

T.C.
KILIS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAYLA MUZU (*RHEUM RIBES*) EKSTRAKTLARININ *İN VİTRO*
FİTOKİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

MUSTAFA GÜNEŞ

Danışman: Doç. Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2019

KILIS

KABUL VE ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Hatice Aysun Mercimek Takcı danışmanlığında, Mustafa Güneş Tarafından hazırlanan “Yayla Muzu (*Rheum Ribes*) Ekstraktlarının *in vitro* Fitokimyasal, Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması” adlı tez çalışması 10/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

**Unvanı, Adı Soyadı
(Kurumu)**

İmza

Başkan

Prof. Dr. Sevil TOROĞLU
(Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Fen Edebiyat Fak. Biyoloji ABD)

Üye

Doç. Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI
(Kilis 7 Aralık Üniv. Fen Edebiyat Fak.Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD)

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur ÖZŞAVLI.....
(Kilis 7 Aralık Üniv. Fen Edebiyat Fak.Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD)

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 10/06/2019 tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Tez No:

**ÜNVANI ADI SOYADI
Enstitü Müdürü**

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YAYLA MUZU (*Rheum ribes*) EKSTRAKTLARININ *İN VİTRO* FİTOKİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa GÜNEŞ

Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

DANIŞMAN: Doç. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

Yıl: 2019

Sayfa: 51

Polygonacea familyasının türü olan *Rheum ribes*'in taze gövde ve yaprakları Lübnan, İran ve Türkiye'nin doğusunda sebze olarak tüketilmektedir. Son zamanlarda farmakolojik alanlarda kullanılan bu bitkiden Asya ülkelerinde saf ilaç materyalleri üretilmektedir. Çalışmamızda, *Rheum ribes* gövde kısımlarından etil asetat, hekzan, metanol ve saf su çözücüleri kullanılarak 10-100 mg/mL konsantrasyonlarda ekstraktlar hazırlanmıştır. Ekstraktların *in vitro* fitokimyasal özellikleri Stankovic (2011) ve Sharm ve Vig (2013); antioksidan aktivite analizleri Blois (1958), Oyaizu (1986); Dinis ve ark., (1994) ve antimikrobiyal aktivite ise Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çözücülere bağlı olarak ekstraksiyon verimi değişmekle birlikte en yüksek ekstraksiyon verimi (%25.3), en yüksek total fenolik (0.80±0.00 mg GAE/g) ve flavonoid içerik (0.321±0.00 mg RE/g) 100 mg/mL konsantrasyonda metanol ekstraktında belirlenmiştir. *Rheum ribes* metanol gövde ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi %91.10±0.51 olarak kaydedilmiş olup IC50 dozu 10.50 mg/mL'dir. En yüksek Fe (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi %49.70±3.10, indirgeme kapasitesi (0.19±0.00) ve süperoksit anyonu giderme aktivitesi (%39.20±2.40) 100 mg/mL konsantrasyonda metanol ekstraktında belirlenmiştir. *Rheum ribes*'in etil asetat, hekzan ve metanol ekstraktlarının test bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivite gösterememiştir. Saf su ekstraktının gösterdiği antibakteriyel aktivite 9.00±1.00 ve 14.50±1.50 mm zon çapı aralığındadır. En yüksek inhibitör etki 14.50±1.50 mm zon çapı ile *S. aureus*'a karşı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fenolik, Flavonoid, *Rheum ribes*, Antioksidan

ABSTRACT

MSc. Thesis

***IN VITRO* PHYTOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF *Rheum ribes* EXTRACTS**

Mustafa GÜNEŞ

Kilis 7 Aralık University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. H. Aysun MERCİMEK TAKCI

Year: 2019

Page: 51

The fresh stem and leaves *Rheum ribes*, species of Polygonaceae family, are consumed as vegetable in Lebanon, Iran and eastern Turkey. Recently, the crude drug materials from this plant that is used in pharmacological research in Asian countries. In this study, *Rheum ribes* stem extracts at 10-100 mg/mL concentrations were prepared by using ethyl acetate, hexane, methanol and distilled water solvents. *In vitro* phytochemical analyzes by Stankovic (2011) and Sharm and Vig (2013); antioxidant activities by Blois (1958), Oyaizu (1986); Dinis and et al. (1994); antimicrobial activity by Kirby-Bauer disc diffusion methods of these extracts were examined. The extraction efficiency varies depending on the solvents and the highest extraction efficiency was calculated as %25.3 at methanol extract. The highest total phenolic and flavonoid contents were determined 0.80 ± 0.00 mg GAE/g and 0.321 ± 0.00 mg RE/g at 100 mg/mL concentration of methanolic extract. DPPH radical scavenging activity of methanolic stem extract was 91.10 ± 0.51 (IC₅₀ dose 10.50 mg/mL). The highest Fe (II) ions chelating activity ($49.70 \pm 3.10\%$), reduction capacity (0.19 ± 0.00) and superoxide anion scavenging activity ($39.20 \pm 2.40\%$) were recorded at methanol extract. Ethyl acetate, hexane and methanol extracts of *Rheum ribes* were determined to not show antibacterial activity against test bacteria. Antibacterial activity of distilled water extract were in the range of 9.00 ± 1.00 and 14.50 ± 1.50 mm. The highest inhibitory effect was observed against *Staphylococcus aureus* with 14.5 ± 1.50 mm zone diameter.

Keywords: Phenolic, Flavonoid, *Rheum ribes*, Antioxidant

TEŞEKKÜR

Geriye dönüp baktığımda acı ve tatlı anılarla 4 yıllık bir geçmişimizin olduğu, başladığımız bu yola engellere rağmen devam etmekten vazgeçmediğimiz, ilgisini ve desteğini üzerimden hiçbir zaman eksik etmeyen Sevgili Danışman Hocam Doç Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI'ya saygıyla teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında benimle fikirlerini paylaşan desteğini esirgemeyen değerli Dr. Öğr. Rima ÇELİK hocama

Laboratuvar çalışmalarım sırasındaki katkıları ve teknik desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Filiz UÇAN TÜRKMEN'e ve Gıda Mühendisliği bölümüne

Uzun yılların ardından acı ve tatlı anılarla bugünlere birlikte geldiğimiz sevgili arkadaşım Mehmet Fatih EREN'e

Son yılımda tanıdığım Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü yüksek lisans öğrencisi olan ve zor anlarda yardımını esirgemeyen Pemra BAKIRHAN'a

Laboratuvar çalışmam sırasında yardımlarını gördüğüm Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü 4. sınıf öğrencileri Melike KAPTANOĞLU, Sema GENÇ ve Hüseyin KAYRAN'a

Ve elbetteki uzun yıllar kahrımı çeken, maddi ve manevi desteklerini üzerinden hiçbir zaman eksik etmeyen kalabalık aileme,

Sürekli bu okuman ne zaman bitecek diyen ve benden daha çok yorulan Sevgili Annem ve Babama...

Sonsuz Teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER.....	viii
TABLOLAR.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
1.1Yayla Muzu (<i>Rheum ribes</i>) Hakkında Genel Bilgi.....	3
1.2. <i>Rheum ribes</i> L. Sınıflandırılması.....	5
1.3.Antioksidan, Fenolik ve Flavonoidler.....	5
1.4.Önceki Çalışmalar.....	6
2.MATERYAL VE METOT.....	8
2.1 MATERYELLER.....	8
2.1.1 Hazırlanan Çözeltiler.....	8
2.1.2 Kullanılan Besiyerleri.....	9
2.1.2.1 Nutrient Broth:.....	9
2.1.2.2 Nutrient Agar.....	9
2.1.2.3 Müeller-HintonAgar (MHA).....	9
2.2 METOT.....	9
2.2.1 Bitki örneklerinin hazırlanması:.....	9
2.2.2 Fitokimyasal Analizler.....	11
2.2.2.1 Toplam fenolik madde miktarı.....	11
2.2.2.2 Toplam flavonoid madde miktarı.....	12
2.2.3 Antioksidan kapasite analizleri.....	13
2.2.3.1 DPPH süpürme aktivite tayini.....	13
2.2.3.2 Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesinin tayini:.....	13
2.2.3.3. İndirgeme kapasite tayini.....	14
2.2.3.4 Süperoksit radikali giderme aktivitesinin tayini.....	14
2.2.4 Ekstraktların antibakteriyel aktivitesi.....	15
2.2.4.1 Test mikroorganizmaları.....	15

2.2.4.2.Disk difüzyon yöntemi.....	15
2.2.5 İstatistiksel analiz.....	16
3.BULGULAR ve TARTIŞMA.....	17
3.1 <i>In vitro</i> Aktivite Sonuçları.....	17
3.1.1 <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının total fenolik ve flavonoid içerikleri	17
3.1.2. Ekstraktların dpph radikal süpürücü aktivitesi ve ic50 dozu.....	20
3.1.3. Ekstraktların demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi tayini.....	23
3.1.4.İndirgeme kapasitesi tayini	24
3.1.5. Süperoksit radikali giderme aktivitesi	26
3.2.Ekstraktların Antibakteriyel Aktivitesi	27
4.SONUÇ VE ÖNERİLER	33
5.KAYNAKÇA.....	35
6.ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simge	Açıklama
mg	Miligram
μ L	Mikrolitre
mL.	Mililitre
g	gram
L	Litre
M	Molar
mM.	Milimolar
μ M.	Mikromolar
DPPH	2,2-Difenil-1-Pikril Hidrazil Radikali
UV	Ultra Viyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
TCA	Trikloro Asetik Asit
FeCl ₃	Demir (III) klorür

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Yayla muzı (<i>Rheum ribes</i>) (www. http://fatihkurt.net/haberler/dunden-bugune-6 -iskin-gep.html).....	3
Şekil 2.1. Aktarlardan temin edilen ve ekstraksiyonda kullanılan <i>Rheum ribes</i> L. gövde örnekleri	10
Şekil 2.2. Evaporasyon öncesi süzme işlemi	10
Şekil 2.3. <i>Rheum ribes</i> L. gövde kısmının ekstraksiyon ve analiz şeması.....	11
Şekil 2.4. Fenolik madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi	12
Şekil 2.5. Flavonoid madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi	13
Şekil 3.1. Ekstraktların ve standart antibiyotiklerin test bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi	30
Şekil 3.2. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Proteus spp.</i> 'ye karşı saf su ekstraktının etkili olduğu MİK değerleri.....	31
Şekil 3.3. <i>Rheum ribes</i> saf su ekstraktının <i>Staphylococcus aureus</i> 'a etkili olduğu MİK değerleri.....	31

TABLULAR

Tablo 3.1. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri (mg GAE/g).....	17
Tablo 3.2. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri (mg RE/g).....	18
Tablo 3.3. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının ve BHT'nin DPPH süpürme aktivitesi (%).....	20
Tablo 3.4. Çalışmamızdaki bitki ekstraktlarının ve standartların DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarından elde edilen IC50 değerleri (mg/mL).....	21
Tablo 3.5. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının Fe Şelatlama aktivitesi (%)	23
Tablo 3.6. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının indirgeme kapasitesi tayini (abs.)	25
Tablo 3.7. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının süperoksit radikali giderme aktivitesi (%)	26
Tablo 3.8. <i>Rheum ribes</i> ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi (mm)	28

1.GİRİŞ

Doğadaki tüm canlılar yaşamlarını karşılıklı bir denge üzerinde devam ettirmektedirler. Dünyada kara ve denizlerin büyük bir kısmı bitkilerle kaplanmış durumdadır. Özellikle dünya yüzeyinin önemli bir kısmını kaplayan denizlerin; tabanlarının da aynı şekilde büyük bir kısmı bitkilerle kaplıdır. Bu sebeple bitkiler, ekolojik denge içinde canlı hayatının devam edebilmesi için doğal bir unsur olarak önemli bir yere sahiptir. Uzun yıllardır devam eden bu ortaklaşa yaşam doğal olarak bitkilerle insanların etkileşimini de arttırmıştır. Hatta bitkilerin önemi için geçmişteki dönemlerde yaşayan insanlar tanrıların, bitkileri insanlığa sunduğu en önemli hediye olarak değerlendirmişlerdir. İnsanlar bitkileri, önemli ihtiyaçlarının giderilmesinde ve aynı zamanda bilim ve teknolojinin gelişmesinde de kullanmaktadırlar (Gezgin,2006). Bundan dolayı insanoğlunun varoluşundan günümüze kadar hala bitkilerle olan ilişki devam etmektedir. Bitkilerin besin olarak tüketmekle beraber, sağlık sorunlarını gidermek içinde yine bitkileri etkili bir biçimde kullanmışlardır. Sağlık alanında elde edilen bilgiler ve kazanılan deneyimler, günümüze kadar nesiller boyunca aktarılıp geliştirilerek gelmiştir.(Koçyiğit,2005). Dünyadaki diğer ülkeler gibi ülkemizin de sahip olduğu endemik flora sayesinde çok sayıda tıbbi ve aromatik bitki yetiştirilmektedir. Ülkemizde yaklaşık 500 kadarı tıbbi bitki olduğu tahmin edilmekte olup; bu bitkilerin 200 tanesinin ihraç potansiyelinin olduğu bildirilmiştir. (Aydın, 2004; Ekim ve ark., 2000).

Dünya sağlık örgütü insanların tedavi amacıyla 20.000 civarında tıbbi bitkiyi kullandığını rapor etmiştir (Kırbağ ve Zengin,2006). Dünya Sağlık Örgütü tarafından küresel nüfusun %80'inin birinci basamak sağlık hizmeti ihtiyaçları için de geleneksel yöntemlerle tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçların kullanıldığını bildirmiştir. Tarih boyunca Anadolu'da da tedavi amaçlı kullanılan bitkilere, halk hekimliği uygulamalarında yaygın olarak rastlanılmaktadır. Anadolu'daki tıbbi bitkilerden doğal yöntemlerle elde edilen ilaçlar, uzun denemeler sonunda günümüze kadar geliştirilerek gelmiştir. Aynı zamanda günümüz tıp alanında kullanılan birçok ilacın ana bileşeni bitkilerden sağlanmaktadır. Her yerde olduğu gibi Anadolu'da da yetişen bitkilerin insanların tedavi amacının yanında, baharat, boya, gıda, çay, hayvan hastalıklarının tedavisi, meşrubat ve kozmetik sanayinde kullanımı gibi birçok alanda kültürel çeşitliliğimizin bir parçası olmuştur. Şuanda aktif olarak kullanmakta olduğumuz reçete

ile verilen ilaçların %25'ini bitkisel ham maddeli ilaçlar oluşturduğu tahmin edilmektedir (Farnsworth ve ark,1985). Günümüz tıp uygulamalarında, enfeksiyonel kaynaklı hastalıkları tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara ve benzerlerine karşı devamlı direnç gelişmekte ve artmaktadır. Sentetik ilaçların artışı ile birlikte, patojenik mikroorganizmaların mevcut antimikrobiyal bileşiklere karşı direnci de artmıştır. Enfeksiyon kaynaklı hastalıkların tedavisinde enfeksiyonel ajanlara karşı gelişen direnç gün geçtikçe insan sağlığı için risk olduğundan önemli yer tutmaktadır. Mikroorganizmaların varolan antibiyotik maddelere gösterdikleri dirence karşı asıl mücadeleden bir tanesi de yeni antimikrobiyal ajanların belirlenmesidir. Bunun için birçok tıbbi bitkinin farmakolojik potansiyelleri bilim insanlarına araştırma konusu olmuştur (Sökmen ve ark., 1999; Ahmad ve Beg, 2001; Bonjar, 2004; Al-Bayati, 2009).

Yapılan çalışmalar, farmakolojik yönden önemli kabul edilen bitkilerle kalmayıp yeni farmakolojik bitkilerin de araştırılması, kültürü yapılan ve yapılamayı bekleyen türler üzerinde odaklanmaktadır. Bazı yapay katkı maddeleri, özellikle gıda teknolojisinde son zamanlarda oldukça sık kullanılmaktadır. Gıda sektöründe kullanılan bu maddelerin güvenilirliği net bilinmemesine rağmen doğal antimikrobiyallerin etkisi, diğer yapay antimikrobiyallere göre daha da fazla güven vericidir. Bu doğal antimikrobiyal içeren bitkilerden uygun yöntemle elde edilebilecek ekstraktlar gıda korumasında bir aroma veya lezzet bileşeni olması ile birlikte antimikrobiyal etki de göstermektedir (Akgül, 1993; Çon ve ark., 1998; Nostro ve ark.,2000; Sağdıç ve ark., 2002; Nair ve ark., 2005). Antimikrobiyal aktivite gösteren bitkiler özellikle gıdalarda koruyucu madde ve aynı zamanda tıbbi amaçlı olarak da kullanılmaktadır. Günümüzde, çeşitli bitkisel materyallerden doğal antioksidanların elde edilmesine yönelik çalışmalar gıda endüstrisi üzerine yoğunlaşmıştır. Bu veriler gıda endüstrisi için doğal antioksidanın elde edildiği tıbbi ve aromatik bitkilerin, gıda ürünlerinde oksidasyonu önlemek amacıyla kullanımının öneminin giderek arttırmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin durumu; bitkiden elde edilen antimikrobiyal ajanın içeriğine, mikroorganizmaların türüne ve gıdaların işlenme/saklanma prosedürlerine bağlı olarak değişmektedir. Antimikrobiyal aktiviteyi etkileyen temel faktörler: proteinler, pH, sıcaklık, tuzlar, flavonoid, lipitler ve fenolik maddelerdir (Sağdıç, 2003).

Çalışmamızda ülkemizde özellikle Doğu Anadolu'da yayılış gösteren bir bitki türü olan yayla muzunun (*Rheum ribes* L.) kuru gövde etil asetat, hekzan, metanol ve saf su ekstraktlarının *in vitro* fitokimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1 Yayla Muzu (*Rheum ribes*) Hakkında Genel Bilgi

Yayla muzusu (*Rheum ribes*), Lübnan, Irak İran ve Türkiyenin Doğu Anadolul bölgelelerinde yetişen Polygonacea familyasına ait çok yıllık bir bitkidir (Davis, 1967). Doğu bölgelerimizde 1800 ile 2800 metre yüksekliklerde yayılış gösteren bitki olup, bölgesel olarak değişmekle beraber ışgın, yayla muzusu ve uçkun gibi adlarla anılmaktadır (Tosun ve Kızılay 2003). *Rheum ribes*, doğu Anadolu bölgesinde Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında görülüp, boyu ortalama 150'cm'dir (Andiç ve ark. 2009). Gövde taban kısımdan yapraklıdır. Yaprakları büyük, kırmızımsı, bitkinin kenarları ince tırtırlı ve buruşuk şeklindedir. Yaprakların üst tarafı sert ve pürüzlüdür (Nevin ve ark.2004). Çiçekleri ise küçük, sarımsı ve beyazdır. Tohumların boyutu 9-15 mm boylarındadır. Kazık köklü ve çok yıllıktır. *Rheum ribes*, kabukları gövdeden temizlenerek yenen, pH değeri 3.56 olması sebebiyle ekşi tat veren ve yeşil renkli bir bitkidir (Şekil 1.1.).



Şekil 1.1. Yayla muzusu (*Rheum ribes*) (www. http://fatihkurt.net/haberler/dunden-bugune-6 -iskin-gep.html)

Rheum ribes 1939 yılında tıbbi açıdan ilk kez incelenmiş, sırayla 1964, 1985 ve 1990 yıllarından günümüze dek çalışmalara devam edilmiştir. *Rheum ribes* yetiştiği bölge de halk tarafından gövde kısmı, taze iken dış kabuğu soyularak yenilmekle beraber Hakkâri'de uçkunlu dondurma ve uçkunlu kek olarak Bitlis'de turşusu yapılarak tüketilmektedir. Tunceli ve Bitlis'in bazı bölgelerinde ateşte pişirilerek tüketilmektedir. Erzurum bölgesinde ise sebze olarak tüketilmektedir (Güvenç ve Kaya,1996). Elazığ'da ışıklı yumurta ve ekşili ışık, bazı yörelerde ise ışık ekşilisi ya da ekşili ışık adlı yemek yapılmaktadır. Işıklı kapuska adlı yemekte de yapılmaktadır.

Besin olarak tüketilmekle beraber halk arasında da tıbbi olarak da kullanımı yetiştiği bölge içinde oldukça yaygındır. Bitlis ve çevresinde bitkinin gövde kısmı sindirimi kolaylaştırıcı olarak bilinmekte, kök kısımları ise hemoroid ve şeker hastalığı tedavisi için de kullanılmaktadır. Aynı zamanda kökleri, şeker hastalığında fayda sağlamış, ülser ve mide rahatsızlığında olumlu anlamda büyük etkiye sahiptir (Baytop, 1999; Özbek ve ark., 2002; Tosun ve Kızılay 2003). *Rheum ribes* kökünde anti tümör etkiye sahip maddelerin olduğu düşünülmektedir (Mohammed ve Karim, 2010). Yine *Rheum Ribes*'in ajanlara karşı antioksidan özelliği olduğundan kanserli hücrelere etki yönünden olumlu sonuçlar verebileceği düşünülen bu bitki üzerinde yapılan bir çalışmada (Umidahhan Djakbarova ve ark., 2009) ilk bulgulara göre kaynatarak elde edilen ekstraktların kanserli dokuda antiproliferatif bir etkisi bulunamamıştır. *Rheum ribes* genç sürgünlerinde, krizofanol, fiskiyon ve emodolan trakinonlarıyla, kuersetin, 5-dezoksikuersetin, kuersetin 3-O-ramnozid, kuersetin 3-O-galaktozid ve kuersetin 3-O-rutinozid flavonoidleri bulunmaktadır (Tosun ve Kızılay 2003).

Rheum ribes 'den elde edilen ekstraktların antibakteriyel yönünden etkiliği özelliğe sahip olduğu vurgulanmaktadır (Bazzaz ve ark., 2005; Alaaddin ve ark., 2007). *Rheum ribes* tıbbi yönden birçok etkisi olduğu gibi C vitamini açısından oldukça zengin bir bitkidir. Ayrıca yapılan araştırmalarda, *Rheum ribes* fenolik yönünden yüksek madde içeriğine sahip olup ve diğer bitklere göre serbest radikalleri bağlama oranının yüksek olduğu belirlenmiş ve güçlü antioksidan özellikleri yönüyle zengin bir gıda olarak rahatlıkla tüketebileceği ortaya koymuştur (Meral, 2011).

1.2. *Rheum ribes* L. Sınıflandırılması

- Alem:** Bitkiler (*Plantae*)
Şube: Kapalı tohumlular (*Angiosperms*)
Sınıf: İki çenekliler (*Eudicots*)
Familya: Kuzukulağıgiller (*Polygonoideae*)
Cins: Ravent (*Rheum*)
Tür: Yayla Muzu (*Rheum ribes*)

1.3. Antioksidan, Fenolik ve Flavonoidler

Literatürde *Rheum ribes* üzerinde antioksidan aktivitesini araştırmak ve ayrıca fenolik yapılarını analiz etmek için bazı kimyasal içerikli çalışmalar yapılmıştır. Flavonoidler, potansiyel bir antioksidan kaynağı sağlamak için *Rheum ribes* ana fenolik bileşenleridir. İnsan vücudunda çeşitli antioksidanlar oluşur, genel olarak serbest radikallerin zarar verici özelliklerine karşı vücudu korumak için birbirleriyle mükemmel koordinasyon içerisinde çalışırlar. Bu antioksidanlar ya vücut tarafından oluşturulur ya da çeşitli yiyeceklerden dış kaynaklı olarak elde edilir. Antioksidanlar ayrıca doğal veya sentetik antioksidan olmak üzere ikiye ayrılır. Bitkilerden doğal şekilde elde edilenler doğal antioksidanlardır ve laboratuvarında sentetik olarak hazırlananlara sentetik antioksidanlar denir. Antioksidanlar, indirgeyici aktivite gösteren bileşiklerdir. Bir elektron reaktif oksijen türlerine (ROS) bağlanarak hücrelerin ve biyomoleküllerin bileşenlerini oksidasyondan korurlar.

Antioksidanların, hastalıkların önlenmesinde ve insan sağlığın korunmasında önemi yaygın olarak bilinmekte ve incelenmektedir. Antioksidanlarla desteklenen fonksiyonel gıdalara olan talep her yıl artmakta ve giderek daha fazla insan antioksidanlar açısından zengin besinlerle hastalıkların önlenmesinin önemini fark etmektedir. Antioksidanların gıdalardaki önemli işlevi, lipid peroksidasyonunu yenileyerek raf ömrünü arttırıp uzun süre taze tutmaktır. Süt ürünleri ve diğer gıda ürünleri gibi gıda dağıtım sistemleri de buna dahil edilebilirler. Özellikle sebzelerde, meyvelerde ve tahıllarda bulunan antioksidan fitokimyasalların, insan hastalıklarını önleme yeteneklerine sahip olduğu ve gıda kalitesini artırabileceği bulunmuştur (Yu ve ark., 2002).

Fenolik bileşikler ise, bitki büyümesi, gelişimi ve savunmasında çeşitli fonksiyonlara sahip geniş bir molekül grubunu temsil etmektedir. Fenoliklerin içinde bitkiyi böceklerle, mantarlara, bakterilere ve virüslere karşı koruyabilen bileşikler de bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, pentoz fosfatın türevleri olan sekonder metabolitlerdir (Randhir, Lin ve Shetty, 2004).

1.4.Önceki Çalışmalar

Erecevit ve Kırbağ (2017) Bu çalışmada; yağ asidi, vitamin, fitosterol, flavonoid ve resveratrol içerikleri ve *Rheum ribes*. *Kluyveromyces lactis* 1 ile muamele edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; *Rheum ribes* ekstraktlarında toplam yağ asidi, vitamin ve fitosterol içeriğinin belirli seviyelerde olduğu gözlenmiştir. Toplam yağ asidi seviyesinin; önemli oranda, vitamin içeriği; kısmen *Kluyveromyces lactis* 1 ile hazırlanan *Rheum ribes* özlerinde artış olmuştur; ancak, flavonoid içerikleri farklı oranlarda azalmıştır. Çalışmada, *Rheum ribes* 'in değişen oranlarda antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri olduğu görülmüştür. *Kluyveromyces lactis* 1 içeren *Rheum ribes* ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde, yağlı asit ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* hariç tüm bakterilere, mayalara ve dermatofit mantarlarına karşı değişen oranlarda etki gösterdikleri görülmüştür. Öte yandan, vitamin ve flavonoid ekstraktları antimikrobiyal aktiviteyi neredeyse hiç gösterememiştir. Sonuç olarak, yerel bir bitkiye sahip olan *Rheum ribes* in, potansiyel bir probiyotik olarak kabul edilen bu çalışmada kullanılan *Kluyveromyces lactis* 1'in gelişimi üzerinde olumlu etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerden elde edilen ekstraktlarda gelişen bu maya tipinin biyolojik aktif bileşikleri değişen oranlarda etkilediği görülmüştür.

Bazzaz ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada ise *Rheum ribes* 'in kök, sap ve yaprak ekstraktlarının gram negatif patojenlerin birkaç yaygın klinik izolatu üzerindeki antibakteriyel etkileri, disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışılan gram negatif mikroorganizmalar *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* ve *Neisseria gonorrhoeae*'dir. Kök, sap ve yaprak ekstraktları antibakteriyel aktivite göstermiştir. *Rheum ribes* kök ekstraktlarının klinik izolatlara karşı etkili şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Abdulla ve arkadaşları (2015) yaptığı çalışmada *Rheum ribes*, etanol ve sulu kök ekstraktlarının antioksidan potansiyeli, 2,2-difenil-1-ikrilhidrazil radikal süpürme aktivite deneyi kullanılarak incelenmiştir. Seçilmiş Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakteri türleri üzerindeki ekstraktların antibakteriyel etkinliği de değerlendirilmiştir. On ayrı fenolik bileşik (emodin, aloe-emodin, fizik, kristotanol, rhein, klorojenik asit, gallik asit, tannik asit, kaempferol ve rutin) de HPLC ile belirlenmiştir. Fenolik bileşiklerin içeriği, etanolde, sulu kök ekstraktlarından önemli ölçüde daha yüksekti. Her iki kök ekstresi de antioksidan ve antibakteriyel aktivite göstermiştir. En yüksek antioksidan aktivite etanol ekstraktında bulunmuştur. Köklerin etanol ekstresi, standart ilaçlara kıyasla test edilen tüm bakteri türlerine karşı en yüksek antibakteriyel etki göstermiştir. *Rheum ribes* kök ekstraktlarındaki yüksek fenolik bileşik içeriğinin, test edilen mikroorganizmalara karşı yüksek antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerden sorumlu olduğu bildirilmiştir.

Tartık ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada *Rheum ribes*'in etanol ekstraktının biyolojik aktivitelerini incelenmiştir. Ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı etkin olduğunu göstermiştir. Çalışmanın hem PC3 hücrelerine karşı pro-oksidan yeteneğine hem de HUVEC'ler üzerinde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

2.MATERYAL VE METOT

2.1 MATERYELLER

2.1.1 Hazırlanan Çözeltiler

0.2 M Fosfat Tamponu (pH 6.6): KH_2O_4 (27,218 g/L) ve Na_2HPO_4 (28,392 g/L) çözeltileri pH6,6 elde edilecek şekilde birbirine karıştırılmıştır.

0.1 M Fosfat Tamponu (pH 7.4): KH_2O_4 (13.609 g/l) ve Na_2HPO_4 (14.196 g/l) çözeltilerinin pH7,4 olacak şekilde (yaklaşık60/225 mL oranında) karıştırılarak ele edilmiştir.

%1'lik FeCl_3 Çözeltisi: 0,1666 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılıp 100 mL saf suda çözülmüştür.

156 μM NBT Çözeltisi (nitrotetrazoliumblue klorür): 0,0064 g NBT tartılıp 50 mL 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,4) çözülmüştür.

%10'luk TCA Çözeltisi: 5 g trikloroasetik asit tartılıp 50 mL saf suda çözülmüştür.

468 μM NADH Çözeltisi (nikotin amiddinükleotit): 0,0332 g NADH tartılıp 100 mL 0,1 M fosfat tamponunda (pH7,4) çözülmüştür.

60 μM PMS Çözeltisi (Fenazin metasülfat): 0,0036 g PMS 0.1 M fosfat tamponunda (pH=7.4) çözümlenerek çözeltinin hacmi 200 mL saf suda çözülmüştür.

1 mM FeCl_2 Çözeltisi: 0,0199 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tartılıp 50 mL saf suda çözülmüştür.

5 mM Ferrozin Çözeltisi: 0,0616 g ferrozin tartılıp 25 mL saf suda çözülmüştür.

%1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Çözeltisi: 0.5 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ tartılıp 50 mL saf suda çözülmüştür.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi: 0.025 g/L konsantrasyonda DPPH çözeltisi metanol içinde hazırlanarak kullanılmıştır.

%7.5'lik NaHCO_3 çözeltisi: 11.25 g NaHCO_3 150 mL saf suda çözümlenerek hazırlanmıştır.

%10'luk Folin ayraç: Hazır folin ayraçından %10'luk konsantrasyonda saf su içerisinde hazırlanmıştır.

%5'lik NaNO_2 çözeltisi: 5 g NaNO_2 100 mL saf suda çözümlenerek hazırlanmıştır.

%10'luk AlCl₃.6H₂O çözeltisi: 10 g AlCl₃.6H₂O 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

1 M'lık NaOH çözeltisi: 8 g NaOH 200 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

Fizyolojik Tuzlu Su: 0.9 g NaCl 100 mL saf suda çözülmüştür. 121°C'de otoklav edilerek kullanılmıştır.

2.1.2 Kullanılan Besiyerleri

2.1.2.1 Nutrient Broth: Antimikrobiyal analizlerinde ve antimutajenite testlerinde bir gecelik kültürlerin geliştirilmesi için kullanılmıştır.

İçeriği: Et pepton 5,0 g/L, Et özü 8,0 g/L

Hazırlanışı: 8.0 g/L olacak şekilde saf suda çözünen hazır besiyerinden 5 mL burgulu kapaklı tüplere aktarılıp ve 121°C'de 15 dak. otoklavdasteril edilerek kullanılmıştır.

2.1.2.2 Nutrient Agar: Bakteriyel kültürlerin kullanılana kadar stoklanması amacıyla kullanılmıştır.

İçeriği: Peptone from meat 5,0 g/L; Meat extract 3,0 g/L; Agar-agar 12,0 g/L

Hazırlanışı: 20.0 g/L olacak şekilde saf suda çözünen hazır besiyeri 121 °C'de 15 dak otoklavda steril edilip petri kutularına dökülmüştür.

2.1.2.3 Müeller-HintonAgar (MHA): Antimikrobiyal analizlerde kullanılan bu besiyeri 34.0 g tartılıp 1000 mL saf su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dak. otoklavda steril edilerek plaklara dökülmüştür.

İçeriği: Kazein asit hidrolizatı 17.5 g/L, Sığır eti ekstraktı 2.0 g/L, Nişasta 1.5 g/L, Agar Agar 13.0 g/L.

2.2 METOT

2.2.1 Bitki örneklerinin hazırlanması:

Aktarlardan temin edilen hazır kurutulmuş *Rheum ribes*'in gövde kısımları (Şekil 2.1) ilk olarak blenderde çekilerek toz haline getirilip kapalı bir kap içerisinde oda sıcaklığında saklanmıştır. %10 (w/v) konsantrasyonda konsantre etil asetat, hekzan, metanol ve saf su kullanılarak oda sıcaklığında 180 rpm'de 72 saat çalkalamalı koşullarda ekstrakte edilmiştir.

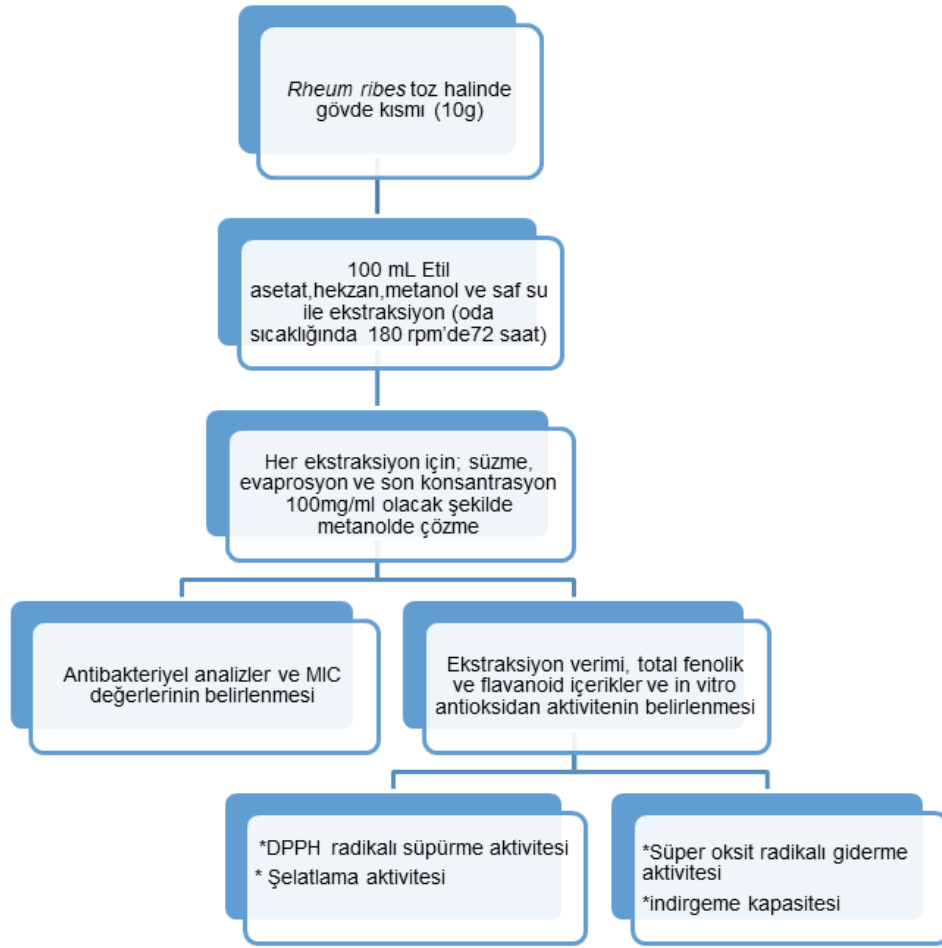


Şekil 2.1.Aktarlardan temin edilen ve ekstraksiyonda kullanılan *Rheum ribes* L. gövde örnekleri

İnkübasyonu takiben süzöntü Whatman filter paper No.1 geçirilerek süzölmüş (Şekil 2.2) ve elde edilen süzöntü evaporatörde konsantre edilmiştir. Her çözücünün kaynama noktasına uygun sıcaklıklarda yapılan Evaporasyon sonrası örneklerin son konsantrasyonu 100 mg/mL olacak şekilde metanol içerisinde süspanse edilmiştir. Balon jojelerde süspanse ekstraktlar bir sonraki kullanım süresine kadar +4°C’de saklanmıştır. Fitokimyasal ve antibakteriyel özelliklerin belirlenmesi için 10 ile 100 mg/mL konsantrasyonlarda ekstraktlar hazırlanıp, her analiz için farklı konsantrasyonlarda standartlar test edilmiştir. *Rheum ribes* L. gövde örneklerinin ekstraksiyon ve analiz şeması Şekil 2.3’te özetlenmiştir.



Şekil 2.2.Evaporasyon öncesi süzme işlemi

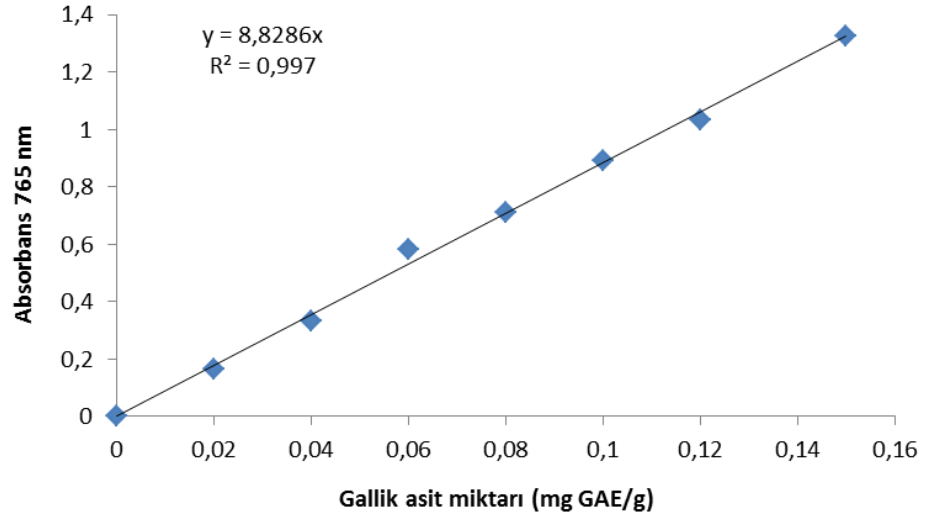


Şekil 2.3. *Rheum ribes* L. gövde kısmının ekstraksiyon ve analiz şeması

2.2.2 Fitokimyasal Analizler

2.2.2.1 Toplam fenolik madde miktarı

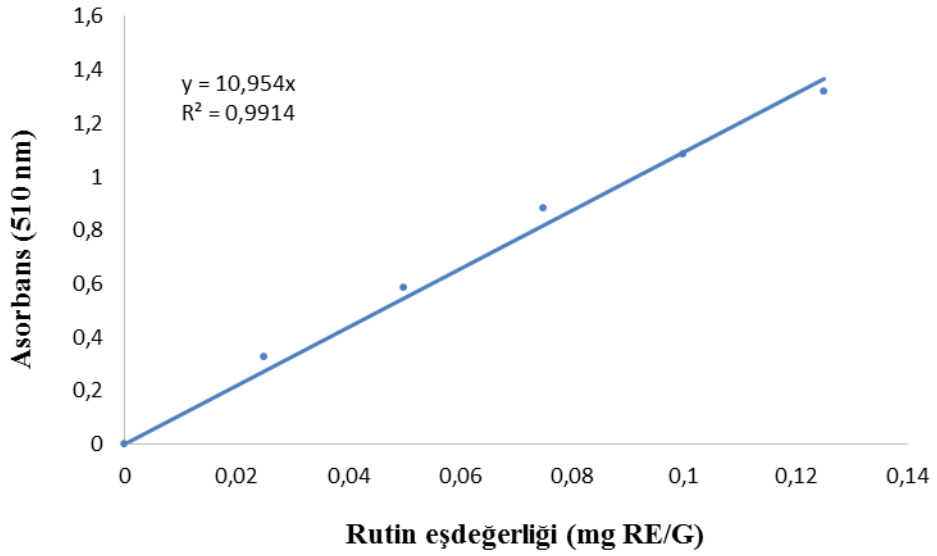
Rheum ribes ekstraktlarındaki toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocal teukalorimetrik metodu ile belirlenmiştir. Ekstratlarının 500 μL 'sine %7,5'lik NaHCO_3 çözeltisinden 2,5 mL eklenmiştir. Karışıma %10'luk Folin-Ciocalteu ayracından 2.5 mL ilave edilmiştir. 45°C'de 45 dak. su banyosunda inkübasyonu süresince tüplerdeki renk değişimi takip edilmiştir. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda köre karşı okutulmuştur (Biochrom, Libra S60, B, England). Sonuçlar mg GAE/gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir (Stankovic, 2011). Farklı konsantrasyonda standart gallik asit kullanılarak çizdirilen kalibrasyon eğrisinden elde edilen formüle göre ekstraktlardaki fenolik madde miktarı hesaplanmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.4. Fenolik madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi

2.2.2.2 Toplam flavonoid madde miktarı

Ekstraktlar 1:5 oranda saf su ile seyreltilmiş ve %5'lik 300 μ L NaNO_2 eklenerek oda sıcaklığında 5 dak. inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası reaksiyon karışımına 600 μ L %10'luk $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ eklenmiş tekrar 5 dak. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 1 M'lık NaOH 'dan 2 mL ilave edilmiş ve karışım saf su eklenerek son hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır. 510 nm'de karışımın absorbansı okutulmuştur (Sharm ve Vig, 2013). Sonuçlar mg RE/g rutin eşdeğeri (RE) olarak ifade edilmiştir. Çizdirilen kalibrasyon eğrisinden elde edilen formüle göre ekstraktlardaki flavonoid madde miktarı hesaplanmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.5. Flavonoid madde miktarı tayini için çizdirilen kalibrasyon eğrisi

2.2.3 Antioksidan kapasite analizleri

2.2.3.1 DPPH süpürme aktivite tayini

Blois'in (1958) bulduğu serbest radikal giderme metodu örneklerin bir elektron veya proton verebilme yeteneğine bağlı olarak DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltisinin renginin açılması esasına dayanmaktadır.

Rheum ekstraktlarının 100 µL'si metanol içinde çözülmüş DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltisinin 3.9 mL'sine eklenmiştir. Reaksiyon gerçekleşmesi için karışım 120 dak. karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra reaksiyon karışımı 515 nm dalga boyunda okutulmuştur. Ekstraktların DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Standart olarak 200-1000 µg/mL konsantrasyonda BHT (Butilhidroksitoluen) kullanılmıştır. Örnek yerine metanolün ilave edildiği tüplerin absorbansı kontrol olarak değerlendirilmiştir.

$$\text{DPPH inhibisyonu (\%)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{Kontrol}} - \text{Abs}_{\text{Numune}})}{\text{Abs}_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

2.2.3.2 Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesinin tayini

Rheum ekstraktlarının Fe⁺² iyonlarını şelatlama aktivitelerini belirlemek için Dinis ve ark., (1994) buldukları metot uygulanmıştır. Belirtilen yöntemle göre demir şelatlama gücü yüksek olan ferrozinle, ekstraktlarda bulunan metal bağlayıcı bileşiklerin yarışması esasına dayanmaktadır. Eğer ekstraktlar içinde bulunan bileşiklerin demir

bağlama gücü yüksekse kırmızı renkli olan Ferrozin+Fe⁺² kompleksinin oluşumu engellenecektir.

100 µL ekstrakt içeren deney tüplerine 370 µL saf su ve 10 µL 2 mM FeCl₂ çözeltisi eklenmiştir. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dak. inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplere 20 µL 5 mM ferrozin çözeltisi ilave edilip vortekslenmiştir. Vortekslenen tüplere 2.5 mL saf su eklenerek 10 dak. inkübasyona bırakılmıştır. 10 dakikalık inkübasyon sonucu değerler spektrofotometrede 562 nm dalga boyunda köre karşılık okunmuştur. Standart olarak 50-250 µg/mL konsantrasyonlarda EDTA kullanılmıştır. Örnek yerine ekstraktların hazırlandığı çözücüye göre 1 mL saf su ve metanol kullanılarak kontrol çalışılmıştır. Ferrozin-Fe⁺² kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıda belirtilen formülle hesaplanmıştır.

% Şelatlama Aktivitesi:

$(1 - (562 \text{ nm}'de \text{ Örnek Absorbansı} / 562 \text{ nm}'de \text{ Kontrol Absorbansı})) \times 100$

2.2.3.3. İndirgeme kapasite tayini

Oyaizu'nun (1986) belirlediği metotla ekstraktların indirgeme kapasitesi belirlenmiştir. Bu metotta örneklerin içinde bulunan indirgen maddenin Fe⁺³ iyonunu Fe⁺² iyonuna indirgenmesi test edilmektedir. Ortama FeCl₃ eklenmesiyle Prusya mavisi rengini alan yeni karışımın absorbans değeri ölçülür. Elde edilen yüksek absorbans değeri aynı zamanda yüksek indirgeme kapasitesine göstermektedir Rheum ekstraktlarının 100 µL'sine, 250 µL fosfat tamponu (0.2 M pH 6,6) ve 250 µL %1'lik K₃Fe(CN)₆ eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 50°C'de 20 dak inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 250 µL %10'luk TCA eklenmiş ve 2500 rpm'de 10 dak santrifüj edildikten sonra 250 µL alınan örneklere eşit hacimde saf su ve 50 µL %0,1'lik FeCl₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımına 1650 mL saf su eklenmiştir ve reaksiyon karışımlarının absorbansı 700 nm'de okutulmuştur. Standart olarak BHA çözeltisi (Bütilhidroksianisol) kullanılmıştır.

2.2.3.4 Süperoksit radikali giderme aktivitesinin tayini

Süperoksit anyonu giderme aktivitesi Nishikimi ve ark. metoduna göre belirlenmiştir (Nishikimi ve ark.,1972). Deney koşullarında NADH/PMS/O₂ sistemi ile üretilen

süperoksit radikali sarı renkli NBT'yi mavi-mor renkli formazon türevine indirgemektedir. 1 mL 156 µM NBT (0.1 M fosfat tamponunda, pH 7.4) ve 1 mL 468 µM NADH (0.1 M fosfat tamponunda, pH 7.4) karışımlarına 1 mL değişik konsantrasyonlarda hazırlanan bitki ekstraktları veya 1 mL standart BHA çözeltisi (50-400 µg/mL) ilave edilmiştir. Reaksiyon çözeltisine 100 µL 60 µM PMS çözeltisi (0.1 M fosfat tamponu pH 7.4) eklendikten sonra 25°C'de 5 dak inkübasyon sonunda örnekler spektrofotometrede 560 nm'de okutulmuştur. Aynı deney koşullarında 1 mL su kullanılarak kontrol çalışılmıştır. Aşağıda eşitliğe göre süperoksit anyonu giderebilme aktiviteleri hesaplanmıştır.

% Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi = $\frac{((560 \text{ nmde Kontrol Absorbansı} - 560 \text{ nmde Örnek Absorbansı})/560 \text{ nmde Kontrol Absorbansı}) \times 100$

2.2.4 Ekstraktların antibakteriyel aktivitesi

2.2.4.1 Test mikroorganizmaları

Bu çalışmamızda Kilis devlet hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilip Gr davranışları ve biyokimyasal testleri yapılarak tiplendirilmiş,

- *Escherichia coli*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Proteus spp*,
- *Klebsiella pneumonia* ve
- *Pseudomonas aeruginosa* suşları kullanılmıştır.

2.2.4.2.Disk difüzyon yöntemi

Antimikrobiyal analizler Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak sürdürülmüştür. Mikroorganizmaların bir gecelik kültürlerinin yoğunluğu steril fizyolojik tuzlu ile 0.5 MacFarland standart bulanıklığa ayarlanmıştır. Mueller Hinton Agar besiyeri yüzeyine steril eküvyon çubuğu ile 0.5 MacFarland bulanıklığa ayarlanan kültürler inoküle edilmiştir. İnokülasyonu takiben 6 mm çaplı steril blank disklere her bir yayla muzı ekstraktlarından 20 µL emdirilip steril penset yardımı ile agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Test edilen her mikroorganizma türüne spesifik pozitif kontrol kullanılmıştır. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Proteus spp* için

Tetrasiklin (30 mcg/disk); *Staphylococcus aureus* için Metisilin (5 mcg/disk); *Pseudomonas aeruginosa* için Polimiksin B (300 unite/disk) kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak kullanılmak üzere ise steril blank disklerle 20 µL metanol emdirilmiştir. Disklerin eşit aralıklarla yerleştirildiği plaklar 37°C'de 12-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresini takiben disklerin etrafında bakterilerin üremediği şeffaf zonların varlığı incelenmiştir. Tüm antimikrobiyal analizler üç tekrarlı yürütülmüştür.

2.2.5 İstatistiksel analiz

Analiz sonuçları, SPSS 22.0 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.



3.BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1 *In vitro* Aktivite Sonuçları

3.1.1 *Rheum ribes* ekstraktlarının total fenolik ve flavonoid içerikleri

Çözücülerin polaritesine bağlı olarak ekstraktlardaki verimi değiştirmekle birlikte, en yüksek ekstraksiyon verimi metanol ekstraktında %25.3 olarak belirlenmiştir. Etil asetat ve saf su kullanılarak yapılan uygulamalar sonucunda elde edilen % verim 18 ve 20'dir. En düşük ekstraksiyon verimi ise hekzanın çözücü olarak kullanıldığı deneylerde %10 olarak hesaplanmıştır. Bitkilerdeki biyoaktif bileşiklerin hidrofobik özelliklerinden dolayı metanol ve saf su gibi polarite özelliği yüksek çözücülerin kullanıldığı ekstraksiyon çalışmalarında yüksek verim sonuçları elde edilmektedir. 10-100 mg/mL konsantrasyonlardaki ekstraktların toplam fenolik madde miktarı mg GAE/g cinsinden Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. *Rheum ribes* ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri (mg GAE/g)

	Etil Asetat	Hekzan	Metanol	Saf su
10 mg/mL	0.24±0.01 ^c	0.12±0.00 ^e	0.48±0.00 ^d	0.37±0.01 ^c
25 mg/mL	0.34±0.01 ^{bc}	0.17±0.00 ^d	0.60±0.02 ^c	0.53±0.02 ^b
50 mg/mL	0.42±0.00 ^{bc}	0.25±0.01 ^c	0.64±0.03 ^c	0.62±0.01 ^{ab}
75 mg/mL	0.60±0.02 ^{ab}	0.38±0.00 ^b	0.72±0.01 ^b	0.72±0.00 ^a
100 mg/mL	0.73±0.03 ^a	0.48±0.00 ^a	0.80±0.00^a	0.73±0.01 ^a

*(Gösterilen veriler n=3'ün ortalama değerleridir. Grafikte farklı simgeler (a-e, a-d ve a-c) ile ifade edilen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0.05)).

Ekstraksiyon aşamasında kullanılan tüm çözücüler için, ekstraktların konsantrasyon oranı arttıkça toplam fenolik madde içeriklerinin de arttığı gözlenmektedir. *Rheum ribes* ekstraktlarındaki toplam fenolik madde içerikleri 0.12±0.00 ve 0.80±0.00 mg GAE/g aralığında belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları, Tukey çoklu değerlendirme testine göre karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki gözlenen fark önemli bulunmuştur. Konsantrasyona bağımlı en yüksek fenolik madde içerikleri metanolik ekstraktta gözlenmekte olup, 100 mg/mL konsantrasyondaki fenolik madde içeriği 0.80±0.00 mg GAE/g olarak hesaplanmıştır. Etil asetat ve saf su ekstraktında 100

mg/mL konsantrasyonda fenolik içerik 0.73 ± 0.03 ve 0.73 ± 0.01 mg GAE/g'dir. Ancak hekzan ekstraktında bu içeriğin 0.48 ± 0.00 mg GAE/g'ye kadar düştüğü gözlenmektedir. En düşük fenolik madde içeriği hekzan ekstraktlarında belirlenmiştir. En düşük fenolik madde içeriği 10 mg/mL konsantrasyonda hekzan ekstraktında hesaplanmıştır (0.12 ± 0.00 mg/GAE g). Aynı konsantrasyonda diğer çözücülerin ekstraktlarındaki fenolik içerik 0.24-0.37 mg/GAE g aralığındadır.

Bitki kısımlarındaki fenolik maddelerin ekstraksiyon başarısı ekstraksiyon metodu; kullanılan çözücünün türü ve konsantrasyonu; sıcaklık, süre ve örnek: çözücü oranı gibi koşullara bağlı olarak değişmektedir. Özellikle çözücü türü ve polaritesi antioksidan aktivite de elektron transfer basamağını etkilediği için önemli bir parametredir. Tablo 3.1'de gözlemlendiği gibi çözücülerin polaritesine bağlı olarak ekstraktlardaki fenolik madde içeriği de değişmektedir. Çalışmamızda kullanılan çözücülerin polarite indeksi sırasıyla saf su (9.0); metanol (6.6); etil asetat (4.3) ve hekzan (0.0)'dır. *Rheum ribes* ekstraktlarındaki fenolik madde içeriğinin polar çözücülerde daha yüksek olduğu gözlenmektedir.

Fenolik maddelerin alt grubu olan flavonoidler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getiren antioksidan bileşiklerdir. Bu etki oksidan bileşiklerin baskılanma etkisi olarak değerlendirilmektedir (Memişoğlu, 2005). *Rheum ribes* ekstraktlarındaki toplam flavonoid miktarı Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. *Rheum ribes* ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri (mg RE/g)

	Etil Asetat	Hekzan	Metanol	Saf su
10 mg/mL	0.059 ± 0.00^c	0.058 ± 0.00^c	0.061 ± 0.00^c	0.062 ± 0.00^d
25 mg/mL	0.126 ± 0.00^d	0.061 ± 0.00^{bc}	0.108 ± 0.01^d	0.075 ± 0.00^d
50 mg/mL	0.183 ± 0.01^c	0.069 ± 0.01^b	0.141 ± 0.00^c	0.102 ± 0.00^c
75 mg/mL	0.219 ± 0.01^b	0.080 ± 0.00^a	0.209 ± 0.00^b	0.129 ± 0.00^b
100 mg/mL	0.254 ± 0.00^a	0.084 ± 0.00^a	0.321 ± 0.00^a	0.174 ± 0.02^a

*(Gösterilen veriler n=3'ün ortalama değerleridir. Grafikte farklı simgeler (a-e, a-d ve a-c) ile ifade edilen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$)).

Rheum ribes ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri 0.058 ± 0.00 ve 0.321 ± 0.00 mg RE/g aralığında hesaplanmıştır. Toplam flavonoid madde miktarları, Tukey çoklu değerlendirme testine göre karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki gözlenen fark önemli bulunmuştur. Toplam^{ab} fenolik madde içeriği sonuçlarımıza benzer şekilde en yüksek flavonoid madde içeriği metanolik ekstraktta belirlenmiştir. Konsantrasyona artışına bağlı olarak flavonoid içerikte artış saptanmıştır. Ancak hekzan ile hazırlanan ekstraktlardaki belli bir miktar flavonoid içeriğin konsantrasyon artışı ile doğru orantılı arttığı gözlenmektedir. 0.321 ± 0.00 mg RE/g ile en yüksek flavonoid içerik metanol ekstraktının 100 mg/mL konsantrasyonunda saptanmış olup aynı konsantrasyondaki etil asetat ve saf su ekstraktlarında 0.254 ± 0.00 ve 0.174 ± 0.02 mg RE/g'dır. En düşük toplam flavonoid içerik 0.084 ± 0.00 mg RE/g ile hekzan ekstraktlarında hesaplanmıştır.

Rheum ribes'in kök ve gövde kısımlarının metanol ve kloroform ekstraktlarının incelendiği çalışmada, en yüksek fenolik içerik gövde metanol ekstraktında 35.71 ± 1.23 µg PEs/mg olarak belirlenmiş fakat en yüksek total flavonoid içerik kök kloroform ekstraktında 145.59 ± 0.22 µg QEs/mg saptanmıştır. Çalışmamıza benzer nitelikte fenolik içeriğinin en yüksek olduğu gövde metanol ekstraktında yüksek DPPH % inhibisyonu kaydedilmiştir (Öztürk ve ark. 2007). Bingölden toplanan yenilebilir yabani sebzelerden *Rheum ribes* L.'nin aseton; saf su; asetik asit (70:29.5:0.5 v/v/v) ekstraktının 23.32 ± 3.05 mg GAE/100gm total fenolik içeriğinde, DPPH inhibisyonu IC50 dozunu 32.66 ± 1.45 olarak tespit etmişlerdir (Samancıoğlu ve ark. 2016).

Farklı bir çalışmada, etil asetat kullanılarak ekstrakte edilmiş *Rheum ribes* L. kök ekstraktlarında total fenolik içerik 207.22 ± 6.96 mg GAE/g ve flavonoid içerik $72.50.49 \pm 2.03$ mg CAE/g olarak tespit edilmiş olup çalışmamıza benzer nitelikte fenolik ve flavonoid içerikleri yüksek olan kök örneklerin IC50 dozu (10.92 ± 0.21) düşük bulunmuştur. *Rheum ribes* L.'nin kök sulu ve etanol ekstraktlarının incelendiği çalışmada, yüksek fenolik ve flavonoid içeriği gözlenen etanol ekstraktının (4.73 µg/mL) IC50 dozu su ekstraktına (25.62 µg/mL) göre düşük bulunmuştur (Abdulla ve ark. 2015).

Meral (2013), farklı kurutma koşulları kullanarak esktrakte ettiği Van yöresinden elde edilen *Rheum ribes* L. için en yüksek total fenolik içerik güneşte kurutulan örnekte 236 ± 4.9 mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak

fenolik madde miktarı yüksek bu örnekte en yüksek DPPH inhibisyonu (%52-91) kaydedilmiştir. Mohammed ve ark. (2018), *Rheum ribes*'in kök ve gövde etil asetat, hekzan ve metanol ekstraktlarında en yüksek fenolik içerik etil asetat ekstraktında 88.28 ± 0.40 µg GAE/mg olarak belirlenirken en yüksek flavonoid içerik 278.19 ± 5.76 µg quercetin E/mg ile metanol ekstraktında rapor edilmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde ne düşük total fenolik (11.72 ± 0.10 µg GAE/mg) ve flavonoid (10.23 ± 1.58 µg quercetin E/mg) içerik hekzan ekstraktında tespit edilmiştir.

3.1.2. Ekstraktların DPPH radikal süpürücü aktivitesi ve IC 50 dozu

1958'de Blois tarafından geliştirilen bu metot, kararlı serbest radikal DPPH'nin nitrojen atomunun bir elektronun antioksidan bileşikten bir proton alarak indirgenmesi prensibine dayanmaktadır. 517 nm'de okunan absorbansın düşük olması yüksek serbest radikal giderme aktivitesine işaret etmektedir. Belli bir miktar antioksidan derişimine kadar karışımdaki DPPH azalması ile absorbans azalması doğru orantılıdır. DPPH radikalinin %50'sinin inhibisyonu için gerekli antioksidan bileşik miktarı IC50 dozu olarak ifade edilmektedir. IC50 değerleri ne kadar düşüğe antioksidan bileşiğin DPPH radikal süpürücü aktivitesi yüksektir. Farklı konsantrasyonlardaki *Rheum ribes* ekstraktlarının ve standart antioksidanın (BHT) % inhibisyon cinsinden DPPH radikal süpürme aktiviteleri ve IC50 dozu Tablo 3.3 ve 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.3. *Rheum ribes* ekstraktlarının ve BHT'nin DPPH süpürme aktivitesi (%)

Ekstraktlar	10 mg/mL	25 mg/mL	50 mg/mL	75 mg/mL	100 mg/mL
Etil Asetat	45.03 ± 0.00^e	58.29 ± 0.00^d	68.89 ± 0.01^c	82.59 ± 0.01^b	86.86 ± 0.00^a
Hekzan	20.03 ± 0.51^e	33.10 ± 0.06^d	49.23 ± 0.64^c	61.61 ± 0.13^b	77.61 ± 0.57^a
Metanol	46.00 ± 0.06^e	60.20 ± 0.13^d	70.00 ± 0.32^c	86.00 ± 0.01^b	91.10 ± 0.51^a
Saf su	30.80 ± 0.1^d	39.03 ± 0.51^{cd}	53.38 ± 0.06^{bc}	69.13 ± 0.38^{ab}	84.82 ± 0.13^a
Standart	200 µg/mL	400 µg/mL	600 µg/mL	800 µg/mL	1000 µg/mL
BHT	26.29 ± 0.18^e	42.53 ± 1.31^d	51.99 ± 0.54^c	63.53 ± 1.61^b	70.67 ± 0.30^a

*(Gösterilen veriler n=3'ün ortalama değerleridir. Grafikte farklı simgeler (a-e ve a-d) ile ifade edilen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$)).

DPPH süpürme aktivitesi analizleri, Tukey çoklu değerlendirme testine göre karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki gözlenen fark önemli bulunmuştur. Antioksidan aktivite analizlerinde bitkisel yapılarındaki fenolik ve flavonoid miktarları arasındaki ilişki önemlidir. Fenolik grupların OH iyonlarınca zengin olması polar özellik kazanmalarına sebep olmaktadır. Özellikle DPPH gibi polar ortamlarda gerçekleştirilen deneysel sistemlerde bu bileşiklerce zengin ekstraktların aktive olduğu gözlenmektedir.

Tablo 3.4. Çalışmamızdaki bitki ekstraktlarının ve standartların DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarından elde edilen IC50 değerleri (mg/mL)

	IC50 dozu (mg/mL)
Etil Asetat	12.47
Hekzan	54.71
Metanol	10.50
Saf su	42.97
BHT (µg/mL)	0.58

Rheum ribes ekstraktlarındaki toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin yüksek olduğu metanolik ekstraktta en yüksek DPPH giderme aktivitesi 100 mg/mL konsantrasyonda %91.10±0.51 olarak belirlenmiştir. Ekstraktın IC50 dozu 10.50 mg/mL'dir. % inhibisyonun en yüksek olduğu metanolik ekstraktın, DPPH'ın %50'sini inhibe eden dozu düşüktür. *Rheum ribes*'in etil asetat, hekzan, metanol ve saf su ekstraktlarının 100 mg/mL'lik konsantrasyonlarında sırasıyla %86.86±0.00, 77.61±0.57, 91.10±0.51 ve 84.82±0.13 radikal giderme aktivitesi gözlenmiştir. Standart olarak BHT kullanılan test sisteminde 1000 µg/mL konsantrasyonda %70.67±0.30 inhibisyon gözlenmiş ve IC50 dozu 0.58 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

DPPH inhibisyonunun çözücülerin polaritesine ve konsantrasyona bağlı olarak farklılık gösterdiği gözlenmektedir. En düşük % inhibisyon hekzan ekstraktlarında 10 mg/mL konsantrasyonda %20.03±0.51'dir. Ekstraktın düşük % inhibisyonuna bağlı olarak IC50 dozu diğer ekstraktlara göre oldukça yüksektir (54.71 mg/mL). Ekstraktların konsantrasyonu arttıkça % inhibisyon da artmaktadır. 10-100 mg/mL

konsantrasyonlardaki *Rheum ribes* ekstraktlarının DPPH inhibisyonu 20.03 ± 0.51 ve 91.10 ± 0.51 aralığındadır. BHT standardı ile karşılaştırıldığında, ekstraktların en yüksek DPPH inhibisyonu (91.10 ± 0.51) için hesaplanan BHT konsantrasyonu 1.33 mg/mL'dir. Standartta göre ekstraktların etkisinin oldukça düşük olduğu söylenebilmektedir.

Öztürk ve ark. (2007), *Rheum ribes*'in kök ve gövde kısımlarının metanol ve kloroform ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde en yüksek antioksidan aktiviteyi metanol gövde (87.07 ± 0.54) ve kök (60.60 ± 0.86) ekstraktlarında kaydetmişlerdir.

Yıldırım ve ark. (2015) *Rheum ribes*'in tohum ve meyvesinin metanolik ekstraktlarının antioksidan aktivite analizlerinde çalışmamızı destekler nitelikte konsantrasyon arttıkça ekstraktların % radikal süpürme aktivitesinin de arttığı tespit edilmiştir. En yüksek radikal giderme aktivitesi 50 mg/mL meyve ekstraktında 78 olarak belirlenmiş olup, çalışmamızda kaydedilen 75 ve 100 mg/mL konsantrasyonda gövde metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesinden oldukça düşüktür (86.00 ± 0.01 ve 91.10 ± 0.51). *Rheum ribes*'in sürgün ve kök etil asetat kuru toz ekstraktlarının DPPH radikallerini maksimum giderme aktivitesi sürgünler için 80.34 ± 0.98 ; kök ekstraktları için ise 96.67 ± 0.98 iken, IC₅₀ değeri 10.92 µg/mL olarak kaydedilmiştir. Çalışmamızda etil asetat ekstraktı için en yüksek % inhibisyon 86.86 ± 0.00 olup IC₅₀ dozu 12.47 mg/mL'dir. Mohammed ve ark. (2018), etil asetat, hekzan ve metanol kök ve sap ekstraktlarının % DPPH inhibisyonu çalışmıştır. Çalışmamıza benzer olarak en düşük % inhibisyona hekzan ekstraktlarında (11.72 ± 0.10 ve 20.65 ± 0.13) rastlanmıştır. Hekzan ekstraktları için 7.483 ve 19.948 mg/mL IC₅₀ dozu belirlenirken çalışmamızda ise IC₅₀ dozu 54.71 'dir. Nemat Shahi ve ark. (2017) *Rheum ribes* metanolik ekstraktının en yüksek DPPH inhibisyonu 300 mg/L konsantrasyonda ortalama 90 olarak tespit edilmiştir. Bu inhibisyon çalışmamızda belirlenen 100 mg/mL konsantrasyonda elde edilen 91.10 ± 0.51 'den oldukça düşüktür.

Ibrahim ve ark. (2016), Rhubarb (*Rheum ribes*) köklerinin etanolik ve saf su ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini inceledikleri çalışmada etanolik ekstraktın yüksek fenolik (1115.04 ± 5.14 mg/100g d.w) ve flavonoid (687 ± 4.58 mg/100g d.w)

içerikler ile ilişkili doza bağımlı en yüksek % DPPH inhibisyonu etanolik ekstraktta rastlanmıştır (%148.8±6.84).

%5.8 ve 4.2 verimle ekstrakte edilen etil asetat ve hekzan ekstraktları için etil asetatta IC50 dozu 34.336±0.04167 µg/mL iken, hekzan için bu doz belirlenememiştir (Fazeli, 2016). Shafaghat ve ark. (2014), *Rheum ribes* L. çiçek hekzan ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderme aktivitesi için IC50 dozunu 0.325 mg/mL olarak belirlemiştir. Çalışmamızda ise hekzan ekstraktının IC50 dozu 54.71 mg/mL'dir. Çalışmamızda elde edilen veriler gibi, 300 µg *Rheum ribes* içeren ekstraktların DPPH inhibisyon analizinde en düşük absorbans değeri polar çözücülerde belirlenmiştir (Oktay ve ark. 2007).

3.1.3. Ekstraktların demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi tayini

Rheum ribes ekstraktlarının çözelti içindeki Fe⁺² iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile yarışma prensibine dayanan metal iyonu şelatlama aktivitesi sonuçları Tablo 3.5'te verilmiştir. Standart olarak 50-250 µg/mL konsantrasyonda iyi bir şelatör ajan olan EDTA kullanılmıştır. Test sisteminde absorbans azalması ekstraktaki anitoksidan maddenin ferrozin bağlanmadan önce metal iyonlarını şelatladığını göstermektedir. Ekstraktların Fe⁺² iyonlarını şelatlama analizleri, Tukey çoklu değerlendirme testine göre karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki gözlenen fark önemli bulunmuştur.

Tablo 3.5. *Rheum ribes* ekstraktlarının Fe Şelatlama aktivitesi (%)

Ekstraktlar	10 mg/mL	25 mg/mL	50 mg/mL	75 mg/mL	100 mg/mL
Etil Asetat	9.17±0.28 ^e	16.39±0.83 ^d	17.50±0.28 ^c	24.44±1.11 ^b	31.67±1.11 ^a
Hekzan	4.44±0.56 ^e	11.90±1.40 ^d	16.40±0.80 ^c	22.50±1.90 ^b	27.80±0.60 ^a
Metanol	25.60±1.10 ^c	29.70±1.40 ^c	36.40±1.40 ^b	40.30±1.40 ^b	49.70±3.10^a
Saf su	9.20±0.80 ^e	19.44±0.56 ^d	25.00±0.56 ^c	30.56±2.22 ^b	40.83±1.94 ^a
Standart	50 µg/mL	100 µg/mL	150 µg/mL	200 µg/mL	250 µg/mL
EDTA	80.16±1.34 ^b	93.59±0.83 ^a	94.42±0.00 ^a	94.83±0.00 ^a	94.73±0.10 ^a

*(Gösterilen veriler n=3'ün ortalama değerleridir. Grafikte farklı simgeler (a-e, a-b ve a-c) ile ifade edilen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0.05)).

Rheum ribes ekstraktlarının Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesi $\%4.44\pm0.56$ ve 49.70 ± 3.10 aralığındadır. Ekstraktlar karşılaştırıldığında, 100 mg/mL metanolik ekstraktın $\%49.70\pm3.10$ ile diğer ekstraktların içinde en yüksek Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Tablo 3.5'te gözlendiği gibi ekstraktların konsantrasyonu arttıkça artan şelatlama aktivitesi belirlenmiştir. DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarımıza benzer şekilde en düşük metal şelatlama aktivitesi hekzan ekstraktlarında belirlenmiştir. Test edilen en yüksek konsantrasyonda hekzan ekstraktlarının Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesi $\%27.80\pm0.60$ 'dır. 100 mg/mL konsantrasyondaki etil asetat, hekzan, metanol ve saf su ekstraktlarının Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesi sırasıyla $\%31.67\pm1.11$, 27.80 ± 0.60 , 49.70 ± 3.10 ve 40.83 ± 1.94 olarak tespit edilmiştir.

50-250 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda EDTA kullanılan test sisteminde metal şelatlama aktivitesi $\%80.16\pm1.34$ ve 94.73 ± 0.10 olarak hesaplanmıştır. Test edilen *Rheum ribes* ekstraktlarının Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesi EDTA ile karşılaştırıldığında oldukça düşüktür.

Tanrikurt ve ark. (2013), Diyarbakır yerel marketlerden temin edilen *Rheum ribes* gövde kısımlarından sulu ekstraktlar hazırlanmış ve ortalama olarak EDTA'dan 90 kat daha düşük metal şelatlama aktivitesi belirlenmiştir. 150 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda $\%14.55\pm4.20$ 'ye artmıştır. Öztürk ve ark. (2007), *Rheum ribes*'in kök ve gövde kısımlarının metanol ve kloroform ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesini inceledikleri çalışmada, sonuçlarımıza benzer şekilde ekstraktların konsantrasyonu arttıkça şelatlama aktivitesinin de arttığı saptanmıştır. En yüksek metal şelatlama aktivitesi metanol gövde ekstraktında $\%93.71\pm0.80$ olarak tespit edilmiştir.

3.1.4.İndirgeme kapasitesi tayini

Antioksidan bir bileşiğin Fe^{+3} iyonlarının indirgemesi elektron verebilme yeteneğinin göstergesidir. *Rheum ribes* ekstraktlarının reaksiyondaki Fe^{+3} 'ü indirgeme yeteneği Tablo 3.6'da verilmiştir. 20-400 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda BHA, BHT, α - tokoferol ve askorbik asit standartlarının indirgeme kapasiteleri ekstraktlar ile karşılaştırılmıştır. Ekstraktların yüksek absorban değerleri yüksek indirgeme kapasitesini ifade etmektedir. Ekstraktların indirgeme kapasitesi analizleri, Tukey çoklu değerlendirme

testine göre karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki gözlenen fark önemli bulunmuştur.

Tablo 3.6. *Rheum ribes* ekstraktlarının indirgeme kapasitesi tayini (abs.)

Ekstraktlar	10 mg/mL	25 mg/mL	50 mg/mL	75 mg/mL	100 mg/mL
Etil Asetat	0.07±0.01 ^d	0.09±0.00 ^c	0.11±0.00 ^b	0.11±0.00 ^b	0.13±0.01 ^a
Hekzan	0.07±0.00 ^e	0.09±0.00 ^d	0.11±0.00 ^c	0.10±0.00 ^b	0.12±0.00 ^a
Metanol	0.12±0.00 ^e	0.13±0.00 ^d	0.15±0.00 ^c	0.17±0.00 ^b	0.19±0.00^a
Saf su	0.09±0.00 ^e	0.11±0.00 ^d	0.12±0.00 ^c	0.13±0.01 ^b	0.14±0.00 ^a
Standart	20 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
BHT	0.07±0.00 ^d	0.09±0.00 ^d	0.14±0.00 ^c	0.33±0.02 ^b	0.45±0.01 ^a
BHA	0.22±0.01 ^c	0.24±0.01 ^c	0.25±0.02 ^c	0.32±0.03 ^b	0.51±0.01 ^a
α-tokoferol	0.13±0.00 ^d	0.15±0.00 ^d	0.16±0.01 ^c	0.20±0.01 ^b	0.29±0.01 ^a
Askorbik Asit	0.12±0.00 ^e	0.13±0.00 ^d	0.17±0.00 ^c	0.25±0.00 ^b	0.37±0.00 ^a

*(Gösterilen veriler n=3'ün ortalama değerleridir. Grafikte farklı simgeler (a-e, a-d ve a-c) ile ifade edilen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0.05)).

Rheum ribes ekstraktlarının Fe⁺³'ü indirgeme kapasitelerinin standartlara kıyasla oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların indirgeme yetenekleri 0.07±0.00 ve 0.19±0.00 aralığındadır. En yüksek indirgeme aktivitesinin gözlemlendiği 100 mg/mL konsantrasyonda metanol ekstraktının aktivitesi 0.19±0.00'dır. Bu absorbans değeri standart olarak kullanılan C vitamininin 200 ve 400 µg/mL (0.25±0.00 ve 0.37±0.00); BHT'nin 200-400 µg/mL (0.33±0.02 ve 0.45±0.01); α-tokoferolün 200 ve 400 µg/mL (0.20±0.01 ve 0.29±0.01); BHA'nın 20 µg/mL ve diğer konsantrasyonlardaki indirgeyici güçten oldukça düşüktür.

Hekzan ekstraktlarının 100 mg/mL konsantrasyonlarındaki absorbans değeri (0.12±0.00) en düşük indirgeme kapasitesine işaret etmekte olup, 20 µg/mL konsantrasyondaki C vitamininin kapasitesine eşit; BHT'nin 20 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarındakinden (0.07±0.00 ve 0.09±0.00) yüksektir.

Oktay ve ark. (2007), Erzurum ilinden temin edilen ışının (*Rheum ribes*) farklı kısımlarının eter, etanol ve saf su ekstraktlarında sadece etanol ekstresinde indirgeme kapasitesini belirlemişlerdir. Fakat bu antioksidan aktivite istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Tanrı Kurt ve ark. (2013), Diyarbakır'dan temin edilen *Rheum ribes* gövde kısımlarından sulu ekstraktının doza bağımlı olarak artan indirgeme kapasitesi 250 µg/mL konsantrasyonda 0.46 ± 0.074 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızı destekler nitelikte yüksek indirgeme kapasitesi 250 µg/mL konsantrasyonda yüksek fenolik ve flavonoid içerikle ilişkilendirilmiştir. Öztürk ve ark. (2007), kloroform kök ve gövde *Rheum ribes* ekstraktlarının metanol ekstraktlarından daha yüksek indirgeme kapasitesi gösterdiğini belirlemişlerdir.

3.1.5. Süperoksit radikali giderme aktivitesi

Çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının süperoksit radikali giderme aktivitesi *in vitro* koşullarda PMS/NADH/O₂ sisteminde süperoksit radikali oluşturularak çalışılmış ve ekstraktların bu radikali etkisizleştirebilme kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo 3.7). Ekstraktların süperoksit radikali giderme aktivite sonuçları, Tukey çoklu değerlendirme testine göre karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki gözlenen fark önemli bulunmuştur.

Tablo 3.7. *Rheum ribes* ekstraktlarının süperoksit radikali giderme aktivitesi (%)

Ekstraktlar	10 mg/mL	25 mg/mL	50 mg/mL	75 mg/mL	100 mg/mL
Etil Asetat	14.40±0.80 ^c	22.00±2.80 ^b	25.60±1.60 ^{bc}	28.00±2.40 ^{ab}	32.00±2.40 ^a
Hekzan	12.00±2.40 ^d	18.40±0.80 ^c	24.80±0.80 ^b	28.40±0.40 ^{ab}	32.00±1.60 ^a
Metanol	18.80±0.40 ^d	27.20±3.20 ^c	31.60±4.40 ^{ab}	36.40±2.80 ^a	39.20±2.40^a
Saf su	12.80±0.80 ^d	24.40±0.40 ^c	32.00±1.60 ^b	40.00±0.80 ^a	40.00±2.40 ^a
Standart	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	300 µg/mL	500 µg/mL
BHA	11.50±0.26 ^e	17.10±0.77 ^d	22.20±0.77 ^c	26.30±0.26 ^b	28.80±0.77 ^a

*(Gösterilen veriler n=3'ün ortalama değerleridir. Grafikte farklı simgeler (a-e, a-d ve a-c) ile ifade edilen değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0.05)).

50-500 µg/mL konsantrasyonda BHA'nin süperoksit anyonu giderme aktivitesi %11.50±0.26 ve 28.80±0.77 aralığındadır. Ekstraktların süperoksit anyonu giderme aktiviteleri µg/mL konsantrasyonda test edilen BHA standartından düşüktür.

Rheum ribes'in 100 mg/mL konsantrasyonlardaki etil asetat ekstraktlarının; %32.00±2.40, hekzan ekstraktlarının %32.00±1.60; metanol ekstraktlarının 39.20±2.40; saf su ekstraktının ise %40.00±2.40 değerlerinde süperoksit radikali oluşmasını inhibe ettikleri gözlenmektedir. Polarite indeksi en düşük çözücü hekzan kullanılarak hazırlanmış ekstraktların süperoksit anyonu giderme aktivitesi sonuçları, diğer antioksidan aktivite testlerine kıyasla diğer çözücülere yakın % inhibisyon değerleri elde edilmiştir. *Rheum ribes* ekstraktlarının süperoksit radikali giderme aktivitesinin etil asetat>hekzan>metanol>saf su>BHA sırasında arttığı belirlenmiştir.

Ekstraktların konsantrasyon artışı ile süperoksit anyonu giderme aktivitesindeki artışı test edilen tüm konsantrasyonlarda doğru orantılı değildir. Bu sebeple diğer antioksidan aktivite analizlerine karşın, ekstraktların süperoksit radikali oluşum inhibisyon değerlerinin konsantrasyona bağlı olmadıkları saptanmıştır.

Tanrıkkurt ve ark. (2013), *Rheum ribes*'in sulu ekstraktının farklı konsantrasyonlarda süperoksit anyonu giderme aktivitesi test edilmiş ve 500 µg/mL konsantrasyonda %31.21±1.00 olarak kaydedilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve inhibisyon kinonların oksidasyonu üzerindeki redoks potansiyeli ve kinonların oksidasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Öztürk ve ark (2007), *Rheum ribes*'in kök metanol (%61.65±1.21) ve klorofom (%57.39±3.33) ekstraktlarının gövde ekstraktlarından daha yüksek süperoksit anyonu giderme aktivitesi gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde konsantrasyon arttıkça absorbans değerine bağlı olarak indirgeme kapasitesinin de arttığı kaydedilmiştir. Oktay ve ark. (2007), *Rheum ribes*'in etanol, eter ve su ekstraktlarının en yüksek süperoksit giderme aktiviteleri kök eter (87.01±0.21) ve etanol (86.69±0.10) ekstraktında kaydedilmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak polaritesi düşük çözücüde yüksek aktivite belirlenmiştir.

3.2. Ekstraktların Antibakteriyel Aktivitesi

Rheum ribes'in etil asetat, hekzan, metanol ve saf su ekstraktlarının klinik izolatlarla (*E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus* spp. ve *P. aeruginosa*) karşı

antibakteriyel aktiviteleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Tablo 3.8’de ekstraktların ve standart antibiyotiklerin izolatlar üzerindeki antibakteriyel aktivitesi verilmiştir.

Tablo 3.8. *Rheum ribes* ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi (mm)

	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>Proteus spp</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Etil Asetat	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Hekzan	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Metanol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Saf su	9.00±1.00	9.00±1.00	10.50±1.50	12.00±2.00	14.50±1.50
Metanol (negatif kontrol)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Pozitif Kontrol					
Tetrasiklin	24.00±0.05	19.00±0.01	11.00±0.04		
Metisilin					18.00±0.01
Polimiksin B				17.00±0.00	

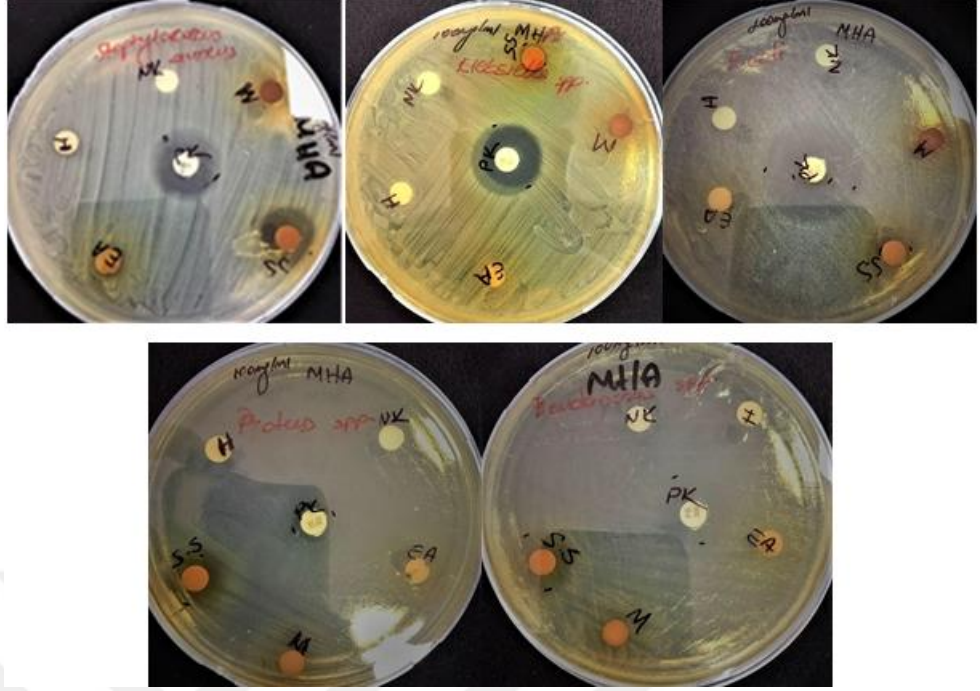
Negatif kontrol olarak konsantre metanol kullanılmış ve metanolün izolatlar üzerinde antibakteriyel aktivitesine rastlanmamıştır. 100 mg/mL konsantrasyonda *Rheum ribes*’in etil asetat, hekzan ve metanol ekstraktlarının test bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivite gösteremediği belirlenmiştir (Şekil 3.1). Bu sonuç, *in vitro* antioksidan aktivite testlerinde ulaşılan bulgular ile uyumlu olmayıp, % inhibisyonun en yüksek olduğu metanol ekstraktı antibakteriyel aktivite gösterememiştir. Metanol ekstraktın yüksek antioksidan aktivitesi ve antibakteriyel aktivitesi arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

Rheum ribes’ in saf su ekstraktının 100 mg/mL konsantrasyonda test bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Saf su ekstraktının bakterilere karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite 9.00±1.00 ve 14.50±1.50 mm zon çapı aralığındadır.

En yüksek inhibitör etki 14.50 ± 1.50 mm zon çapı ile *S. aureus*'a karşı gözlenmiştir (Şekil 3.1).

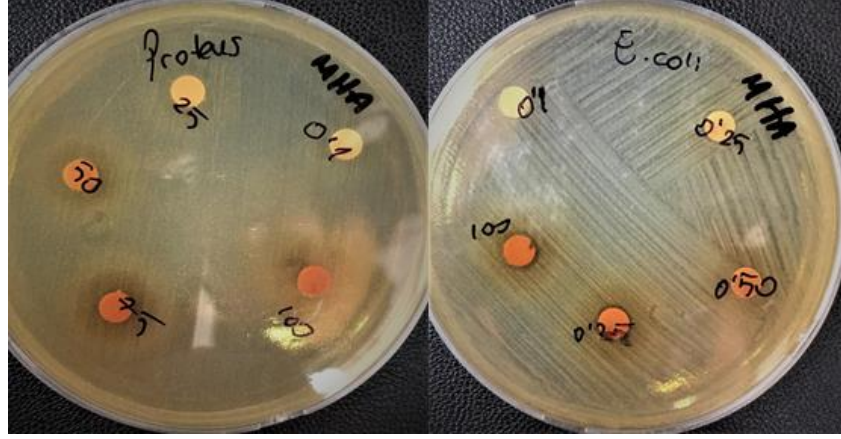
Bu inhibisyon polarite indeksi yüksek saf su gibi çözücülerle hazırlanmış ekstraktların içerdiği polifenol miktarının yüksekliği ile ilişkilendirilebilir. Gr negatif test bakterilerine karşı en yüksek inhibitör aktivite 12.00 ± 2.00 mm zon çapı ile *P. aeruginosa*'ya karşı gözlenmiştir. Ancak bu antibakteriyel aktivite, *P. aeruginosa*'ya karşı standart Polimiksin B antibiyotiği için belirlenen 17.00 ± 0.00 mm inhibitör etkiden daha zayıftır (Şekil 3.1).

E. coli ve *K. pneumonia*'ya karşı saf su ekstraktının gösterdiği inhibitör etki aynı olup (9.00 ± 1.00 mm), standart tetrasiklin antibiyotiğinin etkisinden oldukça düşüktür (24.00 ± 0.05 ve 19.00 ± 0.01 mm) (Şekil 3.1). *Proteus* spp. izolatına karşı gözlenen inhibitör etki (10.50 ± 1.50 mm), tetrasiklin standart antibiyotiği için belirlenen etkiye oldukça yakındır (11.00 ± 0.04 mm) (Şekil 3.1). Her ne kadar saf su ekstraktı klinik izolata karşın yüksek inhibitör etki gösterse de, ekstraktın klinik uygulamalarda kullanılabilirliği izolata karşı antibakteriyel aktivite gösteren farklı standart antibiyotikler ile karşılaştırılarak test edilmelidir. Gr pozitif test bakterisi *S. aureus*'a karşı saf su ekstresinin belirlenen inhibisyon etkisi 14.50 ± 1.50 mm'dir. *S. aureus*'a karşı gözlenen antibakteriyel aktivite, metisilin antibiyotiği için belirlenen inhibitör etkiden (18.00 ± 0.01 mm) düşüktür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Ekstraktların ve standart antibiyotiklerin test bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi

Klinik test izolatlarına karşı antibakteriyel aktivite gösteren saf su ekstraktının minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. *Rheum ribes* saf su ekstraktı *K. pneumonia* ve *Proteus spp*'ye karşı sadece 100 mg/mL konsantrasyonda antibakteriyel aktivite gösterebilmiştir. *P. aeruginosa* ve *E.coli* izolatlarına karşı saf su ekstresinin 75 mg/mL konsantrasyonda da etkili olduğu gözlenmiş olup, bu konsantrasyondaki aktivite her iki izolat için 8.50 ± 0.50 mm olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.2)



Şekil 3.2. *Escherichia coli* ve *Proteus spp.*'ye karşı saf su ekstraktının etkili olduğu MİK değerleri

Saf su ekstraktının en yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği *S. aureus*'a karşı 25, 50 ve 75 mg/mL test konsantrasyonlarının da inhibitör etkisi saptanmıştır. Konsantrasyona bağlı olarak inhibitör aktivitenin artış gösterdiği belirlenmiştir. 25, 50 ve 75 mg/mL konsantrasyonları için belirlenen inhibitör aktivite sırasıyla 8.60 ± 0.40 , 10.00 ± 1.00 ve 11.50 ± 0.50 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 3.3). Bu sonuçlara göre, diğer test izolatlarına kıyasla saf su ekstraktının 25 mg/mL düşük konsantrasyonu bile *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterebilmiştir. MİK analiz sonuçları değerlendirildiğinde, metotta belirtilen ekstraksiyon yönetimimiz ile edilen *Rheum ribes* saf su ekstresinin en etkili olduğu izolat *S. aureus*'dur.



Şekil 3.3. *Rheum ribes* saf su ekstraktının *Staphylococcus aureus*'a etkili olduğu MİK değerleri

Sonuçlarımıza benzer şekilde literatürdeki çalışmalarda *Rheum ribes* bitkisinin farklı kısımlarının antibakteriyel aktivitesi gözlenmiş olup, bu inhibitör etki çözücü, test

edilen mikroorganizma ve ekstraksiyon metotlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Kosikowska ve ark. (2010) *Rheum* spp.'nin etanol ekstraktının çalışmamızı destekler nitelikte Gr pozitif bakteri *Staphylococcus* spp.'ye karşı Gr negatif bakterilerden (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis*) daha yüksek inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlarımıza benzer şekilde *R. ribes*'in etanol ve sulu ekstraktları *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *P. mirabilis* karşı geniş bir spektrumda antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir (Abdulla ve ark. 2015). Sonuçlarımızda farklı olarak, Obaid ve ark. (2016) *R. ribes* metanolik ekstraktın 9.76-5000 µg/mL konsantrasyonlarda *E. coli* üzerinde antibakteriyel aktivitesine işaret etmektedir. Benzer şekilde, *R. ribes* kök, sap ve tohum metanolik ekstraktın test bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi bildirilmiştir (Alan ve ark. 2012).

Erecevit ve Kırbağ (2017) *R. ribes* yağ asiti ekstraktlarının *S. aureus* ve *K. pneumoniae*'ya karşı inhibitör etki gösteremediğini belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada ise *R. ribes* kök etanol ve su ekstraktlarının *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktiviteye rastlanmamıştır (Aladdin ve ark. 2007). Bazzaz ve ark. (2005) *R. ribes* 'in kök, yaprak ve sap metanolik ekstraktlarının klinik izolatlar *P. aeruginosa* ve *Proteus* spp.'ye karşı gözlediği antibakteriyel aktivite (%0-76) sonuçlarımızı destekler niteliktedir. *R. ribes*'in 25-75 mg/mL konsantrasyonda kök etanolik ve saf su ekstraktlarının *E. coli*, *S. aureus*, *P. mirabilis* ve *P. aeruginosa*'ya karşı güçlü antibakteriyel aktivite gözlenmiş olup (Abdulla ve ark. 2015), bu sonuçlar su ekstraktına ilişkin sonuçlarımız ile uyumludur

4.SONUÇ VE ÖNERİLER

Aktarlardan temin edilen hazır kurutulmuş *Rheum ribes* gövde kısımlarının konsantre etil asetat, hekzan, metanol ve saf su ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktların *in vitro* antioksidan ve antibakteriyel aktivite analizleri sürdürülmüştür. 10-100 mg/mL konsantrasyonda *Rheum ribes* ekstraktlarının test edildiği çalışmamızda, total fenolik ve flavonoid içeriklerinin ve antioksidan aktivitenin bitki konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

Çözücülerin polaritesine bağlı olarak ekstraksiyon verimi değişmekle birlikte en yüksek ekstraksiyon verimi metanol ekstraktında (%25.3) belirlenmiş olup; sırasıyla etil asetat (%18), hekzan (%10) ve saf su (%20) olarak hesaplanmıştır.

% verim sonuçlarımızla paralel olarak en yüksek total fenolik ve flavonoid içerik 100 mg/mL konsantrasyondaki metanolik ekstraktında 0.80 ± 0.00 mg GAE/g ve 0.321 ± 0.00 mg RE/g'dır. Total fenolik ve flavonoid içeriğin yüksek olduğu *Rheum ribes* metanol gövde ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi 91.10 ± 0.51 olarak kaydedilmiş olup en düşük IC50 dozu da metanolik ekstraktta 10.50 mg/mL'dir.

Bitki ekstraktlarında pekçok farklı karakterde antioksidan madde bulunmaktadır. Ekstrakta bulunan bu antioksidan maddelerin karakteristik farklılığı test edilen radikallere karşı farklı reaksiyon mekanizmasına sahip olmasına sebep olmaktadır. Her bir ekstraktın kullanılan çözücüye bağlı olarak değişen antioksidan madde ve oksidan radikal arasındaki reaksiyon tam olarak açıklanamadığından dolayı, farklı metotlar ile antioksidan aktivitenin test edilmesi reaksiyon mekanizmasının açıklanmasında önemli olduğu görülmektedir. Bu sebeple çalışmamızda farklı antioksidan aktivite analizleri sürdürülmüş olup, *Rheum ribes* ekstraktlarının DPPH ve süpreoksit anyonu giderme aktivitesi, indirgeme gücü kapasitesi ve metal şelatlama aktivitesinin genel anlamda konsantrasyona bağlı artışı gözlenmektedir. Ancak test edilen standartların antioksidan aktiviteleri ile kıyaslandığında, *Rheum ribes* ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin oldukça düşük olduğu gözlenmektedir.

En yüksek Fe (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi 49.70 ± 3.10 ile metanol ekstraktının 100 mg/mL konsantrasyonunda kaydedilmiş olup en yüksek indirgeme kapasitesi

(0.19±0.00) ve süperoksit anyonu giderme aktivitesi de (%39.20±2.40) aynı konsantrasyondaki metanol ekstraktında belirlenmiştir.

Antioksidan aktivite verilerimizle ilişkilendirilemeyen antibakteriyel aktivite sonuçlarımız da sadece saf su ekstraktımızda test bakterilerine karşı inhibitör etki kaydedilmiştir. Söz konusu test bakterilerine (*E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus* spp. ve *P. aeruginosa*) karşı belirlenen inhibisyon standart antibiyotiklerden düşüktür. *Rheum ribes*'in 100 mg/mL konsantrasyonda saf su ekstraktının test bakterilerine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite 9.00±1.00 ve 14.50±1.50 mm zon çapı aralığındadır. En yüksek inhibitör etki 14.50±1.50 mm zon çapı ile *S. aureus*'a karşı gözlenmiştir. Minimal inhibisyon konsantrasyon analizinde de test bakterilerine karşı belirlenen MİK değerleri *K. pneumonia* ve *Proteus* spp'ye karşı 100 mg/mL; *P. aeruginosa* ve *E.coli* izolatlarına karşı 75 mg/mL; *S. aureus*'a karşı ise 25 mg/mL'dir. Test bakterileri arasında saf su ekstresinin gr pozitif ve negatif bakterilere karşı davranışının farklılık taşıdığı gözlenmiştir.

Özellikle nozokomiyal enfeksiyonlarda pnömonin en yaygını, bakteriyeminin 3. en yaygın etkenleri arasında yer alan ve yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon etkeni olan *S. aureus*'a karşı en düşük MİK değeri belirlenmiştir. Bu test bakterisine karşı metisilin standart antibiyotiği için belirlenen inhibisyon zonu 18.00±0.01 mm olup, 100 mg/mL konsantrasyonda saf su ekstresi için ise 14.50±1.50 mm'dir. *S. aureus*'a karşı inhibitör etkili *Rheum ribes* saf su ekstraktındaki molekülün tanımlanması ile tıbbi ilaçlarda hammadde olarak kullanımı mümkün olacaktır. Metisilin antibiyotiği ile sinerjik etkili yardımcı ajan olarak tıbbi alanda kullanımı da söz konusu olacaktır.

Özellikle gıda sistemlerindeki kullanılan sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidan maddeler ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitki ekstraktlarının belirlenmesine, *in vitro* ve *in vivo* gıda sistemlerindeki antioksidan etkilerinin incelenmesine yönelik çalışmamız gibi araştırmaların sonuçlarının endüstriyel uygulanabilirliği araştırılmalıdır. İleriki çalışmalarımız *Rheum ribes* gövde ekstraktlarından elde edilen antioksidan ve antibakteriyel aktiviteden sorumlu bileşiklerin tanımlanması ve fitoterapide potansiyel uygulanmasına yönelik analizler gerektirmektedir.

5.KAYNAKÇA

Abdulla K., M. Taha E., and M. Rahim S., 2015, Phenolic profile, antioxidant, and antibacterial effects of ethanol and aqueous extracts of *Rheum ribes* L. Roots, Der Pharmacia Lettre, 2015, 7 (4):26-30

Ahmad, I., Beg, A.Z. 2001. Antimicrobial and phyto chemical studies on 45. Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. J. of Ethno pharmacology, 74, 113–123.

Al-Bayati, F. A. 2009. Isolation and identification of antimicrobial compound from Mentha longifolia leaves grown wild in Iraq Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 8:20.

Akgül, A. (1993). Baharat bilimi ve teknolojisi. Gıda teknolojisi derneği yayınları. Yayın no: 15 Ankara. 451s.

Alaaddin A M, Al-Khateb EA, Jager AK (2007). Antibacterial activity of Iraqi *Rheum ribes* root. Pharm. Biol, 45(9): 688-690.

Alan Y., Erbil N., Dıgrak M., 2012, In vivo antimicrobial activity of *Rheum ribes* extracts obtained from various plant parts from Turkey, Journal of Selçuk University Natural and Applied Science Online ISSN: 2147-3781

Andiç S, Tunçtürk Y, Ocak E, Köse Ş (2009). Some chemical characteristics of edible wild rhubarb species (*Rheum ribes* L.). Res. J. Agric. Biol. Sci. 5(6): 973-977.

Aydın, S., (2004). Anadolu Diyagonalı: Ekolojik Kesinti Tarihsel-Kültürel bir farklılığa işaret edebilir mi? Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi, 17, ss.117-137

Bazzaz BS, Khajenkaramadin M, Shokoheizadeh HR (2005). In vitro antibacterial activity of *Rheum ribes* extract obtained from various plant parts against clinical isolates of gram negative pathogens. Iran J Pharm Res. 2: 87-91

Baytop, T. (1999). Therapy with Medical Plants in Turkey. *Rheum ribes* L. in T.Baytop (Ed), Vol. 1 (pp. 319-320). Istanbul (Turkey): Nobel Tıp Publication Press.

Blois, M. S., Nature 1958, 181, 1199-1200.

Bonjar, S. 2004. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plant sused in Iran. Journal of Ethno pharmacology, 94: 301–305.

Çon, A.H., Ayar, A. ve Gökalp, H.Y. (1998). Bazı baharat uçucu yağlarının çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi. Gıda. 23(3), 171-175.

Davis, P.H. 1967. Flora of Turkey and The Aegean Islands, Edinburg Univ. Press. Aegean Islands, Vol.3 (268), Edinburg Univ. Press.

Dinis, TCP, Madeira, VMC, Almeida, LM (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics 315, 161–169.

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Ankara (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler), Red Data Book Of Turkish Plants (Pteridophyta And Spermatophyta), 246s, Ankara.

Erecevit P. , Kırbağ S.,2017, Determination of some biological properties over *Kluyveromyces lactis* 1 of *Rheum ribes* L. (Rhubarb) as a traditional medicinal and food plant, Vol. 1(1), June 2017, pp. 22-31

Farnsworth, N.R., Akerev, O. Bingel, A.S., 1985. Thevulletiion of WHO., 63: 9865-9871.

Fazeli S.,2016, Identification Of Phenolic Compounds In Roots Of *Rheum Ribes* L., 28/July/2016

Gezgin, D. 2006. Bitki Mitosları, Sel Yayıncılık

İbrahim E. A., Abou Baker D. H., El-Baz F. K., 2016, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Rhubarb Roots Extract, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 39(2), July – August 2016; Article No. 17, Pages: 93-99

İsmail Güvenç & Yusuf Kaya (1996), Erzurum'da sebze olarak değerlendirilen yöresel bazı bitkiler, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 27 (3), 369-374, 1996

Kırbağ, S., Zengin, F. 2006. Elazığ Yöresinde Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüzüncü Yıl Üniv. Tarım Bil. Dergisi, 16 (2):77-80.

Koçyiğit, M., Yalova İlinde Etnobotanik Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Danışman: Özhatay, N., İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (2005).

Kosikowska U. Smolarz H.D., Anna Malm A., 2010, Antimicrobial activity and total content of polyphenols of *Rheum L.* species growing in Poland, 0.2478/s11535-010-0067-4

Memişoğulları R., 2005. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3: 30-39

Meral (2011). Fonksiyonel Öneme Sahip Doğal Bileşenlerin Hamur ve Ekmek Özellikleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. (doktora tezi, yayınlanmamış). YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

Meral R, Doğan İS (2013). Grape seed as a functional food ingredient in bread-making. Int. J. FoodSci. Nutr. 64(3): 372-379

Mohammed & Karim. J. Karim, Bushra. M. (2010), Antitumor activity of *Rheum ribes* and *Thymus syriacus* in male albino mice, J. Thi-Qar Sci. Vol. 2 (3) Spt./2010

Mohammed I. H., Kakey E. S. and Farimani M. M., 2018, In Vitro Evaluation of Antioxidant Activities for Parts of Rhubarb (*Rheum ribes*) and Syrian Mesquite (*Prosopis farcta*), International Conference on Pure and Applied Sciences (ICPAS 2018)

Nair, MKM., Vasudevan, P. and Venkitanarayanan, K. (2005). Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes* genes. Food Control, 16 (5) 395-398.

Nemat Shahi M. M., Elhami Rad A. H., Nemat Shahi N., Bakhsh Amin M. R., 2017, Study Of Antioxidant Activity And Free Radical Scavenging Power Of *Rheum Ribes* Flower Extract, Journal of Fundamental and Applied Sciences ISSN 1112-9867

Nevin Tanker, Prof. Dr. Mehmet Koyuncu ve Prof. Dr. Maksut Coşkun (1998), Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, no: 88, ikinci baskı 2004, Ankara

Nışıkımı M., Rao Na., Yagı K., (1972): "The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen." Biochemical and Biophysical Research Communications, 46(2), 849-854.

Nostro, A., Germano, M. P., 2000, D'Angelo, V., Marino, A. and Canatelli, M. A.

Obaida H. H., Tawfeeqb H.K, Zamel Khalafc Z. ,Shafeeq Z. S., 2016, Inhibitory Effect of Rhizomes Methanolic Extracts of *Rheum ribes* and Tio₂ NPs on *Escherichia coli*, International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR) ISSN 2307-4531

Oktay M., Yıldırım A, Bılalolu V. And Gülçın I., 2007, Antioxidant Activity of Different Parts of Işgin (*Rheum ribes* L.), Asian Journal of Chemistry Vol. 19, No. 4 (2007), 3047-3055

Oyaizu, M., Japan. Nutri. 1986, 44, 307-316.

Özbek H, Ceylan E, Kara M, Özgökçe F, Koyuncu M (2002). *Rheum ribes* (Uşkun) kökü ekstresinin sağlıklı ve diyabetli faralerdeki hipoglisemik etkisi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs , Eskişehir.

Öztürk M., Aydoğmus F, Duru M.E., Topçu G., 2007, Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant, Food Chemistry 103 (2007) 623–630

Umidahana Dj akbarova, Elif Coşkun, Ünzile Güven, Şeyda Karaman, M. Burcu Irmak (2009), "Rumexacetosella ve *Rheum ribes* bitki türlerinin mide kanseri hücre

hatları üzerindeki etkisi", 1. Ulusal Biyoteknoloji Öğrenci Kongresi, İstanbul/Türkiye, May. 2009

Randhir R., Lin Y.-T., Shetty K. 2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 13, 295-307.

Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M. and Özçelik, S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *E. coli* O157:H7. Food Microbiology. 19:473-480.

Sağdıç, O. (2003). Sensitivity of Four Pathogenic Bacteria to Turkish Thyme and Oregano Hydrosols. Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 36:467-473.

Shafaghat A, Amiri N, Salimi F. Screening of the essential oil, hexane extract, chemical composition, antioxidant activity, and antimicrobial activity of the flower *Rheum ribes* L. from Iran. J Essent Oil Bearing Plants 2014; (18)(5):1108-1115,

Samancıoğlu A., Sat I .G. , Yildirim E., Ercisli S., Jurikova T., Mlcek T., 2016, Total phenolic and vitamin C content and antiradical activity evaluation of traditionally consumed wild edible vegetables from Turkey, Indian Journal of Traditional knowledge Vol. 15(2), April 2016, pp. 208-213.

Sokmen, A., Jones., B.M., Ertürk., M. 1999. The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. Journal of Ethno pharmacology, 67, 79–86.

Stankovic M. S., 2011, Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration And Antioxidant Activity Of *Marrubium Peregrinum* L. Extracts, Kragujevac J. Sci. 33 (2011) 63-72.

Tartik M., Darendelioglu E., Aykutoglu G., Baydas G., 2015, The various biological activities of *Rheum ribes* extract on different types of cell, Tr. Doğa ve Fen Derg. – Tr. J. Nature Sci. 2015 Vol. 4 No. 2

Tanrikut S., Çeken B., Altaş S., Piriñçiođlu M., Kizil G., Kizil M.,2013, DNA cleavage protecting activity and in vitro antioxidant potential of aqueous extract from fresh stems of *Rheum ribes*, 10.1556/AAlim.42.2013.4.1

Tosun F, Akyüz Kızılay Ç (2003). Anthraquinones and flavanoids from *Rheum ribes*. Ankara Ecz. Fak. Derg, 32(1): 31-35.

Yildirim I.,Kutlu T. and Takim K.,2015, Comparison of Antioxidant Activity of *Rheum ribes* Fruits and Seed Methanolic Extracts against Protein Oxidation and Lipid Peroxidation, 10.3923/pjbs.2015.232.239

Yu L.,Scott H., Jonathan P., Mary H., John W., Ming Q. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. J. Agric. Food. Chem. 50, 1619-1624.

6.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa GÜNEŞ

Doğum Yeri : Kilis

Doğum Tarihi : 11.08.1993

E posta : mustafa_gunes79@outlook.com

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu: Lisans

Lisans : Kilis 7 Aralık Üniversitesi/ Biyoloji

Yüksek Lisans: Kilis 7 Aralık Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D