Ö. ÇOPUROĞLU 2013

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİĞDE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

NİĞDE YÖRESİNDEKİ BAZI ENDEMİK BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

ÖMER ÇOPUROĞLU

Haziran 2013

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

NİĞDE YÖRESİNDEKİ BAZI ENDEMİK BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

ÖMER ÇOPUROĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT

Haziran 2013

Ömer ÇOPUROĞLU tarafından **Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT** danışmanlığında hazırlanan **"NİĞDE YÖRESİNDEKİ BAZI ENDEMİK BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK, Niğde Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Üye : Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT, Niğde Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından ..../..../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..../..../20.... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Osman SİVRİKAYA

MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ömer ÇOPUROĞLU

ÖZET

NİĞDE YÖRESİNDEKİ BAZI ENDEMİK BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

ÇOPUROĞLU, Ömer

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman :Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT

Haziran 2013, 67 sayfa

Bu yüksek lisans çalışmasında Niğde yöresinde endemik olarak yetişen *Ballota macrodonta* ve *Sideritis phlomoides* bitki türlerinin antimikrobiyal etkisi disk difüzyon ve minumum inhibisyon konsatrasyonu yöntemleriyle incelenmiştir. Maserasyon yöntemi ile etanol, metanol, distile su, aseton ve kloroform çözücüleri kullanılarak elde edilen ekstreler ile antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır. Maserasyon yöntemiyle 30, 40 ve 50°C sıcaklıklarda 2, 3, 4 ve 5 saatlik süreler sonunda elde edilen ekstraktlar hazırlanmıştır. Çalışmada en yüksek antimikrobiyal etki genel olarak *Ballota macrodonta*'nın 40°C'lik etanollü ekstraktlarında görülürken, *Sideritis phlomoides*'in yaprak ve çiçek ekstraksiyonları benzer antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışmada kullanılan bitkilere karşı en hassas mikroorganizma *Proteus mirabilis* 235 suşu iken, *Candida albicans* ATCC 26231 en dirençli suş olarak belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Niğde, *Ballota macrodonta*, *Sideritis phlomoides,* Antimikrobiyal Aktivite, Endemik

SUMMARY

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SOME ENDEMIC PLANT SPECIES FROM NIGDE REGION

ÇOPUROĞLU, Ömer

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor :Asistant Professor Dr. Tuba ARTAN ONAT

June 2013, 67 pages

In the M.sC thesis, the antimicrobial activity of *Ballota macrodonta* and *Sideritis pholomoides* which are endemic for Niğde region was determined as the effect of disc diffusion and minimum inhibitory concentration methods. The antimicrobial activity defined as the extracts of plants were prepared with maceration method. The extracts prepared with ethanol, methanol, distilled water, acetone and chloroform at 30, 40, 50˚C and 2, 3, 4, 5 hour periods. The most effectine extract was formulated at 40°C with ethanol from *Ballota macrodonta*. Moreover the flowers and leafs of *Sideritis phlomoides* were showed similar antimicrobial effects. The *Proteus mirabilis* 235 determined as the most sensitive strain, and the *Candida albicans* was determined as the most resistant strain for antimicrobial activity of *Ballota macrodonta* and *Sideritis phlomoides*.

Keywords: Nigde, *Ballota macrodonta* ve *Sideritis phlomoides*, antimicrobial activity, endemic

ÖN SÖZ

Bu yüksek lisans çalışmasında, Niğde yöresinde endemik olarak yetişen bazı bitkilerin bazı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstraksiyon için maserasyon yöntemi kullanılmış ve bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerindeki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmayla koşulların optimize edilmesi ve ekstraktların bileşenlerinin belirlenmesi gerekliliği bulunmuştur.

Yüksek lisans tez çalışmamın yürütülmesi esnasında, çalışmalarıma yön veren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bana her türlü desteği sağlayan danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuba ARTAN ONAT'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamda örneklerin toplanmasında ve çalışmam esnasında tecrübelerine başvurduğum Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet SAVRAN'a ve tez çalışmalarım sırasında yardımlarına başvurduğum laboratuvar arkadaşlarım Emir KARANKI ve Perihan TEKERLEK'e teşekkür ederim.

Bu tezi, sadece çalışmam boyunca değil, tüm öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi yanımda olan, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme teşekkürü bir borç bilirim. Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, zor günlerimde her zaman yanımda olan arkadaşım H. Didem ÇELİKBİLEK'e çok teşekkür ederim.

Bu çalışmaya FEB 2012/35 numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv

SUMMARY v

ÖN SÖZ vi

İÇİNDEKİLER DİZİNİ vii

ÇİZELGELER DİZİNİ xii

ŞEKİLLER DİZİNİ xiv

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ xv

SİMGE VE KISALTMALAR xviii

BÖLÜM I GİRİŞ 1

BÖLÜM II KAYNAK ÖZETLERİ 3

2.1 Endemik Bitkiler 3

2.2 Lamiaceae Familyasının Genel Özellikleri 4

2.2.1 Ballota (L.) cinsinin genel özellikleri 5

2.2.2 Sideritis (L.) cinsinin genel özellikleri 8

2.3. Antimikrobiyal Aktivite 11

2.3.1. Antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal maddeler 12

2.3.2. Bitkilerden antimikrobiyal aktiviteye sahip ekstre elde etme yöntemleri 13

2.3.2.1 Sokslet ekstraksiyonu (Sürekli sıcak ekstraksiyon) 13

2.3.2.2 Sonikasyon (Ultrason ekstraksiyonu) 14

2.3.2.3 Maserasyon (Islatılıp yumuşatma) 14

2.3.2.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu 14

2.3.2.5 Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon 15

2.3.2.6 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu 15

2.3.3 Antimikrobiyal aktivite belirlenme yöntemleri 15
2.3.3.1 Disk difüzyon yöntemi.....15
2.3.3.2 Minimum inhibisyon konsantrasyonu 16
2.3.3.3 Minimum bakterisidal konsantrasyon.....16
2.4. Deneylerde Kullanılan Mikroorganizmalar 16
2.4.1. *Proteus mirabilis* 16
2.4.2. *Escherichia coli*.....17
2.4.3 *Staphylococcus aureus*.....17
2.4.4. *Pseudomonas aeruginosa* 17
2.4.5. *Candida albicans*.....17
BÖLÜM III MATERYAL ve METOT 19
3.1 Materyal.....19
3.1.1 Test organizmaları 19
3.1.2 Kullanılan çözücüler 19
3.1.3 Çalışma kültürleri 19
3.2 Metod.....20
3.2.1 Ekstrelerin hazırlanışı 20
3.2.2 Mac Farland metoduna göre bakterilerin hücre yoğunluğunun belirlenmesi 20
3.2.3 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi 21
3.2.3.1 Disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkinin belirlenmesi.....21
3.2.3.2 Minimal inhibisyon konsatrasyonu ile antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi.....21
3.2.4 Antibiyotiklerin test bakterilerinin üzerine etkilerinin araştırılması 22
BÖLÜM IV BULGULAR.....23

4.1 Disk Difüzyon Testi Sonuçları 23

4.1.1 *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 23

4.1.1.1 30°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 23

4.1.1.2 40°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 26

4.1.1.3 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 28

4.1.2 *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 30

4.1.2.1 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 30

4.1.2.2 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 33

4.1.2.3 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 35

4.1.3 *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 37

4.1.3.1 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 37

4.1.3.2 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 40

4.1.3.3 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri 42

4.2 Minimal İnhibisyon Konsantrasyon Sonuçları 44

4.2.1 30°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri 44

4.2.2 40°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri 44

4.2.3 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri 45

4.2.4 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların MİK değerleri 45

4.2.5 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların MİK değerleri 46

4.2.6 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların MİK değerleri 47

4.2.7 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların MİK değerleri 48

4.2.8 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların MİK değerleri 48

4.2.9 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların MİK değerleri 49

4.3 Antibiyotik Duyarlılığı 49

BÖLÜM V TARTIŞMA ve SONUÇ 52

KAYNAKLAR 57

ÖZGEÇMİŞ 67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan Çözücüler 19

Çizelge 3.2. Mac Farland Standardı 20

Çizelge 4.1. *Ballota macrodonta* yapraklarından 30°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 24

Çizelge 4.2. *Ballota macrodonta* yapraklarından 40°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 26

Çizelge 4.3. *Ballota macrodonta* yapraklarından 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 28

Çizelge 4.4. *Sideritis phlomoides* çiçeklerinden 30°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 31

Çizelge 4.5. *Sideritis phlomoides* çiçeklerinden 40°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 33

Çizelge 4.6. *Sideritis phlomoides* çiçeklerinden 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 35

Çizelge 4.7. *Sideritis phlomoides* yapraklarından 30°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 38

Çizelge 4.8. *Sideritis phlomoides* yapraklarından 40°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi 40

Çizelge 4.9. *Sideritis phlomoides* yapraklarından 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi.....42

Çizelge 4.10. 30ºC sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri 44

Çizelge 4.11. 40°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri 45

Çizelge 4.12. 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri 45

Çizelge 4.13. 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstratların MİK değerleri 46

Çizelge 4.14. 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstratların MİK değerleri 47

Çizelge 4.15. 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstratların MİK değerleri 47

Çizelge 4.16. 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstratların MİK değerleri 48

Çizelge 4.17. 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstratların MİK değerleri 49

Çizelge 4.18. 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstratların MİK değerleri 49

Çizelge 4.19. Antibiyotiklerin antibiyogram kontrol deney inhibisyon zon çapları..... 50

Çizelge 5.1. Antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiş olan bitkilerin DDM ve MİK sonuçları..... 53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.Türkiye'deki endemik bitkilerin dağılımı 4

Şekil 3.1.Ekstraksiyonların Muller Hinton Broth (MHB) içindeki seyreltme oranları ..22

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 4.1. *Ballota macrodonta*'nın (a) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *E.coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu(d) metanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon 25

Fotoğraf 4.2. *Ballota macrodonta*'nın (a) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) aseton ile 2 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *E.coli*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu.....27

Fotoğraf 4.3. *Ballota macrodonta*'nın (a) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktının *P.mirabilis*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktının *E.coli*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktının *S.aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktının *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktının *P.aeruginosa*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu.....29

Fotoğraf 4.4. *Sideritis phlomoides*'nin (a) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktının *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktının *E.coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *P.aeroginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e-f) etanol ile 3 ve 5 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*'a karşı oluşturduğu benzer inhibisyon zonu.....32

Fotoğraf 4.5. *Sideritis phlomoides*'nin (a) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *E.coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu 34

Fotoğraf 4.6. *Sideritis phlomoides*'nin (a) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın E.*coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu.....36

Fotoğraf 4.7. *Sideritis phlomoides*'nin (a) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *P.aeroginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *E.coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c-d) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın sırasıyla *P.mirabilis* ve *S.aureus*'a karşı oluşturduğu benzer inhibisyon zonu (e) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu 39

Fotoğraf 4.8. *Sideritis phlomoides*'nin (a-b) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın sırasıyla *S.aureus* ve *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu benzer inhibisyon zonu (c-d) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın sırasıyla *E.coli* ve *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu 41

Fotoğraf 4.9. *Sideritis phlomoides*'nin (a) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *E.coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c)

etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu.....43

Fotoğraf 4.10. Antibiyotik disklerin (a) *Proteus mirabilis* 235, (b) *Escherichia coli* ATCC 25922, (c) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve (d) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları 51

SİMGE VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	**Açıklama**
DDM	Disk Difüzyon Metodu
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
PDA	Potato Dextrose Agar
ATCC	American Type Culture Collection

Simge	**Açıklama**
µ	Mikron
°C	Santigrat

BÖLÜM I

GİRİŞ

Bitkiler binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmakta ve bu bitkilerin miktarı antik çağlardan beri devamlı artış göstermektedir. Bitkisel ilaçlar, gelişmekte olan ülkelerde kırsal toplumların kültür ve geleneklerinin önemli bir parçasını oluşturur. Tıbbın günümüzdeki kadar gelişmediği çağlarda insanlar tabiatta doğal olarak yetişen bitkileri kullandıkları bilinmektedir (Barış vd., 2005; Baytop, 1999; Berber, vd., 2013; Dağcı ve Dığrak, 2005; Njume vd., 2009).

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbı açıdan önemli olan bitkiler, yüz yıllardan beri halk arasında çay, baharat olarak ve hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmıştır. Bunun yanı sıra çeşitli boya, süs eşyası, koku ve tat endüstrileri, parfüm, gıda katkıları, temizlik ürünleri ve kozmetik sanayisinde yaygın bir şekilde kullanılmakta ve gün geçtikçe yeni faydaları keşfedilmektedir (Başer, 2000; Dülger vd., 2002; Draughon, 2004; İlçim vd.,1998; Toroğlu ve Çenet 2006).

Türkiye yüzyıllar boyunca çeşitli medeniyetlere ev sahipliği yapmasından dolayı zengin bir kültüre ve kendine özgü bir halk tıbbına sahip olmuştur. Türkiye'de mevcut bitkisel çeşitlilik yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahip olmasının nedeni üç fitocoğrafi (Akdeniz, İran-Turan ve Avrupa-Sibirya) bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun buradan kökenlenmesi ve farklılaşım merkezinin Anadolu olmasından kaynaklanmaktadır (Başer, 1992; Boydağ, 1996; Dağcı vd., 2002; Erdoğmuş vd., 2012; İlçim vd., 1998; Nalbantbaşı ve Gölcü, 2009;Tarakçı, 2006).

Bitkilerin kolay ve ucuz bir tedavi olanağı sağlanmasının yanında etki alanlarının daha geniş olması, tıbbi olarak yan etki gösteren sentetik ilaçların tehlikeli yan etkileri ve bakterilerin bu sentetik ilaçlara kolaylıkla direnç geliştirmeleri gibi sebeplerle doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok arttırmıştır. Fakat bunun yanında geleneksel olarak kullanılan bazı bitkilerin fazla kullanılması nedeniyle, bu bitki türleri giderek yok olmakta ve doğal kaynakların sürdürülebilir kullanımı biyologlar tarafından tartışılmaktadır. Bu nedenle hem geleneksel olarak kullanılan hem de potansiyeli henüz keşfedilmemiş pek çok bitkinin

yok olmadan araştırılması önem taşımaktadır (Cragg, 1993; Dağcı vd., 2002; Nakipoğlu ve Otan 1992; Nigg, 1992).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında ülkemiz florasında mevcut Lamiaceae familyasına ait iki endemik tür olan ve şifalı bitkiler olarak da bilinen *Ballota macrodonta* ile *Sideritis phlomoides*'in bazı patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bilimsel çalışmalarla antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi doğrultusunda ülkemizde bulunan bu tür çalışmalara bir katkıda bulunmak, daha sonra çalışılacak farmakolojik çalışmalara ışık tutmak ve bitkilerin halk arasında bilinçli bir şekilde kullanılmasını sağlamak bu çalışmadaki diğer amaçları oluşturmaktadır.

BÖLÜM II

KAYNAK ÖZETLERİ

İnsanlar var olduklarından bu yana yaşamlarını sürdürebilmek için bitkilerden faydalanmışlardır. Mikroorganizmaların sebep oldukları çeşitli hastalıkların tedavisi için insanlar çok değişik yollar denemişlerdir. Doğal olarak yetişen ve halk arasında şifalı otlar alarak adlandırılan birçok bitkisel ilaçların kullanımı bu yollardan birisidir. Bu bitkiler çeşitli hastalıklara karşı eskiden olduğu gibi günümüzde de yaygın şekilde kullanılmaktadır (Baytop, 1984; Kılıçturgay, 1996).

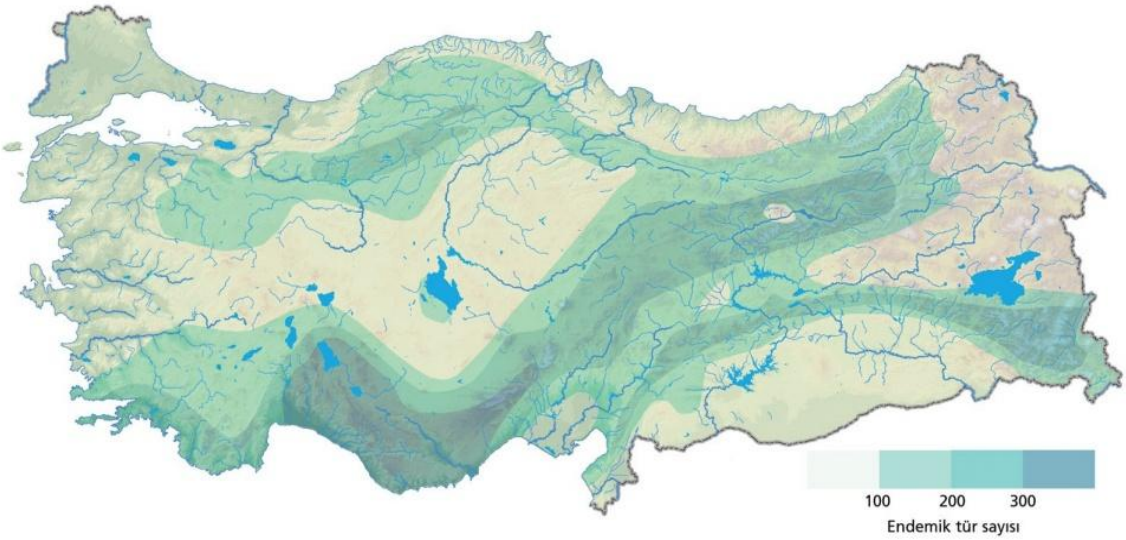
Bitkiler yüzyıllardır insanlığın birçok ihtiyacını karşılayan temel unsur olmuştur. 20. yüzyılın başlarında ilaçların %40'ı tıbbi ve aromatik bitkilerden üretilirken, 1970'li yıllardan sonra bu oran %5'lere kadar düşmüştür. Bu yüzden insanlar doğrudan bitkilere yönelmiş ve doğal ürünlere olan talepte gittikçe artmıştır (Bayram vd., 2010; Özçelik ve Balabanlı, 2005).

2.1 Endemik Bitkiler

Sadece dünya üzerinde belirli bir bölgede yaşayan bitki türlerine "endemik" denir ve bu durum "endemizm" olarak adlandırılır. Bitki formasyonlarını oluşturan bitki türleri her yerde aynı özellikleri göstermez. Endemik bitkiler ancak kendi isteklerini sağlayabilecek belirli bölgelerde yayılış gösteren, bunun dışındaki bölgelere ise uyum sağlayamayan, varlıklarını sürdürdükleri doğal habitatlarındaki değişimlere karşı oldukça hassas olan bitkilerdir. Bir alanda endemiklik, o alanın izolasyon derecesi ve süresine, jeolojik yaşına ve topografik özelliklerine bağlıdır (Avci, 2005; Erinç, 1978).

Türkiye, 12000 civarında eğrelti ve tohumlu bitki taksonu ile zengin floraya sahip ülkelerden biridir. Avrupa kıta florasının 12000'e yakın türe sahip olduğu ve kıtanın ülkemizin yaklaşık 15 katı büyüklükte olduğu düşünülürse, yurdumuzun floristik zenginliği daha net anlaşılır. Türkiye florasının ilginçliği, sahip olduğu tür zenginliğinin yanında, çok sayıda endemik tür içermesinden kaynaklanır. Avrupa ülkelerindeki endemik taksonların toplamı yaklaşık 2750 kadar iken, ülkemizde bulunan taksonların 3925'i endemiktir ve endemizm oranı %34 civarındadır (Ekim vd., 2000; Erik ve Tarikahya, 2004; UBSEP, 2008).

Türkiye'de yetişen endemik ve endemik olmayan bitkiler sanayileşme ve kentleşme tarım alanları ve aşırı otlatma, turizm, ihracat ya da ev kullanımı için bu bitkilerin toplanması, kurak (tuzlu su) alanların rehabilitasyonu, tarımsal ilaçların kontrolsüz ve aşırı kullanımı, kirlilik ve yangınlar nedeniyle tehlike altındadır. Biyolojik çeşitliliğin korunmasında endemik türlere sahip alanlar çok büyük önem taşır, çünkü bu alanların zarar görmesi demek söz konusu ender türlerin geri dönülemez bir biçimde yok olması demektir.



Şekil 2.1. Türkiye'deki endemik bitkilerin dağılımı (http://www.cografyaegitimi.biz, 06 Haziran 2013)

Akdeniz bölgesindeki endemik bitkilerin sayısı, diğer bölgelerle karşılaştırıldığında oldukça zengindir. Ayrıca ülkemizi de içine alan Akdeniz Bölgesi uçucu yağ taşıyan bitkiler bakımından en zengin bölgelerden biridir (Başer, 2000; Ceylan, 1996; Çakilcioglu ve Civelek, 2007).

2.2 Lamiaceae Familyasının Genel Özellikleri

Ballıbabagiller (Labiatae) olarak da bilinen Lamiaceae familyası, Kuzey Yarımküre'de ve özellikle Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren bir, iki ve çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır. Türkiye, Lamiaceae familyasının önemli bir gen merkezi konumunda olup, bu familyaya ait 45 cins, 581 tür ve 751 takson bulunmaktadır. Ülkemizdeki endemizm oranı %44,2 olan bu familya Türkiye'nin en zengin üçüncü familyası konumundadır (Davis, 1982; Erbaş ve Fakir 2012).

Doğada yetişen 300'e yakın bitki familyasından yaklaşık 1/3'ü uçucu yağ içermektedir. Uçucu yağ taşıyan bitkiler daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedirler.

Lamiaceae özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve ılıman iklim kuşağında yer alan, birçok ülkede de kültürü yapılan bitkileri içeren, yaklaşık 200 kadar cins ve 3000'in üzerinde türden oluşan zengin bir familyadır. Türkiye'de bulunan familyalar arasında yerel tıp ve tıbbi değer olarak farklı ve yaygın bitki türü içermesi bitkilerin esas olarak içerdiği uçucu yağlar konsantrasyonuna dayanmaktadır (Abuasab ve Cantino, 1994; Ayaz, 2008; Dulger ve Dulger, 2012; Köse vd., 2010; Sarac ve Ugur, 2007; Skocibusic ve Bezic, 2004).

Lamiaceae familyasına ait bitkilerde gövde dört köşelidir. Yapraklar basit veya parçalı, dekusat dizilişlidir. Çiçekler braktelerin koltuğunda, sık kümeler halinde, her nodusta vertisillastrum durumundadır. Çiçekler erdişi, zigomorfdur. Brakteler yapraklardan farklı veya bunlara benzemektedir. Kaliks beş lobludur, çan şeklinde veya tüpsüdür. Korolla tabanda tüpsü, üstte iki dudaklıdır. Üst dudak iki, alt dudak üç lobludur. Stamen dört tanedir, bazen ikisi körelmiş, diğer iki tanesi verimli kalmıştır. Bu dört stamenden ikisinin flamenti uzun, diğer iki tanesinin ise kısadır. Ovaryum üst durumlu, iki karpelli, dört gözlüdür, her göz bir ovüllüdür. Stilus ginobazik, stigma iki parçalıdır. Meyve dört kuru nuksa ayrılmış bir şizokarptır (Davis, 1982; Baytop, 1999; Zeybek ve ark., 2002).

2.2.1 Ballota (L.) Cinsinin Genel Özellikleri

Ballota L. türleri Lamiaceae familyasına ait çok yıllık otsu bitkilerdir. Dünya'da Avrupa, Kuzey Afrika ve Batı Asya'nın ılıman bölgelerinde 35 tür, 14 alt tür ile temsil edilmekte, Türkiye'de ise 12 tür ve 7 alt türü bulunmaktadır. Bu taksonlardan 8 tanesi ülkemiz için endemiktir. Ballota cinsi endemik türler açısından zengin olup (%72,7) özellikle Akdeniz Bölgesinde yüksek çeşitliliğe sahiptir. Ayrıca diğer ülkelere göre kıyaslandığında tür sayısı açısından en zengin ülke, 12 türe sahip olan Türkiye'dir. Bitki üzerinde günümüze kadar yapılan çalışmalarda Ballota türlerin ana bileşenleri olarak terpenoit, flavonoit, feniletanoitler izole edilmiştir (Ahmed vd., 2009; Çitoğlu vd., 1998, 2005; Sever ve Çitoğlu, 2003; Sever vd., 2005; Şahin vd., 2005; Uysal, 1997).

Avrupa'da spazmolitik ve sedatif (yatıştırıcı) etkileri nedeniyle iyi tanınan bir bitki olan Ballota L. türleri Türkiye'de halk arasında şalba, çalba, balotu, ballık otu, nemnem otu, ısırgan, gezgez otu, köpek otu, kara yerpırasası, el kurtaran, pat pat otu, leylim kara, somruk ve karınca somurcağı gibi isimlerle bilinmekte, yine halk tarafından öksürükte, astımda, idrar söktürücü olarak, baş ağrısında, mide bulantısında, hemoroitte, yara ve

yanık tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Davis, 1982; Dulger ve Dulger, 2012; Newall vd., 1996; Savona vd., 1977; Tuzlacı ve Tolon 2000; Vural vd., 1996).

Erdoğan vd., 2013 yılında yapmış oldukları çalışmalarında, Türkiye'de endemik olarak yetişen *Ballota saxatilis* subsp. *brachyodonta*'nın sulu ekstraklarının ve uçucu yağlarının makro dilüsyon metodu ile insan patojeni olan 9 bakteri ve mayaya karşı (*E.coli, E.feacalis, B.subtilis, S.thyphimuirum, S.aureus, S epidermidis, K.pneumoniae, C.albicans, C.parapsilosis*) antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Bitkinin sulu ekstrakları, *C.parapsilosis* karşı önemli bir aktivite gösterirken, *E.coli, E.feacalis, B.subtilis, S.thyphimuirum, S.aureus, S.epidermidis, K.pneumoniae ve C.albicans*'a karşı hiçbir aktivite göstermemiştir. Aynı zamanda mikroorganizmalara karşı test edilen bitkinin sulu eksraktları, uçucu yağlara göre oldukça düşük seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu bitkinin antimikrobiyal aktivite potansiyelini belirlemek için daha fazla çalışmanın yapılmasını gerektiğini de belirtmişlerdir (Erdoğan vd., 2013).

Dulger ve Dulger 2012, yapmış oldukları çalışmalarında *Ballota acetabulosa* (L.) Bentham (Lamiaceae) yapraklarından elde edilen metanol ekstrelerinin, idrar yolu enfeksiyonlan oluşturan (*Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis* ve *Candida albicans*) patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitelerini disk difuzyon ve mikrodilisyon metotlarını kullanarak araştırmışlardır. Ekstraktlar, *Escherichia coli* bakterisine karşı 18,6 mm inhibisyon zonu, 32(64) µg/mL MİK ve MBK değeri oluşturarak güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir Buna ilaveten, ekstraktlar diğer test mikroorganizmalarına karsı ise orta derecede bir aktivite oluşturmuşlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre, *Ballota acetabulosa* yapraklarından metanol ile yapılan ekstraktların belirli bir aktiviteye sahip olduğunu, enfeksiyonların tedavisinde yararlı olabileceğini belirtmişlerdir (Dulger ve Dulger, 2012).

Ahmed vd., (2009) yaptıkları çalışmada, Pakistan'nın kuzeybatısında yetişen ve tıbbi bitki olarak kullanılan *Ballota limbata*'nın antimikrobiyal aktivitesini potansiyel insan patojeni olan mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis* (VRE), *Staphylococcus epidermidis,* ve *Staphylococcus saprophyticus* dahil 5 gram-pozitif bakteri ve *Providencia rottgeri, Klebsiella pneumonia, Klebsiella terrigena, Escherichia coli, Morganella morganii, Kluyvera* spp,ve *Enterobacter cloacae* dahil 14 gram-negatif) karşı agar-kuyu difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. *B.*

limbata'nın yapraklarından etanol ile elde edilen ekstrakları gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken, gram-pozitif bakterilere karşı oldukça önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *B.limbata* yapraklarının çeşitli hastalıklar için antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Ahmed vd., 2009).

Sever ve Çitoğlu (2005) Türkiye'de yetişen Ballota türlerinin antibakteriyal etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, 16 Ballota türünün etanollü ekstrelerini 4 farklı Listeria suşu üzerine (*Listera monocytogenes, L.ivanovii, L.innocua, L.murrayi*) agar difüzyon metodu ile test etmişlerdir. Bitkilerin tümü *L. monocytogenes*'e karşı güçlü antilisteriyal aktivite göstermiştir. *L.monocytogenes*'e karşı en güçlü antilisteriyal aktivide gösteren türler ise *B.cristata, B.nigra* subsp. *anatolica, B.nigra* subsp. *foetida, B.rotundifolia, B.nigra* subsp. *uncinata, B.pseudodictamnus* subsp. *lycia ve B.saxatilis* subsp. *saxatilis'tir. Bu türler arasında B.nigra* subsp. *anatolica, B.cristata ve B.nigra* subsp. *foetida* aynı zamanda *L.ivanovii, L.innocua ve L.murrayi*'ye karşı da antilisteriyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Sever ve Çitoğlu, 2005).

Çitoğlu vd., 2005 yapmış oldukları çalışmalarında, *Ballota glandulosissima*'nın sulu ekstraklarının fareler üzerinde ortalama öldürücü doz (LD_{50}) ve antinosiseptif aktivitesini değerlendirmişlerdir. Referans ilaç olarak morfin ve salisilik asetili kullanmışlardır. *B.glandulosissima* sulu ekstraktları doza bağımlı olarak farelerde asetik asit ile oluşturulan abdominal gerilmeyi engellemiştir. *B.glandulosissima* sulu ekstreleri ile tedavi edilmiş farelerin motor koordinasyonu değerlendirilmiş ve kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında bozulmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *B.glandulosissima*'nın antinosiseptif aktivitesinin umut verici olduğunu göstermektedir. Ayrıca *B.glandulosissima* LD_{50} 8.885 g/kg olarak belirlenmiştir (Çitoğlu vd., 2005).

Çitoğlu vd., (2003) yılında yapmış oldukları çalışmada Türkiye'de yetişen Ballota türlerinden hazırlanan etanollu ekstrelerin bazı Gram-negatif (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*), Gram-pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*) ile mantarlara (*Candida albicans, Candida galabrata, Candida krusei*) karşı agar difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Bu türler arasında test edilen mikroorganizmalara karşı en yüksek aktiviteyi gösteren tür olarak *Ballota inaequidens*'i belirlemişlerdir (Çitoğlu vd., 2003).

Sever ve Çitoğlu (2003) yılında Ballota L. türlerinin kimyasal bileşiklerin içeriklerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, etken maddeleri 5 ana grup (diterpenler, flavonoitler, feniletanoitler, uçucu yağlar ve diğer bileşikler) halinde incelemişlerdir ve bu etken maddelerin hem miktar hem de antimikrobiyal aktivite açısından önemli bir yer tuttuğunu bildirmişlerdir (Sever ve Çitoğlu, 2003).

Didry vd., (1999) çalışmasında, *Ballota nigra*'dan elde edilen fenilpropanoid türevlerinin antibakteriyel aktivitesini belirlemişlerdir. Daha önceden izole edilen fenilpropanoid glikozitlere (5-alyssonoside, 6-lavandulifolioside, 7-angoroside A ve glikozidik türevi olmayan 8-caffeoyl-L-malik asit) ek olarak bitkinin generatif kısımlarından 1- verbascoside, 2- forsyhoside B, 3- arenarioside ve 4- ballotetroside bileşikleri izole edilmiştir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi 24 bakteri suşuna (Gram-pozitif organizma olarak *Staphylococcus aureus* 5 suş, *Enterococcus faecalis* 5 suş, Gram-negatif olarak *Pseudomonas aeruginosa* 3 suş, *Escherichia coli* 5 suş, *Proteus mirabilis* 3 suş ve *Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca* birer suşlarına) karşı agar dilüsyon yöntemiyle elde edilen MİK değerleri referans alarak belirlemişlerdir. 128 mg/ml'de 4. ve 8. bileşikler antimikrobiyal etki göstermezken, 1 ve 2. bileşikler ise *P.mirabilis*'in üç suşundan birine, *S. aureus*'un ise beş suşundan ikisine karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. En önemli sonuç olarak üçüncü bileşiğin 64 mg/ml'de *P.mirabilis*'in üç suşundan birine, 128 mg/ml'de *S. aureus* ise beş suşundan üçüne karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Didry vd., 1999).

2.2.2 Sideritis (L.) Cinsinin Genel Özellikleri

Bitkiler aleminin zengin familyalarından biri olan Lamiaceae (Labiatae) içerisinde yer alan Sideritis (L.) türleri dünyada 150'den fazla tür ile temsil edilmektedir. Yeryüzünün hemen her bölgesinde özellikle de Akdeniz havzasında yayılış göstermektedir. Türkiye'de Hesiodia (5 takson) ve Empedoclia (49 takson) olmak üzere iki seksiyon altında toplanan 46 tür ve 53 takson ile başlıca Batı Anadolu olmak üzere Güney ve İç Anadolu'da oldukça yaygın olarak yetişmektedir. Bu cinsin içerdiği taksonların 39 tanesi endemik olup, %77-78'lik endemizm oranı ile Türkiye Florası'nda yetişen bitkiler arasında en yüksek endemizme sahip cinslerdendir. Empedoclia seksiyonunun endemizm (%80) oranı çok yüksektir. Sahip olduğu bu yüksek endemizm oranı

nedeniyle, ülkemiz bu seksiyonun gen merkezi konumundadır (Aytaç ve Aksoy 2000; Davis, 1988; Duman, 2000; Huber-Morath, 1982; Köse vd., 2010).

Türkiye'de yetişen Sideritis türleri diterpenler, glikozitler, flavonoidler, feniletanoid, ve uçucu yağlar açısından oldukça zengin kimyasal yapıya sahiptir (Akcos vd., 1999; Başer 2002; Ezer vd., 1992a, 1996; Karahan, 2007; Şahin vd., 2004, 2005; Topcu vd., 2002; Özcan vd., 2001).

Sideritis L. cinsinin ismi Yunanca kökenli bir kelime olan ve demir anlamına gelen "sideros"dan gelmektedir. Bu isim, bu cinse ait bitkilerin yaraları iyileştirme özelliğinden dolayı verilmiştir. Sideritis türlerinin toprak üstü kısımları hem Avrupa'da hem de Türkiye'de halk ilacı ve çay olarak eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu türlerin antispazmodik, karminatif, diüretik, analjezik, sinir sistemi uyarıcı, sedatif (yatıştırıcı), antitussif ve antikonvulzan etkilere sahiptir. Ayrıca halk arasında genellikle "Dağ çayı, Yayla çayı" olarak isimlendiren bu türlerden hazırlanan çaylar soğuk algınlığı, öksürük ve sindirim sistemi rahatsızlıklarda kullanıldığı bilinmektedir (Aytaç ve Aksoy, 2000; Braulio, 2012; Chalchat ve Musa 2005; Gonzales-Burhos vd., 2011; Kırımer vd., 1999, 2000, 2001, 2003, 2004; Küpeli vd., 2007; Tunalier vd., 2004).

Köse vd., 2010 yılında, Türkiye'de endemik olan *Sideritis erythrantha* var. *erythrantha* (SE), *Sideritis erythrantha* var. *cedretorum* (SC) bitkilerinin kimyasal bileşenlerini ve uçucu yağlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, SC ve SE elde edilen uçucu yağların en büyük bileşeni olarak α-Pinen tespit etmişlerdir. SC'den elde edilen uçucu yağların metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis* (VRE), ampisilline dirençli *Haemophilus influenzae* ve vancomisin duyarlı *E.faecalis*'e karşı, SE'den elde edilen uçucu yağların vankomisine ve ampisilline dirençli *H.influenzae*'nın antibiyotik kadar etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ek olarak her iki bitkininde uçucu yağlarının zayıf antioksidan etki gösterdiğini belirtmişlerdir (Köse vd., 2010).

Sagdic vd., (2008) yılında Türkiye'de endemik olarak yetişen ve halk arasında uzun yıllardan beri çay ve baharat olarak kullanılan *Sideritis ozturkii* ve *Sideritis caesarea* bitkilerinin metanol ile hazırlanan ekstrelerinin toplam fenol miktarları, flavanol ve flavonoid bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmişlerdir. *S.caesarea*'nin toplam fenol miktarları ve toplam flavanol içerikleri, *S.ozturkii*'inden daha yüksek bulunmuştur. Ekstraktların antioksidan

aktiviteleri ve 100 ppm konsantrasyonda (BHT kontrol 55,8) *S.ozturkii* %41,68 ve *S.caesarea* %72.47 olarak hesaplamışlardır. Bu bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerini ise %10, 5, 2,5 ve 1'lik konsantrasyonlarda 15 bakteriye (*Aeromonas hydrophila, Bacillus brevis, B.cereus, B.subtilis, E.coli, Klebsiella pneumoniae, Morgenella morganii, Mycobacterium smegmatis, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Yersinia enterocolitica, Candida albicans ve Saccharomyces cerevisiae*) karşı test etmişlerdir. *S. ozturkii* ekstraktları %10 konsantrasyonda tüm test organizmalarına en yüksek aktiviteyi, %5 konsantrasyonda ise *C.albicans ve S.cerevisiae* hariç tüm organizmalara antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *S.caesarea* ekstraktlarının %2,5 konsantrasyonda çoğu mikroorganizmaya karşı aktivite gösterirken, %1'lik konsantrasyonda çok az sayıda mikroorganizmaya düşük seviyede antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir (Sagdic vd., 2008).

Dinçer vd., 2008 yılında, çay üretimi için dağ çayının (*Sideritis stricta*) en uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için yaptıkları çalışmada, dağ çayı örneklerini farklı sıcaklık (60, 65, 70, 75, 80°C) ve sürelerde (0.5-400 dk) ekstraksiyona tabi tutmuşlardır. Araştırma sonuçları dağ çayının ekstrakt konsantrasyonu üzerine sıcaklık ve sürenin önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Yapılan ekstraksiyonlarda en yüksek konsantrasyon değerine 80ºC sıcaklıkta 50 dk'da ulaşıldığını belirlemişlerdir (Dinçer vd., 2008).

Saraç ve Uğur (2007) yılında yaptıkları çalışmalarında, Türkiye'nin Muğla yöresinde geleneksel tıpta kullanılan *Sideritis albiflora* ve *Sideritis leptoclada* bitkilerinin etanollü ekstrelerini 7 Gram-pozitif, 7 Gram-negatif bakterilere ve *Candida albicans*'a karşı disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Elde ettikleri aktivite sonuçlarını ticari olarak kullanılan antibiyotiklerle kıyaslamışlardır. *S.albiflora* ve *S.leptoclada*'dan etanol ile elde edilen ekstraklar gram-pozitif bakterilere etki gösterirken, gram-negatif ve *C.albicans*'a karşı hiçbir etki göstermemiştir. Özellikle *S. leptoclada* ekstraklarının *S.aureus* ATCC 25923 üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu, bazı bakteriler üzerinde oksasilin antibiyotiğinin oluşturduğu inhibisyon zonundan daha büyük olduğu yapılan çalışmayla ortaya konmuştur (Saraç ve Uğur, 2007).

Küpeli vd., 2007 yılında yaptıkları çalışmalarında, *Sideritis ozturkii* toprak üstü kısımlarından aseton ile elde ettikleri ekstraksiyonlar ve fenolik fraksiyonlarının (ozturkosides A, B ve C) anti-enflamatuar ve antinosiseptif aktivitelerini

incelemişlerdir. Bitkiden elde edilen asetonlu ekstraksiyonlar ve fenolik fraksiyonu (ozturkosides C) önemli derecede anti-enflamatuar ve antinosiseptif aktivite gösterirken, diğer iki fenolik fraksiyonu olan ozturkosides A ve B herhangi bir etki göstermemiştir (Küpeli vd., 2007).

Dulger vd., 2006 yılında yaptıkları çalışmada, Türkiye'de endemik 7 Sideritis türünün (*Sideritis dichotoma, S.trojana, S.sipylea, S.rubriflora, S.bilgerana, S.galatica ve S.condensata*) metanollü ekstrelerinin klotrimazole dirençli *Candida albicans*' a karşı antikandidal aktivitesini incelemişlerdir. *S.trojana* ve *S.bilgerana* bitkilerinin en yüksek aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Dulger vd., 2006).

Tunalıer vd., (2004) yılında halk arasında çay olarak yaygın olarak kullanılan bitkilerin başında gelen Sideritis türüne ait (*S.amasiaca, S.germanicopolitana* ssp. *germanicopolitana, S.vulcanica, S.dichotoma, S.armeniaca, S.cilicica, S.phlomoides, S.scardica, S.galatica, S.taurica*) 8 tanesi endemik olan 10 türün %70'lik sulu metanol kullanarak hazırladıkları ekstrelerin antioksidan etkilerini incelemişlerdir. Buna ek olarak bitkilerin toplam fenol miktarlarını da tayin etmişlerdir. Bitkilerin toplam fenol miktarlarının incelenmesi sonucunda *S.scardica, S.cilicica ve S.germanicopolitana* ssp *germanicopolitana* bitkileri ekstrelerinin diğer bitkilere göre daha yüksek miktarda fenolik bileşik içerdiği ve serbest radikal süpürücü etki açısından da bitkiler arasında ilk üç sırayı oluşturduğu gözlemlenmiştir (Tunalıer vd., 2004).

2.3 Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal madde, mikroorganizmaların üremesini engelleyen, öldüren doğal veya sentetik kimyasallardır. Antimikrobiyallerin etkisi, üremeyi durdurucu veya öldürücü olabilir. Organizmaları öldüren maddeler sidal maddeler olarak isimlendirilir ve aldığı ön ek öldürülen organizmanın tipini işaret etmektedir. Dolayısıyla bakteriler ve funguslar öldüren maddeler sırasıyla bakteriyosidal ve fungusidal maddeler olarak isimlendirilir. Organizmayı öldürmeyen, buna karşılık sadece üremesini engelleyen maddeler statik maddeler olarak isimlendirilir ve bunlar bakteriyostatik ve fungistatik maddeler olarak isimlendirilirler (Madigan ve Martinko, 2010).

Tarihi olarak antimikrobiyal maddelere kaynak teşkil eden bitkiler, mikrobiyal enfeksiyonlarla mücadelede yüksek derecede etkili olma özelliklerini korumaktadırlar. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri

1926 yılından bu yana araştırılmaktadır (Abdelaziz vd., 1990; Asdou vd., 1972; Dığrak vd., 1999; Kalaycıoğlu ve Öner 1994; Khan vd., 1988; Iwu vd., 1999).

Tıbbi bitkilerin yaygın olarak kullanılmaya başlanmasının bazı önemli nedenleri şunlardır:

i- Yeterli düzeyde bir kimya endüstrisine sahip olmayan, gelişmekte (kalkınmakta) olan ülkelerde, bitkilerden yararlanarak kolay ve ucuz bir tedavi olanağı sağlanmasının yanında etki alanlarının daha geniş olmasıdır.

ii- Tıbbı olarak tedavi alanına yeni girmiş sentetik maddelerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkilerinin saptanması, doğal ürünlerin kullanılma zorunluluğunu artırmıştır.

iii- Sentetik bileşikler genellikle bir tek etkiye sahiptirler ve bunların bazılarının yan etkilerini önlemek için diğer bazı ilaçlara ihtiyaç duyulmasıdır.

iv- Bitkisel ilaçların diğer bir üstün yanı da son yıllarda, bulaşıcı hastalık etkeni ve hastane enfeksiyonlarına neden olan birçok mikroorganizma türü, tedavi amacıyla kullanılan çoğu antibiyotiğe karşı geliştirdiği direncin artması, yeni kuşak antibiyotiklerin üretilmesinin yüksek maliyetli olması nedeniyle ilaç sektörünün yeni antimikrobiyal maddeler keşfetmesi ve bu maddelerin yapılarının araştırılması gerekmektedir (Baytop, 1984; Berber vd., 2013; Davis, 1994; Hakim, 1982; Hussain, 2011; Janovská vd., 2003; Maregesi vd., 2008; Sevimli, 2006; Toker, 2002).

2.3.1 Antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal maddeler

Günümüzde birçok hastalığa karşı kullanılabilen bileşimlerin doğal kaynağı olan tıbbi bitkiler insanlar üzerinde önemli biyolojik etkisi olan geniş çeşitliliğe sahip kimyasal maddeler içerir. Bitkilerin tedavi edici özellikleri ve antimikrobiyal etkileri içerdikleri sekonder metabolitler ve kimyasal bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Bünyelerinde taşıdıkları bu etken maddelerce zengin karışımlar ekstraksiyon ve distilasyon işlemleriyle elde edilebilir. Modern anlamda farmakolojik olarak üretilen ilaçların etken maddelerinin en az %25'i bitkilerden elde edilmektedir. Doğal olarak yetişen bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinden birçok mikroorganizmanın çoğalmasını baskılayan maddeler izole edilmiştir. Ayrıca, sentetik olarak üretilen birçok ilacın etken maddeleri de ilk defa bitkilerden izole edilen kimyasallara yapısal olarak benzemektedir

(Başer 1997; Baytop 1999; Erdoğmuş vd., 2012; Ertürk ve Demirbağ 2003; Hussain, 2011; Liu ve Wang, 2007; Sekar ve Kandavel 2010; Patrakar vd., 2010; Vital vd., 2010).

2.3.2 Bitkilerden antimikrobiyal aktiviteye sahip ekstre elde etme yöntemleri

Bitkilerde antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için yapılması gereken ilk işlem etken maddenin ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon, çeşitli çözücü maddelerin kullanılarak bitki dokusundaki antimikrobiyal etken maddelerin ayrılması işlemidir. Ekstraksiyon yöntemleri, çözünür bitki kısımlarını çözünmeyen kısımlarından ayırır. Ekstraksiyonun temel işlemleri ön yıkama, bitki materyalini kurutma ya da dondurma, homojen örnek elde etmek için ezme gibi basamakları içerir. Bitki materyallerinden ekstrakt hazırlanması sırasında potansiyel aktif bileşiklerin kaybolmamasına, bozulmamasına ve tahrip edilmemesine dikkat edilerek uygun bir şekilde yapılmalıdır (Sasidharan vd., 2012).

Ekstraksiyon

1- Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri

a. Sokslet ekstraksiyonu

b. Sonikasyon

c. Maserasyon

2- Modern ekstraksiyon yöntemleri

a. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

b. Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon

c. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

2.3.2.1 Sokslet Ekstraksiyonu (Sürekli sıcak ekstraksiyon)

Uzun yıllardır geniş çapta kullanılan bu yöntem, 1879 yılında Franz von Soxhlet tarafından geliştirilmiştir. Sokslet kullanılırken hedef bitkisel materyalin ekstraksiyonu için uygun bir çözücü ve sıcaklık seçilmelidir. Farklı çözücüler farklı ekstraktların elde edilmesini sağlamaktadır (Wang ve Weller, 2006; Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010).

2.3.2.2 Sonikasyon (Ultrason ekstraksiyonu)

Bu işlemde, belirli (kHz) frekans arasında değişen ultrasonik ses dalgaları kullanılarak hücre duvarının geçirgenliği artırılmaktadır. Ekstraksiyon sırasında ultrasonik ses dalgaları aynı zamanda biyolojik hücre duvarının yapısını bozmakta ve içeriğinin değişmesini kolaylaştırmaktadır. Sonikasyon yöntemi, diğer geleneksel yöntemlerde görülen uçucunun bozulması, kaybolması ya da uçması gibi olumsuz etkilerin meydana gelmesini engelleyen bir yöntemdir. Birçok durumda bu yöntem diğer yöntemlere göre çok hızlı ve etkili olup çözücünün verimli kullanılmasını sağlar. Düşük maliyetli, basit ekipman düzeneğine sahip olması ve çoğu zaman iyi verim sağlaması yönünden oldukça avantajlıdır (Roldan-Gutierrez vd., 2008).

2.3.2.3 Maserasyon (Islatılıp yumuşatma)

Maserasyon yönteminde toz halinde bulunan kuru bitki materyali, çözücü ile birlikte kapaklı bir kap içerisine alınır. İstenilen sıcaklık ve zamana göre inkübatörde bekletilir. Daha sonra filtrasyon işlemi uygulanarak ekstraksiyon yapılmış olur. Maserasyon yönteminin etkisini artırmak için çözücünün içinde bulunduğu kaba çalkalama işlemi uygulanarak çözücünün maddeye daha iyi nüfuz etmesi sağlanabilir. Maserasyon yöntemi ile istenilen sıcaklıkta çalkalamalı inkübatörde uygulanarak ekstraksiyon elde edilir (Handa vd., 2008).

Maserasyon yöntemi esansiyel yağ ve kimyasal bileşiklerin eldesinde kullanılan oldukça ucuz ve popüler bir yöntemdir. Küçük ölçekte bu yöntem genellikle birkaç adım içermektedir.

- Kullanılacak olan bitki materyalinin küçük parçalar haline getirilmesi,
- Bitki materyalinin çözücü ile birlikte kapalı bir kap içerisinde bekletilmesi (Maserasyon işlemi),
- Maserasyon işlemi sonucu ekstraktın kalıntıdan ayrılma işlemi (Filtrasyon) (Azmir vd., 2013).

2.3.2.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Bu ekstraksiyon yöntemi, organik çözücülerin kullanılması ile genel hedefleri azaltan alternatif bir preperasyon yöntemidir. Sıcaklık, basınç, örneğin hacmi, analit toplama, düzenleyici eklenmesi, akım, baskı kontrolü ve sınırlayıcısı gibi faktörler göz önüne

alınmaktadır. Hedef bileşiğin çözünürlüğünde süperkritik akışkanın verimliliğinin belirlenmesi en önemli faktördür. Uygun yoğunlukta bir süperkritik akışkan seçimi, çözücü etkisi, seçiciliği ve ekstraksiyon bileşiminin belirlenmesi açısından çok önemlidir (Handa vd., 2008; Wang ve Weller, 2006).

2.3.2.5 Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon

Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon yöntemi 1975 yılında ilk defa Samra vd. tarafından kullanılmıştır. Enerjinin ve çözücünün az kullanılması, hızlı bir yöntem olması nedeniyle oldukça kullanışlıdır. Katı bitki matrisi ve çözücünün mikrodalga yöntemiyle ısıtılmasıyla birlikte hızlı bir şekilde enerji verimi sunar. Bitki örneğindeki su, mikrodalga enerjisini absorbe eder, böylece bozulur ve ekstrakt elde etmek kolaylaşır. Mikrodalga enerjisinin etkisi çözücü ile katı bitki matrisi arasındaki dielektrik duyarlılığına bağlıdır (Gupta vd., 2012; Handa vd., 2008; Wang ve Weller, 2006).

2.3.2.6 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu yöntemi yüksek sıcaklık ve basınç altında statik ve dinamik olarak uygulanabilen bir yöntemdir. Bu yöntemin en temel avantajı çözücünün kaynama noktası sınırına bağlı kalmadan yüksek sıcaklık ve basınç altında uygulanabilmesi ve düşük miktarda çözücü ve madde ile çalışılmasına olanak sağlamasıdır. (Azmir vd., 2013; Kaufmann ve Christen, 2002).

2.3.3 Antimikrobiyal aktivite belirlenme yöntemleri

Antimikrobiyal aktivite, test organizmasının üremesini engellemeye yeterli en düşük madde miktarının belirlenmesi ile ölçülür. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş birçok yöntem bulunmaktadır. Disk difüzyon metodu (DDM) ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlenmesi yöntemleri en çok kullanılan iki yöntemdir.

2.3.3.1 Disk Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmalarında kullanılan en yaygın çalışma disk difüzyon yöntemidir. Bu yöntemde, test edilen mikroorganizma ile inokule edilmiş katı besiyeri üzerinde yer alan disk ya da oluşturulan havuzcuk veya kuyucuğa antimikrobiyal madde eklenir. Besiyeri içerisinde diske veya kuyucuğa eklenen antimikrobiyal maddenin miktarı, difüzyon katsayısı ve maddenin toplam etkisi ile

doğru orantılı olan bir çapta inhibisyon zonu oluşur ve oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek maddenin antimikrobiyal etkisi belirlenmektedir. Bu yöntem rutin bir şekilde patojenlerde antibiyotik hassasiyetini test etmek için kullanılmaktadır (Şahin, 2006; Madigan ve Martinko, 2010; Islam ve ark., 2008).

2.3.3.2 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Farklı konsantrasyonlarda test edilen antimikrobiyal maddelerin, mikrobiyal gelişimi tamamen yok ettiği veya engellediği en düşük derişim Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak tanımlanmaktadır. MİK belirlemek için sıvı besiyerlerinde veya katı besiyerlerinde antimikrobiyal etkiye sahip olan bileşiklerin seyreltik olarak belirli oranlarda eklenmesiyle hazırlanan besi ortamları kullanılmaktadır. Bir antimikrobiyal madde için MİK değeri sabit bir değer değildir, çünkü kullanılan test organizmasının niteliği, inokulum miktarı, kültür besiyerinin içeriği, inkübasyon zamanı, sıcaklık ve pH gibi analiz koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir. Bununla beraber, tüm koşullar çok dikkatli bir şekilde standardize edildiğinde farklı antimikrobiyal maddeler karşılaştırılarak bahsi geçen organizmaya karşı en etkili olan antimikrobiyal madde belirlenebilir (Kim ve ark., 1995; Mann ve Markham, 1998; Şahin, 2006).

2.3.3.3 Minimum Bakterisidal Konsantrasyon

Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK), bir mikroorganizmayı tamamını yok eden en düşük antibiyotik konsantrasyondur. MBK, MİK testinden sonra uygulanır. MİK testi sonucunda üremenin olmadığı tüplerden örnekler alınarak katı besiyerine ekim yapılır. Katı besiyerinde üremenin olmadığı ilk besiyeri bize MBK değerini verir (Altuner, 2008).

2.4 Deneylerde kullanılan mikroorganizmalar

2.4.1 *Proteus mirabilis*

Enterobacteriaceae familyasına mensup olan *Proteus mirabilis*, gram negatif, pleomorfik, sporsuz, kapsülsüz ve çok hareketlidirler. Genellikle insan barsak florasında, kanalizasyon sularında ve kirli sularda bulunurlar. Üriner sistem enfeksiyonları başta olmak üzere birçok hastalığa sebep olurlar. Yaralarda

enfeksiyonlar, organ apseleri, pnömoni ve septisem olgularından izole edilirler (Kurtoğlu vd., 2008).

2.4.2 *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Escherichia coli,* anaerob ve gram negatif bir bakteridir. Genellikle insan barsaklarında yaşar. Gastrointestinal sistemde bol miktarda bulunurlar ve bakteriyel enfeksiyon, neonatal menenjit, üriner sistem enfeksiyonu ve gastroenterite neden olmaktadır (Altuner, 2008).

2.4.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasına mensup, gram pozitif bir bakteri olup kok şeklindedir. İnsan derisi ve mukozasında koloni oluşturabilen bir bakteridir. İnsan vücuduna girdiği takdirde hastalık yapabilmektedir. *Staphylococcus aureus* cilt kabarıklığı, impetigo, yanık, selülit, çıban, haşlanmış deri sendromu, apseler gibi hafif deri enfeksiyonlarının yanı sıra, pnömoni, menenjit, osteomiyelit, toksik şok sendromu ve septisemi gibi ciddi hastalıklara da neden olabilmektedir (Altuner, 2008).

2.4.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonaceae familyasına mensup olan bu bakteri türü, toprak ve sularda yoğun olarak bulunmaktadırlar. *Pseudomonas aeruginosa,* gram negatif, aerobik, polar flagellasıyla hareket edebilen çubuk şeklindedir. Kapsül ve sporsuzdurlar. Aerobik olduklarından dolayı gıdalarda okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Özellikle soğukta saklanan süt, et, yumurta ve deniz ürünlerinin bozulmasındaki başlıca etkili bakteri türüdür. *Pseudomonas aeruginosa*, fırsatçı patojen özellikte olması nedeniyle çeşitli hastalıkların oluşmasında başlıca etkendir. İdrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, tanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit, osteomiyelit gibi hastalıklardan izole edilebilmektedirler (Şen ve Halkman, 2006).

2.4.5 *Candida albicans*

Candida albicans, Cryptococcaceae familyasına mensup bir maya türüdür. Doğal kaynağı insan olup toprakta da bulunabilir. *Candida albicans,* insanlarda oral ve genital bölgelerde enfeksiyonlar oluşturan bir maya türüdür. Hastanelerden bulaşan mantar enfeksiyonların etkenidir. İnsanın barsak florasında bulunur. Hiçbir hastalığa neden

olmadan ağız, barsak, vajina, üst solunum yolu ve deri florasında bulunabilirler (Altuner, 2008; Aydın, 2004).

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

Çalışmamızda kullanılan *Ballota macrodonta* ve *Sideritis phlomoides* bitkileri Niğde ili Çamardı ilçesi Mazmılı Dağı'ndan 1800-1900 m yükseklikler de haziran ve temmuz aylarında yapılan arazi çalışması ile toplanmış ve Niğde Üniversitesi Herbaryumunda Yrd. Doç. Dr. Ahmet SAVRAN tarafından teşhis edilmiştir.

3.1.1 Test organizmaları

Çalışmamızda kullanılan mikroorganizma kültürleri Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı kültür koleksiyonundan (RSHM) temin edilmiştir. Araştırmada, *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakteri suşları ve maya kültürü olarak *Candida albicans* ATCC 26231suşu kullanılmıştır.

3.1.2 Kullanılan çözücüler

Çizelge 3.1. Kullanılan Çözücüler

Kullanılan çözücüler	Marka
Etil alkol	Merck
Metil alkol	Merck
Distile su	-
Aseton	Merck
Kloroform	Merck

Tez çalışmasında bitki ekstraksiyonları için etil alkol, metil alkol, distile su, aseton ve kloroform çözücüleri kullanılmıştır.

3.1.3 Çalışma kültürleri ve besiyerleri

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı kültür koleksiyonundan temin edilen stok kültürler +4˚C muhafaza edilmiştir. Stok kültürlerden Mueller Hinton Broth (MHB) içeren tüplere ekim yapılarak çalışma kültürleri oluşturulmuştur. Disk difüzyon metoduyla inhibisyon zon çaplarını belirlemek için Mueller Hinton Agar (MHA), mayaların gelişmesi için ise Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılmıştır. Ayrıca

bakteriyel suşların minimal inhibisyon konsantrasyonlarını (MİK) belirlemek için MHB besiyeri kullanılmıştır.

3.2 Metod

3.2.1 Ekstrelerin hazırlanışı

Yapılan tez çalışmasında geleneksel ekstraksiyon yöntemleri arasında yer alan maserasyon (ıslatılıp yumuşatma) yöntemi kullanılmıştır. Bu işlemde, *Ballota macrodonta* bitkilerinin yaprakları, *Sideritis pholomoides* bitkilerinin ise çiçek ve yaprak kısımları ayıklanıp uygun koşullarda yıkanarak temizlendikten sonra oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutulan bitki kısımları mekanik parçalama ile havanda sıvı azot yardımıyla aseptik koşullarda toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki örneklerinden 0,2 gr 4 ml çözücü içerisinde 30˚C, 40˚C ve 50˚C'lerde sırasıyla 2, 3, 4 ve 5 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon süresi tamamlanan örnekler filtre (sartorius RC 0.45 µm) ile steril edilmiştir.

3.2.2 Mac Farland metoduna göre bakterilerin hücre yoğunluğunun belirlenmesi

Bakteri süspansiyonunun yoğunluğunun standardizasyonu işleminde, Mc Farland 1 standartına eşdeğer bulanıklık standardı laboratuarda hazırlanarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Mac Farland Standardı

Tüp No	A çözeltisi	B çözeltisi
1	0,1	9,9
2	0,2	9,8
3	0,3	9,7
4	0,4	9,6
5	0,5	9,5
6	0,6	9,4
7	0,7	9,3
8	0,8	9,2
9	0,9	9,1
10	1,0	9,0

Çizelgede belirtilen oranlarda A çözeltisi (%1,175 $BaCl_2$ $2H_2O$) ve B çözeltisi (0,36 NH_2SO_4'den %1 (v/v) çözeltisi) karıştırılarak 1'den 10'a kadar seri tüpler hazırlanmış, karışım sonucunda farklı bulanıklıklarda çözeltiler elde edilmiştir. Çalışmada

kullanılacak olan test mikroorganizmalar 5000 rpm'de 6 dakika santrifüj edildikten sonra üzerindeki süpernatant kısmı alınmıştır. Santrifüj sonunda tüpün alt kısmına çöken mikroorganizma üzerine %0,085'lik NaCl çözeltisi eklenerek istenilen bulanıklığa ulaşılmıştır.

3.2.3 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

3.2.3.1 Disk Difüzyon Yöntemi İle Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında çeşitli çözücülerle elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon ve minimal inhibisyon konsantrasyonu yöntemleri kullanılmıştır.

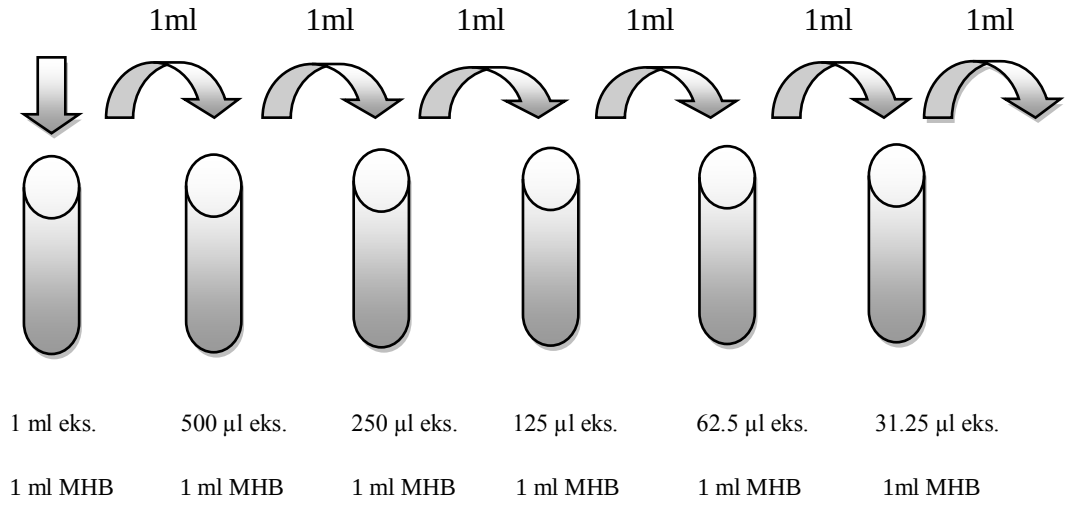
Çalışmada kullanılan bakteri suşları (*Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) MHB sıvı besiyeri ortamında 37°C'de 24 saat, maya (*Candida albicans* ATCC 26231) ise PDA katı besiyeri ortamında 30°C'de 48 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Bu süre sonunda 24 saatlik taze kültürlerden alınan test mikroorganizmalarının hücre yoğunluğu, 1 no'lu Mac Farland bulanıklığına göre ayarlandıktan sonra, 100 µl bakteri MHA besiyerine üzerine inoküle edilerek steril drigalski özesi ile homojen şekilde yayılmıştır.

Disk difüzyon yönteminde kullanılan disklerin (Whatman No:1) her biri 6 mm olacak şekilde hazırlanıp steril edilerek kullanılmıştır. Bu disklere hazırlanan bitki ekstraktları aseptik koşullarda 20 µl/disk emdirilerek bakteriyel kültür üzerine yerleştirilmiştir. Bakterilerin inokule edildiği plaklar 37°C'de 24 saat, mayaların inokule edildiği plaklar ise 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Belirtilen süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri üç paralel olarak çalışılmıştır.

3.2.3.2 Minimal İnhibisyon Konsatrasyonu ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Disk difüzyon yöntemi ile en büyük zon çapını oluşturan ekstrakt örnekleri minimal inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi için seçilmiştir. Minimal inhibisyon konsantrasyonu yapılırken ekstraktlar MHB besiyeri ile seri olarak seyreltilmiş ve

bakteriyel üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon minimal inhibisyon konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Ekstraksiyonların Muller Hinton Broth (MHB) içindeki seyreltme oranları

Böylece **1.** tüpte %50, **2.** tüpte %25, **3.** tüpte %12,5, **4.** tüpte %6,25, **5.** tüpte %3,12, **6.** tüpte %1,56, **7.** tüpte ise %0,78'lik ekstraksiyon konsantrasyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bu sistemde her bir tüpe 10 µl bakteri örneği inoküle edilerek 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üremenin kaçıncı tüpten itibaren başladığı belirlenerek bitki ekstraktlarının MİK değerleri yüzde derişim cinsinden belirlenmiştir. Çalışmada deneyler üç paralel olarak yapılmıştır.

3.2.4 Antibiyotiklerin test bakterilerinin üzerine etkilerinin araştırılması

Test bakterilerinin ekimi için MHA besiyeri hazırlanmış ve 100 µl aktif kültürlerden inoküle edilerek drigalski özesi yardımıyla homojen bir şekilde yayılmaları sağlanmıştır. Ekim yapılmış besiyeri üzerine test edilecek Seftriakson (CRO30), Kloramfenikol (C30), Rifampin (RA5), Streptomisin (S10) ve Tetrasiklin (TE30) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda meydana gelen zonlar dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Ayrıca tez çalışmasında kullanılan çözücülerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadıkları da tez çalışmasında anlatılan yöntem ile araştırılmıştır. Sonuç olarak tez çalışmasında kullanılan çözülerin (etil alkol, metil alkol, distile su, aseton ve kloroform) tek başına hiçbir antimikrobiyal aktivite göstemedikleri belirlenmiştir.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 Disk Difüzyon Testi Sonuçları

Gerçekleştirilen tez çalışmasında Bölüm 3.2.3'de anlatılan yolla elde edilen bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi inhibisyon zon çaplarına göre tespit edilmiştir. Bu amaçla ekstraktlar disk difüzyon yöntemi kullanılarak zon çapları belirlenmiştir.

4.1.1 *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Yapılan tez çalışmasında *Ballota macrodonta* bitki yaprakları ile farklı çözücü ve saatlerle hazırlanmış ekstraktların *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 26231 suşları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen veriler ilgili çizelgelerde verilmiştir.

4.1.1.1 30°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Yapılan tez çalışmasında antimikrobiyal aktivite *Ballota macrodonta* bitki yaprakları ile 30°C sıcaklıkta farklı süre ve çözücüler ile elde edilen ekstraktların disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zon çaplarına göre belirlenmiş ve en yüksek aktivite etanolün 5 saatlik ekstresinde *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı 11,28 mm inhibisyon zonu ile tespit edilmiştir (Fotoğraf 4.1.a, Çizelge 4.1.).

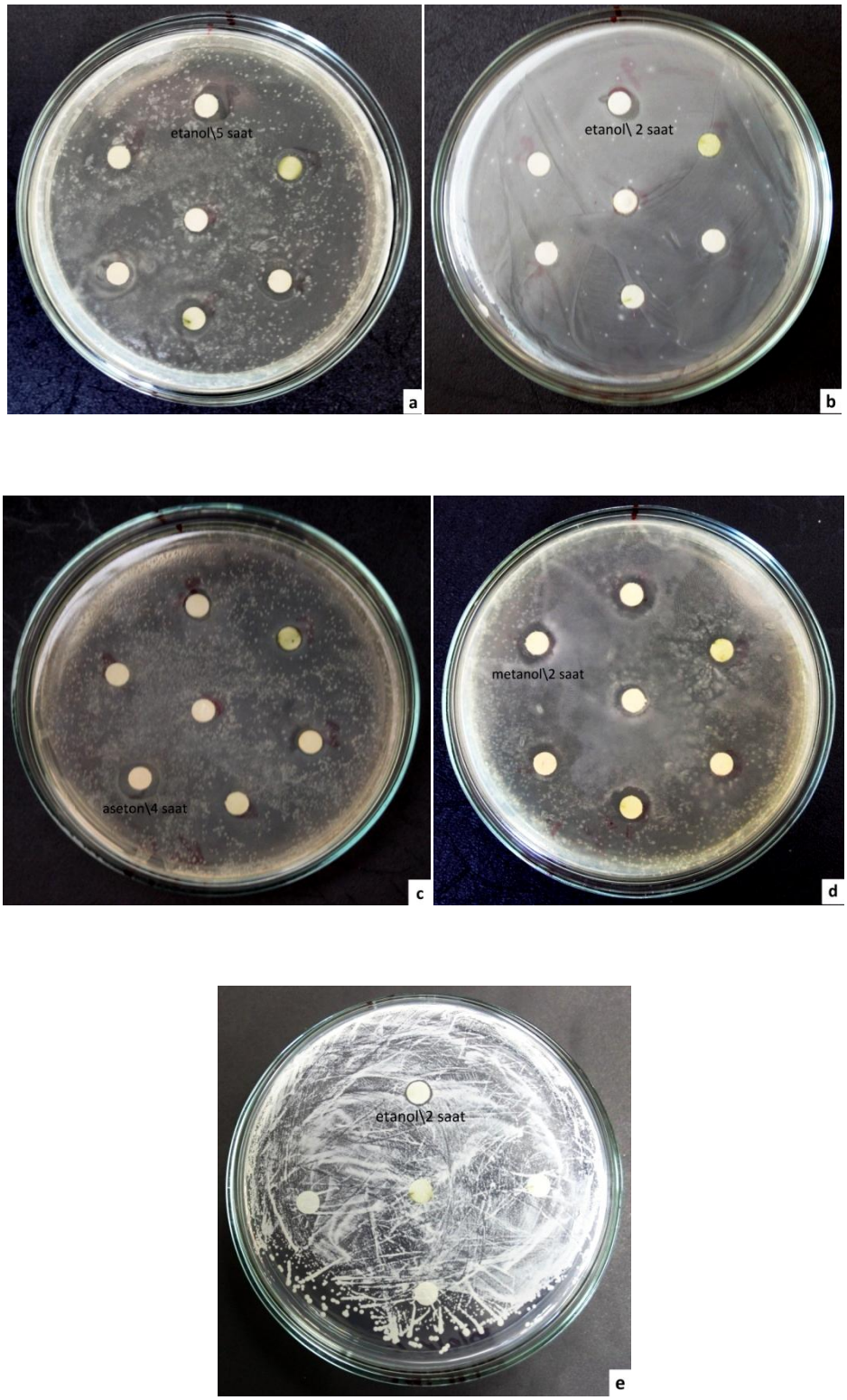
Çizelge 4.1. 'de görüldüğü üzere *P.aeroginosa*'ya karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite 2 saatte etanol ile yapılan ekstraktın 9,28 mm inhibisyon zonu ile (Fotoğraf 4.1.b), *E.coli*'ye karşı ise aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın 8,6 mm inhibisyon zonu ile belirlenmiştir (Fotoğraf 4.1.c).

Metanol ile 2 saat sürede yapılan ekstraktın 11,27 mm zon çapı ile *S.aureus* bakterisi üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Fotoğraf 4.1. d). *C.albicans'* a karşı sadece etanol ekstraktları üremeyi durdurucu etki göstermiş ve en yüksek aktivite 2 saat sürede etanolle yapılan ekstraksiyonda 6,7 mm inhibisyon zon çapı ile ölçülmüştür (Fotoğraf 4.2.b, Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. *Ballota macrodonta* yapraklarından 30°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(30°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	9,47	-	-	**11,28**
	Metanol	6,49	6,51	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	6,63	-	-	-
	Aseton	7,71	-	-	-
	Kloroform	7,28	-	-	6,78
	Etanol	7,92	7,59	7,67	7,4
	Metanol	-	-	-	6,37
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	**8,6**	-
	Kloroform	7,21	7,31	-	6,49
	Etanol	8,76	-	10,35	9,2
	Metanol	**11,27**	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	10,45	-	-	-
	Kloroform	7,22	-	7,21	-
	Etanol	**9,28**	8,25	8,36	7,72
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	**6,7**	6,34	6,23	6,51
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.1. *Ballota macrodonta'* nın (a) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) inhibisyon zonu (d) metanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*' a karşı oluşturduğu inhibisyon

4.1.1.2 40°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

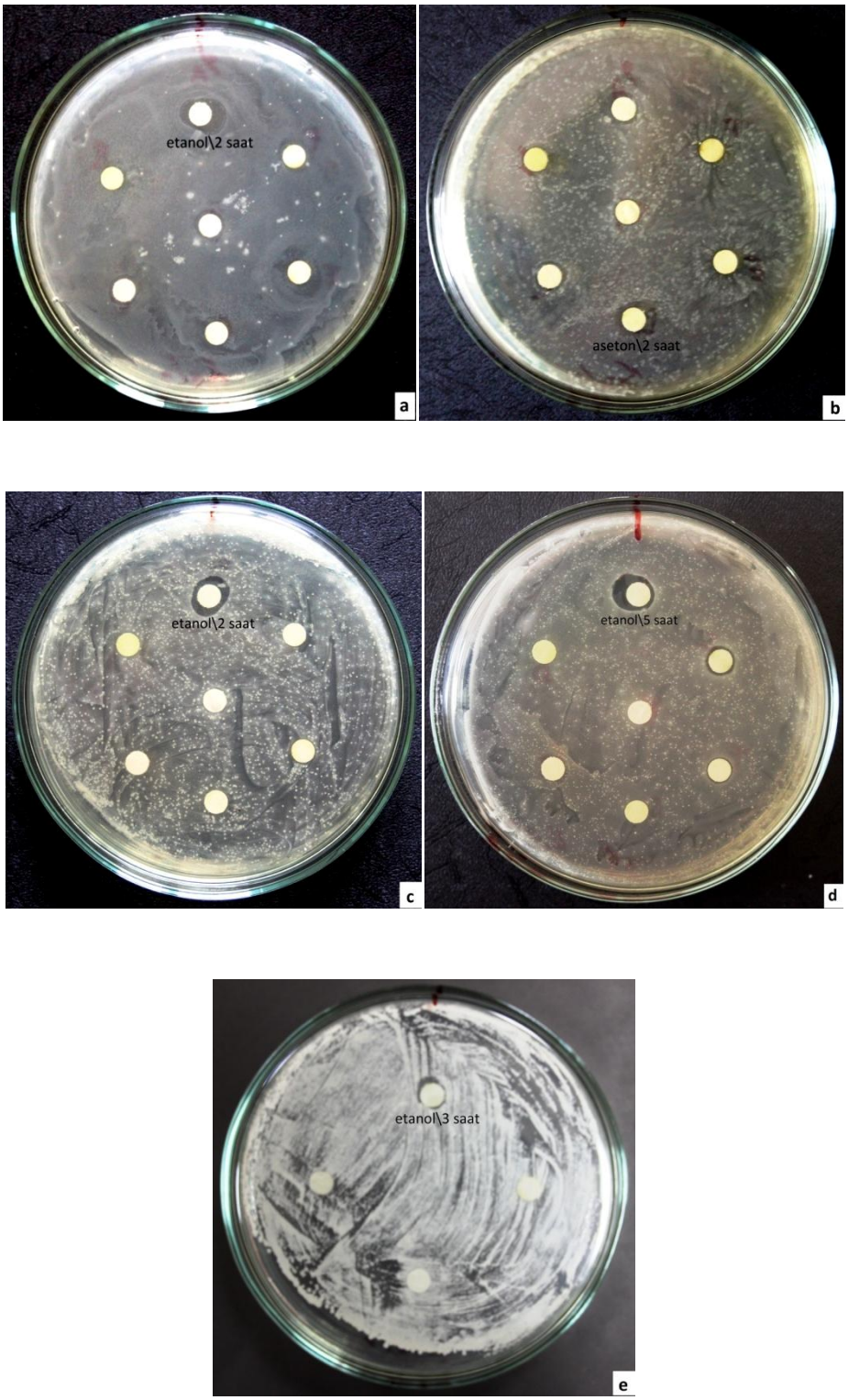
Ballota macrodonta'ya ait yaprak örnekleriyle 40°C'de yapılan ekstraksiyonlardan etanol ile 2 saat sürede yapılan ekstraktın 10,18 mm zon çapı ile *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Fotoğraf 4.2.a, Çizelge 4.2.).

Yapılan çalışmada aseton ile 2, etanol ile 2, 3 ve 5 saat sürelerde elde edilen ekstraktların sırasıyla *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *P.mirabilis* 235, *C.albicans* ATCC 26231 suşları üzerinde 9,53 mm (Fotoğraf 4.2.b), 9,09 mm (Fotoğraf 4.2.c), 9,91 mm (Fotoğraf 4.2.d), 8,31 mm (Fotoğraf 4.2.e) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. *Ballota macrodonta* yapraklarından 40°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(40°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	9,17	9,23	8,39	**9,91**
	Metanol	7,27	-	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	7,10	6,94	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	6,91	-	7,06
	Etanol	**9,09**	8,47	8,25	-
	Metanol	8,84	-	6,30	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	8,22	7,75	-	-
	Aseton	8,40	8,05	6,94	-
	Kloroform	6,23	6,78	7,67	-
	Etanol	8,60	7,37	7,25	6,44
	Metanol	-	-	-	6,77
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	7,84	-	7,26
	Aseton	**9,53**	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	**10,18**	9,35	9,20	9,82
	Metanol	7,28	-	-	7,07
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	8,64	-	-	8,42
	Aseton	7,59	8,06	8,18	7,79
	Kloroform	-	6,68	-	7,66
	Etanol	6,75	**8,31**	6,12	6,95
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.2. *Ballota macrodonta'* nın (a) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) aseton ile 2 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *E.coli'* e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.1.1.3 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

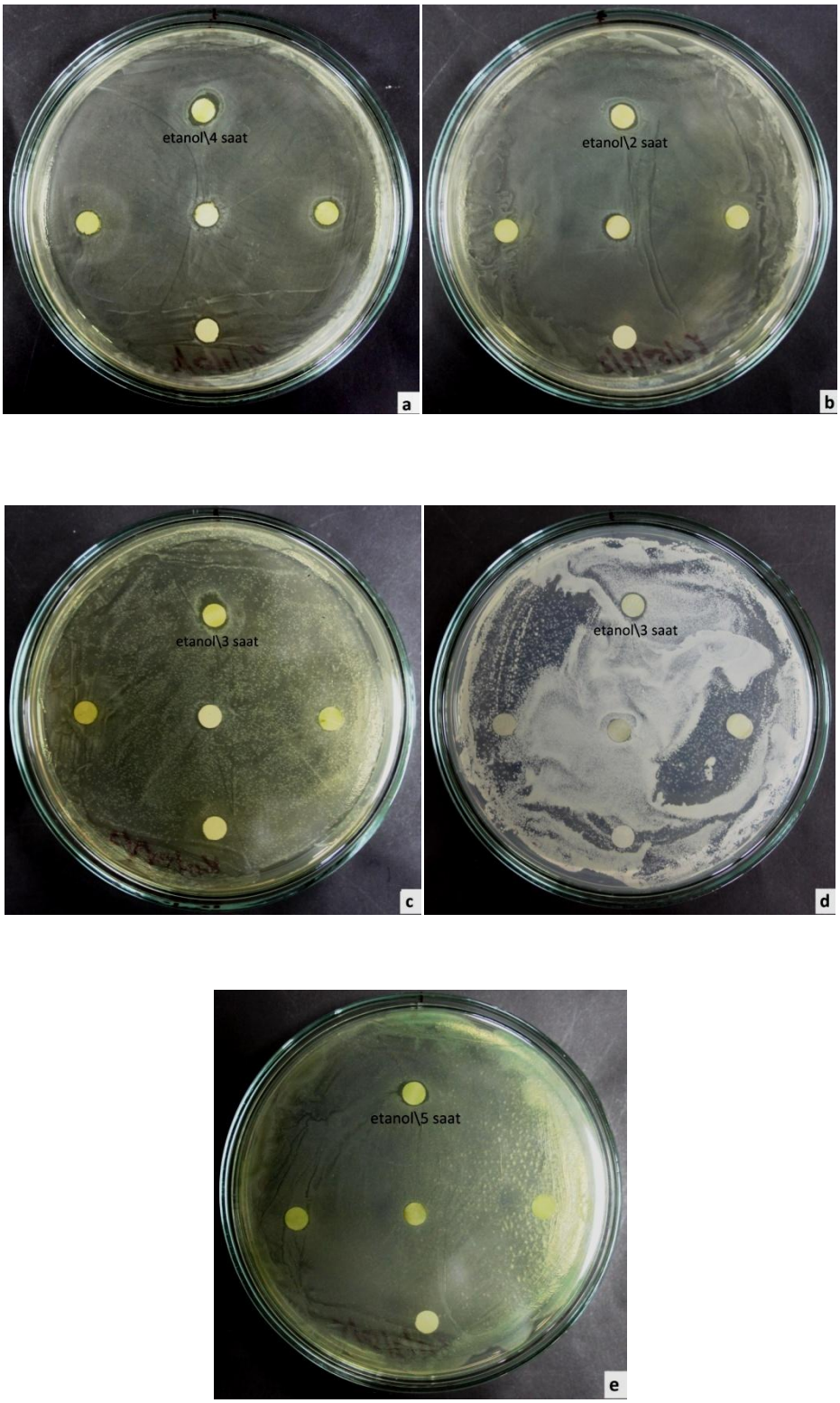
Yapılan çalışmada 50°C'de *Ballota macrodonta*'ya ait yaprak örnekleriyle elde edilen ekstrelerde en yüksek antimikrobiyal aktivite 4 saatlik sürede etanol ile yapılan ekstraktta 8,18 mm zon çapı ile *P. mirabilis* 235 suşuna karşı belirlenmiştir (Fotoğraf 4.3.a, Çizelge 4.3.).

Etanol çözücüsü ile 2, 3, 5 saatte yapılan ekstraktlar, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *C.albicans* ATCC ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşlarına karşı sırasıyla 8,09 mm (Fotoğraf 4.3.b), 7,92 mm (Fotoğraf 4.3.c), 7,08 mm (Fotoğraf 4.3.d), 7,33 mm (Fotoğraf 4.3.e) zon çapları ile antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Çizelge 4.3. *Ballota macrodonta* yapraklarından 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(50°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	7,15	7,19	**8,18**	6,56
	Metanol	6,92	6,75	6,75	6,97
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	7,29	7,01	6,75	6,58
	Etanol	**8,09**	8,01	6,99	7,18
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	7,75	6,93	7,45	7,12
	Etanol	6,77	**7,92**	-	-
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	6,78	-	-	-
	Etanol	7,31	7,27	7,23	**7,33**
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	-	**7,08**	6,55	-
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.3. *Ballota macrodonta'* nın (a) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktının *P.mirabilis'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktının *E.coli'* e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktının *S.aureus'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktının *C.albicans'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktının *P.aeruginosa'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.1.2 *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Tez çalışmasında *Sideritis phlomoides* çiçeğine ait farklı çözücü ve saatlerde elde edilen ekstraktların test organizmalarına karşı inhibisyon zon çapı ölçülerek antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiş ve sonuçlar ilgili çizelgelerde verilmiştir.

4.1.2.1 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Tez çalışmasında, 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktlarının gösterdiği en yüksek aktivite *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı etanol ile yapılan 5 saatlik ektraksiyonun gösterdiği 9,32 mm inhibisyon zonudur (Fotoğraf 4.4.a, Çizelge 4.4.).

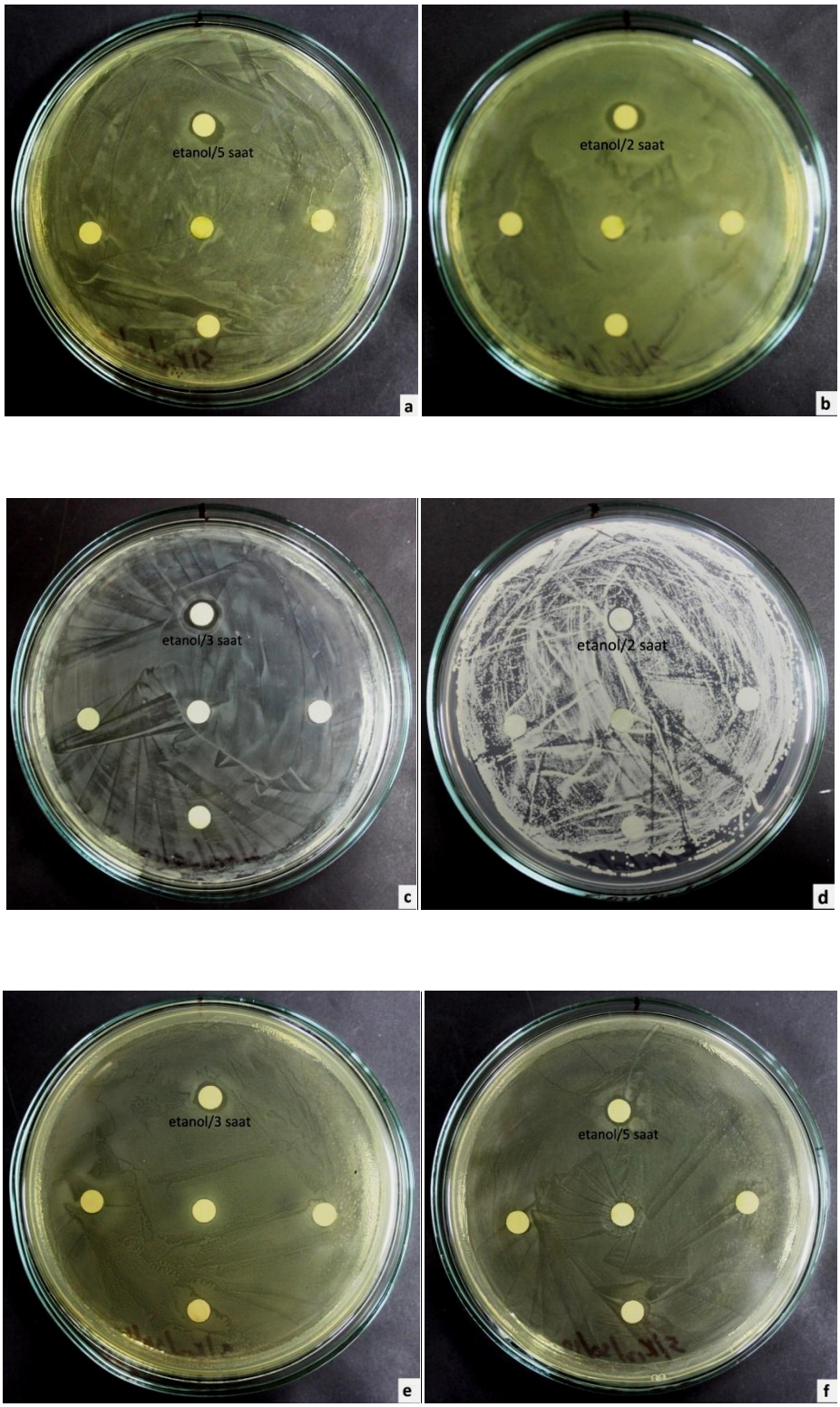
Çizelge 4.4. 'de görüleceği üzere *E.coli*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite 2 saatte etanol ile yapılan ekstraktın 9,28 mm (Fotoğraf 4.4.b), *P.aeroginosa*'ya karşı ise etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın 7,6 mm inhibisyon zonu ile belirlenmiştir (Fotoğraf 4.4.c).

C.albicans' a karşı farklı çözücüler ile yapılan ekstrasyonlardan sadece etanol ile 2 ve 3 saat sürelerde elde edilen ekstraktlar 6,61 mm (Fotoğraf 4.4.d) ve 6,27 mm inhibisyon zonu ile etki göstermiştir. *S.aureus* ATCC 25923 suşuna karşı ise etanol ile yapılan ekstraktların 3 ve 5 saat sürede sırasıyla 7,55 mm (Fotoğraf 4.4.e) ve 7,54 mm (Fotoğraf 4.4.f) inhibisyon zonu ile benzer etki gösterdiği bulunmuştur.

Çizelge 4.4. *Sideritis phlomoides* çiçeklerinden 30°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(30°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	7,74	8,62	8,09	**9,32**
	Metanol	-	-	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	**8,43**	7,38	7,28	6,78
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	6,99	**7,55**	7,17	**7,54**
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	7,4	**7,6**	6,8	7,08
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	**6,61**	6,27	-	-
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.4. *Sideritis phlomoides*' nin (a) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktının *P.mirabilis*' e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktının *E.coli*'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *P.aeroginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e-f) etanol ile 3 ve 5 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus'* a karşı oluşturduğu benzer inhibisyon zonu

4.1.2.2 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

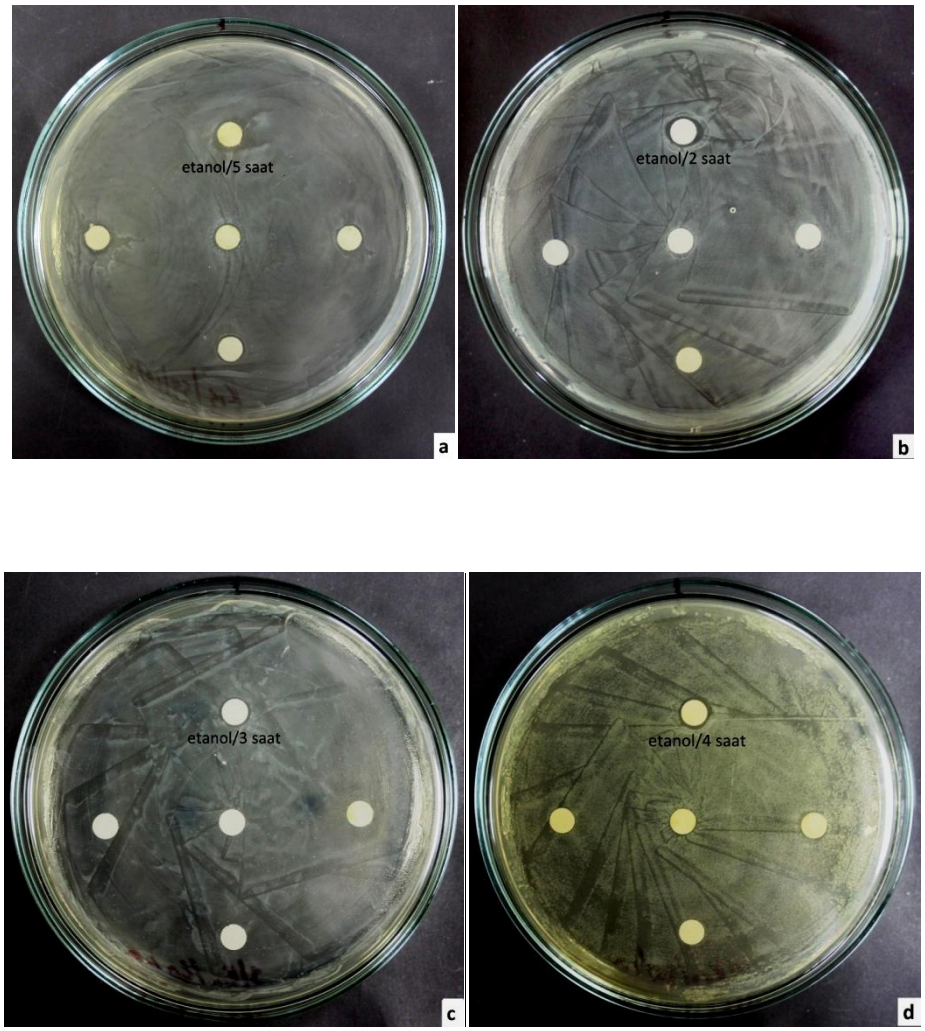
Sideritis phlomoides bitkisine ait çiçek örnekleriyle 40°C'de yapılan ekstraksiyonlardan etanol ile 5 saat sürede yapılan ekstraktın 9,23 mm zon çapı ile *P.mirabilis* 235 suşuna karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Fotoğraf 4.5.a, Çizelge 4.5.).

Yapılan çalışmada, etanol ile 2, 3 ve 4 saatte elde edilen ekstraktların sırasıyla *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922 ve *S.aureus* ATCC 25923 suşları üzerinde 7,7 mm (Fotoğraf 4.5.b), 6,7 mm (Fotoğraf 4.5.c), 7,13 mm (Fotoğraf 4.5.d) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *C.albicans* ATCC 26231 suşu üzerinde ise inhibisyon zonu oluşturmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. *Sideritis phlomoides* çiçeklerinden 40°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(40°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	6,5	6,57	7,26	**9,23**
	Metanol	-	-	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	6,52	**6,7**	6,38	6,52
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	6,22	6,61	**7,13**	-
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	**7,7**	7,06	6,61	7,15
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	6,62
	Etanol	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.5. *Sideritis phlomoides*' nin (a) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*' e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa'* ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *E.coli* 'ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.1.2.3 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

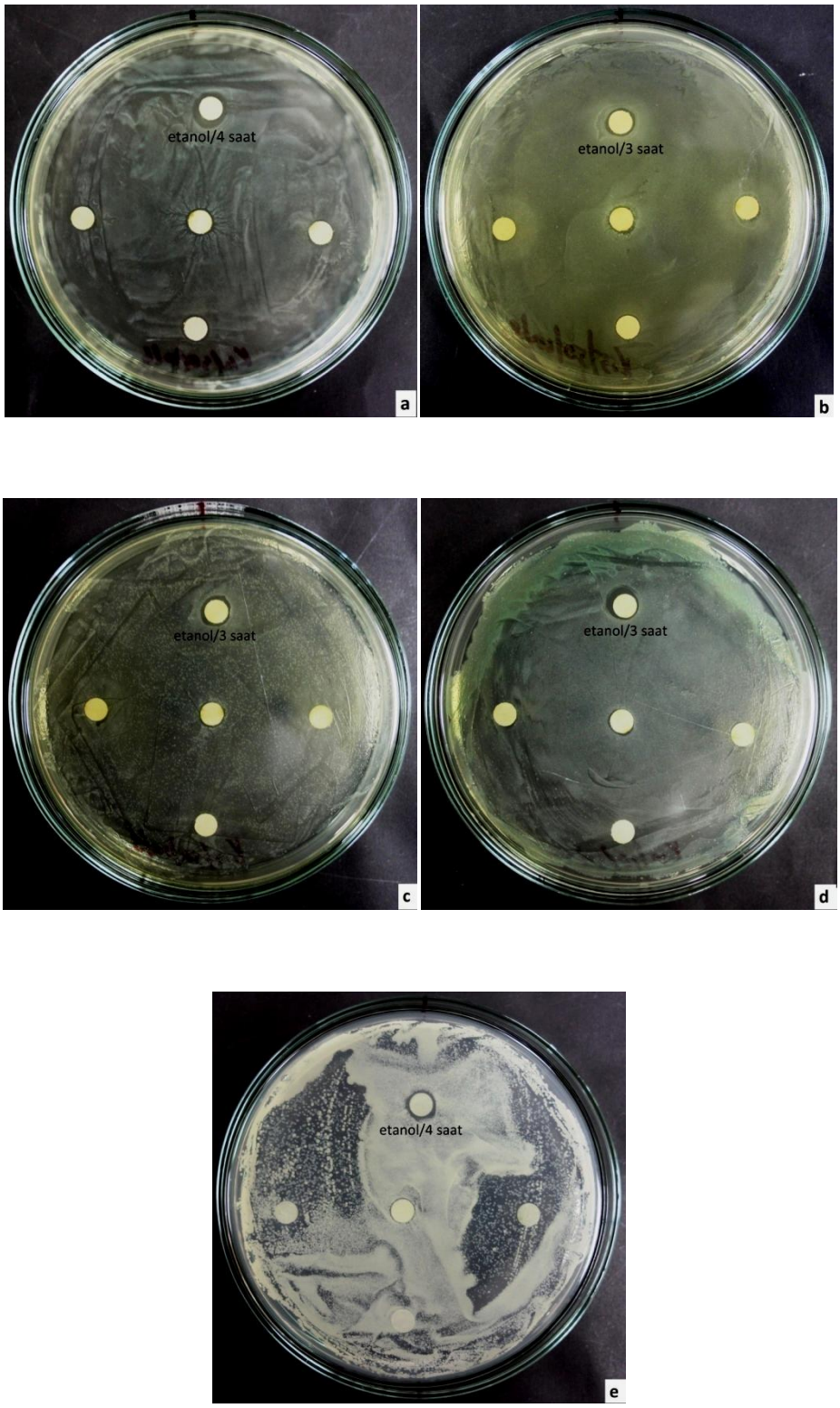
Sideritis phlomoides' e ait çiçek örnekleriyle 50°C'de yapılan ekstraksiyonlarda en yüksek aktiviteyi 4 saatlik sürede etanol ile elde edilen ekstrakt *E.coli* ATCC 25922 suşuna karşı 8,62 mm inhibisyon zon çapı ile göstermiştir (Fotoğraf 4.6.a, Çizelge 4.6.).

Yapılan çalışmada, etanol ile 3 saatte elde edilen ekstraktların sırasıyla *P.mirabilis* 235, *S.aureus* ATCC 25923, *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşları üzerinde 7,52 mm (Fotoğraf 4.6.b), 7,85 mm (Fotoğraf 4.6.c), 7,12 mm (Fotoğraf 4.6.d) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *C.albicans* ATCC 26231 suşuna karşı sadece etanolun 4 saatlik ekstraksiyonu 7,47 mm inhibisyon zon çapı ile etki göstermiştir (Fotoğraf 4.6.e, Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *Sideritis phlomoides* çiçeklerinden 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(50°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	6,79	**7,52**	7,48	6,66
	Metanol	6,70	7,02	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	6,44	-	-	-
	Aseton	6,57	-	-	-
	Kloroform	6,85	6,67	-	-
	Etanol	7,57	7,70	**8,62**	7,00
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	6,83	6,44	-	-
	Etanol	7,56	**7,85**	7,22	6,73
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	6,70	**7,12**	6,49	6,80
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	6,76	6,70	6,62	-
	Etanol	-	-	**7,47**	-
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.6. *Sideritis phlomoides*' nin (a) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın E.*coli*' ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*' e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 3saatte yapılan ekstraktın *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans'* a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.1.3 *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Yapılan tez çalışmasında çizelgelerde *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak örnekleriyle, çeşitli sürelerde farklı çözücüler ile elde edilen ekstraktların test bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonuçları verilmiştir.

4.1.3.1 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Yapılan tez çalışmasında elde edilen veriler ışığında hazırlanan Çizelge 4.7.'de görüleceği üzere 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* yapraklarından hazırlanan ekstraktlar arasında en yüksek antimikrobiyal aktivite *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı asetonun 4 saatlik ekstraksiyon ile elde edilen 8,23 mm'lik (Fotoğraf 4.7.a) inhibisyon zonu ile tespit edilmiştir.

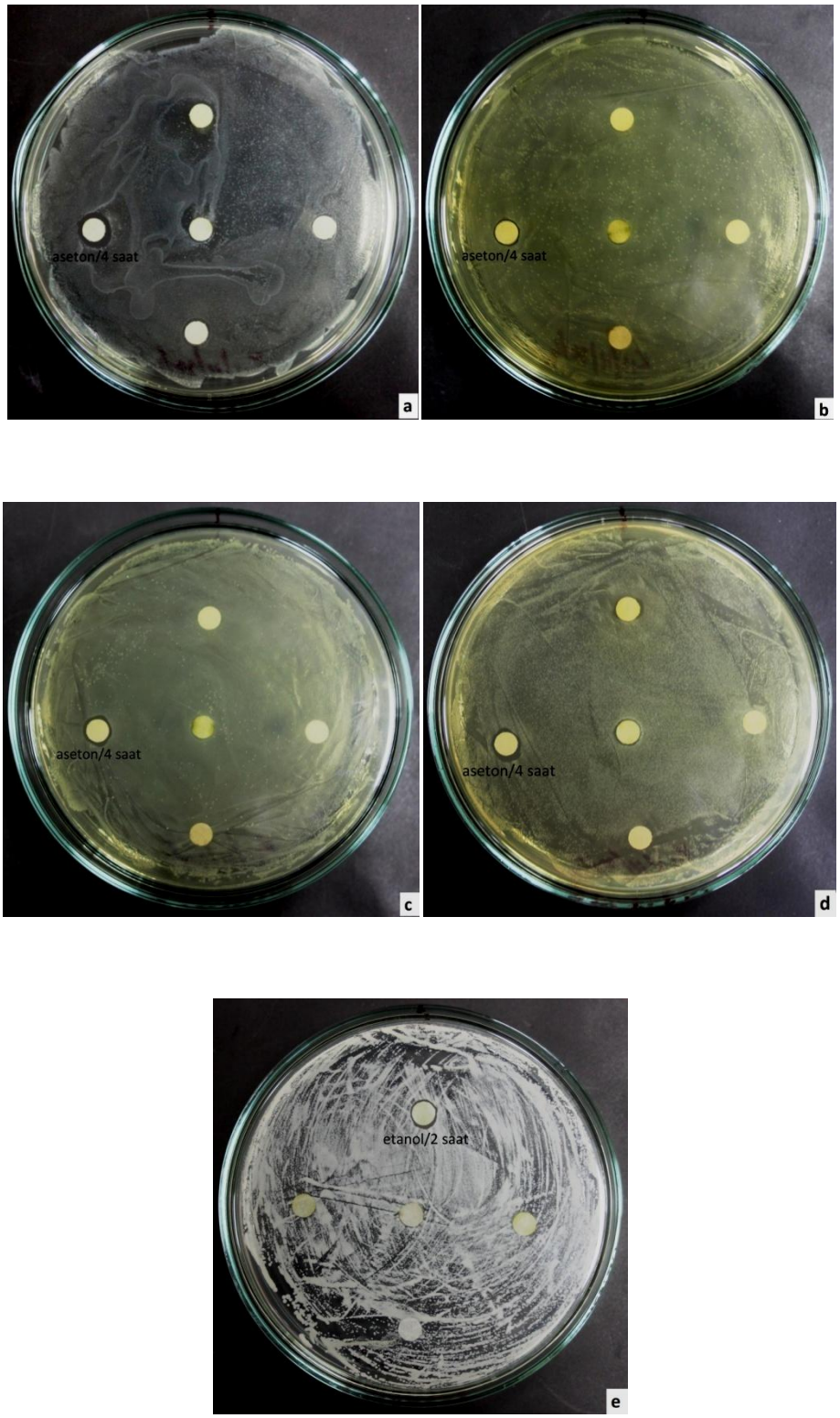
Aseton ile 4 saat sürede yapılan ekstraktların *P.mirabilis* 235 ve *S.aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı 8,2 mm (Fotoğraf 4.7.c-d) inhibisyon zonu ile benzer etki gösterdiği belirlenirken, *E.coli* ATCC 25922 suşuna karşı ise 7,27 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüştür (Fotoğraf 4.7.b, Çizelge 4.7.)

C.albicans ATCC 26231suşuna karşı 2 saatlik sürede etanol ile yapılan ekstraktın 6,61 mm zon çapı oluşturduğu bulunmuştur (Fotoğraf 4.7.e, Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. *Sideritis phlomoides* yapraklarından 30°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmlar	**(30°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	7,19	6,99	6,43	6,97
	Metanol	-	-	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	**8,20**	-
	Kloroform	7,03	6,83	6,80	7,07
	Etanol	6,44	7,04	6,70	6,71
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	**7,27**	-
	Kloroform	-	6,84	-	6,63
	Etanol	7,58	7,13	7,34	7,92
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	**8,20**	-
	Kloroform	6,55	6,95	6,75	7,01
	Etanol	7,21	8,00	-	7,35
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	**8,23**	-
	Kloroform	6,47	6,29	6,80	6,52
	Etanol	**6,61**	6,27	-	-
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.7. *Sideritis phlomoides*' nin (a) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *P.aeroginosa'*ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *E.coli*' ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c-d) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın sırasıyla *P.mirabilis* ve *S.aureus'* a karşı oluşturduğu benzer inhibisyon zonu (e) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.1.3.2 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

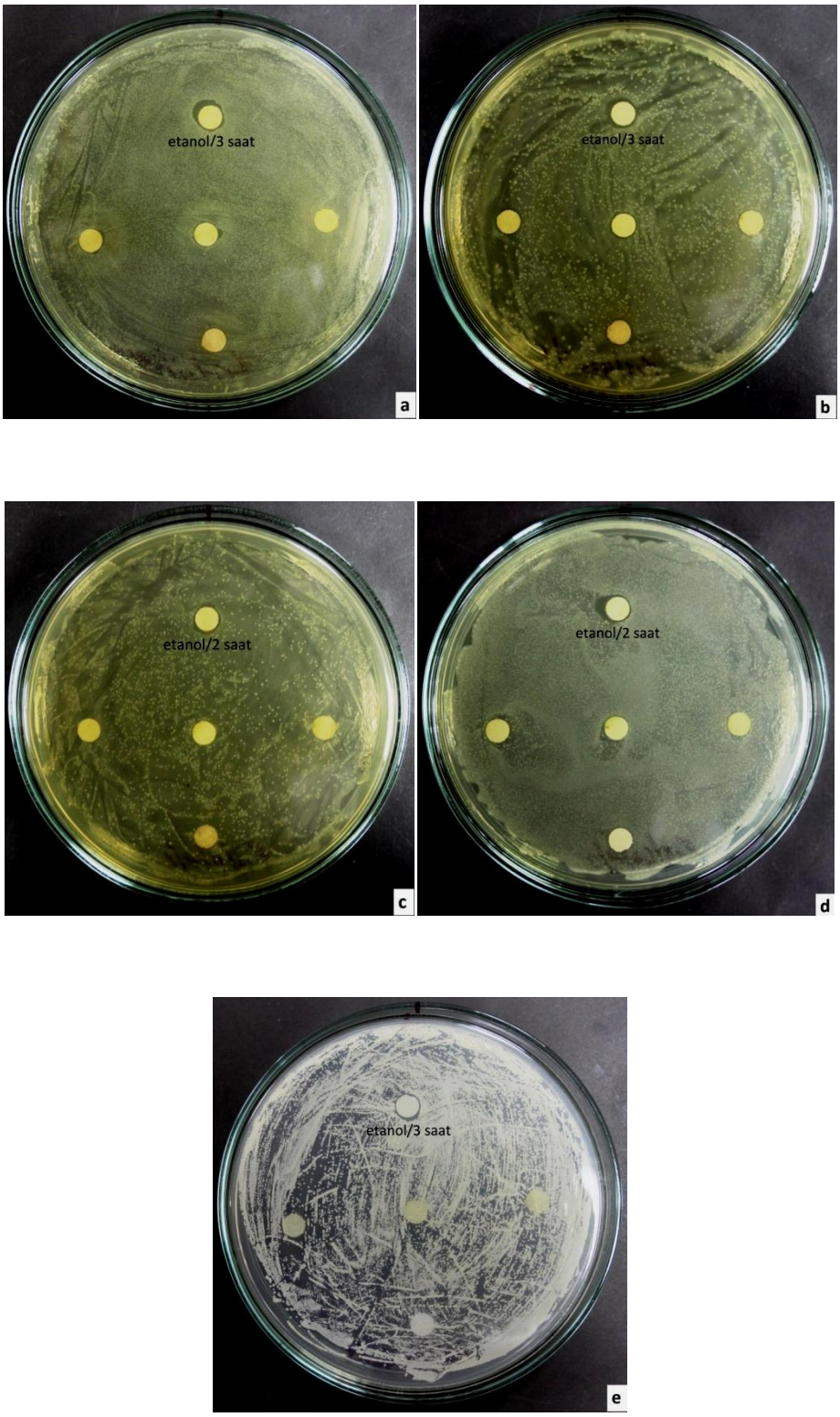
Sideritis phlomoides bitkisine ait yaprak örnekleriyle 40°C'de yapılan ekstraksiyonlardan etanol ile 3 saat sürede yapılan ekstraktın 8,14 mm (Fotoğraf 4.8.a) zon çapı ile *S.aureus* ATCC 25923 suşuna karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Etanol ile 2 saatlik sürede yapılan ekstraktların, *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşlarına karşı sırasıyla 7,67 mm ve 7,45 mm (Fotoğraf 4.8.c-d) inhibisyon zon çapı oluştururken, 3 saatlik sürede elde edilen ekstraktın *P. mirabilis* 235 suşuna karşı 7,74 mm (Fotoğraf 4.8.b) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. *C.albicans* ATCC 26231suşuna karşı etanolun 5 saatlik ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrakt 6,82 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur (Fotoğraf 4.8.e, Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. *Sideritis phlomoides* yapraklarından 40°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmlar	**(40°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	6,82	**7,74**	6,53	7,55
	Metanol	-	-	-	-
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	6,98	7,15
	Etanol	**7,67**	7,09	7,37	6,85
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	7,57	**8,14**	7,69	6,98
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	6,80	7,03	-
	Etanol	**7,45**	6,88	6,70	6,98
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	-	**6,89**	-	6,82
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform		-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.8. *Sideritis phlomoides*' nin (a-b) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın sırasıyla *S.aureus* ve *P.mirabilis*' e karşı oluşturduğu benzer inhibisyon zonu (c-d) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın sırasıyla *E.coli* ve *P.aeruginosa*' ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (e) etanol ile 2 saatte yapılan ekstraktın *C.albicans*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.1.3.3 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların antimikrobiyal aktivite değerleri

Yapılan tez çalışmasında, *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak örnekleriyle 50°C'de yapılan ekstraksiyonlardan en yüksek aktivite 4 saatlik sürede aseton ile 8,32 mm zon çapı ile *P.mirabilis* 235 suşuna karşı belirlenmiştir (Fotoğraf 4.9.a, Çizelge 4.9.).

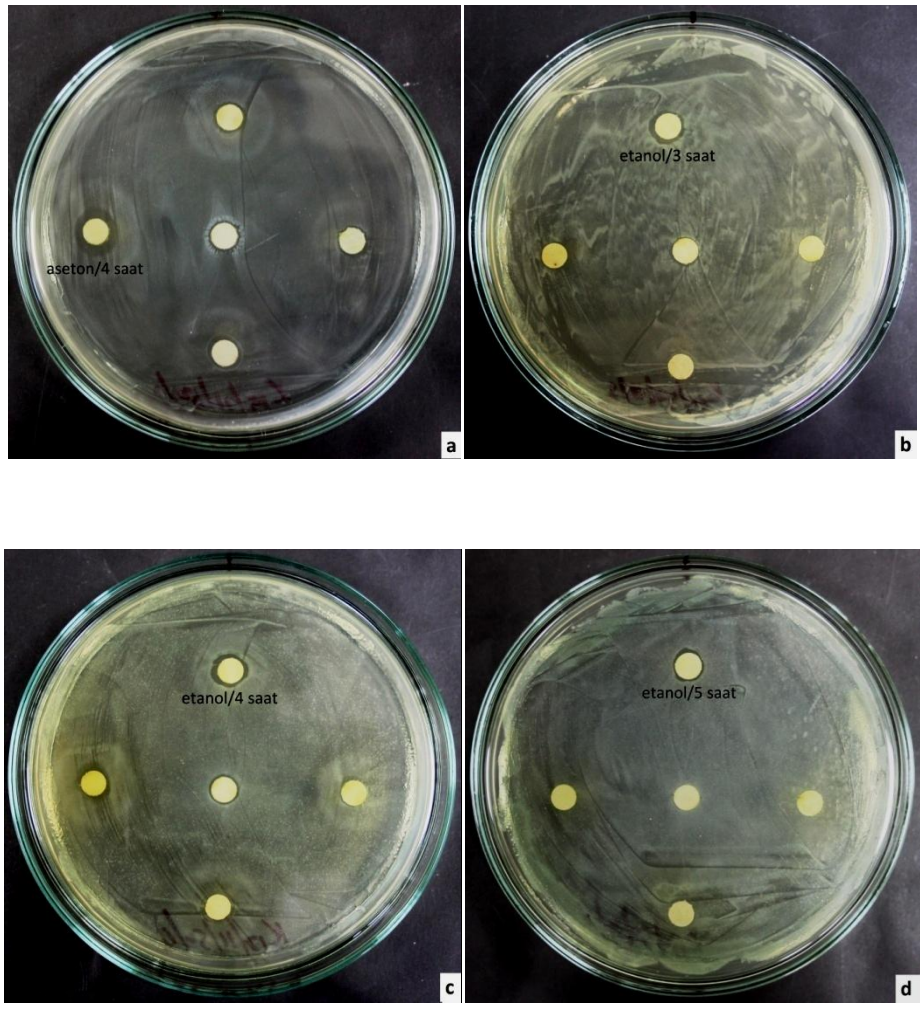
Çizelge 4.9.'da görüldüğü üzere etanol ile 3, 4 ve 5 saatte elde edilen ekstraktların sırasıyla *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşları üzerinde 7,43 mm (Fotoğraf 4.9.b), 7,67 mm (Fotoğraf 4.9.c) ve 7,48 mm'lik (Fotoğraf 4.9.d) inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

C.albicans ATCC 26231 suşu üzerinde ise hiçbir ekstraksiyon inhibisyon zonu oluşturmamıştır.

Çizelge 4.9. *Sideritis phlomoides* yapraklarından 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstrelerin bazı bakteriler ve maya üzerine antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	**(50°C)**	**2 h**	**3 h**	**4 h**	**5 h**
	Etanol	8,11	7,23	7,93	6,96
	Metanol	6,63	6,67	6,69	6,56
***P.mirabilis* 235**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	**8,32**	8,12	8,16	7,73
	Kloroform	6,49	7,66	6,80	6,30
	Etanol	6,50	**7,43**	7,03	7,38
	Metanol	-	-	-	-
***E.coli* ATCC 25922**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	6,83	7,12	-	7,43
	Etanol	7,34	7,49	**7,67**	6,74
	Metanol	-	-	-	-
***S.aureus* ATCC 25923**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	7,13	6,89	7,52
	Kloroform	-	6,77	6,67	6,48
	Etanol	-	7,04	6,45	**7,48**
	Metanol	-	-	-	-
***P.aeruginosa* ATCC 27853**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-
	Etanol	-	-	-	-
	Metanol	-	-	-	-
***C.albicans* ATCC 26231**	Distile su	-	-	-	-
	Aseton	-	-	-	-
	Kloroform	-	-	-	-

(-) : İnhibisyon yok



Fotoğraf 4.9. *Sideritis phlomoides*' nin (a) aseton ile 4 saatte yapılan ekstraktın *P.mirabilis*' e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (b) etanol ile 3 saatte yapılan ekstraktın *E.coli'* ye karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (c) etanol ile 4 saatte yapılan ekstraktın *S.aureus*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu (d) etanol ile 5 saatte yapılan ekstraktın *P.*aeruginosa'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.2 Minimal İnhibisyon Konsantrasyon Sonuçları

Yapılan tez çalışmasında bitki örneklerinin farklı süre ve sıcaklıklarda değişik çözücüler kullanılarak elde edilen sonuçlar yukarıda verilmiştir. Bu sonuçlara göre disk difüzyon metodu ile en büyük inhibisyon zonu oluşturan ekstraktların minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) tespit edilmiştir. MİK değerleri bakteriyel gelişmenin olmadığı en düşük ekstrakt oranı temel alınarak belirlenmiştir. Yapılan denemelerde elde edilen sonuçlar ilgili çizelgelerde verilmiştir.

4.2.1 30ºC sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri

Yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8.'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre etanol ile 2 ve 5, aseton ile 4, metanol ile 2 saatte elde edilen ekstraktlar sırasıyla *P.aeruginosa, P.mirabilis* 235, *E.coli* ve *S.aureus* suşlarının gelişmesini 62,5, 62,5, 125 ve 125 µl/ml konsantrasyonlarda durdurmuştur.

Çizelge 4.10. 30ºC sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	etanol/5 sa	62,5
E.coli ATCC 25922	aseton/4 sa	125
S.aureus ATCC 25923	metanol/2 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/2 sa	62,5

4.2.2 40ºC sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri

Yapılan çalışmada *Ballota macrodonta* bitkisine ait yaprak örnekleriyle 40°C'de yapılan ekstraksiyonların MİK değerlerine göre, etanol ile 2 saat sürede yapılan ekstrakiyonlar *E.coli* ve *P.aeruginosa* suşlarına karşı 62,5 µl/ml konsantrasyonda, yine etanol ile 5 saat sürede yapılan ekstraksiyon *P.mirabilis* suşuna karşı 62,5 µl/ml konsantrasyonda bakteriyel gelişimi inhibe etmiştir. *S.aureus* suşunun gelişimini ise asetonun 2 saatlik ekstraksiyonu 250 µl/ml konsantrasyonda durdurmuştur.

Çizelge 4.11. 40°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	etanol/5 sa	62,5
E.coli ATCC 25922	etanol/2 sa	62,5
S.aureus ATCC 25923	aseton/2 sa	250
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/2 sa	62,5

4.2.3 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri

Tez çalışmasında 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktlarla yapılan MİK çalışmalarında, etanol ile 2, 3 ve 4 saatlik sürelerde yapılan ekstraksiyonlar sırasıyla *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus mirabilis* suşları üzerinde 125 µl/ml konsantrasyonda, etanol ile 5 saatlik sürede yapılan ekstraksiyonlar ise *Pseudomonas aeruginosa* suşu üzerinde 62,5 µl/ml konsantrasyonlarda mikroorganizmaların bakteriyel gelişimlerini inhibe etmiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. 50°C sıcaklıkta *Ballota macrodonta* bitkisine ait ekstraktların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	etanol/4 sa	125
E.coli ATCC 25922	etanol/2 sa	125
S.aureus ATCC 25923	etanol/3 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/5 sa	62,5

4.2.4 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların MİK değerleri

Yapılan tez çalışmasında 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçeklerden elde edilmiş olan ekstraktların disk difüzyon testi sonuçlarına göre yapılan MİK

çalışmalarında, etanol ile 5 saatlik sürede yapılan ekstreteler *Proteus mirabilis* 235 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarının gelişimini 125 µl/ml konsantrasyonda, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşunun gelişimini ise 250 µl/ml konsantrasyonda durdurmuştur. *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu üzerinde etanolün 2 saatlik ekstraksiyonu 125 µl/ml konsantrasyonda etkili olmuştur.

Çizelge 4.13. 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstratların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	etanol/5 sa	125
E.coli ATCC 25922	etanol/2 sa	125
S.aureus ATCC 25923	etanol/3 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/3 sa	250

4.2.5 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların MİK değerleri

Sideritis phlomoides bitkisinin 40°C sıcaklıkta yapılan çiçek ekstraktlarından elde edilerek hazırlanmış olan Çizelge 4.14'de belirtilmiş olan sonuçlarda görüleceği gibi, etanol ile 2, 3, 4 ve 5 saatlik sürelerde hazırlanan ekstraksiyonlar sırasıyla *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* ve *Proteus mirabilis* suşlarına karşı sırasıyla 125, 125, 125 ve 62,5 µl/ml konsantrasyonlarda bakteriyel gelişimleri durdurduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.14. 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstratların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	etanol/5 sa	62,5
E.coli ATCC 25922	etanol/3 sa	125
S.aureus ATCC 25923	etanol/4 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/2 sa	125

4.2.6 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstraktların MİK değerleri

Sideritis phlomoides bitkisiyle 50°C sıcaklıkta elde edilen ekstraktlarla yapılan MİK çalışmalarında, etanol ile 3 saatlik sürede yapılan ekstraksiyonlar *Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus ve Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı sırasıyla 125, 125 ve 62,5 µl/ml konsantrasyonlarda bakteriyel gelişimi durdurmuştur. Bununla beraber *Escherichia coli* suşuna karşı etanolun 4 saat sürede yapılan ekstresi 125 µl/ml konsantrasyonda etki göstermiştir.

Çizelge 4.15. 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait çiçek ekstratların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	etanol/3 sa	125
E.coli ATCC 25922	etanol/4 sa	125
S.aureus ATCC 25923	etanol/3 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/3 sa	62,5

4.2.7 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların MİK değerleri

Yapılan tez çalışmasında 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların disk difüzyon ile elde edilen sonuçlara dayanılarak yapılan MİK belirlenmesinde, aseton ile 4 saatlik sürede yapılan ekstraksiyonların *P.mirabilis, E.coli* ve *P.aeruginosa* suşlarına karşı 250 µl/ml konsantrasyonda, *S.aureus* suşuna karşı ise 62,5 µl/ml konsantrasyonda bakteriyel gelişimi inhibe ettiği görülmektedir.

Çizelge 4.16. 30°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstratların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	aseton/4 sa	250
E.coli ATCC 25922	aseton/4 sa	250
S.aureus ATCC 25923	aseton/4 sa	62,5
P.aeruginosa ATCC 27853	aseton/4 sa	250

4.2.8 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların MİK değerleri

Sideritis phlomoides bitkisine ait yapraklarla hazırlanmış ekstraktlarının MİK değerleri Çizelge 4.17'de gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre, etanol ile 2 saatlik sürede yapılan ekstraksiyonlar *E.coli* ve *P.aeruginosa* suşlarına karşı, etanol ile 3 saatlik sürede yapılan ekstrasiyonda *S.aureus* suşuna karşı ise 125 µl/ml konsantrasyonda bakteriyel gelişimi inhibe etmiştir. *P.mirabilis* suşuna karşı aseton ile 4 saatte yapılan ekstraksiyon 500 µl/ml konsantrasyonda bakteriyel gelişimi durdurmuştur.

Çizelge 4.17. 40°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstratların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	aseton/4 sa	500
E.coli ATCC 25922	etanol/2 sa	125
S.aureus ATCC 25923	etanol/3 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/2 sa	125

4.2.9 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstraktların MİK değerleri

Yapılan tez çalışmasında elde edilen verilere göre hazırlanan Çizelge 4.18' de görülen sonuçlardan anlaşıldığı üzere, aseton ile 2 saat sürede yapılan ekstraksiyon *P.mirabilis* suşuna karşı 125 µl/ml konsantrasyonda, etanol ile 3, 4 ve 5 saatlik sürelerde yapılan ekstraksiyonlar sırasıyla *E.coli, S.aureus* ve *P.aeruginosa* suşlarına karşı sırasıyla 125, 125 ve 62,5 µl/ml konsantrasyonda bakteriyel gelişimi inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.18. 50°C sıcaklıkta *Sideritis phlomoides* bitkisine ait yaprak ekstratların MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK değeri belirlenen ekstrakt/saat	MİK (µl/ml)
P.mirabilis 235	aseton/2 sa	125
E.coli ATCC 25922	etanol/3 sa	125
S.aureus ATCC 25923	etanol/4 sa	125
P.aeruginosa ATCC 27853	etanol/5 sa	62,5

4.3 Antibiyotik Duyarlılığı

Yapılan tez çalışmasında *Proteus mirabilis* 235, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test

bakterilerinin Seftriakson (30 mg), Kloramfenikol (30 mg), Rifampin (5 mg), Streptomisin (10 mg) ve Tetrasiklin (30 mg) antibiyotiklere karşı olan duyarlılıkları yapılan tez çalışmasında kullanılan yöntem ile aynı standartlarda yapılmıştır (Bölüm 3.3).

Proteus mirabilis 235 suşuna karşı Seftriakson 31,22 mm, Kloramfenikol 20,19 mm, Rifampin 9,92 mm, Streptomisin 21,62 mm, Tetrasiklin 7,14 mm inhibisyon zonu oluşumu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

Escherichia coli ATCC 25922 suşuna karşı Seftriakson 31,83 mm, Kloramfenikol 28,66 mm, Rifampin 15,66 mm, Streptomisin 23,75 mm, Tetrasiklin 13,87 mm inhibisyon zonu meydana getirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.19.).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 suşuna karşı Seftriakson 46,61 mm, Kloramfenikol 24,25 mm, Rifampin 11,84 mm, Streptomisin 22,96 mm, Tetrasiklin 15,61 mm inhibisyon zonu oluşumu belirlenmiştir (Çizelge 4.19.).

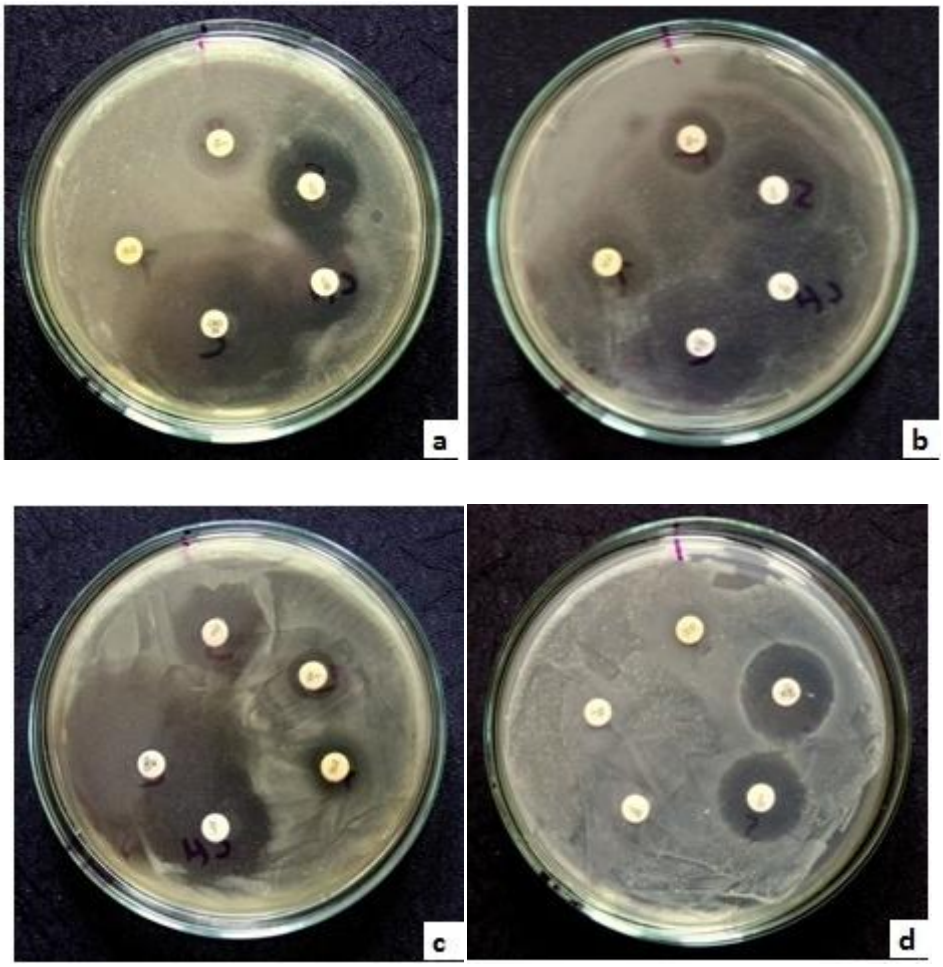
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 suşuna karşı Seftriakson 22,30 mm, Streptomisin 20,29 mm inhibisyon zonu oluştuğu gözlenirken Kloramfenikol, Rifampin ve Tetrasikline karşı oluşmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

Çizelge 4.19. Antibiyotiklerin antibiyogram kontrol deney inhibisyon zon çapları

Mikroorganizmalar	**Antibiyotiklere ait İnhibisyon zon çapı (mm)**				
	CRO30	**C30**	**RA5**	**S10**	**TE30**
Proteus mirabilis 235	31,22	20,19	9,92	21,62	7,14
Escherichia coli ATCC 25922	31,83	28,66	15,66	23,75	13,87
Staphylococcus aureus ATCC 25923	46,61	24,25	11,84	22,96	15,61
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	22,30	-	-	20,29	-

CRO30: Seftriakson 30 mg, C30: Kloramfenikol 30 mg, RA5: Rifampin 5 mg, S10: Streptomisin 10 mg, TE30: Tetrasiklin 30 mg, (-): İnhibisyon zonu yok.

Ayrıca tez çalışmasında saf halde kullanılan çözücülerin (etanol, metanol, distile su, aseton ve kloroform) antimikrobiyal aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir.



Fotoğraf 4.10. Antibiyotik disklerin (a) *Proteus mirabilis* 235, (b) *Escherichia coli* ATCC 25922, (c) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve (d) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı

BÖLÜM V

TARTIŞMA ve SONUÇ

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında genel olarak sonuçların birbiriyle karşılaştırılması ve tam bir uyumun elde edilmesi oldukça zordur. Bunun en önemli nedeni antimikrobiyal aktivitenin araştırılmasında kullanılan tekniklerin tam bir standardizasyona oturtulmayıp araştırıcıdan araştırıcıya değişmesi olarak bildirilmiştir. Aynı zamanda bu farklılıkların nedenleri, kullanılan uçucu yağların, aynı tür bitkilerden elde edilmiş olmasına rağmen, genotipik özelliklerinin, yetiştikleri coğrafi bölgelerin, bu bölgelere ait iklimsel özelliklerin ve bitkilerin toplanma tarihlerinin farklı olması olabilir. Bunun yanında uçucu yağın farklı yöntemlerle elde edilmesi, bitkinin kuru ya da yaş olması, uçucu yağın eldesinde bitkinin hangi kısmının kullanıldığı ve bu kısmın dövülmüş ya da dövülmemiş olması da uçucu yağ kompozisyonunda değişikliklere neden olmaktadır. Böylece farklı içeriğe sahip ancak aynı isimle anılan uçucu yağların birbirinden farklı antimikrobiyal etki göstermeleri muhtemel olmaktadır. Mikroorganizmaların çeşitli kemoterapotik maddelere karşı duyarlılıklarının suştan suşa bile farklılık gösterdiği de uzun zamandan beri bilinmektedir. (Anssen, 1987; Delespaul vd., 2000; Hadacek ve Greger, 2000; Hammer vd., 1999; Toroğlu ve Çenet, 2006; Vanden Berge ve Vlietinck, 1991).

Çizelge 5.1. Antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiş olan bitkilerin DDM ve MİK sonuçları

Mikroorganizmalar	Kullanılan Bitkiler	Ekstrakt/Saat/Sıcaklık	DDM (mm)	MİK (µl/ml)
Proteus mirabilis 235	*B. macrodonta*	Etanol /5h/ 30ºC	**11,28**	62,5
		Etanol /5h/ 40ºC	9,91	62,5
		Etanol /4h/ 50ºC	8,18	125
	S. phlomoides/Çiçek	Etanol /5h/ 30ºC	**9,32**	125
		Etanol /5h/ 40ºC	9,23	62,5
		Etanol /3h/ 50ºC	7,52	125
	S.phlomoides/Yaprak	Aseton /4h/ 30ºC	8,2	250
		Etanol /3h/ 40ºC	7,74	500
		Aseton /2h/ 50ºC	**8,32**	125
Escherichia coli ATCC 25922	*B. macrodonta*	Aseton /4h/ 30ºC	8,6	125
		Etanol /2h/ 40ºC	**9,09**	62,5
		Etanol /2h/ 50ºC	8,09	125
	S. phlomoides/Çiçek	Etanol /2h/ 30ºC	8,43	125
		Etanol /3h/ 40ºC	6,7	125
		Etanol /4h/ 50ºC	**8,62**	125
	S.phlomoides/Yaprak	Aseton /4h/ 30ºC	**8,2**	250
		Etanol /2h/ 40ºC	7,67	125
		Etanol /3h/ 50ºC	7,43	125
Staphylococcus aureus ATCC 25923	*B. macrodonta*	Metanol /2h/ 30ºC	**11,27**	125
		Aseton /2h/ 40ºC	9,53	250
		Etanol /3h/ 50ºC	7,92	125
	S. phlomoides/Çiçek	Etanol /3h/ 30ºC	7,55	125
		Etanol /4h/ 40ºC	7,13	125
		Etanol /3h/ 50ºC	**7,85**	125
	S.phlomoides/Yaprak	Aseton /4h/ 30ºC	8,2	62,5
		Etanol /3h/ 40ºC	**8,14**	125
		Etanol /4h/ 50ºC	7,67	125
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	*B. macrodonta*	Etanol /2h/ 30ºC	9,28	62,5
		Etanol /2h/ 40ºC	**10,18**	62,5
		Etanol /5h/ 50ºC	7,33	62,5
	S. phlomoides/Çiçek	Etanol /3h/ 30ºC	7,6	250
		Etanol /2h/ 40ºC	**7,7**	125
		Etanol /3h/ 50ºC	7,12	62,5
	S.phlomoides/Yaprak	Aseton /4h/ 30ºC	**8,23**	250
		Etanol /2h/ 40ºC	7,45	125
		Etanol /5h/ 50ºC	7,48	62,5
Candida albicans ATCC 26231	*B. macrodonta*	Etanol /2h/ 30ºC	6,7	-
		Etanol /3h/ 40ºC	**8,31**	-
		Etanol /3h/ 50ºC	7,08	-
	S. phlomoides/Çiçek	Etanol /2h/ 30ºC	6,61	-
		-	-	-
		Etanol /4h/ 50ºC	**7,47**	-
	S.phlomoides/Yaprak	Etanol /2h/ 30ºC	6,61	-
		Etanol /3h/ 40ºC	**6,89**	-
		-	-	-

Çizelge 5.1.'de görüldüğü üzere tez çalışmasında *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı *Ballota macrodonta* bitkisinden elde edilen ekstraktlardan etanol ile 30°C'de beş saat süre ile yapılan ekstraktın 11,28 mm inhibisyon zon çapı ile en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmaya dayanılarak yapılmış olan MİK değerinin

belirlenmesinde MİK değeri 62,5 µl/ml olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra *Sideritis phlomoides*'in çiçeklerinden ve yapraklarından elde edilen ekstraktlardan 30°C'de etanol ile 5 saatte ve aseton ile 50°C'de 2 saatte yapılmış olan ekstraktların sırasıyla 9,32 ve 8,32 mm inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. Sözü geçen bu ekstraktların MİK değerleri ise 125 µl/ml olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere *Ballota macrodonta* ile elde edilen ekstraktlar *Proteus mirabilis* 235 suşuna karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermektedir ve tez çalışmasında denemiş olan örneklerin etki derecesi *B.macrodonta*>*S.phlomoides* çiçeği>*S.phlomoides* yaprağı şeklinde sıralanmaktadır.

Tez çalışmasında *Escherichia coli* ATCC 25922 suşuna karşı *B.macrodonta* bitkisinden elde edilen ekstraktlardan etanol ile 40°C'de iki saat sürelik ekstraktın 9,09 mm inhibisyon zon çapı ile en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiği bulunmuştur. *S. phlomoides* çiçek ekstraktlarından 50°C'de etanol ile dört saat süreyle 8,62 mm inhibisyon zon çapı ve *S.phlomoides* yaprak ekstraktlarından 30°C'de aseton ile dört saat sürede 8,2 mm inhibisyon zon çapı tespit edilmiştir. *B. macrodonta* yaprak, *S.phlomoides* çiçek ve *S.phlomoides* yaprak bitkilerinin antimikrobiyal aktivite değerlerine göre yapılan MİK çalışmasında ise, MİK değerleri sırasıyla 62,5 µl/ml, 125 µl/ml ve 250 µl/ml olarak belirlenmiştir. Bu verilerden anlaşılacağı üzere *Ballota macrodonta* bitkisinin yaprak kısımlarından elde edilen ekstraktlar *E.coli* ATCC 25922 suşuna karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermektedir ve tez çalışmasında denemiş olan örneklerin etki derecesi *B.macrodonta* yaprak>*S.phlomoides* çiçek>*S.phlomoides* yaprağı şeklinde sıralanmaktadır.

Yapılan tez çalışmasında *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı 30ºC sıcaklıkta *B.macrodonta* bitkisinden metanol ile 2 saat sürede yapılan ekstraktın 11,27 mm zon çapı ile en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bunun yanı sıra *S.phlomoides* bitkisinin çiçekleri ile 50ºC'de dört saat sürede etanolle yapılan ekstraklardan 7,85 mm inhibisyon zon çapı, *S.phlomoides* yaprakları ile 40ºC'de üç saat sürede 8,14 mm inhibisyon zon çapı belirlenmiştir. Bu ekstraktların MİK değerleri ise 125 µl/ml olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı en yüksek aktiviteyi *Ballota macrodonta* göstermiş olup tez çalışmasında denemiş olan örneklerin aktivite sıralaması *B.macrodonta*>*S.phlomoides* yaprak>*S.phlomoides* çiçeği şeklindedir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 şuşuna karşı *B.macrodonta* ve *S.phlomoides* çiçeklerinden 40ºC sıcaklıkta etanol ile iki saat sürede yapılan ekstrasyonlar sırasıyla 10,18 mm ve 7,7 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir. *S.phlomoides* yapraklarından 30ºC sıcaklıkta aseton ile dört saat sürede yapılan ekstraksiyonun oluşturduğu inhibisyon zon çapı ise 8,23 mm olarak tespit edilmiştir. Anlatılan bu ekstraktların *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerindeki MİK sonuçlarına bakıldığında sırasıyla 62,5, 125 ve 250 µl/ml konsantrasyonlarda inhibisyon etkisine sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu verilere göre bitkilerin aktivitelerinin etki derecesi sıralaması *B.macrodonta*>*S.phlomoides* yaprak>*S.phlomoides* çiçeği şeklindedir.

Tez çalışmasında *Candida albicans* ATCC 26231 suşuna karşı *B.macrodonta ve S.phlomoides* yapraklarından 40ºC sıcaklıkta etanol ile üç saat sürede yapılan ekstrasyonlar sırasıyla 8,31 mm ve 6,89 mm inhibisyon zon çapı, *S.phlomoides* bitksinin çiçekleri ile 50ºC etanol çözücüsünün 4 saatlik sürede oluşturduğu inhibisyon zon çapı 6,89 mm olarak belirlenmiştir.

Tez çalışması ile ilgili olarak yapılan literatür taramasında Ballota cinsinin çeşitli türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmiş olduğu görülmüştür. Bu türler arasında *Ballota saxatilis B.limbata, B.acetabulosa, B.nigra* yer almaktadır (Ahmed vd., 2009; Dulger ve Dulger, 2012; Erdoğan vd., 2013; Sever vd., 2005). Ancak *Ballota macrodonta* türü ile yapılmış olan antimikrobiyal aktivite belirlenmesi çalışmasında etanol ile 24 saatte yapılan ekstraktların *E.coli, P.aeruginosa* ve *S.aureus* üzerinde etkin olduğu tespit edilmiş ve MİK belirleme çalışması yapılmadığı görülmüştür (Çitoğlu vd., 2003). Yapılan tez çalışmasında ise *Ballota macrodonta* türüyle farklı çözücüler ile yapılan ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin daha büyük zon çaplarına sahip olduğu bulunmuş ve buna göre MİK değerleri tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra *Sideritis phlomoides* türünün ise antimikrobiyal aktivitesinin belirlendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında yapılan ekstraksiyonlar ile endemik olduğu bilinen bu iki bitkinin antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. Çalışmada *Ballota macrodonta* türünden elde edilen ekstratların tüm test mikroorganizmaları üzerinde daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Aynı zamanda *Sideritis phlomoides* çiçeğinin ve yaprağının etki dereceleri arasında çok büyük farklılıkların

olmadığı bulunmuştur. Sonuç olarak antimikrobiyal aktivitenin uygulanabilirliğinin tespit edilmesi için koşulların optimize edilmesi ve ekstraktların bileşenlerinin belirlenmesi gerekliliği göze çarpmaktadır.

KAYNAKLAR

Abdelaziz, A., Abuiryie, M., Alkofahı, A.S., El-oqla, A., Hunaiti, A. and Mahmoud, I., "Cytotoxicity, mutageniticity and antimicrobial of forty Jordanian medicianal plants", ***International Journal of Crude Drug Research,*** 28, 139-144, 1990.

Abuasab, M.S. ve Cantino P.D., "Systematic implications of polenmorphology in subfamilies Lamioideae and Pogostemonoideae (Labiatae)", ***Annals of the Missouri Botanical Garden*** 81(4), 653-686, 1994.

Ahmed, D., Mansha, M., Hannan, A., Barkaat, M. and Bibi, N., "Antibacterial Activity of Ballota Limbata Against Potential Multidrug Resistant Human Pathogens (Running Head: Antibacterial Activity of B. Limbata Against Potential Mdr Pathogens)" J***ournal of Applied Sciences Research*** 5(10),1611-1614, 2009.

Akcos¸, Y., Ezer, N., Çalıs, İ., Demirdamar, R. and Tel, B.C., "Polyphenolic compounds of Sideritis lycia and their anti-inflammatory activity", ***Pharmaceutical Biology*** 36, 1–5, 1999.

Altuner, M.E., "Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, Doktora tezi, ***Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Ankara, s. 26-44, 2008.

Anssen, A.M., Scheffer, J.J., ve Baerheim , S.A., ***Planta Med.*** 53, 395-398, 1987.

Asdou, I.A., Abou-Zeid, H.R. and El-Sherbeeny, Z.H., "Antimicrobial activities of Allium sativum, Allium cepa,Raphanus sativus, Capsicum rutescens, Erucasativa Allim kurrat on Bacteria", ***Qual. Plant et Materiae Vegetab.*** 22(1), 29-35, 1972.

Atalay, İ., "Türkiye'nin Ekolojik Bölgeleri", ***Orman Bakanlığı Yayınları,*** No:163, 2002.

Avcı, M., "Türkiye'nin Flora Bölgeleri ve "Anadolu Diagonali"ne Coğrafi Bir Yaklaşım", ***Türk Coğrafya Dergisi*** 28, 225-248, 1993.

Avci, M., "Diversity and endemisim in Turkey's vegetation", ***Istanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Cografya Dergisi*** 13, 27–55, 2005.

Ayaz A., "Sıderıtıs hololeuca Boıss.&Heldr. Apud bentham ve Sıderıtıs lıbanotıca labıll. Subsp. Vıolascens ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi", ***Yüksek Lisans tezi Biyoloji Anabilim Dalı,*** Konya, 2008.

Aydın, M., "Candida cinsi mantarlar", ***Güneş Yayınevi***, Ankara, 2004.

Aytaç, Z. ve Aksoy, A. "A new Sideritis L. species (Labiatae) from Turkey", ***Flora Meditt***. 10, 181-184, 2000.

Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N. and Omar, A.K.M., "Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials", ***Journal of Food Engineering*** 117, 426-436, 2013.

Barış, D., Kızıl, M., Çeken, B., Yavuz, M. and Aytekin, Ç., "Bazı Hypericum Türlerinin in-vitro Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması", ***XIX. Ulusal Kimya Kongresi,*** Kuşadası, 2005.

Baser, K.H.C., "Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey", ***Pure and Applied Chemistry,*** 74, 527–545, 2002.

BAŞER, K. H. C., "Uçucu yağların parlak geleceği", Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi, Eskişehir, ***Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni,*** Sayı:15, 2000.

BAŞER, K. H. C., "Essential Oils of Anatolian Labiateae: A Profile", ***Acta Horticulturae*** 333, 217-237, 1993.

Başer, K.H.C., "Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı" Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM), ***İstanbul Ticaret Odası,*** Yayın no: 39, İstanbul, 1997.

BAŞER, K.H.C., TÜMEN, G., ÖZEK, T. ve KÜRKÇÜOĞLU, M., Thymus longicaulis C. Presl. Var. subisophyllus (Borbas) Jalas Uçucu Yağının Bileşimi. ***IX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı,*** Anadolu Üniversitesi Yayın No. 641, Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Yay. No. 1, S. 397–403, Eskişehir, 1992.

Baytop, T., "Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)", 2. Baskı, ***Nobel Kitabevi***, İstanbul, 1999.

Baytop, T., "Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi, Geçmişte ve Bugün", ***İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,*** 550s., 1999.

Baytop, T., "Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi"***, İstanbul Üniversitesi Yayınları***, Eczacılık Fakültesi, No. 40, İstanbul, 1984.

Berber, İ., Avşar, C., Çine, N., Bozkurt, N. ve Elmas E., "Determination of Antibacterial and Antifungal Activities of Methanolic Extracts of Some Plants Growing in Sinop Karaelmas" ***Science and Engineering Journal*** 3(1), 10-16, 2013.

BOYDAĞ, İ., "Üç Origanum türü; Origanum majorana L., Origanum minutiflorum O. Schwarz and P.H. Davis ve Origanum onites L. uçucu yağlarının fraksiyonlu distilasyonu", Yüksek Lisans Tezi, ***Anadolu Ü. Eczacılık Fakültesi,*** 133 sayfa, Eskişehir, 1996.

Braulio M.F., "Phytochemistry and chemotaxonomy of Sideritis species from the Mediterranean region", ***Phytochemistry*** 76, 7–24, 2012.

CEYLAN, A., "Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu yağ bitkileri)"***, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları,*** No: 481. 1996.

Citoglu, G., Tanker, M., Sever, B., Englert, J., Anton, R. ve Altanlar, N., "Antibacterial Activities of Diterpenoids Isolated from Ballota saxatilis subsp. saxatilis", ***Planta Med.*** 64,484-485, 1998.

CRAGG, G.M., BODY, M.R., CARDELLİNA, J.H., GREVER, M.R., SCHEPARTZ, S.S. and SPADER, K.M., "The role of plants in the drug discovery program of the US manuipulation.eln., International Crop Science 1 Maddison, USA", ***Crop Science Society of America,*** 179-196,1993.

Çakilcioglu, U. ve Civelek, S., "Some uncommon and endemic plants of Harput (Elazig)", ***Firat University Journal of Research of Eastern Anatolia Region*** 5, 49–58, 2007.

Çevre ve Orman Bakanlığı "UBSEP Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Stratejisi ve Eylem Planı", 2008.

Çitoğlu, S.G., Özbek, H. ve Sever, B.," Antinociceptive Activity of Ballota glandulosissima Hub.-Mor & Patzak", ***Eastern Journal of Medicine*** 10, 24-28, 2005.

Dağcı, E.K., İzmirli, M. and Dığrak, M., "Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması", ***KSÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*** (5), 38-46, 2002.

Dağcı, EK., Dığrak, M., "Bazı Meyve Ekstraktlarının Anti-bakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri", ***KSU. J. Sci. and Eng***. (8), 1-8, 2005.

DAVIS, PH., "Flora of Turkey and East Aegean Islands, vol. 7.", ***Edinburgh University Press***, Edinburgh, 1982.

Davis, PH. "Flora of Turkey and East Aegean Islands. Cilt 1-9", ***Edinburg University Press,*** Edinburgh, 1994.

Delespaul, Q., Billerbeck, B.G., Roques, C.G., Michel, G., Vinuales, C.M., ve Bessiere, J.M., ***J. Essent. Oil Res.*** 12, 256-266, 2000.

Dığrak, M., İlçim A., M.H., "Antimicrobial Activities of Several Parts of Pinus brutia, Juniperus oxycedrus, Abies cilicica, Cedrus libani and Pinus nigra", ***Phytother Res*** 13, 584-587, 1999.

Digrak, M., Alma, M.H., ve Ilcim, A., "Antibacterial and antifungal effects of various commercial plant extracts", ***Pharm. Biol***. (37), 216-220, 1999.

Draughon, F.A., "Use of botanicals as biopreservatives in foods", ***Food Technol.*** 58(2), 20–28, 2004.

DULGER B. ve DULGER, G., "ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE LEAVES OF Ballota acetabulosa ON MICROORGANISMS ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS" ***Turk J Pharm Sci*** 9(3), 257-262, 2012.

Duman, H., "Sideritis L. in Flora of Turkey and East Aegean Islands (Supplement 2), ***University Press***, Edinburgh V. 11, pp 201-5 , Güner A, Özhatay, N.,Ekim, E., Baser, K.H.C. (eds), 2000.

Dülger, B., Uğurlu, E. ve Gücin F., "Vitex agnus-castus L. (Hayıt) 'un antimikrobiyal aktivitesi", ***Ekoloji Çevre dergisi*** 11(45), 1-5, 2002.

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytac, Z. ve Adigüzel, N., "Red data book of Turkish plants (Pteridophyta and Spermatophyta)", Ankara/Van: ***Türkiye Tabiatini KorumaDernegi/***100 Yil University, 2000.

Erbaş, S. ve Fakir, H. "Türkiye'nin Batı Akdeniz Yöresinde doğal olarak yetişen dağ çayı (Sideritis libanotica Labill. subsp. linearis (Bentham) Bornm) ve bayır kekiği (Origanum sipyleum L.) türlerinin uçucu yağ oranları ve bileşenlerinin belirlenmesi", ***SDU Faculty of Forestry Journal*** 13, 119-122, 2012.

Erdoğmuş, S.F., Özkara, A., Korcan, S.E., Bağcı, Y. ve Dural H., "Sartoria hedysaroides Boiss. & Heldr. Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi", ***Afyon Kocatepe University Journal of Science*** 12, 2012.

Erik, S. ve Tarikahya, B., "Türkiye Florasi üzerine. ***Kebikec*** 17, 2004.

Erinc¸ S., "Changes in the physical environment in Turkey since the end of the Last Glacial", In: Brice WC, editor., The environmental history of the near and middle east since the Last Ice Age. ***London press;*** p. 87–110, 1978.

Ertürk, Ö. ve Demirbağ, Z., "Scorzonare mollis Bieb. (Compositae) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi", ***Çev&kor*** (47), 27-31, 2003.

Ezer, N., Sakar, M.K., Rodriguez, B. and De la Torre, M.C., "Flavonoid glycosides and a phenylpropanoid glycoside from Sideritis perfoliata", ***International Journal of Pharmacognosy*** 30, 61–65, 1992a.

González-Burgos, E., Carretero, M.E., and Gómez-Serranillos M.P., "Sideritis spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities", ***Journal of Ethnopharmacology*** 135 209–225, 2011.

Gupta, A., Naraniwal, M. and Kothari, V., "Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts", ***International Academy of Science, Engineering and Technology*** 1, 8-26, 2012.

Hadacek, F.,ve Greger, H., ***Phytochem. Anal.*** 11, 13 7-147, 2000.

Hakim, M.S., "Medicinal and Aromatic Plants in History", ***The History of Medicinal and Aromatic Plants*** 13,Karachi, 1982.

Hammer, K.A., Carson , C.F., ve Riley, T.V.**, *J. Appl. Microbiol*.** 85, 98 5-990, 1999.

Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G. and Rakesh, D.D., "Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants", ***International Centre for Science and High Technology***, Trieste, 2008.

Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H., ve Qureshi, MS., "In Vitro Screening of Methanol Plant Extracts for Their Antibacterial Activity"**, *Pak. J. Bot.*** (43) 531-538, 2011.

Ilçim, A., Dığrak, M., ve Bağcı, E., "Bazı bitki ekstrelerinin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması", ***Tr. J. of Biology*** 22, 119-125, 1998**.**

Iwu, G.M.W., Duncan, A.B. ve Okuuji, C.O., "New Antimicrobials of Plant Orijin.p.457-462, in: J. Janick (ed.), Perspective on new crops and new uses", ***ASHS Pres***, Alexandria, 1999.

Janovská, D., Kubíková, K.ve Kokoška, L., "Screening for Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Species of Traditional Chinese Medicine"**, *Czech J. Food Sci.*** 21,107-110, 2003.

Jean-Claude C. and Özcan M., "Constıtuents of the Essentıal Oıl of Sıderıtıs erythrantha Boıss. & Heldr. var. erythrantha", ***Gen. Appl . Plant physıology*** 31(1-2), 65-70, 2005.

Kalaycıoğlu, A., ve Öner, C., "Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest- Salmonella test sistemi ile araştırılması", ***Tr. Botany.*** 18, 117-122, 1994.

Karahan, A., "Sideritis Gülendami H. Duman & F. A. Karavelioğlu Bitkisinin Diperten Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini", ***Balıkesir ÜNİ. Fen Bilimleri Enstitüsü*** Kimya AnaBilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2007.

Kaufmann, B. and Christen, P., "Recent extraction techniques for natural products: Microwave-asisted extraction and Pressurized solvent extraction", ***Phytochemical Analysis*** 13, 105-113, 2002.

Khan, N.H., Nur, E., Kamal, M.S.A. ve Rahman, M., "Antimicrobial Activity of Euphorbia thymifolia Linn.", ***Indian J. med. Res.*** 87, 395-397, 1988.

Kım, T.U., GU, B.G., Jeong, J.Y., Byun, S.M. and Shın, Y.C., "Purification and characterization of a maltotetraose-forming alkaline μ-amylase from an alkalophilic Bacillus strain, GM8901", ***Applied and Environmental Microbiology*** 61 (8), 3105 3112, 1995.

Kırımer, N., Baser, K.H.C., Demirci, B. and Duman, H., "Essential oils of Sideritis species of Turkey belonging to th section Empedoclia", ***Chemistry of Natural Compounds*** 40 (1), 19-23, 2004.

Kırımer, N., Tabanca, N., Başer, K.H.C. and Tümen, G., "Composition of the Essential Oil of Sideritis congesta P.H.Davis et Hub.-Mor.", ***J.Essent. Oil Res.*** 13, 132-133, 2001.

Kırımer, N., Tabanca, N., Ozek, T., Başer, K.H.C., Tümen, G. and Duman, H., "Composition of the Essential Oils From Five Endemic Sideritis species"***, J.Essent. Oil Res.*** 15, 221-225, 2003.

Kırımer, N., Tabanca, N., Özek, T., Başer, K.H.C., and Tümen, G., "Composition of Essential Oils from Two Endemic Sideritis species of Turkey", ***Khim.Prir.Soedin*** 1, 76-80, 1999a.

Kırımer, N., Tabanca, N., Özek, T., Başer, K.H.C., and Tümen, G., "Composition of the Essential Oils of Four Endemic Sideritis Species from Turkey", ***Flavour Fragr. J.*** 14, 421-425, 1999b.

Kırımer, N., Tabanca, N., Özek, T., Tümen, G. ve Baser, K.H.C., "Essential oils of annual Sideritis species growing in Turkey", ***Pharmaceutical Biology***, 38 (2), 106-111, 2000.

Kocabaş, Y.Z. and Karaman, S., "Essential oils of Lamiaceae family from South East Mediterranean Region (Turkey)", ***Pakistan Journal of Biological Sciences*** 4, 1221-1223, 2001.

Köse, O.E., Deniz, I.G., Sarıkürkçü, C., Aktas, Ö. ve Yavuz, M., "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of Sideritis erythrantha Boiss. and Heldr. (var. erythrantha and var. cedretorum P.H. Davis) endemic in Turkey''***, Food and Chemical Toxicology*** 48, 2960–2965, 2010.

Kurtoğlu, M.G., Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Bayram, Y. ve Berktaş, M., "Klinik örneklerden izole edilen *Proteus mirabilis* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklar", ***Genel Tıp Dergisi*** 18(1), 23-26, 2008.

Küpeli, E., Pınar, F., Çalış, Ş.I., Yeşilada, E. and Ezer, N., "Phenolic compounds of Sideritis ozturkii and their in vivo anti-inflammatory and antinociceptive activities", ***Journal of Ethnopharmacology*** 112, 356–360, 2007.

Liu, Y. ve Wang, M.W., "Botanical drugs: challenges and opportunities", ***Contribution to Linnaeus Memorial Symposium 2007,*** Life Sciences, 82, 445-449, 2007.

Luque de Castro, M.D. and Priego-Capote, F., "Soxhlet extraction: Past and present panacea" ***Journal of Chromatography, A*** 1217, 2383-2389, 2012.

Madigan T.M. and Martinko, M.J., Mikroorganizmaların biyolojisi, 11th ed, Cumhur Çökmüş, ***Palme yayıncılık***, Ankara, 2010.

Mann, C.M. and Markham J.L., "A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils", ***Journal of Applied Microbiology*** 84, 538–544, 1998.

Maregesi, SM., Pieters, L., Ngassapa, OD., Apers, S., Vin-gerhoets, R., Cos, P., Berghe, DA. ve Vlietinck, AJ., "Screening of Some Tanzanian Medicinal Plants from Bunda District for Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activities", ***J. Ethnopharmacol.*** 119, 58-66, 2008.

Nakipoğlu, M. ve Otan, H. "Tıbbi Bitkilerin Flavonoitleri, Anadolu", ***Journel of AARI*** 4 (1), 70-93, 1992.

Nalbantbaşı, Z., ve Gölcü, A., "Kahramanmaraş Yöresine Ait Şifalı Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri", ***KSU J. Nat. Sci.*** 12, 1-8, 2009.

Newall, C.A., Anderson, L.A. and Philipson, J.D., "Herbal medicines, a guide for health-care professionals", ***The Pharmaceutical Press, London***, p. 164, 1996.

NİGG, H.N. and SEİGLER, D., "Phytochemical resources form edicine and agriculture, New York, ***Plenum Pres.*** 76-363, 1992.

Njume, C., Afolayan, AJ. ve Ndip, R.N., "An Overview of Antimicrobial Resistance and The Future of Medicinal Plants in The Treatment of Helicobacter pylori Infections", ***Afr. J. Pharm. Pharmacol.*** 3, 685-699, 2009.

Özcan, M., Chalchat, J.C. and Akgül, A., "Essential oil composition of Turkish mountain tea (Sideritis spp.)", ***Food Chemistry*** 75, 459–463, 2001.

Patrakar, R., Gond, N. ve Jadge, D., "Flower Extract of Jacaranda acutifolia Used as a Natural Indicator in Acid Base Titration. Int.", ***J. Pharm. Tech. Res.*** 2, 1954-1957, 2010.

Roldan-Gutierrez, J.M., Ruiz-Jimenez, J. and Luque de Castro, M.D., "Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction", ***Talanta*** 75, 1369-1375, 2008.

Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Ekici, L. ve Albayrak S., "Biological activities of the extracts of two endemic Sideritis species in Turkey", ***Innovative Food Science and Emerging Technologies*** 9, 80–84, 2008.

Sahin, F.P., Ezer, N. and Çalıs, I., Three new acylated flavon glycosides from Sideritis ozturkii Aytac & Aksoy", ***Phytochemistry*** 65, 2095–2099, 2004.

Sahin, F.P., Tasdemir, D., Ruedi, P., Ezer, N., and Calıs, I., "Erratum to Three new acylated flavon glycosides from Sideritis ozturkii Aytac & Aksoy", ***Phytochemistry*** 66, 125, 2005.

Sarac, N. ve Ugur, A., "Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla", ***Turkey Eurasian Journal of BioSciences,*** 28-37, 2007.

Sasidharan, S., Latha, L.Y., Ping, K.Y. and Lachumy, S.J., "Screening methods in the study of fungicidal property of medicinal plants", ***Fungicides for Plant and Animal Diseases*** 5,107-118, 2012.

Savona, G., Piozzi, F., Hanson, J.R. and Siverns, M., "Structures of three new diterpenoids from Ballota species", ***Chem. Soc. Perkin I*** 1, 322-324, 1977.

Sekar, S., ve Kandavel, D., "Interaction of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Endophytes with Medicinal Plants - New Avenues for Phytochemicals", ***J. Phytology*** 2, 91-100, 2010.

Sevimli T.A., "Bazı Hyperıcum Türlerinin Antibakteriyel Aktiviteleri", Yüksek Lisans Tezi ***Biyoloji Ana BilimDalı*** Konya, 2006.

Skocibusic, M. ve Bezic, N., "Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of two Satureja species essential oils"***, Phytother. Res.***18, 967–970, 2004.

ŞAHİN F. P., TOKER, M.C. ve EZER, N., "Botanical Properties of a Mild Sedative: Ballota nigra L. subsp. nigra" ***FABAD J. Pharm. Sci***. 30, 94-99, 2005.

Şahin, E., "Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri", Yüksek Lisans Tezi***, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü,*** İstanbul, 2006.

Şen, A. ve Halkman, A.K., "Çiğ sütte Pseudomonas aeruginosa sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar", ***Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*** 4(2), 2-13, 2006.

Tan, A., "Türkiye'de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları" MARA, İzmir, ***Anadolu J. of AARI*** 2, 50-64, 1992.

Tarakçı, S., "Beykoz Civarındaki Tıbbi Özellik Taşıyan Bitkiler Üzerine Araştırmalar", Doktora Tezi, ***Fen Bilimleri Enstitüsü,*** Biyoloji, Marmara Üniversitesi, 148s, 2006.

Toker, Z., "Bazı Hypericum Türlerinin Uçucu Yağ Bileşenleri ve Bu Yağların Antimikrobiyal Aktiviteleri", Doktor Tezi, Dicle Üniversitesi, ***Fen Bilimleri Enstitüsü***, Diyarbakır, 2002.

Topcu, G., Goren, A.C., Kılıc¸, T., Yıldız, Y.K. and Tumen, G., "Diterpenes from Sideritis trojana", ***Natural Product Letters*** 16, 33–37, 2002.

TOROĞLU, S. ve ÇENET, M., "Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar", ***KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*** 9(2), 2006.

Tunalıer, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Hüsnü, K., Başer, C., Duman, H. ve Kırımer, N., "BAZI SIDERITIS TÜRLERİNİN ANTİOKSİDAN ETKİ VE FENOLİK BİLEŞİKLER YÖNÜNDEN İNCELENMESİ", ***Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler***, 29-31 Mayıs 2002.

Tuzlacı, E. ve Tolon, E., "Turkish folk Medicinal plants, part III: fiile (İstanbul)", ***Fitoterapia*** 71, 673-685, 2000.

Uysal, İ., "Ballota nigra l. Subsp. anatolıca Davıs Endemik Taksonunun Morfolojisi, Anatomisi ve Ekolojisi Üzerine Araştırmalar", ***Erc. Ünv. Fen Bil. Derg.***13 (1-2), 67-77, 1997.

Vanden Berge, D.A., ve Vlietinck, A. J. Screening Methods for Antimicrobial and Antiviral Agents from Higher Plants, Methdos in Plant Biochemistry, (Eds: Harborne, J . B., Dey, P.M.) ***Academic Press, London, England, pp*** 37-53, 1991.

Vital P.G., Velasco J.R.N., Demigillo J.M. ve Rivera W.L., "Antimicrobial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of Ficus septica Burm and Sterculia foetida L. leaf extracts", ***J. Med. Plants Res.*** 4, 058-063, 2010.

Vural, K., Ezer, N, Erol, K. ve Fiahin, F.P., "Anxiolytic and antidepressant activities of some Ballota species", ***J. Fac. Pharm. Gazi*** 13, 29-32, 1996.

Wang, L. and Weller, C.L., "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants", ***Trends in Food Science***, 17, 300-312, 2006.

Wink, M., "Functions of Plant Secondary Metabolits and their Exploitation in Biotechnology", ***CRP Pres.*** 1999.

YILMAZ, S.B. ve ÇİTOĞLU, S.G., "Chemıcal Constıtuents of Ballota L. specıes", ***J. Fac. Pharm, Ankara*** 32 (1), 37-53, 2003.

YILMAZ, S.B., ALTANLAR, N. ve ÇİTOĞLU, S. G., "Antılısterıal Actıvıty of Ballota specıes growıng ın Turkey Türkiye'de Yetişen Ballota Türlerinin Antilisteriyal Aktivitesi", ***J. Fac. Pharm, Ankara*** 34(3),155-164, 2005.

Zeybek, U. ve Zeybek, N., "Farmasötik Botanik, Ders Kitabı", Değiştirilmiş 3. Baskı, ***E.Ü. Eczacılık Fakültesi yayınları*** No:3, Bornova, İzmir, 2002.

ÖZGEÇMİŞ

Ömer ÇOPUROĞLU 03.12.1988 tarihinde Muş ilinde doğdu. İlk orta ve lise öğretimini Kayseri'de tamamladı. 2007 yılında girdiği Niğde Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Haziran 2011'de mezun oldu. Aynı yıl içerisinde Niğde Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı.