativa*. *Chemistry Central Journal* 2012; 6(1): 1-8.
24. Öztürk M, Aydoğmuş-Öztürk F, Duru ME, Topçu G. Antioxidant activity of stem and root extracts of *Rheum ribes* (Rheum ribes): An edible medicinal plant. *Food Chemistry* 2007; 103(2): 623-30.
25. Zargari A, Zargari A. Tehran University Press. Tehran: Tehran University Press; 1991; 56-106.
26. Hudson J, Lee M, Sener B, Erdemoglu N. Antiviral activities in extracts of Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology* 2000; 38(3): 171-5.
27. Tabata M, Sezik E, Honda G, Yeşilada E, Fukui H, Goto K, et al. Traditional medicine in Turkey III. Folk medicine in East Anatolia, van and Bitlis provinces. *International Journal of Pharmacognosy* 1994; 32(1): 3-12.
28. Tosun F, Kizilay C. Anthraquinones and flavonoids from *Rheum ribes*. *J Fac Pharm Ankara* 2003; 32: 31-5.
29. Fazli BB, Khajeh KAM, Shokouhi ZH. In vitro antibacterial activity of *Rheum ribes* extract obtained from various plant parts against clinical isolates of Gram-negative pathogens. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2005; 4(2): 87-91.
30. Azizi H, Keshavarzi M. Ethnobotanical study of medicinal plants of Sardasht, Western Azerbaijan, Iran. *Journal of Medicinal Herbs* 2015; 6(2): 113-9.
31. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Bahramian F, Bekhradnia AR. Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. var. *angustifolius*, *V. odorata*, *B. hircana* and *C. speciosum*. *Pak J Pharm Sci.* 2010; 23(1): 29-34.
32. Fathiazad F, Hamedeyazdan S. A review on *Hyssopus officinalis* L: Composition and biological activities. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011; 5(17): 1959-66.
33. Kizil S, HAŞİMİ N, Tolan V, Kilinc E, Karataş H. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) essential oil. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 2010; 38(3): 99-103.
34. Benedec D, Oniga I, Crişan G, Popescu H. Cercetări preliminare asupra unor compuşi polifenolici din *Hyssopus officinalis* L.(Lamiaceae). *Clujul Med* 2003; 76: 444-9.
35. Alinezhad H, Azimi R, Zare M, Ebrahimzadeh MA, Eslami S, Nabavi SF, et al. Antioxidant and antihemolytic activities of ethanolic extract of flowers, leaves, and stems of *Hyssopus officinalis* L. Var. *angustifolius*. *International Journal of Food Properties* 2013; 16(5): 1169-78.

36. Soleimani H, Barzegar M, Sahari M, Naghdi Badi H. An investigation on the antioxidant activities of *Hyssopus officinalis* L. and *Echinacea purpurea* L. plant extracts in oil model system. *Journal of Medicinal Plants* 2011; 1(37): 61-72.
37. Moro A, Zalacain A, Hurtado de Mendoza J, Carmona M. Effects of agronomic practices on volatile composition of *Hyssopus officinalis* L. essential oils. *Molecules* 2011; 16(5): 4131-9.
38. Jafari-Sales A, Hossein-Nezhad P. Antimicrobial effects of *Rosmarinus officinalis* methanolic extract on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in laboratory conditions. *Journal of Medicinal and Chemical Sciences* 2020; 3(2): 103-8.
39. Jafari-Sales A, Mobaiyen H, Jafari B, Sayyahi J. Assessment of antibacterial effect of alcoholic extract of *Centaurea depressa* mb, *reseda lutea* l. and *fumaria asepala* on selected standard strains in vitro. *Scientific Journal of Nursing, Midwifery and Paramedical Faculty*. 2019;5(3):63-73.
40. Abd-Alrahman SH, Salem-Bekhit MM, Elhalwagy ME. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ziziphus jujuba* seeds extract. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 2013; 7: 379-85.
41. Daneshmand F, Zare-Zardini H, Tolueinia B, Hasani Z, Ghanbari T. Crude extract from *Ziziphus jujuba* fruits, a weapon against pediatric infectious disease. *Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2013; 3(1): 216.
42. Amiri F, Shapouri R, Jafarzadeh M. Comparison of antimicrobial effects of several plant extracts with silversulfadiazine in the treatment of burns caused by *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. *Razi Journal of Medical Sciences* 2020; 26(11): 112-23.
43. Daneshmand F. Identification and purification of an antimicrobial peptide from *Ziziphus jujuba*. *Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)* 2014; 27(2): 211-23.
44. Bagamboula C, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology* 2004; 21(1): 33-42.
45. Cox S, Mann C, Markham J, Bell HC, Gustafson J, Warmington J, et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 2000; 88(1): 170-5.
46. Zamin I, Shah JA, Khan I, Majid A, Rehman MMU, Malik Z, et al. In-Vitro efficacy of crude extract of *Ziziphus jujuba* against selected bacterial strains. *International Journal of Scientific and Research Publications* 2014; 4(2): 1-5.
47. Chegini H, Oshaghi M, Boshagh MA, Foroutan P, Jahangiri AH. Antibacterial effect of *Medicago sativa* extract on the common bacterial in sinusitis infection. *International Journal of Biomedicine and Public Health* 2018; 1(1): 1-5.
48. Rezaei M, Azadpour M, Romiani R, Maadi H, Rashidipour M, Talei G. The antibacterial effects of aqueous extract of *Medicago sativa* L. in comparison with three antibiotics (Gentamicin, Ciprofloxacin and Penicillin). *Scientific Magazine Yafte* 2013; 15(2): 61-5.
49. Aliahmadi A, Roghanian R, Emtiazi G, Ghassempour A. A simple method for primary screening of antibacterial peptides in plant seeds. *Iranian Journal of Microbiology* 2011; 3(2): 104.
50. Chavan SS, Jadhav RS, Khemnar KS, Tambe VB. Evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of *Medicago sativa* leaves. *Int J Curr Res Acad Rev* 2015; 3(5): 308-13.
51. Doss A, Parivuguna V, Vijayasanthi M, Surendran S. Antibacterial evaluation and phytochemical analysis of *Medicago sativa* L. against some microbial pathogens. *Indian Journal of Science and Technology* 2011; 4(5): 550-2.
52. Sadowska B, Budzyńska A, Więckowska-Szakiel M, Paszkiewicz M, Stochmal A, Moniuszko-Szajwaj B, et al. New pharmacological properties of *Medicago sativa* and *Saponaria officinalis* saponin-rich fractions addressed to *Candida albicans*. *Journal of Medical Microbiology* 2014; 63(8): 1076-86.
53. Khaledi M, Khaledi F, Asadi-Samani M, Gholipour A, Kouhi AM. Phytochemical evaluation and antibacterial effects of *Medicago sativa*, *Onosma sericeum*, *Parietaria judaica* L., *Phlomis persica* and *Echinophora platyloba* DC. on *Enterococcus faecalis*. *Biomedical Research and Therapy* 2018; 5(1): 1941-51.
54. Fazly Bazzaz B, Khajehkaramadin M, Shokoheizadeh H. In vitro antibacterial activity of *Rheum ribes* extract obtained from various plant parts against clinical isolates of gram-negative pathogens. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2010; 4(2): 87-91.
55. Alaadin AM, Al-Khateeb EH, Jäger AK. Antibacterial activity of the Iraqi *Rheum ribes*. *Root Pharmaceutical Biology* 2007; 45(9): 688-90.
56. Burfer J. Antibacterial activity of rhubarb hydroalcoholic extract on *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. The first national congress of biology and natural sciences of Iran, 2014.
57. Salehi A, Shariatifar N, Salehi A, Mohammadzadeh A. In-Vitro Antimicrobial Effect of Aqueous and Alcoholic Extracts of *Rheum Ribes* on Some Food-Borne Pathogens. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences* 2016; 23(3): 430-7.
58. Khiveh A, Hashempour MH, Shakiba M, Lotfi MH, Shakeri A, Kazemeini S, et al. Effects of rhubarb (*Rheum ribes* L.) syrup on dysenteric diarrhea in children: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Integrative Medicine* 2017; 15(5): 365-72.
59. Baj T, Korona-Glowniak I, Kowalski R, Malm A. Chemical composition and microbiological evaluation of essential oil from *Hyssopus officinalis* L. with white and pink flowers. *Open Chemistry* 2018; 16(1): 317-23.
60. Dehghanzadeh N, Ketabchi S, Alizadeh A. Essential oil composition and antibacterial activity of *Eryngium caeruleum* grown wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 2014; 17(3): 486-92.
61. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 2004; 94(3): 223-53.
62. Skandamis P, Koutsoumanis K, Nychas G, Fasseas K. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157: H7 [food hygiene]. *Italian Journal of Food Science (Italy)* 2001; 13(1): 65-75.
63. Nouri M. Preparation of nanoliposomes containing *Hyssopus officinalis* L. and *Eryngium caeruleum* M. Bieb extracts and investigate their antimicrobial and antimicrobial effects. *Journal of Medicinal Plants* 2020; 19(75): 118-31.
64. Hovadik A, Chladek M. The antimicrobial activity of the essential oils of some aromatic plants. *Bulletin, Vyzkumny Ustav Zelinarsky Olomouc* 1974; 18: 61-71.
65. Hassanshahiyan M, Saadatfar A, Masoumi F. Antimicrobial properties of *Hyssopus officinalis* extract against antibiotic-resistant bacteria in planktonic and biofilm form. *Biological Journal of Microorganisms* 2018; 7(28): 91-101.

Antibacterial Effects of Ethanolic Extracts of *Ziziphus jujuba*, *Medicago sativa*, *Reum ribes* and *Hyssopus officinalis* on Some Standard Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria in Vitro

Sayyahi J^{1*}, Mobayen H², Jafari B³, Jafari-Sales A¹

¹Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran, ²Department of Microbiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran, ³Department of Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran

Received: 23 Aug 2019

Accepted: 11 May 2021

Abstract:

Background & aim: Currently, with increasing resistance to synthetic drugs, the demand for natural and safe alternatives to these types of medications has increased. Therefore, the aim of the present study was to determine and evaluate the antibacterial effects ethanolic extracts of *Ziziphus jujuba*, *Medicago sativa*, *Reum ribes* and *Hyssopus officinalis* on some standard gram-positive and negative bacteria in vitro.

Methods: The present experimental study was conducted in 2019 in the microbiology laboratory of Islamic Azad University, Ahar Branch, Iran. Plants were identified by botanists after being collected from natural habitats. Extraction was performed by Soxhlet extractor and the antimicrobial effects of the extracts were determined by agar well diffusion and determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) on standard bacteria in vitro. The collected data were analyzed using analysis of variance and Chi-square.

Results: *Z. jujuba* and *M. sativa* plant extracts were effective on gram-negative bacteria and extracts of *R. ribes* and *H. officinalis* plants were effective on gram-positive bacteria, which with increasing the concentration of extracts. The antibacterial property extracts were dose dependent. MBC / MIC results indicated that *Z. jujuba* and *M. sativa* plant extracts were most susceptible to *P. aeruginosa* and *E. coli* and *R. ribes* and *H. officinalis* extracts were most susceptible to *S. aureus* and *B. cereus*.

Conclusion: *Z. jujuba*, *M. sativa*, *R. ribes* and *H. officinalis* plants had significant antibacterial effects, but to introduce these plants as antibacterial drugs requires more complete and comprehensive in vivo studies.

Keywords: Standard Bacteria, Extracts, Antibacterial Effects, Gram-Positive, Gram-Negative

*Corresponding author: Sayyahi J, Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

Email: javad.sayyahi@yahoo.com

Please cite this article as follows:

sayyahi J, Mobayen H, Jafari B, Jafari-Sales A. Antibacterial Effects of Ethanolic Extracts of *Ziziphus jujuba*, *Medicago sativa*, *Reum ribes* and *Hyssopus officinalis* on Some Standard Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria in Vitro. Armaghane-danesh 2021; 26(3): 338-350.