AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DE EXTRATO ETANÓLICO A BASE DE *Alpinia zerumbet* FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus*

Giovanna Santana Ruiz[1], Karolina Marie Alix Benedictte Van Sebroeck Dória[2]

[1]Graduanda em Farmácia - Centro Universitário Módulo
[2]Doutora em Ciência Florestal - Centro Universitário Módulo

Autora para correspondência: ruizgiovanna07@gmail.com

Resumo

A pesquisa de medicamentos à base de plantas surge como uma alternativa promissora à medicina sintética, destacando-se por sua eficácia terapêutica. Extratos vegetais, obtidos por técnicas como a alcoolatura, têm potencial farmacológico significativo. Frente ao desafio crescente da resistência bacteriana, que compromete a eficácia dos antibióticos, a relevância deste estudo está na investigação de princípios ativos da flora litorânea do estado de São Paulo, com foco na Colônia (*Alpinia zerumbet*), uma planta amplamente utilizada pela população local para fins terapêuticos, visando contribuir para a inovação em compostos antimicrobianos de origem natural. O trabalho avalia a atividade antibacteriana da espécie *A. zerumbet* frente às cepas de *Escherichia. coli* e *Staphylococcus aureus*. Foram utilizadas cepas padrões, onde houve a submissão à diferentes concentrações de extrato etanólico de diferentes partes da *A. zerumbet*. Foram semeadas cepas em Ágar Infuso Coração e incubadas durante por 24 h a 37°C em estufa bacteriológica. Essas culturas foram semeadas em tubos de ensaio contendo 5 mL de água peptonada que foram incubados por 24 h a 37°C. As culturas foram ajustadas para 1,5 x 10^8 UFC/mL. O extrato etanólico dos materiais vegetais foi preparado com folhas, flores e rizomas com concentração de 1%. Foram realizados os testes de microdiluições em microplacas com 96 poços com incubação 24h a 37°C. Por meio de semeadura em estrias em placas de petri com Ágar Infuso Coração pudemos realizar a verificação da Concentração Bactericida Mínima. Observamos que houve inibição de crescimento, tanto para *S. Aureus* quanto para *E. coli*, em diferentes concentrações de extrato etanólico.

Palavras-chave: *Alpinia zerumbet*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF *Alpinia zerumbet* AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus* STRAINS

Abstract

The search for plant-based medicines emerges as a promising alternative to synthetic medicine, standing out for its therapeutic efficacy. Plant extracts, obtained through techniques such as tincturing, have significant pharmacological potential. In the face

of the growing challenge of bacterial resistance, which compromises the effectiveness of antibiotics, the relevance of this study lies in the investigation of active compounds from the coastal flora of the state of São Paulo, focusing on “Colônia” (*Alpinia zerumbet*), a plant widely used by the local population for therapeutic purposes, aiming to contribute to innovation in natural-origin antimicrobial compounds. This study evaluates the antibacterial activity of the species *Alpinia zerumbet* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. Standard strains were used and exposed to different concentrations of ethanolic extracts from various parts of the Colônia plant. Strains were inoculated on Heart Infusion Agar and incubated for 24 hours at 37°C in a bacteriological incubator. These cultures were then transferred to test tubes containing 5 mL of peptone water and incubated for another 24 hours at 37°C. The cultures were adjusted to 1.5 x 10^8 CFU/mL. The ethanolic extracts were prepared from leaves, flowers, and rhizomes at a 1% concentration. Microdilution tests were conducted in 96-well microplates and incubated for 24 hours at 37°C. Through streak seeding on petri dishes with Heart Infusion Agar, we determined the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Growth inhibition was observed for both *S. aureus* and *E. coli* at different ethanolic extract concentrations.

Keywords: *Alpinia zerumbet*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

Diversas pesquisas têm sido conduzidas com foco na descoberta de novos agentes antimicrobianos derivados de extratos vegetais e outros produtos naturais, visando identificar compostos que apresentem eficácia comparável à dos antimicrobianos convencionais, porém com menor toxicidade, maior efetividade frente à resistência de micro-organismos patogênicos e impacto ambiental reduzido (Bona *et al.*, 2014).

A resistência bacteriana é um crescente desafio para a eficácia dos antibióticos, considerados avanços fundamentais na medicina. É evidente a necessidade de aumentar a quantidade de pesquisas e descobertas relacionadas a novas plantas produtoras de compostos antimicrobianos (Almeida *et al.*, 2023).

Staphylococcus aureus caracteriza-se como um dos principais microrganismos patogênicos para o homem, embora faça parte da microbiota humana, este coco gram-positivo pode atuar causando desde infecções simples a potencialmente fatais, além disso, o patógeno se mostrou capaz de desenvolver fatores de resistência aos antibióticos convencionais, constituindo uma ameaça persistente e relevante à saúde pública (Bôtelho *et al.*, 2022).

A *Escherichia coli* é um bacilo gram-negativo comensal do trato gastrointestinal de humanos e animais homeotérmicos, amplamente distribuída no ambiente. Enquanto cepas probióticas podem conferir benefícios ao hospedeiro, variantes patogênicas estão associadas a infecções entéricas e extraintestinais (Erjavec, 2023).

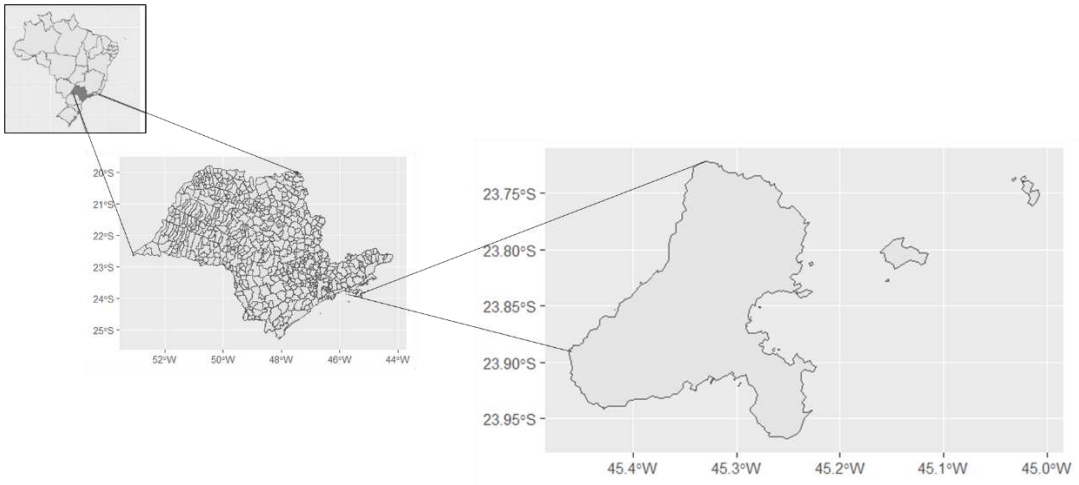
Destaca-se a necessidade da busca de compostos de origem vegetal, visto que há uma gama de plantas com potencial farmacológico apresentando grande variedade em metabólitos secundários, portanto caracteriza-se de suma importância a realização de estudos com métodos de extração variados e concentrações dos extratos de diferentes vegetais (Oliveira, 2024).

Portanto, o intuito deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana presente no extrato etanólico produzido a base de *Alpinia zerumbet* frente à cepas de *Eschericia coli* e *Staphylococcus aureus*.

METODOLOGIA

O material foi coletado no município de Ilhabela, estância balneária pertencente ao litoral norte do estado de São Paulo (figura 1). O local possui clima tropical úmido com temperatura média entre 22° e 23°c e pluviosidade anual entre 1300 e 1500mm, com um solo composto principalmente por rochas alcalinas, caracterizando terras ácidas.

Figura 1 – Mapa de localização do município de Ilhabela – SP



Elaborado pelas autoras no Rstudio (2025)

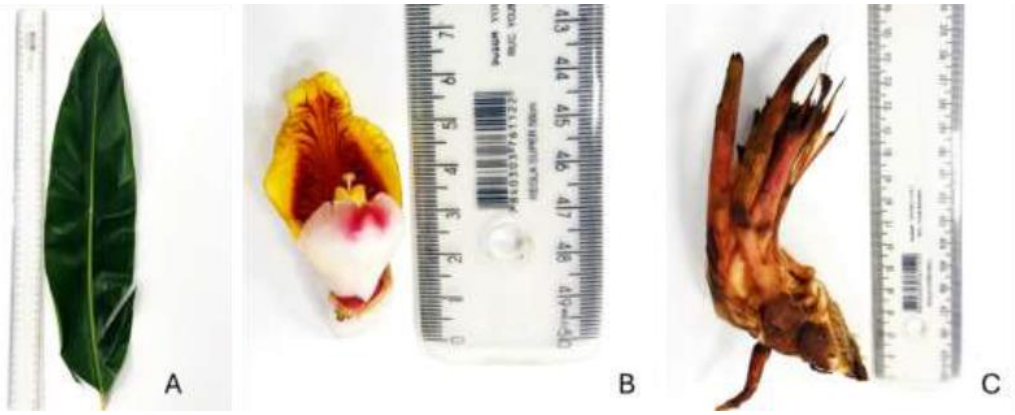
MATERIAL VEGETAL

A *Alpinia zerumbet*, popularmente cultivada como planta ornamental e utilizada para fins terapêuticos na cultura popular, é uma espécie vegetal originada das Índias Orientais e naturalizada nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, Oceania e Ásia. De acordo com PET-Farmácia (2023), esta planta medicinal compõe a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), bem como o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, 2ª edição, além disso, faz parte da composição de um medicamento registrado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como medicamento fitoterápico.

A. zerumbet é uma planta herbácea, perene, com cerca de 2 a 3 m de altura, rizomatosa, com caule aéreo curto, apresenta folhas dispostas no mesmo plano, em forma de lança e flores em forma de sino de coloração rósea e esbranquiçada. Seus frutos se caracterizam por uma média de dois centímetros de diâmetro, possuindo três lóculos com mais de dez sementes em cada lóculo dispostas frouxamente e pericarpo branco-amarelado a castanho-amarelado (Lorenzi e Souza, 2001).

Foram coletados folhas, flores e rizomas da espécie, levados ao laboratório multidisciplinar do Centro Universitário Módulo para quantificar parâmetros morfométricos (figura 2).

Figura 2 – Material botânico de *Alpinia zerumbet*



Legenda: A) Folha; B) Flor e C) Rizoma.

O método utilizado para produzir as tinturas foi a extração por alcoolatura. Os extratos foram feitos com material fresco (folhas, flores e rizomas) utilizando álcool de cereais em uma proporção de 10%, depositados em frascos âmbar e mantidos no abrigo de luz por 20 dias com agitação diária, filtrados e armazenados sobre refrigeração.

MATERIAL MICROBIOLÓGICO

Para o ensaio de suscetibilidade antimicrobiana, utilizamos o meio de cultura Ágar Mueller Hinton. Os inóculos das bactérias foram preparados em meio de cultura líquido. Utilizaram-se cepas de referência de *S. aureus* (LB25923) e *E. coli* (NEWP0022) para a realização dos ensaios. As bactérias foram inicialmente cultivadas em meio Ágar Infusão Coração e mantidas em incubação a 37°c por 24 horas. Em seguida, alíquotas dessas culturas foram transferidas para tubos de ensaio contendo 5 ml de água peptonada estéril, sendo novamente incubadas nas mesmas condições por mais 24 horas, a fim de se obter as culturas iniciais (culturas-mãe).

A densidade celular dessas culturas foi aferida por espectrofotometria, utilizando-se o comprimento de onda de 660 nm. A absorbância foi ajustada entre 0,08 e 0,13 Å, o que corresponde a uma concentração bacteriana de aproximadamente 1,5 x 10^8 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml). O inóculo resultante foi padronizado de acordo com a turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, conforme os critérios estabelecidos pelo NCCLS (2003).

TESTES DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para os testes microbiológicos foram semeadas cepas padrão de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em microplacas para testes de micro diluições com 96 poços. A água peptonada atuou como meio líquido para o cultivo bacteriano e o teste contou com duplicatas com três repetições. Utilizou-se extratos etanólico nas seguintes concentrações: 10mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml, 0,313 mg/ml e 0,156 mg/ml. além disso o teste contou com controles de esterilidade, de crescimento e de toxicidade.

Com o intuito de determinar qual a concentração bactericida mínima prosseguimos com um ensaio de semeadura em estrias utilizando o meio de cultura Ágar Infuso Coração e incubando a 37°c por 24 h.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para os ensaios desenvolvidos com a *S. aureus*, conforme descrito na Tabela 1, utilizando extrato etanólico das folhas de *A. zerumbet* pudemos observar uma Concentração Bactericida Mínima (CBM) de 10 mg/mL, além disso, quando utilizado o extrato de rizomas do vegetal, a CBM foi avaliada em 0,625mg/mL. Não houve registro de CMB com extratos etanólico da flor.

Tabela 1 –Análise antibacteriana para *S. aureus* com extratos etanólico de *Alpinia zerumbet*

Concentração	*Alpinia zerumbet* Folha	*Alpinia zerumbet* Rizoma	*Alpinia zerumbet* Flor
10mg/mL	I	I	NI
5mg/mL	NI	I	NI
2,5mg/mL	NI	I	NI
1,25mg/mL	NI	I	NI
0,625mg/mL	NI	I	NI
0,313mg/mL	NI	NI	NI
0,156mg/mL	NI	NI	NI
Controle de esterilidade	-	-	-
Controle de crescimento	NI	NI	NI
Controle de toxicidade	NI	NI	NI

Legenda: NI: não inibiu; I: inibiu.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Durante avaliação dos resultados obtidos frente à *E. coli*, em contrapartida, não obtivemos inibição de crescimento em nenhuma das concentrações de extratos testados, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Análise antimicrobiana para *E. coli* com extrato etanólico de *Alpinia zerumbet*.

Concentração	*Alpinia zerumbet* Folha	*Alpinia zerumbet* Rizoma	*Alpinia zerumbet* Flor
10mg/mL	NI	NI	NI
5mg/mL	NI	NI	NI
2,5mg/mL	NI	NI	NI
1,25mg/mL	NI	NI	NI
0,625mg/mL	NI	NI	NI
0,313mg/mL	NI	NI	NI
0,156mg/mL	NI	NI	NI
Controle de esterilidade	-	-	-
Controle de crescimento	NI	NI	NI
Controle de toxicidade	NI	NI	NI

Legenda: NI: não inibiu; I: inibiu.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Em estudo realizado por Tavichakorntrakool et al. (2019) com extratos etanólico à 50% de *A. zemrumbet*, a CBM foi de 8 mg/mL para *S. aureus* e de 16mg/mL para E. *coli.* O valor apresentado é similar ao obtido por este estudo, cujo valor de CBM observado para extrato etanólico de folha à 10% foi de 10mg/mL.

Wu et al. (2022) verificaram que os extratos de raiz e rizoma de *A. zerumbet* apresentaram forte atividade inibitória contra *S. aureus* e *E. coli,* com percentuais de 83,23% e 79,62%. Quando comparados a este estudo, os valores apresentados por Wu et al. (2022) mostraram-se superiores pois foi utilizada uma concentração de extrato etanólico superior, destacando-se que pode existir um limiar mínimo para a CMB.

Diferentes compostos bioativos podem estar relacionados à atividade antibacteriana. Castro el al. (2016) destacam a presença de flavonóides e ácido elárgico presentes na folha de *A. zerumbet* que propiciaram uma inibição total de *S. aureus.* Óleos essenciais das folhas e rizomas são ricos em monoterpenos como 1,8-cineol, terpinen-4-ol, γ-terpineno, p-cimeno e linalol, associados à inibição de diversas bactérias, apresentando amplo espectro de ação e podem potencializar a ação de antibióticos convencionais (Elzaawely et al., 2007; Mendes et al., 2015; Victório et al., 2020).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o extrato etanólico de *A. zerumbet* apresentou atividade antimicrobiana significativa frente às cepas de *S. aureus*, especialmente nos extratos provenientes dos rizomas, que exibiram CBM de 0,625 mg/mL. Por outro lado, não foram observados efeitos inibitórios sobre o crescimento de *E. coli* nas concentrações avaliadas, indicando que a ação do extrato pode variar de acordo com o tipo de microrganismo e a parte vegetal utilizada na extração.

Esses achados reforçam o potencial da *A. zerumbet* como fonte de compostos bioativos com propriedades antimicrobianas, especialmente contra bactérias gram-positivas. Além disso, os resultados contribuem para o avanço das pesquisas envolvendo a utilização de plantas medicinais como alternativas naturais no combate à resistência bacteriana, apontando para a necessidade de estudos complementares que

avaliem outras frações e métodos de extração, bem como a elucidação dos princípios ativos responsáveis pela atividade observada.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Mateus Lima; ALMEIDA, Marcos Lima; NERY, Karícia Lima de Freitas Bonfim; MELO, Danielly Silva de; CRUZ, Abianã Santos da; FORTES, Anna Beatriz Pinto Lima; SILVA, Antônio Wadson Nunes da; LIMA, Nayara Brenda Batista de; ALENCAR, Paulo Lúcio Pontes. Resistência bacteriana: uma ameaça global. **Brazilian Journal Of Health Review**, [S.L.], v. 6, n. 5, p. 19741-19748, 6 set. 2023. South Florida Publishing LLC. http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv6n5-028.

BONA, Eliana Almeida Mira de; PINTO, Fabiana Gisele da Silva; FRUET, Thomas Kehrwald; JORGE, Tereza Cristina Marinho; MOURA, Alexandre Carvalho de. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.L.], v. 81, n. 3, p. 218-225, set. 2014. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001192012.

BÔTELHO, Evillyn Xavier; MELO, Rosilma de Oliveira Araújo; GUSMÃO, Norma Buarque de; XIMENES, Rafael Matos; SENA, Kêsia Xisto da Fonseca Ribeiro de. Prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos de Staphylococcus aureus em hospitais do Brasil: uma revisão integrativa da literatura. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 2711628744, 18 abr. 2022. Research, Society and Development. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i6.28744.

CASTRO, Karina Neoob de Carvalho; LIMA, David Fernandes; VASCONCELOS, Luciene Costa; SANTOS, Raimunda Cardoso; PEREIRA, Alitiene Moura Lemos; FOGAÇA, Fabíola Helena dos Santos; CANUTO, Kirley Marques; BRITO, Edy Sousa de; CALVET, Rodrigo Maciel. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de Alpinia zerumbet sobre Staphylococcus aureus. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.L.], v. 83, 2016. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000192014.

ELZAAWELY, Abdelnaser A.; XUAN, Tran D.; TAWATA, Shinkichi. Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of Alpinia zerumbet (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. leaves exposed to copper sulphate. **Environmental And Experimental Botany**, [S.L.], v. 59, n. 3, p. 347-353, abr. 2007. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.04.007.

ERJAVEC, Marjanca Starčič. **Escherichia coli - Old and New Insights**. London: IntechOpen, 2023. 302 p.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2001. 1067p.

MENDES, Francisco R.s.; SILVA, Francisca G.e.; SOUSA, Erlânio O.; RODRIGUES, Fabíola F.G.; COSTA, José G.M.; MONTE, Francisco J.Q.; LEMOS, Telma L.G.;

ASSUNÇÃO, João C.C.. Essential oil ofAlpinia zerumbet(Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. (Zingiberaceae): chemical composition and modulation of the activity of aminoglycoside antibiotics. **Journal Of Essential Oil Research**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 259-263, 26 fev. 2015. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2015.1014935.

OLIVEIRA, K. F. de. **Atividade biológica e antioxidante do extrato de Moringa oleifera**. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Itapina. Disponível em: https://repositorio.ifes.edu.br/bitstream/handle/123456789/4969/TCC_Atividade_biol%C3%B3gica_e_antioxidante_do_extrato_de_Moringa_oleifera.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 11 ago. 2025.

PET-FARMÁCIA, Programa de Educação Tutorial de Farmácia. **Conversando - Planta em evidência 2023: Colônia**. 2023. Universidade Federal da Paraíba - UFPB. Disponível em: http://plone.ufpb.br/petfarmacia/contents/documentos/conversando-planta-em-evidencia-2023/CoInia.pdf. Acesso em: 18 jan. 2024.

TAVICHAKORNTRAKOOL, Ratree; LULITANOND, Aroonlug; SANGKA, Arunnee; SUNGKEEREE, Seksit; WEERAPREEYAKUL, Natthida. Antibacterial activity and bioactive compounds of 50% hydroethanolic extract of Alpinia zerumbet (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 204, 2019. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/2221-1691.259000.

VICTÓRIO, Cristiane P.; ALVIANO, Daniela S.; ALVIANO, Celuta S.; LAGE, Celso L. S.. Chemical composition of the fractions of leaf oil of Alpinia zerumbet (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. and antimicrobial activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 697-701, set. 2009. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2009000500008.

WU, Lixian; LI, Yongquan; LI, Qiaoguang; LI, Jingxuan; LAO, Qinghua; ZHONG, Yucheng; ZHANG, Hui; HU, Xiu. In Vitro Anti-Bacterial and Anti-Fungal Activities of Extracts from Different Parts of 7 Zingiberaceae Plants. **Journal Of Renewable Materials**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 975-989, 2023. Tech Science Press. http://dx.doi.org/10.32604/jrm.2022.023547.