

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***SPIRAEA JAPONICA* VAR. *FORTUNEI* BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROSKOPİK VE
KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Haka Fajriana Febda KURNIA

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

NİSAN 2023

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***SPIRAEA JAPONICA* VAR. *FORTUNEI* BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROSKOPİK VE
KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS THESİS

Haka Fajriana Febda KURNIA

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr.Ögr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN

Ortak Danışman: Doç. Dr. Ayşe AVCI

NİSAN 2023

Haka Fajriana Febda KURNIA tarafından hazırlanan “*SPIRAEA JAPONICA* VAR. *FORTUNEI* BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROSKOPİK VE KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERE BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması 14.04.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı **Biyokimya** Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

- Jüri Başkanı :** **Doç. Dr. Ayşe AVCI** (Ortak Danışman)
Sakarya Üniversitesi
- Jüri Üyesi :** **Prof. Dr. Omca DEMİRKOL**
Sakarya Üniversitesi
- Jüri Üyesi :** **Prof. Dr. Abdil ÖZDEMİR**
Sakarya Üniversitesi
- Jüri Üyesi :** **Dr.Ögr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN** (Danışman)
Sakarya Üniversitesi
- Jüri Üyesi :** **Dr.Ögr.Üyesi Hülya DEMİRHAN**
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “*SPIRAEA JAPONICA* VAR. *FORTUNEI* BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROSKOPİK VE KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERE BELİRLENMESİ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(14/04/2023).

Haka Fajriana Febda KURNIA



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışmanlarım Sayın Doç.Dr.Ayşe AVCI ve Sayın Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e teşekkür ederim.

Laboratuvar olanakları konusunda yardımlarını esirgemeyen ve LCMS kromotogramlarının alınmasında yardımcı olan Sayın Prof.Dr.Abdil ÖZDEMİR ve Sayın Doç.Dr. Can Serkan KESKİN hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca her ihtiyacım olduğunda yanımda olan laboratuvar arkadaşım Ayça MERAL'e teşekkür ederim.

Ayrıca tezin tamamlanmasına kadar Biyokimya Yüksek Lisans programını yürütmede karşılaştığım zorluklarda bana her zaman yardımcı olan ailem Dasril, Febryasni ve Azhura Nabila Febda KURNİA'ya ve ayrıca bu tezi tamamlamam için her zaman destek veren arkadaşım Nurfadillah'a teşekkür ederim.

Haka Fajriana Febda KURNİA



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
TABLO LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY.....	xviii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Kapsamı.....	2
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> 'nin Özellikleri.....	3
2.2. Ekstraksiyon İşlemleri	5
2.3. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi	6
2.3.1. Radikal yakalama ile antioksidan aktivite testleri.....	9
2.3.1.1. DPPH yöntemi.....	9
2.4. Fenolik Bileşikler Hakkında Genel Bilgi.....	12
2.4.1. Folin-Ciocalteu yöntemi	12
2.5. Flavonoidler Hakkında Genel Bilgi.....	13
2.6. Antibakteriyel Testler Hakkında Genel Bilgi	15
2.6.1. Disk difüzyon yöntemi	15
2.7. Antibakteriyel Testlerde Kullanılan Bakteriler	16
2.7.1. <i>Escherichia coli</i>	16
2.7.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.7.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	17
2.7.4. <i>Bacillus cereus</i>	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasal Maddeler	19
3.1.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması	19
3.1.2. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> 'nin deneysel çalışmalar için hazırlanması	20
3.2. Deneysel Çalışmalar	20
3.2.1. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> 'nin ekstraksiyonu	20
3.2.2. Toplam fenol içeriğinin belirlenmesi	21
3.2.3. Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi.....	22
3.2.4. DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini.....	22
3.2.5. Kuru madde tayini	23
3.2.6. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin ve ekstraktlarının UV spektrumları...23	
3.2.7. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin ve ekstraktlarının FTIR spektrumları24	
3.2.8. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> ekstraktlarının LCMS kromatogramları	24

3.2.9. Antibakteriyel aktivite tayini	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	27
4.1. Ekstraksiyon Verimi ve Kuru Madde Sonuçları.....	27
4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	28
4.3. Toplam Flavonoid Madde Miktarı.....	30
4.4. DPPH Radikalini Giderme Aktivitesi	33
4.5. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> Bitkisinin ve Ekstraktlarının UV Spektrum Sonuçları	39
4.6. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> Bitkisinin ve Ekstraktlarının FTIR Sonuçları.....	40
4.7. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> Ekstraktlarının LCMS Kromatogramları	43
4.8. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> 'nin Antibakteriyel Aktivitesi.....	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	57
EKLER	65
ÖZGEÇMİŞ.....	91



KISALTMALAR

AH	: Antioksidanlar
AlCl₃	: Alüminyum klorür
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz
C	: Karbon
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
dk	: Dakika
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
Fe²⁺	: Demir (II) iyonu
Fe³⁺	: Demir (III) iyonu
FTIR	: Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
GA	: Gallik asit
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
g	: Gram
v/v	: Hacimce yüzde
h	: Saat
IC₅₀	: Medyan inhibisyon konsantrasyonu
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
ppm	: Milyonda bir
Mo	: Molibden
Mo⁵⁺	: Molibden (V) iyonu

Mo⁶⁺	: Molibden (VI) iyonu
nm	: Nanometre
°C	: Santigrat derece
NaOH	: Sodyum hidroksit
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
NaNO₂	: Sodyum nitrit
O	: Oksijen
QE	: Kuersetin eşdeğeri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SOD	: Süperoksit dismutaz
UV-VIS	: Ultraviyole (morötesi) görünür bölge
W	: Tungsten
%	: Yüzde

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. DPPH yöntemine göre antioksidan güç seviyesi.....	11
Tablo 4.1. Etanol ve metanol ile ekstrakte edilen <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> 'nin farklı kısımlarının ekstraksiyon verimi ve kuru madde miktarları.	28
Tablo 4.2. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.	30
Tablo 4.3. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları.	31
Tablo 4.4. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının DPPH giderim aktivite değerleri.	38
Tablo 4.5. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının IC ₅₀ değerleri.	39
Tablo 4.6. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek, yaprak ve tüm ekstraktlarının FTIR spektrumları.	43
Tablo 4.7. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel bileşikler.	47



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>Spiraea japonica</i> var. <i>fortunei</i>	3
Şekil 2.2. DPPH'ın açık yapısı.....	10
Şekil 2.3. DPPH'ın antioksidan bileşikler tarafından indirilgemesi.	11
Şekil 2.4. Gallik asit yapısı.	13
Şekil 2.5. Flavonoidlerin genel yapısı.	13
Şekil 2.6. Kuersetinin açık yapısı.	15
Şekil 3.1. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarının toz haline getirilme aşamaları.	20
Şekil 4.1. Gallik asit standart grafiği.	28
Şekil 4.2. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> 'nin bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.	29
Şekil 4.3. Kuersetin standart grafiği.	30
Şekil 4.4. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları.....	31
Şekil 4.5. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> çiçek etanolün DPPH giderimi.....	35
Şekil 4.6. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> çiçek metanolün DPPH giderimi.	35
Şekil 4.7. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> yaprak etanolün DPPH giderimi.	36
Şekil 4.8. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> yaprak metanolün DPPH giderimi.	36
Şekil 4.9. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> yaprak metanolün IC ₅₀ grafiği.	37
Şekil 4.10. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> yaprak etanolün IC ₅₀ grafiği.	37
Şekil 4.11. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> çiçek metanolün IC ₅₀ grafiği.....	37
Şekil 4.12. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> çiçek etanolün IC ₅₀ grafiği.....	38
Şekil 4.13. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının UV spektrumları.....	40
Şekil 4.14. Etanol ve metanolde gallik asit ve kuersetin standartlarının UV spektrumları.	40
Şekil 4.15. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> yaprak (a) ve yaprak ekstraktlarının (etanol (b), ve metanol (c)) FTIR spektrumu.	42
Şekil 4.16. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> çiçek (a) ve çiçek ekstraktlarının (etanol (b) ve metanol (c)) FTIR spektrumu.	42
Şekil 4.17. Gallik asit (a) ve kuersetin (b) FTIR spektrumları.....	43
Şekil 4.18. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek metanol ekstraktlarının negatif iyon LCMS kromotogramı.....	45
Şekil 4.19. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin çiçek metanol ekstraktlarının pozitif iyon LCMS kromotogramı.....	45
Şekil 4.20. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin yaprak metanol ekstraktlarının negatif iyon LCMS kromotogramı.....	46
Şekil 4.21. <i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i> bitkisinin yaprak metanol ekstraktlarının pozitif iyon LCMS kromotogramı.....	46



***SPIRAEA JAPONICA* VAR. *FORTUNEI* BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROSKOPİK VE KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

ÖZET

Spiraea japonica var. *fortunei*, *Rosaceae* familyasına ait bir bitki olup yüze yakın *spiraea* bitkisi türü vardır. Çiçeklerinin rengi beyaz, kırmızı, pembe ve sarı olarak türlere göre farklılık göstermektedir ve 1,5 ile 3 m kadar uzayabilmektedir. *S. japonica* var. *fortunei*, ağırlıklı olarak Asya ülkelerinde yetişen ve alkaloidleri ile tanınan bir çalı bitkisidir. *Spiraea* cinsi fenolik bileşikler açısından zengin olarak bilinmektedir. Fenolik bileşik sınıfına ait olan flavonoidler ayrıca antioksidan aktiviteye sahiptir.

Bu çalışmanın amacı, *S. japonica* var. *fortunei*'nin toplam fenolik ve flavonoid içeriği ve FTIR analizi ile fenolikler ve flavonoidler ile ilişkili fonksiyonel gruplarını ortaya çıkarmaktır. Bitkinin yaprakları ve çiçekleri, etanol veya metanol kullanılarak ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir. Metanolün hem yaprak hem de çiçekler için etanole kıyasla ekstraksiyon için daha iyi bir çözücü olduğu belirlenmiş ve bununla daha yüksek ekstraksiyon verimleri, toplam fenolik ve flavonoid elde edilmiştir. Öte yandan, yaprakların fenoller ve flavonoidler açısından daha zengin olduğu ve çiçeklerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yaprakların etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri sırasıyla 18,13±1,61 ve 25,64±0,32 mg GAE/g kuru madde iken çiçek ekstraktlarında 11,08±0,13 ve 19,33±1,24 mg GAE/g kuru madde olarak belirlenmiştir. En düşük flavonoid içeriği *S. japonica* var. *fortunei* çiçeklerinin etanol ekstraksiyonlarında (16,98±3,07 mg QE/g kuru madde), en yüksek ise yaprakların etanol ekstraktında (46,46±2,96 mg QE/g kuru madde) iken çiçeklerinin ve yapraklarının metanol ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri sırasıyla 22,68±2,63 ve 28,35±3,54 mg QE/g kuru madde olmuştur. Örneklerin antioksidan aktiviteleri de DPPH radikal süpürme hızı ölçülerek incelenmiştir. En düşük konsantrasyonda (0,156 mg/mL) çiçeklerin ve yaprakların etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri %12,30±0,79, 21,60±1,80, 29,40±4,30 ve 30,00±0,67 olarak belirlenirken en yüksek konsantrasyondaki (6,25 mg/mL) antioksidan aktiviteleri sırasıyla %66,43±0,11, 69,76±0,34, 65,71±0,90 ve 69,29±2,58 olarak tespit edilmiştir. Yaprakların antioksidan aktivitesi, 0,156 mg/mL konsantrasyonda çiçeklerden oldukça yüksektir. Öte yandan, tüm örneklerin antioksidan aktiviteleri 6,25 mg/mL'de hemen hemen aynıdır. Bu çalışmada da *S. japonica* var. *fortunei* çiçek ve yapraklarından elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,57±0,06, 0,48±0,01, 0,43±0,01, ve 0,45±0,00 olarak hesaplanmıştır. Ekstraktların UV-VIS spektrumları ve FTIR analizleri, fenoliklerin ve flavonoidlerin varlığını doğrulamıştır. Bu çalışmada ayrıca LC-MS analizine dayalı *S. japonica* var. *fortunei* bitkilerinin çiçek ve yapraklarının metanol ekstraktlarında 54 flavonoid bileşik ve 14 flavonoid olmayanlar bileşik tanımlanmıştır.

DETERMINATION OF PHOTOCHEMICAL PROPERTIES OF *SPIRAEA JAPONICA* VAR. *FORTUNEI* PLANT BY SPECTROSCOPIC AND CHROMATOGRAPHIC METHODS

SUMMARY

Oxidation reactions that occur constantly in our body trigger the formation of highly active free radicals that can damage cell structure and function. However, the reactivity of these free radicals can be inhibited by the antioxidant system that complements the immune system. By using antioxidants found in a plant called *Spiraea japonica* var. *fortunei*, oxidative stress can be reduced by increasing the body's immunity.

Spiraea japonica var. *fortunei*, also known as Japanese meadowsweet is a woody shrub of the rose family (Rosaceae), introduced as an ornamental plant which is spread from Asia to the Northeastern United States around 1870. There are close to a hundred species of *spirea* plants. It can grow up to 1.5 to 3 meter. The color of the flowers varies according to the species, for example white, red, pink and yellow. Primary routes of propagation are wind, water and vegetative propagules; these features may make the Japanese meadowsweet a serious invasive plant in the future.

More than 80 alkaloids, six new flavonoid glycosides, one lignan, one neolignan glycoside, four monoterpene acylglycosides and one megastigman glycoside that are characteristic of the *S. japonica* complex have been found so far. *Spiraea* genus is known to be rich in phenolic compounds. Flavonoids, which belong to the class of phenolic compounds, also have antioxidant activity.

Experiments are made for the total flavonoid content using the colorimetric $AlCl_3$ method, the total phenolic content using the Folin-Ciocalteu method, and the antioxidant content using the DPPH method. Flavonoids and phenolics can be extracted optimally if appropriate extraction solvent is used.

S. japonica var. *fortunei* was collected from Sakarya University Engineering Faculty backyard. The flowers and leaves of the plant were dried separately in the shade at room temperature. Next, the dried flowers and leaves were ground in a Waring blender and then sieved to obtain a fine powder. Samples were stored in plastic bags at room temperature. Chemicals used include methanol, ethanol, sodium carbonate, gallic acid, aluminum chloride, sodium nitrite, sodium hydroxide and Folin-Ciocalteu reagent purchased from Merck (Darmstadt, Germany), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) Sigma -Obtained from Aldrich (St., Louis, USA).

Then, both methanol and ethanol extracts of leaves and flowers were prepared. For this, 0.25 g of powder sample was weighed and 10 mL of 80% (v/v) was added. Samples for extraction were moderately shaken on a magnetic stirrer for 24 h at room temperature. The solution was then centrifuged at 9000 rpm for 10 minutes and

the pellet was discarded while the supernatant was collected for further analysis. The extracts were stored at -30 °C until analysis.

To calculate the extraction yield, the clear filtrate was dried under vacuum at 40 °C using a rotary evaporator (IKA KS 400, Switzerland). The resulting dry crude extract was weighed to calculate the extraction yield.

For determining total phenolic contents of *S. japonica* extracts using the Folin Ciocalteu method, 75 µL of a suitable solvent (80% methanol or ethanol) was mixed with 25 µL of extract, 200 µL of Folin-Ciocalteu reagent and 2 mL of distilled water. After three minutes, 1 mL of Na₂CO₃ solution (20% w/v) was added and the mixture was left in a dark drawer for one hour. The absorbance of the extract solution was read with a UV-Vis spectrophotometer (Agilent Model 8453 Diode Array Spectrophotometer) at a wavelength of 765 nm. A standard curve was created using gallic acid. Total phenolic content was expressed as mg Gallic Acid Equivalent (GAE) in g dry matter of the sample. Unless otherwise stated, all analyzes were performed in triplicate and results are expressed as mean ± standard deviation.

To determine the total flavonoid content using aluminum chloride colorimetric assay, 100 µL of the extract was mixed with 300 µL of distilled water and 30 µL of NaNO₂ (5%, w/v) and left at room temperature for 5 minutes. Then, 30 µL of AlCl₃ (10%, w/v) was added to the mixture. After 5 minutes, 200 µL of NaOH (1 mM) was added. Finally, the volume was made up to 1 mL with distilled water and vortexed. The intensity of the orange-yellow color produced by the flavonoids was read with a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 510 nm. Quercetin standard (10-800 ppm) was prepared under conditions to calculate the number of flavonoids in the sample. The results are expressed as mg (QE)/g dry matter of the sample.

For determining the antioxidant activity by using DPPH radical scavenging activity, various amounts of extract (2.5, 5, 10, 50, and 100 µL) were added to the test tube and the volumes were made up to 200 µL with 70% methanol (v/v). The samples were reacted with 3 mL of DPPH (0.051 mmol; 70% in methanol) solution for 30 minutes at room temperature. Then, the decrease in absorbance compared to the control was observed at 517 nm. The control sample contained 200 µL of 70% methanol instead of the sample. Antioxidant activity was calculated and the results are given as %DPPH scavenging activity.

Leaf and flower extracts obtained with different solvents were subjected to UV-VIS scanning analysis. They were diluted 30 times and absorbance spectra were recorded between 200 and 800 nm wavelengths.

By using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectrometry (Shimadzu IR, Prestige 21, Nakagyo-ku, Japan), functional groups associated with phenolic compounds were identified. The scanning range is between 4000 and 400 cm⁻¹.

The goal of this study was to determine the total phenol, and flavonoid contents of *S. japonica* var. *fortunei* and to reveal the functional groups associated with the phenolics, and flavonoids by FTIR analysis. The leaves and the flowers of the plant were analyzed separately by using either ethanol or methanol as extraction solvents. Methanol was determined to be a better solvent for extraction compared to ethanol for both leaves and flowers with which higher extraction yields, total phenolic, and flavonoid contents were observed. On the other hand, leaves are richer in phenols

and flavonoids and have higher antioxidant activity than flowers. The total phenolic contents of ethanol and methanol extracts of the leaves were $18,13 \pm 1,61$ and $25,64 \pm 0,32$ mg GAE/g dry matter, respectively, while they were $11,08 \pm 0,13$ and $19,33 \pm 1,24$ mg GAE/g dry matter in the extracts of flower, respectively. In *S. japonica* var. *fortunei* flavonoid determination, the lowest flavonoid content was in the ethanol extraction of the flowers (16.98 ± 3.07 mg QE/g dry matter) and the highest was in the ethanol extract of the leaves (46.46 ± 2.96 mg QE/g dry matter) while the total flavonoid contents of the methanol extracts of the flowers and leaves were 22.68 ± 2.63 and 28.35 ± 3.54 mg QE/g dry matter, respectively. Antioxidant activities were also investigated by measuring DPPH radical scavenging rate and they ranged from $65,71 \pm 0,90$ to $69,76 \pm 0,34$ % and IC_{50} values were calculated to be between 0.48 ± 0.01 and 0.57 ± 0.06 mg/mL. UV-VIS spectra and FTIR analyses of the extracts confirmed the presence of phenolics, and flavonoids. In this study, the methanol extracts of flowers and leaves of *S. japonica* var. *fortunei* plant based on LC-MS analysis identified 54 flavonoid compounds and 14 phenolic compounds.



1. GİRİŞ

Vücudumuzda sürekli olarak meydana gelen oksidasyon reaksiyonları, hücre yapısına ve işlevine zarar verebilecek oldukça aktif serbest radikallerin oluşumunu tetiklemektedir. Ancak bu serbest radikallerin reaktivitesi, bağışıklık sistemini tamamlayan antioksidan sistem tarafından engellenebilmektedir (Damayanthi ve ark, 2010). Doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere iki tür antioksidan bulunmaktadır.

Doğal antioksidanlar, daha güvenli kabul edildikleri için sentetik antioksidanlara göre daha fazla talep görmektedir. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bozulmuş karaciğer fonksiyonu, akciğer, bağırsak mukozal ve zehirlenme dahil olmak üzere sağlık üzerinde olumsuz etkilere sahip olabilmektedir. Sentetik antioksidanlar için izin verilen maksimum sınır, katı veya sıvı yağ içeriğinin %0,01 ila %0,1'dir (Rahma, 2019). Bu da doğal antioksidanların günümüz toplumunun ihtiyaç duyduğu bir alternatif haline gelmesine neden olmaktadır.

Oksidasyon reaksiyonu sonucu serbest radikaller oluşmaktadır. Serbest radikaller, çevrelerindeki atomlar veya bileşiklerle hızla reaksiyona girebilen dış elektronlarından birini kaybetmiş moleküllerdir (Astuti, 2008). Serbest radikallere maruz kalmanın neden olduğu oksidatif hasar, yaşlanmaya ve ateroskleroz, diyabet, siroz ve kanser gibi çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (Doss ve Thangavel, 2011).

Vücudun kendisi doğal olarak gelen serbest radikalleri nötralize edebilen süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimi gibi endojen antioksidanlar içermektedir. Bununla birlikte, bu enzimlerin miktarının sınırlı olması nedeniyle aşırı miktarda serbest radikallere maruz kalmanın üstesinden gelmek için vücudun dışından bir antioksidan kaynağına ihtiyacı bulunmaktadır (Depkes, 2000).

Doğal antioksidanlar meyvelerden, sebzelerden veya bitkilerden elde edilebilmektedir. Bitkiler, serbest radikal yakalayıcılar olarak yararlı olan flavonoidler ve flavonoid olmayanlar şeklinde ikincil metabolitler içermektedirler (Nishanthini ve ark, 2012).

Spiraea cinsleri, serbest radikal reaktivitesini önlemek için kullanılabilecek ve büyük bir kaynak potansiyeline sahip bitkiler olarak büyük ilgi görmektedir. Yüksek biyolojik aktiviteye sahip flavonoller, flavonlar, flavanlar ve fenolik asitler gibi fenolik bileşikler *Spiraea* cinsinde bulunmaktadır. *Spiraea* cinsine ait türlerin çeşitli kısımlarında saponinler, uçucu yağlar ve steroidal glikozitler bulunmaktadır. Çin tıbbında çeşitli *Spiraea* türleri analjezik, ateş düşürücü ve iltihap önleyici özelliklere sahip şifalı bitkiler olarak kullanılmaktadır. Fenolik karboksilik asit türevlerinin varlığı, antimikrobiyal, fitotoksik ve α -glukosidaz inhibe edici aktivite ile ilişkili *Spiraea* cinsine ait türlerin biyolojik aktivitesi son yıllarda yoğunlukla araştırılmaktadır (Kostikova ve Shaldaeva, 2017). Çeşitli *Spiraea* türlerinin oldukça yüksek fenoller, flavonoidler ve antioksidan aktivite içerdikleri için serbest radikalleri giderebildikleri bilinmektedir. Bu tez çalışmasında daha önce çalışılmamış *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin fitokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Bu amaçla *S. japonica* var. *fortunei* ekstraktlarında toplam fenolik, flavonoid içerikleri, antioksidan ve antibakteriyal aktivite testleri yapılmıştır.

1.1. Tezin Kapsamı

Bitkilerde bulunan antioksidanların vücudun bağışıklığını artırarak oksidatif stresi azalttığı bilindiği için bu tez kapsamında doğal antioksidanların bir kaynağı olan *Spiraea* bitkisinden yararlanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan *S. japonica* var. *fortunei* Sakarya Üniversitesi kampüsünden toplanmıştır. Bitkinin çiçekleri ve yaprakları gölgede ayrı ayrı oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra, kurutulmuş çiçekler ve yapraklar toz haline getirilerek metanol ve etanol çözücüler ile ekstrakte edilmiştir. Antioksidan aktiviteyi ölçmek için DPPH yöntemi, toplam fenolik içeriği belirlemek için sıklıkla tercih edilen Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Flavonoid $AlCl_3$ kolorimetrik deneyi ile belirlenmiştir. Ayrıca tez kapsamında *S. japonica* var. *fortunei*'nin çiçek ve yapraklarının ekstraktlarının FTIR ve UV-Vis spektrumları alınarak yapılarında bulunan flavonoid olmayanlar ve flavonoidlerin fonksiyonel gruplarına ait spesifik pikler karşılaştırılması sağlanmıştır. UV-Vis ve FTIR spektrumlarının sonuçlarını güçlendirmek için, *S. japonica* var. *fortunei* çiçek ve yapraklarının metanol ekstraktlarında bulunan flavonoid ve fenolik bileşik tiplerini belirlemek için LC-MS analizi de yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *S. japonica* var. *fortunei*'nin Özellikleri

Japon çayır tatlısı (Japanese Meadowsweet) olarak da bilinen *S. japonica* var. *fortunei*, 1870 yıllarında Kuzeydoğu Amerika Birleşik Devletleri'ne Asya'dan bir süs bitkisi olarak tanıtılan gül ailesinin (*Rosaceae*) odunsu bir çalıdır (Şekil 2.1). Birincil yayılma yolları rüzgar, su ve vejetatif propagüllerdir; bu özellikleri nedeniyle, Japon çayır tatlısının gelecekte ciddi bir istilacı bitki olabileceği bildirilmiştir (Martine ve ark, 2009).



Şekil 2.1. *Spiraea japonica* var. *fortunei*.

Choi ve ark (2019) tarafından yapılan bir çalışmada *Spiraea* (*Rosaceae*) cinsinin Kuzey yarımkürenin ılıman ve subtropikal bölgesinde geniş bir alana yayıldığı ve tür sayısının 80-120 arasında olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *Spiraea*'nın en büyük çeşitliğinin birincil merkez olan Çin ve Tayvan'da iken diğer yerlerin ise Himalayalar, Orta Asya, Rusya'nın Uzak Doğusu, Kore, Japonya ve Güney Orta Avrupa olduğu da belirtilmiştir. Doğu Asya'da Çin ve Tayvan'da 70, Japonya'da 12 ve Kore yarımadasında 14 tür kaydedilmiştir. *Spiraea* cinsindeki infrajenerik bölünmeler 150 yıl boyunca, çiçek salkımlarını taşıyan sürgünlerin veya dalların büyümesi ve uzunluğu dikkate alınarak, özellikle çiçek salkımlarının yapılarına ve bunların gelişimine dayandırılmıştır.

Spiraea cinsi *Rosaceae* familyasına ait olup Avrupa’da *Spiraea*’nın *S. cana*, *S. chamaedryfolia*, *S. crenata*, *S. decumbens*, *S. hypericifolia*, *S. media* ve *S. salicifolia* olmak üzere yedi türünün olduğu belirtilmiştir. *Spiraea* cinsinin temsilcileri, Kuzey Amerika, Asya ve Avrupa’da çok popüler olan dekoratif bitkilerdir (Wrońska-Pilarek ve ark, 2022).

Bir başka çalışmada 28 *Spiraea* taksonunun fitokimyasal içerikleri kapsamlı bir şekilde incelenerek flavonoidler, lignanlar, neolignanlar ve diğer fenilpropan türevlerinin yanı sıra mono-, di- ve triterpenler izole edilmiştir. İlginçtir ki, incelenen taksonlardan sadece 9 tanesinde diterpen alkaloidler (*S. formosana* Hayata, *S. fritschiana* var. *parvifolia* Liou, *S. japonica* L.f., *S. japonica* var. *acuta* Yu, *S. japonica* var. *fortunei* (Planchon) Rehder, *S. japonica* var. *glabra* (Regel) Koidz, *S. japonica* var. *incisa* Yu, *S. japonica* var. *ovalifolia* Zuo, *S. japonica* var. *stellaris*) bulunmaktadır. Bildirilen 65 diterpen alkaloidinin tümü, hetisin ve atisin tipi C₂₀ temel iskeletleri taşımaktadır. Kuzey Amerika ve Asya’da *Spiraea* türlerinin yalnızca marjinal etnomedikal kullanımı belgelenmiş olsa da, farmakolojik araştırmalar *Spiraea* ekstraktlarının ve izole edilmiş bileşiklerin dikkate değer aktivitelerinin olduğunu bildirmiştir (Kiss ve ark, 2017).

Kostikova ve Petrova (2021) tarafından yapılan bir çalışmada *S. japonica* kompleksinin karakteristik özelliği olan seksenden fazla alkaloid, altı yeni flavonoid glikozit, bir lignan, bir neolignan glikozit, dört monoterpen açilglikozit ve bir megastigman glikozit içerdiği belirtilmiştir. *Spiraeaların* etnomedikal kullanımları Kuzey Amerika, Rusya ve Asya’da belgelenmiştir. *Spiraea*, iltihaplanma ve sıtma için etkili terapötikler olarak kullanılmaktadır. Geleneksel Çin tıbbında, *S. japonica* ve çeşitlerinin genç yaprakları, meyveleri ve kökleri idrar söktürücü, detoksifiye edici ve ağrı kesici olarak ve ayrıca öksürük, baş ağrısı ve diş ağrısını tedavi etmek için kullanılmaktadır. *S. canescens*’in yakılmasından sonra elde edilen ağaç yağı cilt problemlerine karşı kullanılmaktadır. *S. betulifolia* kaynatılarak, Yerli Amerikalılar tarafından bir analjezik olarak ve adet ağrısına, ağır veya uzun süren adet kanamasına, böbrek yetmezliğine, döküntülere, soğuk algınlığına ve karın ağrılarına karşı kullanılmıştır. *S. salicifolia* gastrointestinal hastalıklara, romatoid artrit, helmintiyazlara, jinekolojik hastalıklara ve diyabete karşı kullanılabilir. Halk hekimliğinde spiraeaların tıbbi kullanımının geçerliği, modern bilimsel deneylerle doğrulanmıştır. Diğer *Spiraeaların* başka yararlı etkileri de vardır. *S. alpina*

yapraklarının etanolik ekstraktları antikanser etkiye sahiptir. *S. cantoniensis*'in metanolik ekstraktı, yumuşak çeliği korozyona karşı korumaktadır. Spiraeaların kentsel koşullar altında artan kirleticileri tolere etme yeteneği *S. vanhouttei* kullanılarak gösterilmiştir. Spiraealar yüksek toprak tuzluluğuna dayanıklıdır. *S. trilobata* yaprakları, bitki kökenli bir böcek kovucu olarak bildirilmiştir. Çin'de yetişen 11 *Spiraea* bitkisinin çiçek, yaprak ve dallarının kimyasal bileşimleri incelendikten sonra, çeşitli kalite kategorilerinde tonik içecek olarak kullanımları ile ilgili önerilerde bulunulmuş ve bunların hasadına en uygun dönemler için zamanlama netleştirilmiştir (Kostikova ve Petrova, 2021).

2.2. Ekstraksiyon İşlemleri

Ekstraksiyon, orijinal olarak hücrede bulunan ve daha sonra çözücü tarafından çekilen aktif maddenin kütle transferi olayıdır ve aktif maddenin çözücü içinde çözünmesine neden olmaktadır. Genel olarak, numunenin çözücü ile temas eden yüzeyi ne kadar genişse ekstraksiyon o kadar iyi olacaktır (Rahayu, 2010).

Ekstraksiyon verimini etkileyen faktörler, numunenin çözücü ile temas ettiği süre (ekstraksiyon süresi), numune miktarının solvent miktarına (çözücü miktarı) oranı ve ekstraksiyon sıcaklığıdır. Ekstraksiyon süresi ne kadar uzun olursa, numune ile solventin temas etme olasılığı o kadar artacağından ekstraksiyon verimi de artmaktadır. Çözücü miktarının madde miktarına oranı ekstraksiyon verimini etkiler, aşırı miktarda çözücü daha fazla ekstraksiyon sağlamaz, ancak belirli bir miktarda çözücü ile optimal olarak çalışabilmektedir. Ekstraksiyon, yüksek sıcaklıklarda daha hızlıdır, ancak bazı bileşenlerin hasar görmesine neden olabilmektedir (Chairunnisa ve ark, 2019). Yapılan bir çalışmada 50 °C'lik bir sıcaklığın kullanılması, 40 °C ve 60 °C'lik sıcaklıklara kıyasla optimum bir ekstrakt ile sonuçlanmıştır (Sitepu, 2010).

İyi bir çözücü, aktif maddeyi ekstraktan çözebilen ve ekstraktı diğer istenmeyen bileşiklerden kurtarabilen bir çözücüdür. Bu amaçla kullanılabilen çözücüler su, etanol, etanol ve su karışımı, metanol, kloroform, eter ve heksandır (Depkes, 2000).

Çözücüler kullanarak havalı ve sıcak yol olmak üzere iki çeşit ekstraksiyon yöntemi bulunmaktadır. Havalı yol maserasyon ve perkolasyon olmak üzere iki çeşit olabilmektedir.

Maserasyon yöntemi oda sıcaklığında birkaç kez çalkalama veya karıştırma ile bir çözücü kullanılarak basit bir ekstraksiyon işlemidir. Maserasyon ile ekstraksiyonun avantajı, işlemin basit olması, dezavantajları ise uzun sürmesi ve ekstraksiyonun mükemmel olmamasıdır (Sitepu, 2010). Maserasyonda (sıvı ekstraktlar için), çözücü ile temas halindeki tıbbi bitkinin ince veya kaba tozu, belirli bir madde eriyene kadar sürekli karıştırılarak belirli bir süre kapalı bir kapta tutulmaktadır. Bu yöntem, ısıya dayanıklı bileşikler için uygundur (Ningrum, 2018).

Perkolasyon yöntemi ise genellikle oda sıcaklığında, tam ekstraksiyon olana kadar her zaman taze bir solvent ile gerçekleştirilen ekstraksiyondur. Perkolasyon işleminin sonunu belirlemek için, son süzme işleminde maddelerin kalitatif incelemesi yapılabilmektedir (Purwanto, 2009). Perkolasyon, tentürlerin ve sıvı özlerin hazırlanmasında aktif bileşenlerin çıkarılması için en sık kullanılan prosedürdür (Pracima, 2015).

Sıcak yolda ise soxhlet ekstraksiyonu, geri akış, infüzyon, dekok ve sindirim yöntemleri kullanılmaktadır. Soxhlet ekstraksiyonu, her zaman yeni olan bir çözücü kullanılarak, soxhlet cihazı ile yapılan özütlemedir. Böylece ters soğutma varlığında nispeten sabit miktarda çözücü ile sürekli bir özütleme gerçekleşmektedir. Geri akış, belirli bir süre için kaynama noktası sıcaklığında bir çözücü ve geri soğutma varlığında nispeten sabit olan sınırlı miktarda çözücü kullanılarak ekstraksiyondur. İnfüzyon, 15 dk boyunca 90 °C de çözücü olarak su ile yapılan ekstraksiyondur. İnfüzyon kabı, belirli bir süre (15-20 dk) kullanılan sıcaklık (96-98 °C) kaynayan bir su ısıtıcısına daldırılmaktadır.

Dekok, daha uzun süreli (30 dakikadan fazla) ve sıcaklığı suyun kaynama noktasına kadar olan bir infüzyondur. Bu yöntem suda çözünür ve ısıya dayanıklı bileşenlerin ekstraksiyonu için kullanılmaktadır (Depkes, 2000).

Sindirim, oda sıcaklığından daha yüksek bir sıcaklıkta (genellikle 25-30 °C) sürekli karıştırma ile maserasyondur. Ekstraksiyon işlemi sırasında sıcaklığın kullanıldığı bir tür maserasyon ekstraksiyonudur (Pracima, 2015).

2.3. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi

Antioksidanlar, oksidasyona direnen, oksijen veya peroksitlerin neden olduğu reaksiyonları engelleyen bir bileşiktir. Bu bileşiklerin çoğu (örneğin tokoferoller)

çeşitli ürünlerde (katı ve sıvı yağlar) koruyucu olarak (gıda ürünlerinde acılaşmayı ve istenmeyen değişimleri geciktirmek için) kullanılmaktadır (Huang ve ark, 2005).

Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda oksitlenebilir substratlarla karşılaştıklarında bu bileşiklerin oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirebilen veya inhibe edebilen bileşikler olarak da tanımlanabilmektedir (Kurniawan, 2011).

Genel olarak, serbest radikalleri yakalama mekanizması enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki türe ayrılabilir. Antioksidan olan enzimler, süperoksit dismutazdır (SOD); glutatyon peroksidaz, katalaz, tioredoksin redüktaz ve peroksiredoksindir (Masella ve ark, 2005). Enzimatik olmayan antioksidan bileşikler ise dört şekilde çalışmaktadır:

- a. Serbest radikal yakalayıcılar, örneğin C vitamin ve E vitamin
- b. Geçiş metali şelatörleri, örneğin EDTA
- c. Oksidatif enzim inhibitörleri, örneğin aspirin ve ibuprofen
- d. Antioksidan kofaktörleri, örneğin glutatyon peroksidazın bir kofaktörü olarak selenyum (Huang ve ark, 2005).

Polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi aşağıdaki gibi üç mekanizma içermektedir.

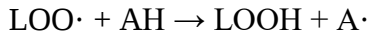
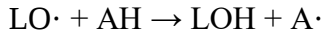
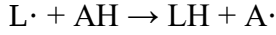
- a. Reaktif oksijen türleri (ROS) veya hidrojen atomları yoluyla elektron transferi işlemiyle $R\cdot$, $RO\cdot$, ve $ROO\cdot$ gibi lipid peroksidasyonundan üretilen radikaller gibi radikal yakalama aktivitesidir.
- b. Metal şelatlama yoluyla geçiş metallerinin katalizlediği reaktif bileşik türlerini önlemektedir.
- c. Lokalizasyon ve diğer antioksidanlarla birleşme gibi diğer antioksidanlarla etkileşimdir

Antioksidanlar ve biyolojik serbest radikal yakalayıcılar hedeflere, çalışma mekanizmasına ve fizikokimyasal özelliklere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

- a. Hedeflere göre sınıflandırmada koruyucu ve zincir kıran antioksidanlar olmak üzere iki şekilde olabilmektedir.

- Koruyucu antioksidanlar, yani oksidanların oluşumunu engelleyebilen ve oksidanların birikmesini önleyebilen antioksidanlardır. Örneğin: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, çeşitli peroksidaz enzimleri (örn. glutatyon peroksidaz) ve sülfhidril grupları (glutatyon, sistein ve kaptopril) içeren bileşiklerdir.

- Zincir kıran antioksidanın mekanizması şu şekildedir.



Antioksidanlar (AH), radikallerin lipidler ile reaksiyona girdiğinde ($L\cdot$) başlama adımı ve yayılma süreci (alkoksi ($LO\cdot$) veya peroksil ($LOO\cdot$) ile reaksiyona girme dahil olmak üzere iki adımını önleyebilmektedir (Kurniawan, 2011).

b. Çalışma mekanizmasına göre enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılmıştır (Ratri ve ark, 2021).

- Enzimatik antioksidanlar, örneğin: katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px).

- Enzimatik olmayan antioksidanlar, örneğin: E vitamin (α - tokoferol), C vitamini (askorbik asit) ve β -karoten.

c. Fizikokimyasal özelliklere göre ise hidrofilik ve lipofilik antioksidanlar olmak üzere iki şekilde incelenmektedir (Kurniawan, 2011).

- Hidrofilik antioksidanlar, sitozol ve hücre dışı sıvıda çalışan antioksidanlardır, örneğin: C vitamini, ürik asit, glutatyon, sistein, kreatinin bu şekilde etki göstermektedir.

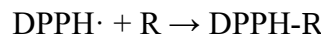
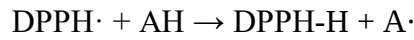
- Lipofilik antioksidanlar ise hücre zarları üzerinde etkili olan antioksidanlardır. E vitamin, β -karoten, ubikinon, bilirubin, metal bağlayıcı proteinler (transferrin, laktoferrin, seruloplazmin, ve albumin) bu gruba örnek verilebilmektedir.

Antioksidan aktiviteyi hem kalitatif hem de kantitatif olarak test etmenin birkaç yöntemi vardır. Bir bileşiğin antioksidan aktiviteye sahip olup olmadığını belirlemek için kalitatif testler, ince tabaka kromatografisi veya kağıt kromatografisi gibi kromatografik yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemlerle karmaşık antioksidan karışımlarını bile ayırabilmek mümkündür.

Antioksidan aktivite testlerinin çoğu spektrofotometrik olarak yapılabilmektedir. Bir antioksidanın aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlere örnek olarak linoleik tiyosiyanat sistemi, tiobarbitürik asit, β -karoten-linoleat ve radikal yakalama ile yapılan testler verilebilmektedir (Wulandari, 2009).

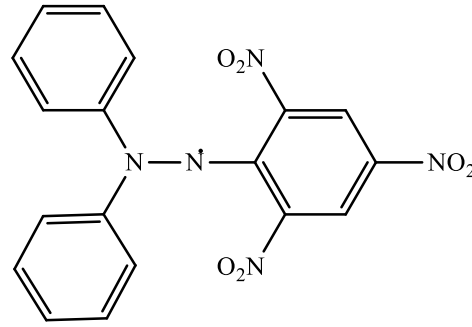
2.3.1. Radikal yakalama ile antioksidan aktivite testleri

Bu testlerle, oda sıcaklığında metanol veya etanol gibi polar organik çözücülerde sentetik radikallerin yakalanmasının ölçülmesi gerçekleştirilmektedir. Önemli radikal yakalama ile antioksidan aktivite testleri FRAP (Demir İyon İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi), CUPRAC (Oksidan olarak Bakır (II) Kullanan Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi) ve DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil)'dir. FRAP, sarı renkli Fe^{3+} 'nın (Potasyum hekzasiyanofat) asidik ortamda, antioksidan bileşiklerin elektron donörü görevi görmesiyle mavimsi yeşil bir renge sahip olan kompleks bileşik Fe^{2+} 'ye indirgeme reaksiyonudur (Maesaroh ve ark, 2018). CUPRAC yönteminin prensibi, Cu^{2+} 'nın, neokuproin ile reaksiyona girerek Cu^{+} 'ye indirgenmesiyle oluşan sarı rengin 450 nm dalga boyunda absorpsiyon ölçümüne dayanır (Safithri ve ark, 2020). Bu tez kapsamında kullanılan yöntem antioksidan aktivite yöntemi DPPH radikalini giderme aktivitesidir. DPPH, 517 nm dalga boyunda mor bir renk vermektedir. Serbest radikal yakalama elektronların eşleşmesine ve bu da alınan elektron sayısı ile orantılı bir renk kaybına neden olmaktadır (Sinala ve Dewi, 2019).



2.3.1.1. DPPH yöntemi

Şekil 2.2'de gösterilen DPPH, antioksidan veya serbest radikal yakalayıcı araştırmalarında yaygın olarak kullanılan bir serbest radikaldir. DPPH, ortada bulunan bir azot atomu ile kararlı bir serbest radikaldir ve hidrojen atomları verebilen bileşiklerle reaksiyona girebilmektedir (Kurniawan, 2011).

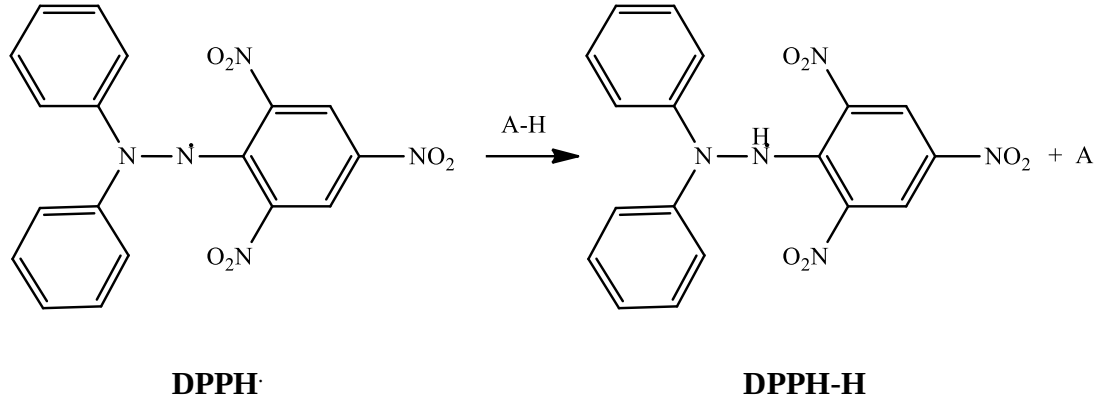


Şekil 2.2. DPPH'nin açık yapısı.

DPPH yöntemi, bitkilerin antioksidan aktivitesini test etmek için en sık kullanılan yöntemlerden biridir. DPPH yönteminin prensibi, DPPH radikallerinin renk yoğunluğunun mordan sarıya dönmesine neden olan radikal bileşiklerden serbest elektronların yakalanmasıdır (Wijayanti, 2016). Bu yöntem, belirli antioksidan türleri için spesifik değildir, ancak analiz edilen numunedeki genel antioksidan aktiviteyi test etmek için kullanılabilir (Marsetya, 2009).

Bir bileşik, DPPH'in kararlı hale getirmek için elektronlarını bağışlayabiliyorsa, antioksidan aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Bu olay, DPPH renginin yoğunluğunun mordan sarıya düşmesine neden olmaktadır. Bu renk değişimi, DPPH'nin bir serbest radikal olarak azaldığını ve hatta kaybolduğunu göstermektedir. Görünür spektrofotometre ile yapılan ölçümde okunan absorptans değeri mor kalan DPPH değeridir. Bu nedenle, DPPH absorptansındaki azalmanın oranı hesaplanarak radikal yakalamanın antioksidan aktivitesi belirlenebilir. Test bileşiğindeki antioksidanlar ne kadar güçlüyse, o kadar fazla DPPH'nin renginin açılmasına neden olabilmektedir (Molyneux, 2003).

Eşleşmemiş elektronlarının varlığı nedeniyle DPPH, 517 nm'de güçlü absorpsiyon sağlamaktadır. Elektronlar serbest radikal yakalayıcıların varlığı ile eşlendiğinde, alınan elektron sayısına göre absorptans stokiometrik olarak azalmaktadır (Dehpour ve ark, 2009). Bu reaksiyona bağlı olarak absorptanstaki değişiklik, bazı moleküllerin serbest radikalleri yakalama yeteneğini test etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.3) (Kurniawan, 2011). DPPH yöntemi, belirli bileşiklerin veya bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini test etmek için kolay, hızlı ve hassas bir yöntemdir (Koleva ve ark, 2002).



Şekil 2.3. DPPH'nin antioksidan bileşikler tarafından indirilmesi.

Bir bileşiğin antioksidan aktivitesini gösteren parametre, etkin konsantrasyonun (EC_{50}) değeri veya inhibisyon konsantrasyonunun (IC_{50}) değeridir, yani DPPH'nin %50'sinin radikal karakterini kaybetmesine veya %50 inhibisyon sağlayan bir antioksidan maddenin konsantrasyonudur (Molyneux, 2003)

IC_{50} değeri ne kadar küçükse, serbest radikal aktivitesinin inhibitör konsantrasyonu IC_{50} o kadar yüksek olmaktadır. IC_{50} değeri ne kadar küçükse, antioksidan aktivite o kadar yüksek olmaktadır. Spesifik olarak Tablo 2.1'de de gösterildiği gibi IC_{50} değeri 50 ppm'den daha küçük ($IC_{50} < 50$ ppm) ise bir bileşiğin çok güçlü bir antioksidan olduğunu ifade ederken IC_{50} değeri $50 \text{ ppm} < IC_{50} < 100 \text{ ppm}$ ise güçlü, IC_{50} değeri $100 \text{ ppm} < IC_{50} < 150 \text{ ppm}$ ise orta, IC_{50} değeri $150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200 \text{ ppm}$ ise zayıf ve IC_{50} değeri 200 ppm'den daha büyük ise çok zayıf olmaktadır (Tablo 2.1.) (Abdullah ve ark, 2014).

Tablo 2.1. DPPH yöntemine göre antioksidan güç seviyesi.

Yoğunluk	Çok güçlü	Güçlü	Orta	Zayıf
IC_{50}	$< 50 \mu\text{g/mL}$	$50-100 \mu\text{g/mL}$	$101-150 \mu\text{g/mL}$	$>150 \mu\text{g/mL}$

Bu çalışmada DPPH yöntemi, basit, kolay, hızlı, hassas ve az miktarda numune gerektirmesi nedeniyle seçilmiştir, ancak bu testte gereken seyreltici miktarı oldukça fazladır. Kullanılan solvent metanoldür çünkü DPPH kristallerini çözebilir ve ayrıca içindeki polar olmayan bileşenleri çözebilecek özelliklere sahiptir (Imrawati ve ark, 2016).

2.4. Fenolik Bileşikler Hakkında Genel Bilgi

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil (-OH) bulunduran aromatik bileşiklerden oluşan organik maddelerdir. Fenoliklerin ana bileşeni fenoldür ancak fenolik bileşiklerin çoğu polifenollerdir. Fenolik bileşiklerin kaynakları hayvansal kaynaklarda çok az, bitkisel kaynaklarda ise çok fazladır ve bilinen 8000 bitki polifenolik bileşik arasında en büyük grup flavonoidlerdir (Mariyah, 2020).

Fenolik bileşikler, kullanımı güvenli bir doğal antioksidan kaynağı olarak bitkilerden elde edilen biyoaktif bileşiklerdir. Bu nedenle araştırmacıların dikkati, günlük insan tüketimi için kullanılabilir antioksidan aktiviteye sahip bitkilerin belirlenmesine odaklanmıştır (Ebrahimzadeh ve ark, 2007).

Janeiro ve Brett'e göre, fenolik bileşiklerin antioksidanlar olarak mekanizması, fenol gruplarının elektron transferi yoluyla hidrojen atomlarını vererek serbest radikallerle eşleşme yeteneğidir. Bu süreç fenoller fenoksil radikallerine dönüştürmektedir. Bu fenoksil radikali, bir rezonans süreci yoluyla kendisini stabilize edebilir, böylece bir radikal oluşumunun zincirleme reaksiyonun oluşması önlenmektedir (Janeiro ve Brett, 2004). Bir numunedeki toplam fenolik içerik, Folin-Ciocalteu yöntemiyle kolorimetrik olarak ölçülebilmektedir.

2.4.1. Folin-Ciocalteu yöntemi

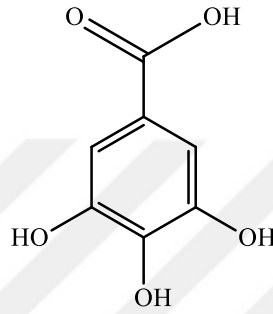
Bir numunedeki toplam fenolik içerik, Folin-Ciocalteu yöntemiyle kolorimetrik olarak ölçülebilir ve eşdeğer gallik asit kütlesi ile ifade edilebilmektedir (Kate, 2014). Folin-Ciocalteu reaktifi, fosfomolibdik asit ve heteropolifosfotungstik asitten oluşan karmaşık bir çözeltidir (Nurhayati ve ark, 2012).

Bu yöntemin temel prensibi fenolik-hidroksil gruplarının oksidasyonudur. Folin-Ciocalteu reaktifi fenolikleri oksitler ve heteropoli asitleri bir molibden-tungsten (Mo-W) kompleksine indirger (Ikram, 2017). Reaksiyon sırasında, fenolik-hidroksil grubu, Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyona girince mavi bir fosfotungstat-fosfomolibdat kompleksi oluşturur (Blainski ve ark, 2013). Test çözeltisindeki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ne kadar yüksekse, reaksiyon sonucu oluşan mavi renk o kadar konsantre olacaktır.

Folin-Ciocalteu yöntemi basit, hassas ve kapsamlı bir yöntemdir. Bu yöntem alkali bir ortamda gerçekleşir, böylece Folin-Ciocalteu reaktifi ile fenolik içeriğin

belirlenmesinde alkali bir atmosfer oluşturmayı amaçlayan sodyum karbonat kullanılmaktadır (Kate, 2014).

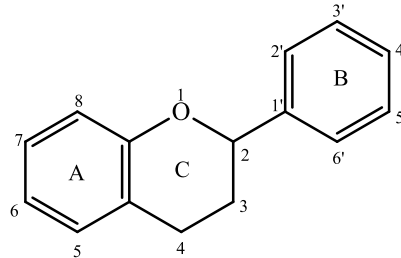
Şekil 2.4’de açık yapısı verilen gallik asit, 3,4,5-trihidroksibenzoik asit, bir flavonoid olmayan fenolik bir bileşiktir (Lopez ve ark, 2003). Gallik asit, basit ve stabil bir fenolik asit olan hidroksibenzoik asidin bir türevidir olduğu için ölçüm standardı olarak kullanılmaktadır (Septiani ve ark, 2018). Bitkilerin toplam fenolik içeriğine eşdeğer olarak toplam fenolik içeriğin belirlenmesi ile ilgili birçok çalışmada sıklıkla kullanılmaktadır (Kate, 2014).



Şekil 2.4. Gallik asit yapısı.

2.5. Flavonoidler Hakkında Genel Bilgi

Açık yapısı Şekil 2.5 de verilen flavonoidler, doğada bulunan en büyük fenolik bileşik grubudur. Bitkilerde kırmızı, mor, mavi ve bazen de sarı renkten sorumlu olan bileşiklerdir. Flavonoidler, iki benzen halkasının (C6) bir C6-C3-C6 düzenlemesi oluşturmak üzere bir propan zincirine (C3) bağlandığı 15 karbon atomundan oluşan bir karbon iskeletine sahiptir (Lenny, 2006). Yamagata (2018) tarafından yapılan çalışmada flavonoidlerin genel yapısı, karbon yapısı C6-C3-C6 olarak kısaltılan iki fenil halkası (A ve B) ve bir heterosiklik halka (C) içermektedir.



Şekil 2.5. Flavonoidlerin genel yapısı.

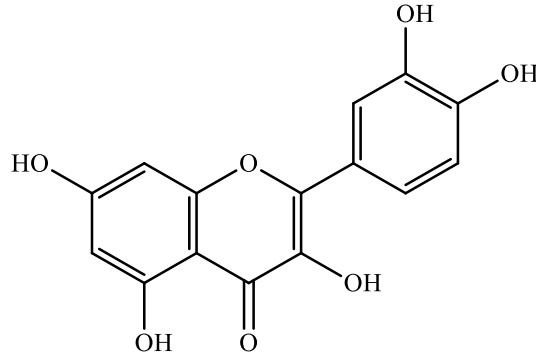
Flavonoidler polar bileşikler olduklarından genellikle etanol, metanol, bütanol, aseton, etil asetat, dimetilsülfoksit, dimetilformamid ve su gibi polar çözücülerde oldukça iyi çözölmektedir. Flavonoidlere bağılı şekerin varlığı, flavonoidlerin suda daha çözöünör olmasına neden olmaktadır (Widiyanto, 2007).

Flavonoidler, tüm yeşil bitkilerde, hatta daha yüksek bitki türlerinin her türünde olup, yaprak, kök, odun, ağaç kabuğı, polen, nektar, çiçek, meyve ve tohumlar dahil olmak üzere bitkilerin tüm kısımlarında bulunmaktadır (Rasidah ve ark, 2019).

Flavonoidler virüs, bakteri ve mantarların büyümesini engellemek için etkili özelliklere sahiptir. Genel olarak antioksidan özelliğıe sahiptirler ve birçok ilaçlar için ham maddelerin bileşeni olarak kullanılırlar. Flavonoid bileşikleri ve türevleri, çeşitli hastalıklar için antibakteriyel ve bitkiler için antivirüs olmak üzere iki spesifik fizyolojik fonksiyona sahiptir (Anggraeni, 2016). Yapılan bir çalışmada flavonoidlerin bakteri hücre duvarlarının geçirgenliğine zarar verebildiğı ve bakteri hareketliliğini engelleyebildiğı rapor edilmiştir (Sutriana ve ark, 2022).

Bitkisel örneklerdeki flavonoid içeriğı çeşitli yöntemlerle belirlenebilmektedir. Kullanılabilecek yöntemlerden biri, kolorimetri ilkesine dayanan UV spektrofotometresidir. Hesaplama, absorbands ve analit içeriğı arasında düz bir ilişki gösteren Lambert-Beer yasasına dayanmaktadır (Neldawati ve ark, 2013).

Flavonoid içeriklerinin analizi, numunede bulunan toplam flavonoidlerin bir ölçümüdür. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin flavonoid içeriğinin analizi, alüminyum klorür ($AlCl_3$) kullanılarak UV-Vis spektrofotometresi ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde kullanılan kuersetin standartının açık yapısı Şekil 2.6'de gösterilmiştir. Kuersetini, antioksidan potansiyele sahip bir flavonol sınıfından olup meyve ve sebzelerde bulunan flavonoiddir (Marsetya, 2009). Kuersetini, biyolojik olarak çok güçlü, çok yüksek antioksidan aktiviteye sahip ve flavonoidlerin düzeylerinin belirlenmesinde genellikle standart olarak kullanılmaktadır (Neldawati ve ark, 2013).



Şekil 2.6. Kuersteinin açık yapısı.

2.6. Antibakteriyel Testler Hakkında Genel Bilgi

Antibakteriyel aktivite testi, ekstrakttaki bir antibakteriyel bileşik tarafından bakteriyel büyümenin inhibisyonuna verilen tepkinin bir göstergesidir. Bu test aynı zamanda bakterilerin antibakteriyel maddelere duyarlılık düzeyini de belirleyebilir ve bir bileşiğin potansiyelinin veya konsantrasyonunun mikroorganizmalar üzerinde ne kadar etkili olabileceğini ölçen bir tekniktir. Antibakteriyel aktivite testinde antimikrobiyal madde varlığında, bakteriler 37 °C’de 18-24 saat inkübe edilerek bakteri üremesi gözlenmektedir (Ginting, 2018). Difüzyon yöntemi ve seyreltme yöntemi dahil olmak üzere antimikrobiyal test yapmak için çeşitli yöntemler vardır. Difüzyon yönteminin disk difüzyon, E-testi, hendek plakası, fincan tabağı ve degrade plaka olmak üzere beş farklı tekniği bulunmaktadır. Bu tez kapsamında antibakteriyel aktivitenin araştırılmasında disk difüzyon tekniği kullanılmıştır (Budianto ve ark, 2015).

2.6.1. Disk difüzyon yöntemi

Bu yöntem antibakteriyel duyarlılık testlerinde en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu testte patojen bakteri ile aşılınmış agar ortamına disk yerleştirilmektedir. Antimikrobiyal bileşik, diskin etrafında bir konsantrasyon gradyanı oluşturarak ortama yayılmaktadır. Bakterilerin gelişmesi, bileşik konsantrasyonu ile diskten bir mesafe oluşturarak inhibe edilmektedir. Bakteri üremesinin inhibisyonu, agar besiyerinde dairesel bölgeler olarak görünmektedir. Oluşan inhibisyon bölgesinin çapı, kullanılan bakterilerinin antibakteriyel bileşiğe duyarlılığı ile orantılıdır (Wardhani, 2015).

2.7. Antibakteriyel Testlerde Kullanılan Bakteriler

Bakteriler, Gram boyamaya verdikleri tepkiye göre Gram pozitif ve Gram negatif gruplara ayrılmaktadır. Gram pozitif ve Gram negatif arasındaki fark, hücre duvarındaki farkla gösterilmektedir. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı çoğunlukla çok sayıda peptidoglikan tabakasından oluşmaktadır. Gram pozitif bakteriler, Gram boyama işlemi sırasında metil mor boyayı tutan bakterilerdir. Bu bakteri türü mikroskop altında mavi veya mor görünürken, gram-negatif bakteriler pembe görünmektedir. İki bakteri türü arasındaki sınıflandırma farkı, esas olarak bakteri hücre duvarının yapısındaki farklılıklara dayanmaktadır (Lestari, 2012).

2.7.1. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae ailesinden *Escherichia coli* bakterilerin çekirdeği yoktur. *E. coli*, belirli substratları yakalamak için ince filamentler olan pili ve yüzmek için ince ve daha uzun filamentler olan flagella adlı dış organellere sahiptir. *E. coli* bakterilerinin üremesi aerobik veya fakültatif anaerobiktir, optimum büyüme 37 °C'de gerçekleşmektedir (Hendrayati, 2012).

Escherichia coli, idrar yolu enfeksiyonlarına, menenjitte ve sepsiseye neden olabilen ortak, bağırsak ve bağırsak dışı bir patojendir. *E. coli* bakterilerinin çoğu, hayvanların ve insanların sindirim sisteminde bulunur ve normal floradır, ancak bazıları insanlarda ishale neden olabilen patojeniktir (Bakri ve ark, 2015).

2.7.2. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa, yaklaşık 0,6 x 2 µm boyutlarında, düz veya kavisli çubuklar şeklinde Gram negatif bir bakteridir. Bu bakteriler tek, çift, bazen kısa zincirler halinde bulunabilen, sporsuz, kılıfsız ve monotrik kamçıları için sürekli hareket halindedir.

P. aeruginosa fırsatçı bir patojendir, yani bir enfeksiyon başlatmak için konağın savunma mekanizmalarındaki kusurlardan yararlanmaktadır. Bu bakteri özellikle ciddi yanıkları olan hastalarda, bağışıklık sistemi azalmış kanser ve AIDS hastalarında idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, dermatit, yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyemi, kemik ve eklem enfeksiyonları, gastrointestinal enfeksiyonlar ve çeşitli sistemik enfeksiyonlara neden olmaktadır. *P. aeruginosa* enfeksiyonu, hastanede yatan kanser, kistik fibroz ve yanık hastalarında

ciddi bir sorundur. Bu hastalarda vaka ölüm oranı %50'dir. Bu bakteri, yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda yaygın bir sepsis nedenidir (Mayasari, 2005).

2.7.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes Gram-pozitif bir bakteridir, genellikle su ürünlerine bulaşan basil şeklinde sporlar oluşturmamaktadır. *L. monocytogenes* için taksonomik belirteçlerden biri, sitoplazmik zardaki amfifilik bir polimer olan lipoteikoik asitteki hidrofilik ve hidrofobik yapıların oranıdır (Lestari ve ark, 2019).

Son on yılda, *L. monocytogenes*, gıda endüstrisi üzerinde çok güçlü bir etkiye sahip olan, gıda zehirlenmelerine neden olan patojenik bir bakteridir. *L. monocytogenes* içeren gıdaların tüketilmesi nedeniyle birçok zehirlenme vakası ve salgın vakası bildirilmesi, bu bakterinin sağlık için ciddi bir tehdit oluşturan gıda zehirlenmelerine neden olma potansiyeline sahip olduğunu kanıtlamaktadır. *L. monocytogenes*'in gıda zehirlenmesine neden olma potansiyeli, soğuk depolama sıcaklıklarında (soğutma) büyüme ve hatta donmuş depolama sıcaklıklarında hayatta kalma kabiliyetiyle de desteklenmektedir (Kusumawati, 2000).

2.7.4. *Bacillus cereus*

Bu bakteri toprak ve suda çubuk şeklinde bulunmaktadır. *Bacillus* 10-50 °C sıcaklıklarda büyüyebilir, ısıya dayanıklı endosporlar oluşturabilir ve ilginç fizyolojik özelliklere sahiptir çünkü her türün protein, nişasta, selüloz gibi organik bileşikleri parçalayabilme dahil olmak üzere farklı yetenekleri vardır (Sari ve ark, 2015).

Bacillus cereus toprakta, besinlerde, böcek larvalarında, hemen hemen tüm yüzeylerde ve insan derisinde bulunan, spor oluşturan ve her yerde bulunan bir bakteridir. *B. cereus* gıda zehirlenmesinin yanı sıra lokal ve sistemik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Tanımlanan başlıca durumlar sepsisemi, endoftalmi, pnömoni, endokardit, menenjit ve ensefalittir. Özellikle yeni doğanlar gibi bağışıklığı baskılanmış bireylerde görülür ve vakaların yaklaşık %10'unda hasta ölümüyle sonuçlanmaktadır. Ek olarak, şarbona benzer ve sağlıklı kişileri etkileyen birkaç fulminan enfeksiyon vakası da bildirilmiştir (Glasset ve ark, 2018).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasal Maddeler

Ekstraksiyon işlemleri için IKA KS 4000 çalkalamalı inkübatör kullanılmıştır. UV-Vis spektrofotometre ile ölçümleri Agilent Model 8453 Diode Array Spektrofotometre kullanılarak, FTIR spektrumları Perkinelmer Spectrum Two cihazı ile, LCMS analizleri ise Shimadzu marka LCMS-9030 model cihazda Q-TOF analizör kullanılarak alınmıştır. Çözücülerin uzaklaştırılmasında RÜCHI switzerland v-850 marka evaporatör kullanılmıştır. Numuneler Liebherr, medline marka buzdolabında muhafaza edildi. Ayrıca terazi (Precisa gr-200), karıştırıcı (Vortex 2 Genie ve Shaker QI- 861), blendır (Fakir), santrifüj (Rotina 420- Hettich, Germani), otomatik pipet (100-1000 µL smart, 50-200 µL İsolab) ve etüv (termal) deneysel çalışmalarda kullanılmıştır.

Kullanılan kimyasallardan metanol, etanol, sodyum karbonat, gallik asit, alüminyum klorür, sodyum nitrit, sodyum hidroksit ve Folin-Ciocalteu reaktifi Merck firmasından, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ise Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, ABD) satın alınmıştır.

3.1.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması

-1000 ppm'lik gallik asit çözeltisi: 100 mg gallik asit 100 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlanmıştır.

-%10'luk Na_2CO_3 çözeltisi: 10 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlanmıştır.

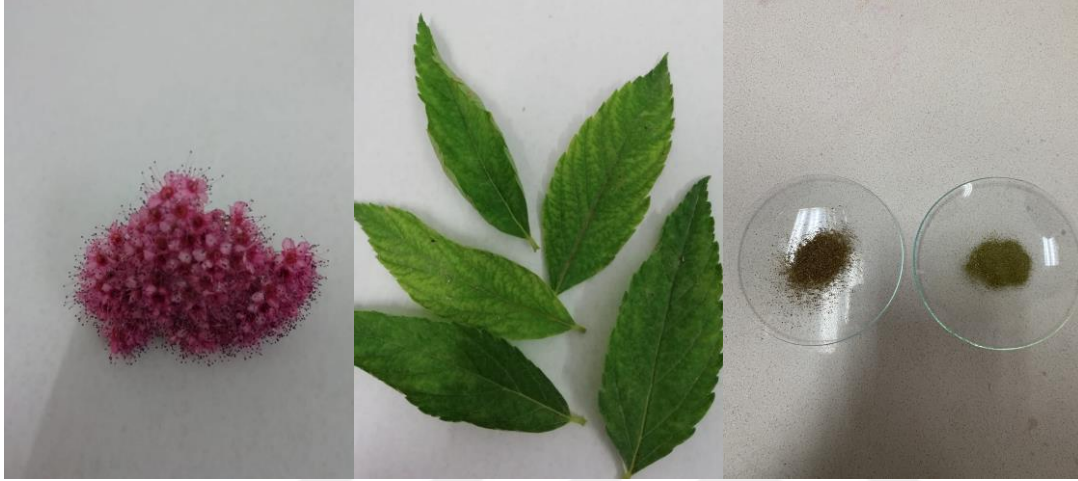
-% 10'luk AlCl_3 çözeltisi: 2,5 g Alüminyum klorür 25 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlanmıştır.

-%5'lik NaNO_2 çözeltisi: 1,25g NaNO_2 25 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlanmıştır.

-20 ppm'lik DPPH çözeltisi: 2 mg DPPH tartılarak 100 mL metanol ile çözülmüştür.

3.1.2. *S. japonica* var. *fortunei*'nin deneysel çalışmalar için hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan *S. japonica* var. *fortunei* Ağustos 2021'de Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi arka bahçesinden toplanmıştır (Şekil 3.1). Bitkiler toplandıktan sonra çiçekleri ve yaprakları ayrılarak oda sıcaklığında bir hafta boyunca kurutuldu. Kuru çiçek ve yaprakları bir Waring karıştırıcıda öğütüldükten sonra ince bir toz elde etmek için elendi (18 mesh).



Şekil 3.1. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarının toz haline getirilme aşamaları.

3.2. Deneysel Çalışmalar

3.2.1. *S. japonica* var. *fortunei*'nin ekstraksiyonu

Spiraea japonica var. *fortunei*'nin yaprak ve çiçeklerinin tozu, metanol ve etanol çözücülerini kullanarak maserasyon yöntemiyle ekstrakte edildi. Bu yöntem, numunede antioksidan görevi gören bileşiklerde ve vitaminlerde meydana gelen değişikliklerin önlenmesi için ısıtma kullanmadığı için seçilmiştir. Maserasyon işlemi, doğal bileşiklerin izolasyonu için çok faydalıdır (Marsetya, 2009).

S. japonica var. *fortunei* yaprak ve çiçek tozu 0,25 g alınarak 10 mL %80'lik ekstraksiyon çözücüsüne (metanol ve etanol) ilave edildi ve 24 s oda sıcaklığında çalkalamalı inkübatörde 120 rpm'de çalkalandı. Daha sonra çözelti 9000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi ve süpernatant kısmı alınarak filtre edildi. Diğer analizler (toplam feolik madde miktarı, flavonoid miktarı ve antioksidan aktivite) için ependorf tüplerine alınan ekstraktlar -22 °C'de saklandı. FTIR ve antibakteriyel analizleri için ise bazı ekstraktların evaporatör kullanılarak çözücülerini uzaklaştırıldı.

Ekstraksiyon verimi Denklem 3.1 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Ekstraksiyon verimi (\%)} = \frac{W_1}{W_2} * 100 \quad (3.1)$$

Burada, W_1 , buharlaştırdıktan sonra ekstraktın ağırlığı ve W_2 , kurutulmuş numune miktarıdır.

3.2.2. Toplam fenol içeriğinin belirlenmesi

S. japonica var. *fortunei* yaprak ve çiçek ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi fenolik bileşikler için spesifik bir reaktif olan Folin Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (Yamin, 2021). Bunun için 75 µL çözücü (%80 metanol veya etanol), 25 µL ekstrakt, 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 mL distile su ilave edilerek karıştırıldı. Üç dk sonra 1 mL Na_2CO_3 solüsyonu (%20 w/v) eklendi ve karışım karanlık bir ortamda 1 s bekletildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra numunelerin absorbansı 765 nm dalga boyunda bir UV-Vis spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Analizler bütün denemelerde üç paralel olacak şekilde çalışılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan standart gallik asit bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal bir hidroksibenzoik asittir (Marsetya, 2009). Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), fenolik bileşikler için tavsiye edilen bir standarttır (Prior ve ark, 2005). Standart olarak kullanılan gallik asit çözeltisinden farklı konsantrasyonlar (100, 200, 300, 400 ppm) hazırlandı, her çözeltiden 100 µL alındı, 200 µL Folin Ciocalteu reaktifi, 2 mL saf su eklendi 3 dk bekledikten sonra 1 mL Na_2CO_3 çözeltisi eklendi, deney tüpleri karıştırılarak 1 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığında bekletildi ve UV spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda absorbansı okundu. Absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri ise x-ekseninde gösterilerek bir standart çalışma grafiği hazırlandı. Elde edilen standart doğru denklemi $y=0,0023x$ olarak tespit edildi. Standart grafiğe göre tüm bitki ekstraktlarındaki toplam fenolik madde mg gallik asit eşdeğeri GAE/ g kuru madde olarak aşağıdaki Denklem 3.2 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Toplam Fenolik (mgGAE/g km)} = \frac{C \times V \times fp}{g} \quad (3.2)$$

Burada C, mg/mL cinsinden dönüştürülmüş fenolik konsantrasyon, V, mL cinsinden numune hacmi, fp seyreltme faktörü ve g, gram cinsinden numune ağırlığıdır.

3.2.3. Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi

Toplam flavonoid miktarının belirlenmesinde alüminyum klorür yöntemi modifiye edilerek belirlendi (Azizah ve ark, 2014). Bunun için *S. japonica* var. *fortunei* 'nin çiçek ve yaprak ekstraktlarından 100 µL alındı ve 300 µL distile su ile 30 µL NaNO₂ (%5, w/v) karıştırılarak oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra karışıma 30 µL AlCl₃ (%10, w/v) ilave edilerek 5 dakika sonra 200 µL NaOH (1 mM) eklendi. Hacim distile su ile 1 mL'ye tamamlanarak vortekslendi. Flavonoidler tarafından oluşturulan turuncu-sarı rengin yoğunluğu, bir UV-Vis spektrofotometre ile 510 nm dalga boyunda okundu. Tüm örnekleri üç paralel olacak şekilde analiz edildi.

Toplam flavonoid madde analizinde standart olarak kullanılan kuersetinin farklı konsantrasyonlarda (800, 600, 400, 200, 100, 60, 40, 10 ppm) çözeltileri hazırlandı ve 510 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. Toplam flavonoid madde içeriği mg kuersetin eşdeğeri (QE)/gram kuru madde olarak ifade edilmiştir. Absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri ise x-ekseninde gösterilerek bir standart çalışma grafiği hazırlandı. Elde edilen standart doğru denklemi $y=0,0003x$ olarak tespit edildi. Standart grafiğe göre tüm bitki ekstraktlarındaki toplam flavonoid mg kuersetin eşdeğeri (QE)/gram kuru madde olarak Denklem 3.3 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Toplam Flavonoid (mg QE/g km)} = \frac{C \times V \times fp}{g} \quad (3.3)$$

Burada C, mg/mL cinsinden dönüştürülmüş flavonoidlerin konsantrasyonu, V, mL cinsinden numune hacim, fp seyreltme faktörü ve g, gram cinsinden numune ağırlığıdır.

3.2.4. DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini

S. japonica var. *fortunei* ekstraktlarının serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi (Isnaeni, 2020). Deney tüpüne çeşitli miktarlarda (2,5, 5, 10, 50, ve 100 µL) ekstrakt alınarak %70 metanol (h/h) ile 200 µL'ye tamamlandı. 3 mL DPPH çözeltisini ilave edilerek oda sıcaklığında karanlık

ortamda 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Kontrol numunesi, numune yerine 200 µL %70 metanol olacak şekilde hazırlandı. Kontrole göre absorbanstaki azalma 517 nm’de izlendi. Serbest radikal giderim aktivitesi Denklem 3.4 kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar %DPPH süpürme aktivitesi olarak verildi.

$$\text{DPPH radikal süpürme aktivitesi (\%)} = \frac{(A_C - A_S)}{A_C} * 100 \quad (3.4)$$

A_C , kontrolün absorbansiyken, A_S numunenin absorbansıdır.

Her numune konsantrasyonunu IC_{50} değeri, ölçüm replikasyon serilerinden x eksenini ifade edilen antioksidan fraksiyonun konsantrasyonu ile y eksenini ifade edilen % inhibisyon arasındaki ilişkiyi belirten doğrusal regresyon denkleminin formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Purwanto ve ark, 2017). Tüm analizler üç paralel olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.5. Kuru madde tayini

Kuru madde tayininde *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yaprakları etüvde 106 °C sıcaklıkta 24 saat boyunca kurutulmaya bırakıldı. Tartımlar 4., 8. ve 24. saatlerde alındı ve aşağıdaki Denklem 3.5 kullanılarak kuru madde ve nem derecesi belirlendi.

$$\text{Kuru madde miktarı (\%)} = \frac{a}{b} * 100 \quad (3.5)$$

Burada a kuru örnek ağırlığı (g) iken, b örnek miktarı (g)’dır.

3.2.6. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin ve ekstraktlarının UV spektrumları

Farklı çözücülerle (%80 etanol, %80 metanol) elde edilen *S. japonica* var. *fortunei* yaprak ve çiçek ekstraktları UV-Vis tarama analizine tabi tutuldu. Ekstraktlar 30 kez seyreltilerek UV-Vis spektrofotometrede 200-600 nm dalga boyları arasında absorbansları ölçüldü.

3.2.7. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin ve ekstraktlarının FTIR spektrumları

S. japonica var. *fortunei* bitkisinin yaprak ve çiçeğinin öğütülmüş tozu ile bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen kurutulmuş ekstraktlar 4000-400 cm⁻¹ aralığında taranarak yapılarındaki fonksiyonel gruplara ait spesifik pikler belirlendi.

3.2.8. *S. japonica* var. *fortunei* ekstraktlarının LCMS kromatogramları

S. japonica var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yaprak etanol ekstraktlarından 200 µL alınarak 3 mL %80'lik etanol içerisinde seyreltilmiştir. Kullanılan mobil faz asetonitril ve 30 mM formik asitten oluşurken akış hızı 0,5 mL/dk ve analiz süresi 35 dk'dır. Kolon sıcaklığı 25 °C'de sabit tutulmuştur. Kolon olarak CN kolon (3 µm, 15 cm, 4 mm) kullanılmıştır ve numune miktarı 10 µL'dir. Mobil faz olarak gradyan modunda asetonitril ve 30 mM formik asit çözeltisi kullanıldı. Doğrusal gradyan profili: 0-8 dk %5 asetonitril, 8-13 dk %15 asetonitril, 13-18 dk %30 asetonitril, 18-20 dk %35 asetonitril, 20-24 dk %60 asetonitril, 24-27 dk %80 asetonitril, 27-30 dk %90 asetonitril, 30-32 dk %95 asetonitril, 32-35 dk %5 asetonitril'dir (Görgüç ve ark, 2020). Kütle spektrumları pozitif ve negatif iyonizasyon modlarında elektrosprey iyonizasyon yöntemi ve Q-TOF analizörü kullanılarak alınmıştır. Arayüzey voltajı 3,0 kV, sıcaklığı 300 °C'dir. Nebilizör gaz (helyum) akışı 3,0 L/dk'dır.

3.2.9. Antibakteriyel aktivite tayini

Spiraea japonica var. *fortunei* çiçek ve yaprak metanol ve etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesinin test edilmesi, disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizde çözümlerinden evaporatörde uzaklaştırılmış ekstraktlar kullanılmıştır. Bu çalışmada *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Listeria monocytogenes* bakteri suşları kullanılmıştır. Bakteri suşları 10 mL'lik triptik soya kültürüne aşılanarak 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. *S. japonica* var. *fortunei* etanol ve metanol ekstraktları 3 mL saf su ile çözüldükten sonra, selüloz membran filtre (22µm) ile filtre edilerek eppendrof tüplerine aktarılmıştır. Steril edilerek 45-50 °C'ye kadar soğutulan Müller Hinton Agar, steril Petri kutularına 15 mL aktarılıp besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanarak 4 °C'de buzdolabında 1,5-2 saat bekletilmiştir. Triptik soya kültüründen bakterilerden 50 µL alınarak Müller Hinton Agara aşılanıp 30 dk bekletilmiştir. Steril boş diskler (6 mm çap) aşılanan agara belirli aralıklarla

dizildikten sonra hazırlanan bitki ekstraktlarından 20 µL alınarak steril disklerin üzerine eklenmiştir. Petriler 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. Bütün testler dört paralel olacak şekilde yapılmıştır. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10. İstatistiksel analiz

Sonuçlar, SPSS (sürüm 11.5, SPSS Inc., ABD) kullanılarak ANOVA ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Ekstreler arasındaki farkları belirlemek için, 0.05 anlamlılık düzeyine sahip Duncan çoklu aralık testi kullanılmıştır.





4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ekstraksiyon Verimi ve Kuru Madde Sonuçları

Ekstraksiyon verimi, bitkiden belirli bileşenleri elde etmek için çözücü ve ekstraksiyon yönteminin etkinliğinin bir ölçüsüdür. Kuru maddesi sırasıyla %76,44 ve %73,37 olan *S. japonica* var. *fortunei*'nin kurutulmuş çiçekleri ve yaprakları, farklı çözücülerin etkisini belirlemek için hem etanol hem de metanol kullanılarak ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir (Tablo 4.1). *S. japonica* var. *fortunei* yapraklarının ekstraksiyon verimleri, her iki çözücüde de çiçeklerinden oldukça yüksek bulunmuştur. En yüksek bitki ekstrakt verimi metanol ile ekstrakte edilen *S. japonica* var. *fortunei* yapraklarından (%32,5), en düşük ise etanol ile ekstrakte edilen çiçeklerden (%13,0) elde edilmiştir. Hidayati ve Khaerunisa (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, ekstraksiyon sonuçlarının yüksekliğindeki farkın kullanılan her çözücünün, ekstraksiyon işleminde çözünen aktif bileşiklerin miktarını etkileyecek farklı bir polariteye sahip olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Hidayati ve Khaerunisa, 2018). Bu bağlamda, çeşitli araştırmacılar, çalışmalarında farklı hammaddelerden farklı ekstraksiyon verimleri elde etmişlerdir. Çözücü seçiminde diğer bir temel, kullanım kolaylığı, verimlilik, seçicilik ve geniş uygulama alanıdır (Wijayanti, 2016). Sembiring ve Suhirman (2014) tarafından yapılan çalışmada *Phlathus niruri* L bitkisinin etanol ile ekstraksiyonunun ekstraksiyon verimi %20,12-20,92 olduğu bildirilmiştir (Sembiring ve Suhirman, 2014). Literatürde beş farklı bitki türü (*Zea mays ssaccrata* Strurt, *Piper nigrum* L., *Areca catechu* L., *Eleiodoxa conferta* ve *Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) ile yapılan çalışmalarda ekstraksiyon çözücüsü olarak etanol kullanıldığında verimin %4,2 ile %23,55 arasında değiştiği belirtilmiştir (Jannah ve ark, 2017 ; Hikmawanti ve ark, 2016 ; Febriani ve ark, 2014 ; Surtina ve ark, 2019 ; Trinovita ve ark, 2020). Diğer bir çalışmada *Camellia sinensis* Linn'in (yeşil çay, siyah çay, oolong çay ve beyaz çay) dondurarak kurutma yöntemi (liyofilizasyon) kullanılarak ekstraksiyonunun sonuçları sırasıyla %6,72, %14,80, %5,64 ve %2,24 olarak bulunmuştur (Lelita ve ark, 2013). Başka çalışmada *Clerodendrom squamatum* Vahl.

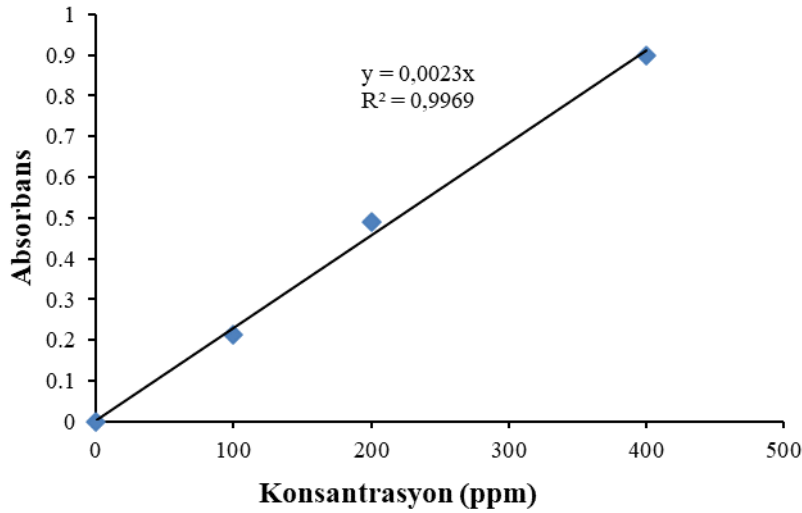
yaprağı etanol ekstraktı %6,6, etil asetat ekstraktı %5 ve n-heksan ekstraktı %2 verimleri sahiptir (Huliselan ve ark, 2015).

Tablo 4.1. Etanol ve metanol ile ekstrakte edilen *S. japonica* var. *fortunei*'nin farklı kısımlarının ekstraksiyon verimi ve kuru madde tayini.

Bitki örneği	Ekstraksiyon Verimi (%)		Kuru Madde (%)
	Etanol ekstrakt	Metanol ekstrakt	
Çiçek	13,00	17,12	76,44
Yaprak	25,88	32,52	73,37

4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı

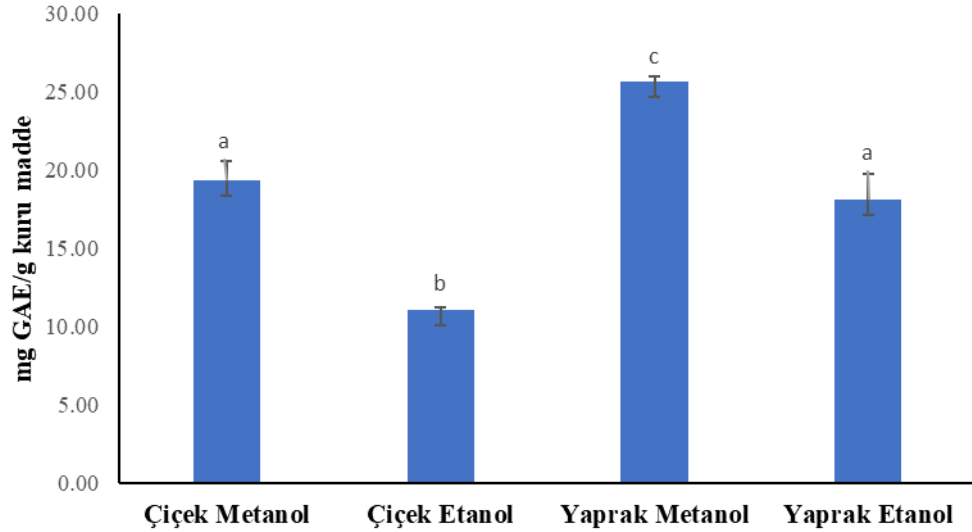
Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılan toplam fenolik bileşik tayininde Gallik asit ile elde edilen standart grafik Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Gallik asit standart grafiği.

Kalibrasyon denklemi kullanılarak hesaplanan *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin ekstraktlarının toplam fenolik bileşik içerikleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Toplam fenolik içerikleri $11,08 \pm 0,13$ ile $25,64 \pm 0,32$ mg GAE/g kuru madde arasında değişmekte olup, maksimum değer yaprakların metanol ekstraktlarından elde edilmiştir. Hem etanol hem de metanol ekstraktların toplam fenolik içerikleri yaprak ekstraktlarda çiçek ekstraktlardan daha yüksek değerler elde edildi. Çiçek ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarı etanol ve metanol ekstraktlarında sırasıyla $11,08 \pm 0,13$ ve $19,33 \pm 1,24$ mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur.

S. japonica var. *fortunei* çiçek metanol ve yaprak etanol ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri birbirine yakın bulunmuş ve sırasıyla $19,33 \pm 1,24$ ve $18,13 \pm 1,61$ mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur ($P > 0,05$). *S. japonica* var. *fortunei* çiçek etanolünde ve yaprak metanolünde toplam fenolik içeriklerinde önemli bir artış ($P < 0,05$) saptanmış ve sırasıyla $11,08 \pm 0,13$ ve $25,64 \pm 0,32$ mg GAE/g kuru madde olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.2. *S. japonica* var. *fortunei*'nin bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.

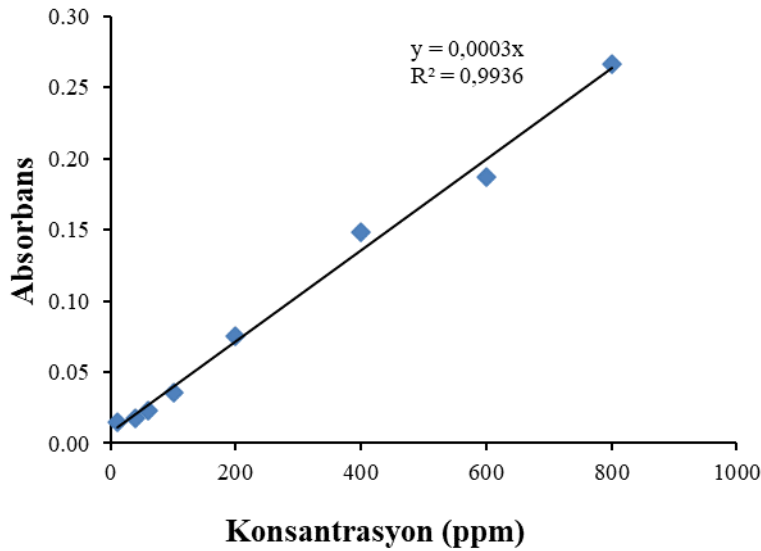
Ekstrakttaki toplam fenolik içerik, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün polaritesine bağlıdır. Fenolik bileşiklerin nispeten polar çözücülerdeki yüksek çözünürlüğü sayesinde ekstraksiyon sırasında polar çözücülerin kullanılması fenolik içerik açısından daha konsantre ekstraktlar elde edilmesini sağlamaktadır (Indra ve ark, 2019). *S. japonica* var. *fortunei*'nin etanol ekstraktlarında, ekstraksiyon verimleri ile bağlantılı olarak çiçeklerde ve yapraklarda daha düşük fenolik içerikle sonuçlanmıştır (Tablo 4.2). Bezmaternykh ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada, etanol ekstraksiyonu için *Spiraea media* yaprak ekstraktlarında çiçekler ekstraktlarına göre toplam fenolik içeriklerinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde, Sirin ve ark (2019) tarafından yapılan çalışmada da metanol ile *Spiraea nipponica*'nın yaprak ve çiçek ekstraktlarından toplam polifenol içeriği sırasıyla 5,45 ve 4,75 mg GAE/g kuru madde olarak rapor edilmiştir.

Tablo 4.2. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.

<i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i>	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g kuru madde)	
	Etanol ekstrakt	Metanol ekstrakt
Çiçek	11,08±0,13 ^b	19,33±1,24 ^a
Yaprak	18,13±1,61 ^a	25,64±0,32 ^c

4.3. Toplam Flavonoid Madde Miktarı

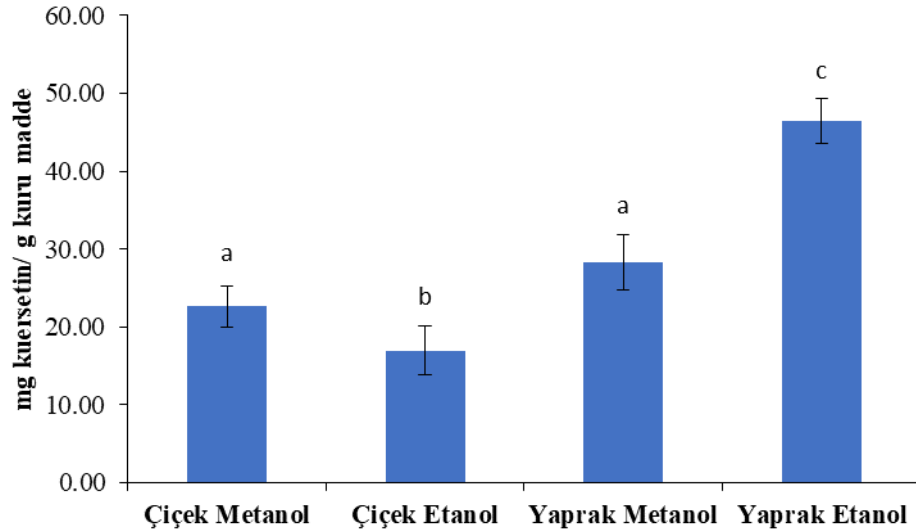
Spiraea japonica var. *fortunei* ekstraktlarının toplam flavonoid madde tayinleri kuersetin eşdeğeri olarak $AlCl_3$ yöntemi ile belirlendi. Kuersetin kullanılarak elde edilen standart çalışma eğrisi Şekil 4.3’de görülmektedir.



Şekil 4.3. Kuersetin standart grafiği.

S. japonica var. *fortunei* bitkisinin farklı çözücülerdeki ekstraktlarının toplam flavonoid madde içerikleri Şekil 4.4 ve Tablo 4.3’de gösterilmiştir. Toplam flavonoid içerikleri $16,98 \pm 3,07$ ile $46,46 \pm 2,96$ mg QE/g kuru madde arasında değişmekte olup, maksimum değer yaprakların etanol ekstraktlarından elde edilmiştir. Yaprak ekstraktlarında etanol, çiçek ekstraktlarında da metanol ile daha yüksek değerler elde edilmiştir. Bir bileşik, aynı polariteye sahip çözücülerde çözülmemektedir (Lestari T. P., 2019).

Flavonoid ekstraksiyonu ile ilgili olarak, *S. japonica* var. *fortunei* çiçek etanol ve yaprak etanol ekstraktlarında dikkate değer artışlar gözlenmiştir ($P < 0,05$). *S. japonica* var. *fortunei* çiçek etanol ve yaprak etanol ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri $16,98 \pm 3,07$ ve $46,46 \pm 2,96$ mg QE/g kuru madde olarak bulunmuştur.



Şekil 4.4. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları.

Tablo 4.3. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları.

<i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i>	Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg kuersetin/g kuru madde)	
	Etanol ekstrakt	Metanol ekstrakt
Çiçek	$16,98 \pm 3,07^b$	$22,68 \pm 2,63^a$
Yaprak	$46,46 \pm 2,96^c$	$28,35 \pm 3,54^a$

Antioksidanlar olarak flavonoidler, hidroksil grubundan (-OH) hidrojen iyonları vererek serbest radikallerin toksik etkilerini önleyebilen veya nötralize edebilen bir serbest elektron çiftine sahip olan hidroksil grubundaki oksijen atomundan kaynaklanmaktadır. Bitkilerde flavonoid seviyeleri ne kadar yüksekse, antioksidan içeriğinin o kadar yüksek olduğu sonucuna varılabilmektedir. Mazandarani ve ark (2012) tarafından yapılan bir çalışmada *Nasturtium officinale* bitkisinin çiçek ve yaprak ekstraktlarının toplam fenolik içeriği ile bunların antioksidan aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda *S. salicifolia*'nın yapraklarında flavonoid miktarı 46,24-120 mg/g kuru madde arasında değişirken, *S. dahurica*'nın 43,63 mg/g kuru madde olarak rapor edilmiştir (Kashchenko ve ark, 2018 ; Kashchenko ve ark, 2014). Başka bir çalışmada *S. media* ve *S. humilis* gibi diğer *Spiraeas* türlerinde yapraklarda ve çiçeklerinde yüksek düzeyde (57 mg/g'ye kadar) kateşinler gibi diğer polifenolik bileşikler olduğu tespit edilmiştir (Serebryakova ve Vysochina, 2011). Kashchenko ve ark (2018) yaptığı çalışmada ise ekstraktlardaki flavonoid konsantrasyonu 53,02 mg/g (*S. flexuosa* çiçekleri) ve 120,07 mg/g (*S. salicifolia* yaprakları), kateşinler 16,65 mg/g (*S. flexuosa* yaprakları) ve 142,02 mg/g (*S. salicifolia* çiçekleri), prosiyanidinler 4,47 mg/g (*S. flexuosa* yaprakları) ve 141,33 mg/g (*S. salicifolia* çiçekleri) olarak bulunmuştur (Kashchenko ve ark, 2018).

Kostikova ve Shaldaeva (2017) tarafından yapılan çalışmada altı adet *Spiraea* türlerinde çiçek salkımlarında flavonol ve kateşin içeriği daha yüksek bulunurken tanen içeriğinin yapraklarda daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Uzak Doğu *Spiraea*'larındaki (*S. betulifolia* and *S. beauverdiana*, *S. humilis* and *S. salicifolia*, *S. pubescens* and *S. media* var. *media*) toplam flavonol içeriği çiçek salkımlarında %3,9'a ve yapraklarda ise %2,5'e ulaşabilmektedir. En yüksek kateşin içeriği *S. media* var. *media* çiçeklerinde (%5,7) bulunurken yapraklarda çok daha düşüktür (%1,5). *S. salicifolia* ve *S. humilis*'in çiçek salkımlarında ve yapraklarında %3,4'e varan oldukça yüksek bir kateşin içeriği bulunmaktadır. Çoğu türdeki tanen içeriği yapraklarda çiçek salkımına göre daha yüksektir ve %11,6'ya ulaşmaktadır. *S. salicifolia*, *S. ussuriensis* ve *S. humilis*, yüksek tanen içeriği ile ayırt edilmektedir.

Yapılan başka bir çalışmada kateşin içeriğinin *S. media* (75 mg/g) ve *S. salicifolia* (59 mg/g) bitkilerinde yüksek oranda, ancak *S. media* bitkisinde ise (19 mg/g) düşük oranda olduğu bulunmuştur (Kostikova ve ark, 2022).

Olennikov ve Kashchenko (2017) tarafından yapılan çalışmada *S. salicifolia*'nın çiçeklerinde 42,40 mg/g, yapraklarında 23,40 mg/g flavonoid içerdiği rapor edilmiştir. *S. salicifolia* çiçeklerin içerdiği flavonoidlerden bazıları kuersetin (11,70 mg/g), hiperosit (8,01 mg/g) ve isokuersitrin (7,43 mg/g) olarak bulunurken yapraklarındaki benzer flavonoidler olan isokuersitrin (7,55 mg/g), 3-O-(6''-kafeoil)- β -D-galaktopiranosit (5,53 mg/g) ve hiperosit (4,56 mg/g) daha düşük olarak bulunmuştur.

4.4. DPPH Radikalini Giderme Aktivitesi

S. japonica var. *fortunei* çiçeklerinin ve yapraklarının ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin test edilmesi, serbest radikal yakalama yöntemi DPPH kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

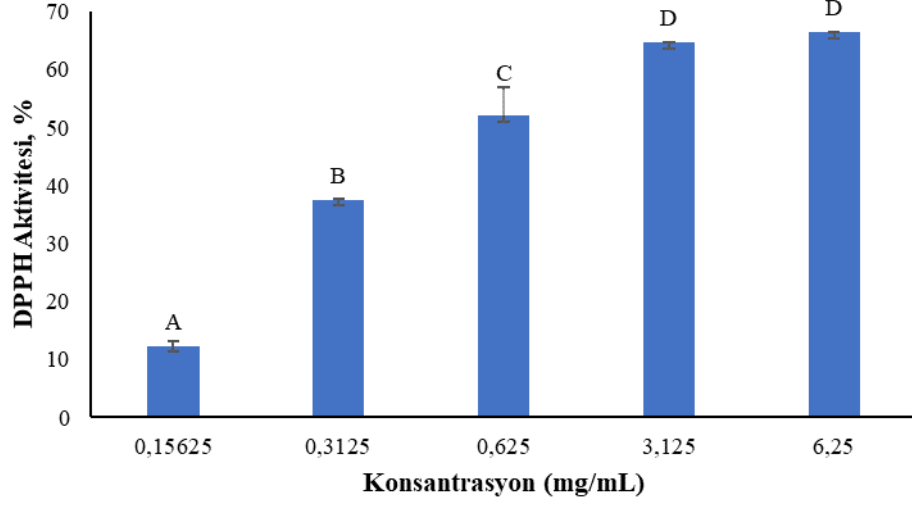
DPPH radikal yakalama yüzdesi ile belirlenen farklı konsantrasyonlarda ekstraktların antioksidan aktiviteleri Şekil 4.5–Şekil 4.8'de verilmiştir. Test edilen tüm konsantrasyonlarda antioksidan aktivite sergilenmiştir ve 3,125 mg/mL'ye kadar olan konsantrasyonlarla neredeyse lineer olarak artarak daha sonra aktivitede hafif bir artış olmuştur (Tablo 4.4). En düşük konsantrasyonda (0,156 mg/mL) çiçeklerin ve yaprakların etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri $12,30 \pm 0,79$, $21,60 \pm 1,80$, $29,40 \pm 4,30$ ve $30,00 \pm 0,67$ olarak belirlenirken en yüksek konsantrasyondaki (6,25 mg/mL) antioksidan aktiviteleri sırasıyla $66,43 \pm 0,11$, $69,76 \pm 0,34$, $65,71 \pm 0,90$ ve $69,29 \pm 2,58$ 'dir. Yaprakların antioksidan aktivitesi, 0,156 mg/mL konsantrasyonda çiçeklerden oldukça yüksektir. Öte yandan, tüm örneklerin antioksidan aktiviteleri 6,25 mg/mL'de hemen hemen aynıdır. DPPH sonuçları ayrıca toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinde olduğu gibi ekstraksiyon için metanol kullanımının etanolden daha verimli olduğunu göstermiştir.

Elde edilen sonuçlara göre *S. japonica* var. *fortunei* çiçek etanol ekstraktlarının DPPH değerleri arasında 0,15625, 0,3125 ve 0,625 mg/mL konsantrasyonlarında önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0,05$). *S. japonica* var. *fortunei* çiçek metanol ekstraktlarının DPPH aktivitesi karşılaştırıldığında, tüm konsantrasyonların DPPH aktiviteleri anlamlı olarak arttığı ($P < 0,05$) ve $21,59 \pm 1,8$ ile $69,76 \pm 0,34$ arasında değerler tespit edilmiştir. Bu çalışmada *S. japonica* var. *fortunei* yaprağı metanol ekstraktlarının DPPH değerleri $30,00 \pm 0,67$ ile $69,29 \pm 2,58$ arasında değişerek önemli etki göstermiştir ($P < 0,05$).

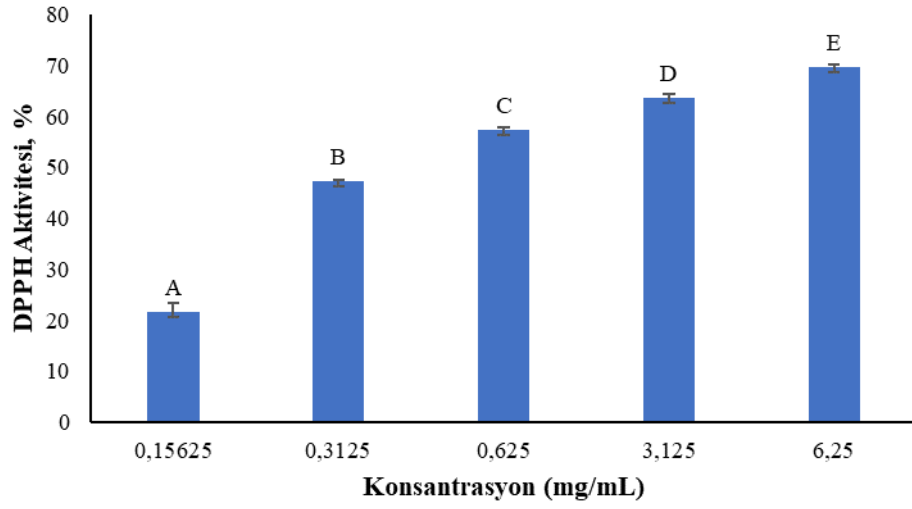
IC₅₀, serbest radikalleri (DPPH) %50 oranında engelleyebilen antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin veya ekstraktların konsantrasyonudur ve %DPPH aktivitesi ile bileşiklerin veya ekstraktların konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi gösteren lineer bir regresyon denkleminde türetilmiştir (Şekil 4.9-Şekil 4.12). IC₅₀ değeri ne kadar küçük olursa, bileşik veya ekstraktın antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir (Theresia, 2021). Bu çalışmada *S. japonica* var. *fortunei* çiçek ve yapraklarından elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,57±0,06, 0,48±0,01, 0,43±0,01, ve 0,45±0,00 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapraklardan elde edilen ekstraktlar, çiçeklerden elde edilen ekstraktlardan daha düşük IC₅₀ değerlerine sahiptir. Aynı örneklerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile korelasyonu vardır. Pratiwi ve Susilowati (2021) tarafından yapılan çalışmada bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesine esas olarak flavonoidler, fenolik asitler ve fenol diterpenler gibi fenolik bileşiklerin katkıda bulunduğu belirtilmiştir. *S. japonica* var. *fortunei*'nin IC₅₀ değerleri, *Spiraea prunifolia* Sieb. et Zucc. var. *simpliciflora* Naka'nın 320 µg/mL olarak bildirilen IC₅₀ değeri ile uyumludur (Lee ve ark, 2017).

S. japonica var. *fortunei* yaprak ve çiçek ekstraktlarının IC₅₀ değerleri, *S. alpina* (103,63±3,10 ve 97,19±3,01 µg/mL), *S. aquilegifolia* (241,67±8,21 ve 204,25±5,31 µg/mL), *S. dahurica* (226,17±5,42 ve 212,10±5,51 µg/mL), *S. flexuosa* (109,36±2,84 ve 247,66±6,93 µg/mL) ve *S. media* (117,98±2,94 ve 152,49±3,96 µg/mL) yaprak ve çiçek ekstraktlarına göre daha yüksek bulunmuştur (Kashchenko ve ark, 2018).

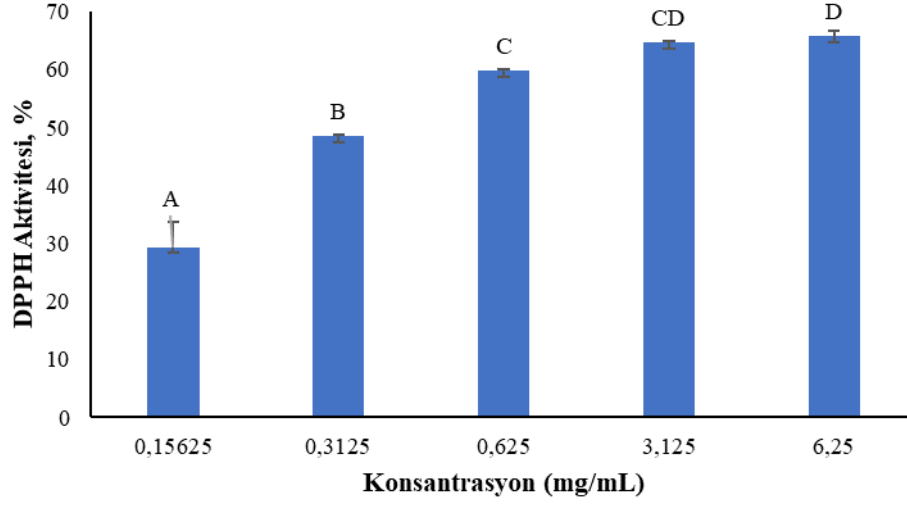
Mediani ve ark tarafından yapılan çalışmada ise, *Cosmos caudatus* bitkisinin dondurularak kurutulan ve 25 °C havada kurutulan kurutma yöntemlerinin IC₅₀ değerleri arasında sırasıyla 0,0223 ve 0,0230 mg/mL değerleri ile önemsiz bir fark bulunmuştur (Mediani ve ark, 2014).



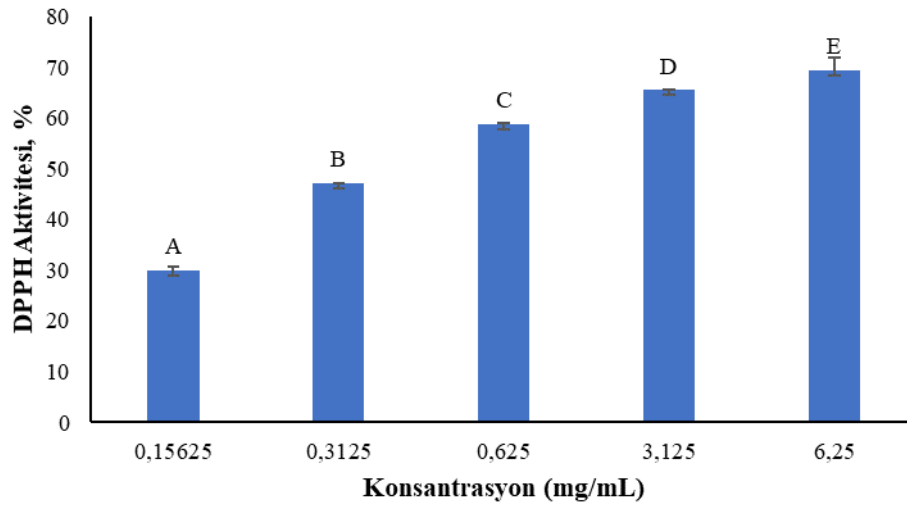
Şekil 4.5. *S. japonica* var. *fortunei* çiçek etanolün DPPH giderimi.



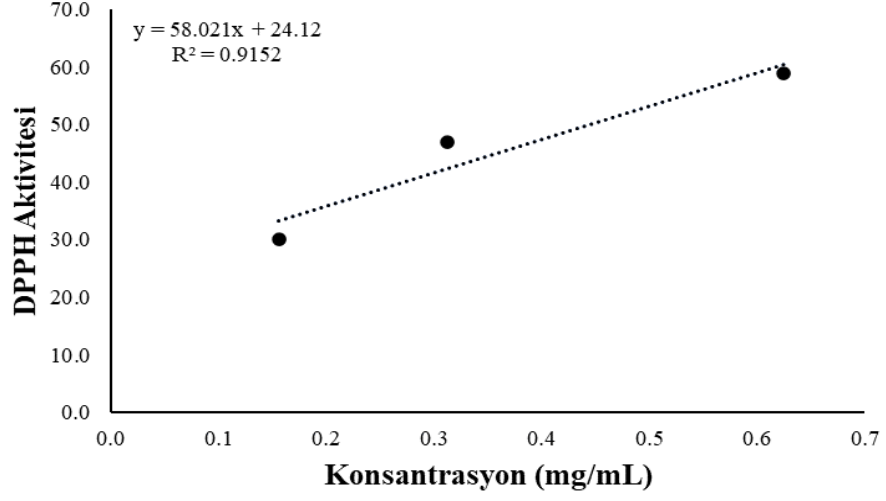
Şekil 4.6. *S. japonica* var. *fortunei* çiçek metanolün DPPH giderimi.



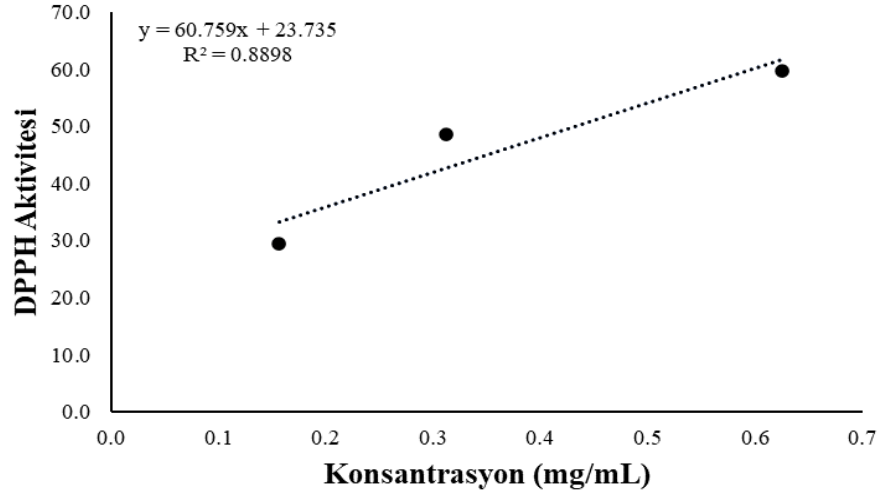
Şekil 4.7. *S. japonica* var. *fortunei* yaprak etanolün DPPH giderimi.



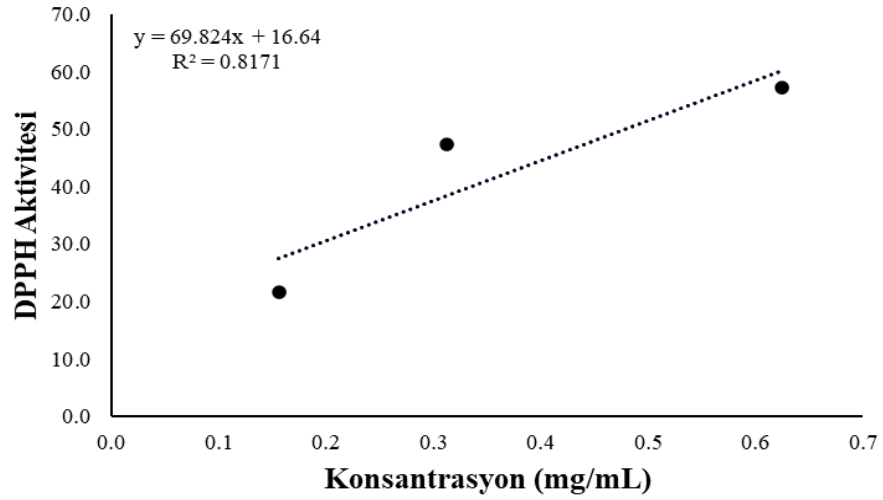
Şekil 4.8. *S. japonica* var. *fortunei* yaprak metanolün DPPH giderimi.



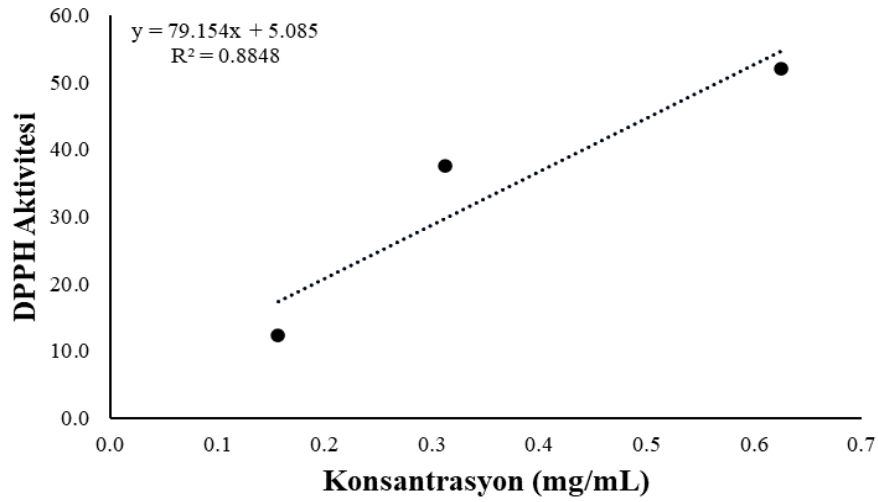
Şekil 4.9. *S. japonica* var. *fortunei* yaprak metanolun IC₅₀ grafiği.



Şekil 4.10. *S. japonica* var. *fortunei* yaprak etanolun IC₅₀ grafiği.



Şekil 4.11. *S. japonica* var. *fortunei* çiçek metanolun IC₅₀ grafiği.



Şekil 4.12. *S. japonica* var. *fortunei* çiçek etanolün IC₅₀ grafiği.

Tablo 4.4. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının DPPH giderim aktivite değerleri.

Konsantrasyon mg/mL	DPPH Aktivitesi, %			
	Çiçek etanol ekstrakt	Çiçek metanol ekstrakt	Yaprak etanol ekstrakt	Yaprak metanol ekstrakt
0,156	12,30 ^{Ab} ± 0,79	21,59 ^{Aa} ± 1,80	29,37 ^{Ac} ± 4,27	30,00 ^{Ac} ± 0,67
0,312	37,55 ^{Ba} ± 0,17	47,40 ^{Bb} ± 0,14	48,51 ^{Bb} ± 0,14	47,03 ^{Bb} ± 0,14
0,625	51,98 ^{Ca} ± 4,90	57,30 ^{Cab} ± 0,53	59,78 ^{Cb} ± 0,18	58,79 ^{Cab} ± 0,18
3,125	64,60 ^{Dab} ± 0,00	63,74 ^{Da} ± 0,53	64,60 ^{CDab} ± 0,35	65,47 ^{Db} ± 0,18
6,250	66,43 ^{Dab} ± 0,11	69,76 ^{Ea} ± 0,34	65,71 ^{Db} ± 0,90	69,29 ^{Eab} ± 2,58

- Sütündaki farklı harfler (büyük harfler), 0,05'teki önemli farklılıkları ifade etmektedir.
- Satırdaki farklı harfler (küçük harfler), 0,05'teki önemli farklılıkları ifade etmektedir.

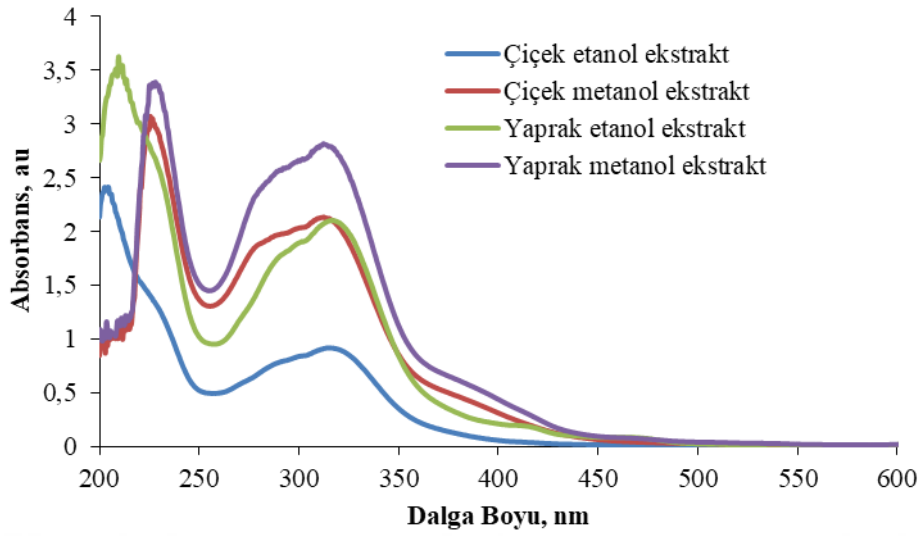
Tablo 4.5. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının IC₅₀ değerleri.

<i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i>	IC ₅₀	
	Etanol ekstrakt	Metanol ekstrakt
Çiçek	0,57 ± 0,06	0,48 ± 0,01
Yaprak	0,43 ± 0,01	0,45 ± 0,00

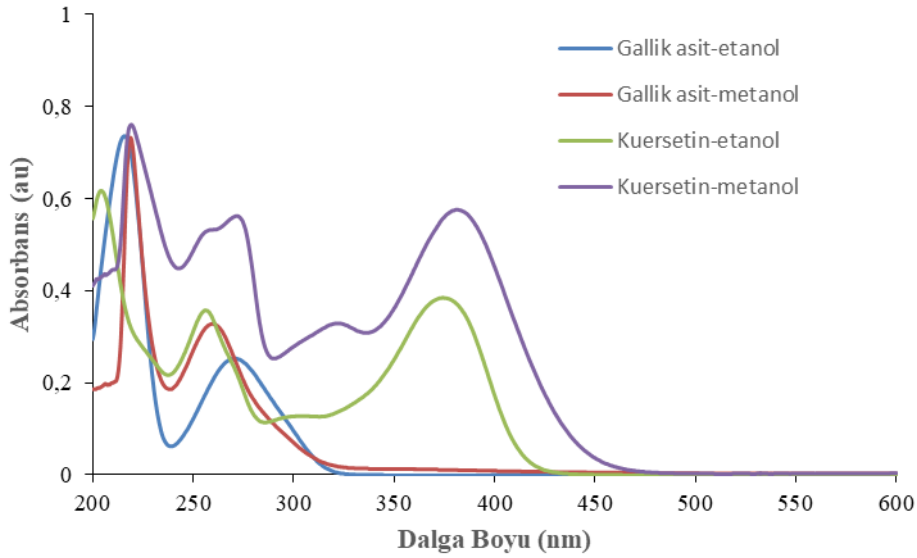
4.5. *S. japonica* var. *fortunei* Bitkisinin ve Ekstraktlarının UV Spektrum Sonuçları

Ekstratların UV-VIS spektrofotometrede, 200-700 nm dalga boyu aralığında spektrumları elde edilerek fenolik bileşiklerin varlığının doğrulanması sağlanmıştır (Due ve ark, 2019). Etanol ve metanol çözücülerinde *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yaprak ekstraktlarının UV spektrum pikleri Şekil 4.13’de gösterilmiştir. Genel olarak, tüm numunelerde üç farklı absorpsiyon piki tespit edilmiştir. İlk pik (206-230 nm), kullanılan solvante göre farklılık gösterirken etanol ekstraktları ile daha kısa dalga boylarında pikler elde edilmiştir. İkinci ve üçüncü pikler ise 270-293 nm’de ve 314-320 nm’de tespit edilmiştir. 384-422 nm’de absorbansta hafif bir artış da gözlenmiştir. Fenolik-flavonoid bileşiklerin tayininde kullanılan standartlar olan gallik asit ve kuersetinin etanol ve metanol ile çözülüp UV spektrumları da Şekil 4.14’da görüldüğü gibi gallik asit 216-219 nm ve 260-271 nm’de iki tepe noktası verirken, kuersetin yaklaşık 204-219 ve 256-272, 305-322 ve 374-382 nm’de olmak üzere dört tepe sergilemiştir.

UV bölgesinde (210-320 nm) piklerin meydana gelmesi, *S. japonica* var. *fortunei* çiçek ve yaprak ekstraktlarında fenoliklerin ve flavonoidlerin varlığını doğrulamıştır. Benzer UV-VIS spektrumları, yabanmersini yapraklarının ekstraktı (Song ve ark, 2020), *Dillenia pentagyna* (Patle ve ark, 2020), *Physalis minima* (Karpagasundari ve Kulothungan, 2014) çalışmalarında rapor edilmiştir. Daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip bitki ekstraktlarının genellikle 280 ve 358 nm’de daha yüksek absorbans piklerine sahip olduğu gösterilmiştir (Song ve ark, 2020). Bitkilerde flavonoidler, bitkileri UV’nin zararlı etkilerinden koruma görevi görmektedir (Hermawan ve ark, 2017). Tüm flavonoidler, bant I için 300-550 nm aralığında ve bant II için 240-285 nm aralığında maksimum absorpsiyon dalga boylarında UV-görünür spektrofotometri ile karakterize edilmektedir (Safira ve ark, 2020).



Şekil 4.13. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak etanol ve metanol ekstraktlarının UV spektrumları.



Şekil 4.14. Etanol ve metanolde gallik asit ve kuersetin standartlarının UV spektrumları.

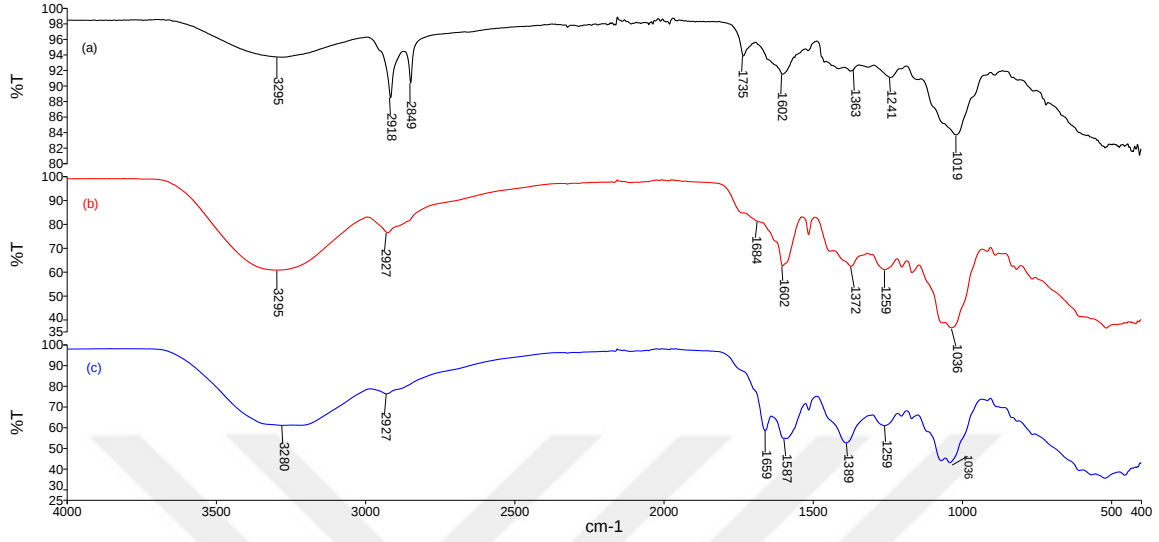
4.6. *S. japonica* var. *fortunei* Bitkisinin ve Ekstraktlarının FTIR Sonuçları

Fenolikler ve flavonoidlerle ilişkili fonksiyonel grupları belirlemek için *S. japonica* var. *fortunei*'nin ham çiçek, çiçek etanol-metanol ekstraktları ve ham yaprak, yaprak etanol-metanol ekstraktlarına ait örneklerin FTIR spektrumları Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'de verilmiştir. $3650-3300\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde bulunan O-H grubundan absorpsiyon genellikle geniş bir absorpsiyona sahiptir ve fenolün varlığı için bir belirteç olarak da

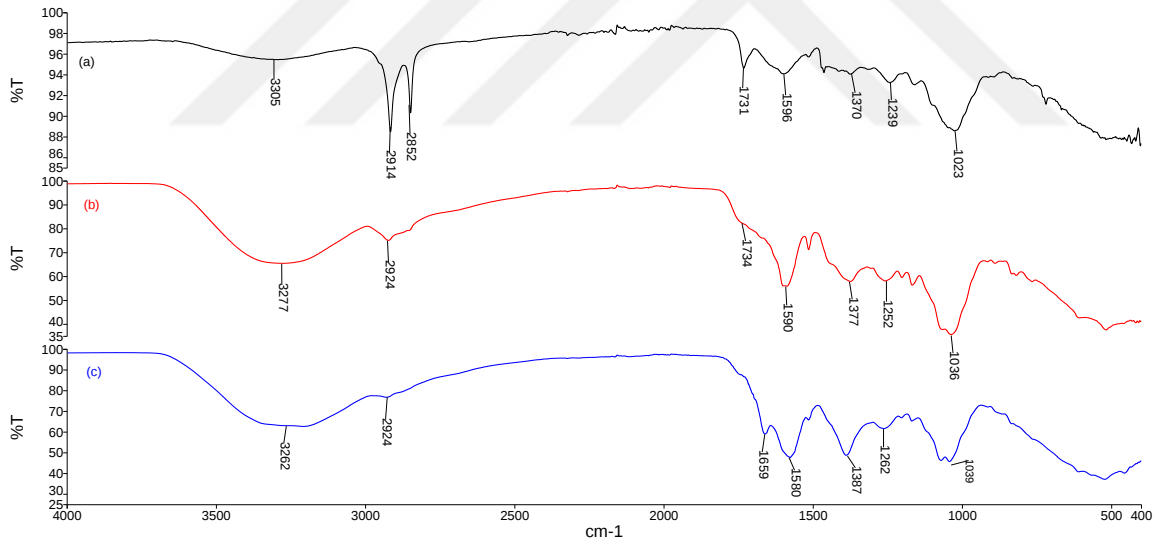
kullanılabilmektedir (Suarsa, 2016). 2849 ve 2916 cm^{-1} 'de yoğun tepeler, aromatik olmayan C-H grubunun germe titreşimini temsil eden ham yapraklarda tespit edilmiştir. Bununla birlikte, ekstraktlarda çok hafif veya yok olmuştur. Karbonil grubu (C=O) germe pikleri, ham yapraklar, etanol ve metanol özütlerinde sırasıyla 1735 cm^{-1} , 1684 cm^{-1} , ve 1661 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1602 cm^{-1} 'deki pik, ham yapraklarda aromatic C=C grubu titreşimini gösterirken, titreşim pikleri etanol ve metanol ekstraktlarında sırasıyla 1602 ve 1587 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1500-800 cm^{-1} dalga sayılarında absorpsiyon, benzersiz ve spesifik bir bileşiğe özgü olan parmak izi bölgesini ifade etmektedir (Darusman ve ark, 2007). Parmak izi bölgesindeki yapraklardan etanol ve metanol ekstraktları ile hemen hemen benzer spektrumlar elde edilirken, ham yaprak örneğinde biraz farklıdır. Bu bölgedeki 1019 ve 1241 cm^{-1} 'deki pikler, C-O grubunun gerilme titreşimini, 1300 cm^{-1} civarındaki pikler, O-H grubunun eğilme titreşimini ifade ederken 1200 cm^{-1} ve 1000 cm^{-1} civarındaki pikler, C-O-C grubunun germe titreşimine aittir (Kumar ve ark, 2015; Patle ve ark, 2020). Ham çiçeğin FTIR spektrumları ve onun etanol ve metanol ekstraktları, yaprak örnekleriyle neredeyse aynıdır. Dolayısıyla hem yapraklarda hem de çiçeklerde aynı fonksiyonel grupların varlığını göstermiştir. Bununla birlikte, ham yapraklarda O-H germe titreşiminin (3300-3200 cm^{-1}) yoğunluğu ham çiçeğe göre daha yüksektir. Buna karşılık, 2917 ve 2849 cm^{-1} 'de ham çiçeklere ilişkin pikler, ham yapraklara ait aynı piklerden daha yoğun olmuştur. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek, yaprak ve tüm ekstraktlarının FTIR spektrumları Tablo 4.6'de özetlenmiştir.

Gallik asit ve kuersetinin FTIR spektrumları ise Şekil 4.17'de gösterilmiştir. Gallik asit spektrumunda, 3493, 3345, ve 3267 cm^{-1} bölgesindeki pikler gallik asidin özellikleridir ve moleküldeki güçlü O-H absorpsiyon bandları vermiştir (Dachriyanus, 2004). Gallik asidin karbonil grubunun gerilme titreşim zirvesi 1701 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. Ayrıca 1608 ve 1540 cm^{-1} alanında, moleküldeki aromatik halkalar için C=C gerilme titreşimlerine aitken 1021 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} ve 1308 cm^{-1} bölgelerindeki güçlü absorpsiyon, yani 1300-1000 cm^{-1} arasında 3 tepe ile gösterilen C-O (ester) germe titreşimleri ve gallik asidin O-H bağlarının eğilme titreşimini ifade etmektedir (Suratmo ve ark, 2013). Kuersetin FTIR spektrumunda O-H grubunun germe ve eğilme titreşimleri sırasıyla 3272 cm^{-1} ve 1349 cm^{-1} olarak ortaya çıkmıştır. 1664 cm^{-1} 'deki pik, C=O grubuna aittir. Aromatik C=C ve C-C grubunun titreşim pikleri sırasıyla 1608 cm^{-1} ve 1559 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 1090-1241 cm^{-1} arasındaki

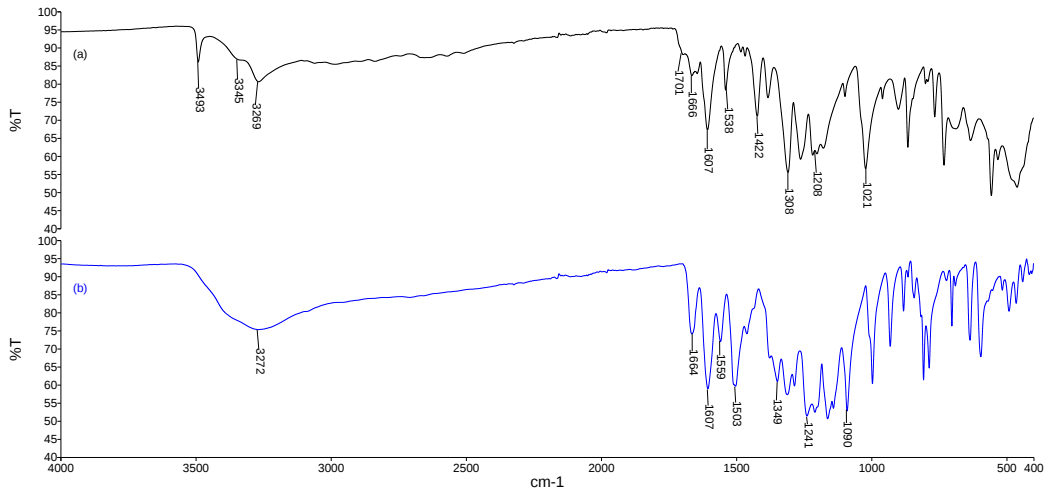
değerlerde absorpsiyon pikleri C-O grup titreşimini ifade etmektedir (Pradana, 2021).



Şekil 4.15. *S. japonica* var. *fortunei* yaprak (a) ve yaprak ekstraktlarının (etanol (b), ve metanol (c)) FTIR spektrumu.



Şekil 4.16. *S. japonica* var. *fortunei* çiçek (a) ve çiçek ekstraktlarının (etanol (b) ve metanol (c)) FTIR spektrumu.



Şekil 4.17. Gallik asit (a) ve kuersetin (b) FTIR spektrumları.

Tablo 4.6. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek, yaprak ve tüm ekstraktlarının FTIR spektrumları.

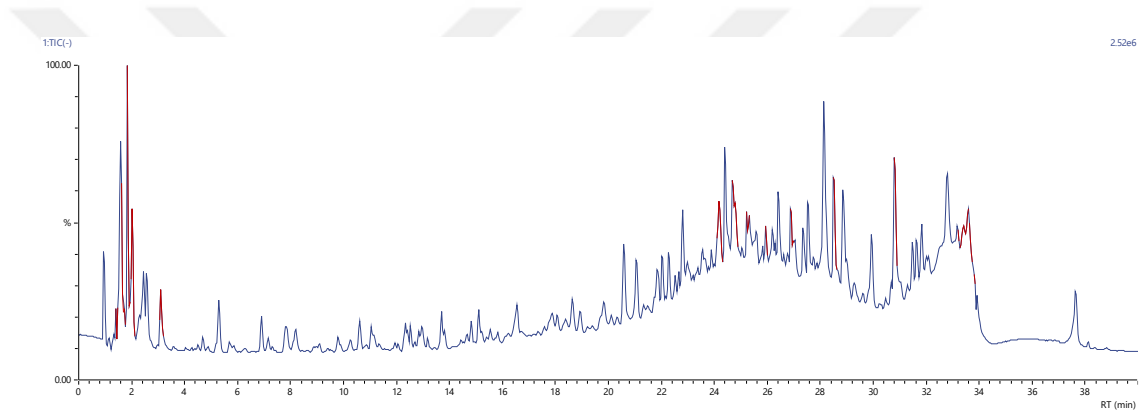
<i>S. japonica</i> var. <i>fortunei</i>	O-H gerilme (cm ⁻¹)	C-H gerilme (cm ⁻¹)	C=O gerilme (cm ⁻¹)	C=C titreşimi (cm ⁻¹)	C-O gerilme (cm ⁻¹)	O-H eğilme (cm ⁻¹)	C-O-C gerilme (cm ⁻¹)
Çiçek	3305	2914	1731	1596	1239	1370	1023
Yaprak	3295	2918	1735	1602	1241	1363	1019
Çiçek-etanol	3277	2924	1734	1590	1252	1377	1036
Çiçek-metanol	3262	2924	1659	1580	1262	1387	1039
Yaprak-etanol	3295	2927	1684	1602	1259	1372	1036
Yaprak-metanol	3280	2927	1659	1587	1259	1389	1036

4.7. *S. japonica* var. *fortunei* Ekstraktlarının LCMS Kromatogramları

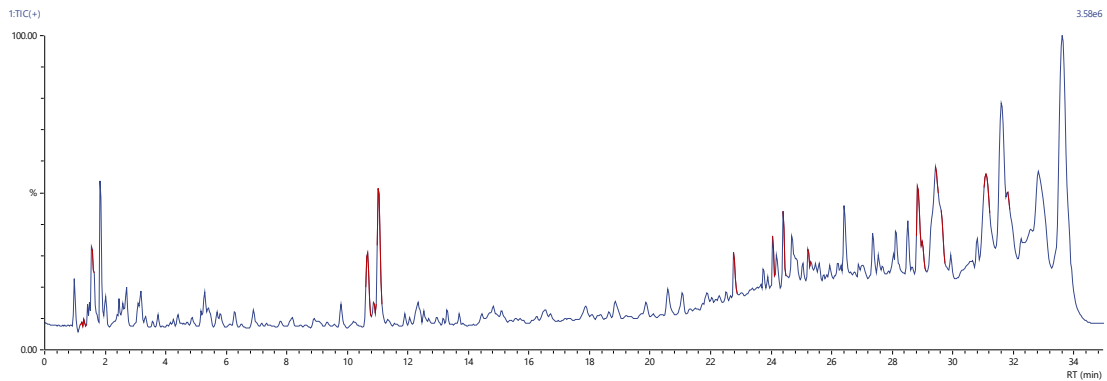
S. japonica var. *fortunei* çiçek ve yaprak metanol ekstraktlarının LCMS negatif ve pozitif iyon kromatogramları Şekil 4.18-4.21’de verilmiştir. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yapraklarında sırasıyla toplam 48 ve 50 fitokimyasal bileşik olabileceği tespit edildi. Bu muhtemel fitokimyasalların Tablo 4.7’de görüldüğü gibi 55 bileşik bulunmuştur. Bu bileşiklerin hemen hemen hepsinin farmasötik etkileri olduğu rapor edilmiştir. Kastisin (2) , anti-tümör, anti-inflamatuar ve astımda hava yolu yanıtlarını iyileştirme gibi çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. Ayrıca, nükleer faktör ve oksidatif stres ve inflamasyon hedefleri üzerinde dikkate değer etkileri vardır. İskemik inme hastalarının nöroprotektif tedavisi için yeni bir bakış açısı sağlamak amacıyla yapılan bir çalışma, son çalışma kastisinin nöroprotektif etkilerini ve sıçan beyninin orta serebral arter oklüzyonu üzerindeki potansiyel etki

mekanizmasını araştırılmıştır (Huang ve ark, 2021). Kastisin ayrıca *Rhizoma butensis* ve *Vitex rotundifolia*'da belirlenmiştir (Huang ve ark, 2021; Ye ve ark, 2010). *S. japonica* var. *fortunei* çiçeklerinde kastisin varlığı ilk kez bu çalışmada tespit edilmiştir. Kuersetin (50), *S. japonica* var. *fortunei* yapraklar ve çiçeklerinde de tespit edilen en bol flavonoid türüdür. Bir fenolik hidroksil grubu ve çift bağların varlığı kuersetin'e güçlü bir antioksidan aktivite kazandırmaktadır. Antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri, kardiyovasküler hastalıkların ve kanserin önlemesi ve tedavisi ile yakından ilgilidir (Yang ve ark, 2020). Ombuin (35), insan pankreatik α -amilazının iyi bir inhibitörüdür, dolayısıyla diabetes melitus'un yönetiminde/tedavisinde yararlı bir terapötik aday olabilmektedir (Kikiowoa ve ark, 2020). Sentaureidin (10), Rho aktivasyonu için yeni bir reaktif olup hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine ve dendrit retraksiyonuna yol açar ve melanositlerden melanozom transferinin azalmasına neden olmaktadır (Ito ve ark, 2006). Kikoric asit (5), glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesindeki umut verici farmakolojik etkileri nedeniyle ilaçlarda, besin takviyelerinde ve sağlıklı gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Yang ve ark, 2022). Luteolin-4'-O-rutinosit (51) açısından zengin bitkiler, hipertansiyon, enflamatuar hastalıklar ve kanser için geleneksel Çin tıbbı olarak kullanılmıştır (Lin ve ark, 2008). Salisilik asit (41), 2000 yılı aşkın bir süredir çeşitli cilt bozuluklarını tedavi etmek için kullanılmaktadır. Salisilik asidin stratum corneum'u eksfolie etme yeteneğine sahiptir. Özellikle salisilik asidin komedolitik özelliği, akneli hastalar için yararlı bir peeling olmasını sağlamaktadır (Arif, 2015). Sirmsimaritin (48) antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antiproliferatif özellikler dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca bir antidiyabetik olarak kullanabilmektedir (Benali ve ark, 2022). Hiperosit (24) kan damarlarını korumak, sindirim sistemini düzenlemek, oksidasyona, yaşlanmaya ve kansere karşı koruyucu olmak üzere çeşitli farmakolojik etkiler göstermektedir (Xu ve ark, 2022). Aromadendrin-4'-metil eterin (51) antibakteriyel, antikandidal, radikal süpürücü ve şelatlayıcı aktivitelere sahip olduğu bildirilmektedir (Nwiloh ve ark, 2020). İzoramnetin (43), kardiyovasküler koruma, anti-inflamasyon, anti-tümör, anti-oksidasyon, anti-bakteriyel ve anti-virüs gibi geniş bir farmakolojik etki spektrumuna sahiptir. Çalışmalar, izoramnetinin kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli tümörler üzerinde çok çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğunu ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkları önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Gong ve ark, 2020). Amentoflavon (29) 'un, anti-enflamatuar, antibakteriyel, antifungal,

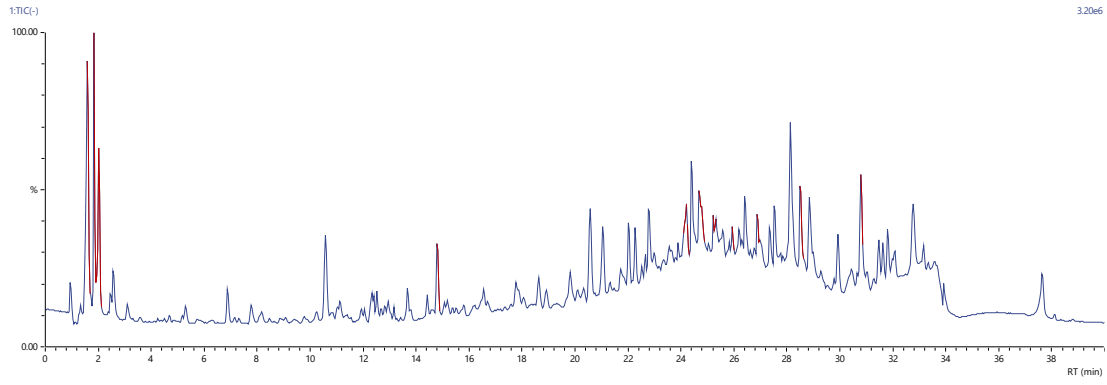
antivirüs, anti-oksidatif, antianjiyogenez, nöroproteksiyon, osteogenez, anti-artrit, radyokoruma, antidiyabetik ve antidepresan dahil olmak üzere birçok biyolojik aktivite sergilediği gösterilmiştir (Xiong ve ark, 2021). *S. japonica* var. *fortunei*'de tespit edilen diğer önemli flavonoidler ise antiinflamatuvar, anksiyolitik, antikanser, kardiyoprotektif, antialerjik, nöroprotektif etkiler, antidiyabetik, antimitojenik, antioksidan, kolesterol düşürücü, antiülser, antiviral, antiaterosklerotik, antimikrobiyal, antitümör, antiobezite, antimalarial aktiviteler gibi önemli farmakolojik ve terapötik fonksiyonlara sahip isokuersetin (22), apigenin 5,7-dimetil eter (42), kumatakenin (49), gossipetindir (53) (Belchor ve ark, 2017 ; Lin, 2014 ; Valentová ve ark, 2014 ; Woo ve ark, 2017).



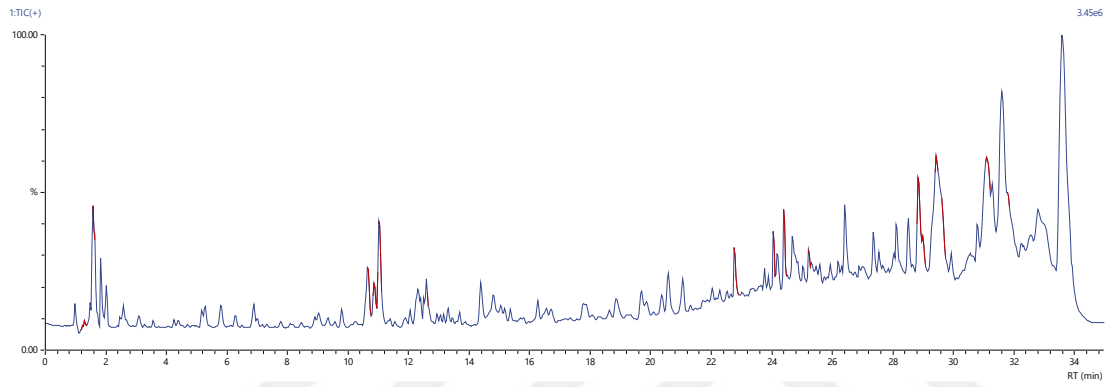
Şekil 4.18. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek metanol ekstraktlarının negatif iyon LCMS kromatogramı.



Şekil 4.19. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek metanol ekstraktlarının pozitif iyon LCMS kromatogramı.



Şekil 4.20. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin yaprak metanol ekstraktlarının negatif iyon LCMS kromotogramı.



Şekil 4.21. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin yaprak metanol ekstraktlarının pozitif iyon LCMS kromotogramı.

Tablo 4.7. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel bileşikler.

Kodu	Alıkonma zamanı (dk)	Birleşik	ESI modu	MA (g/mol)	Yaprak ve/ya da Çiçek
1	4,67	Epigallokateşin	-	306,27	Y
2	5,70	Kastisin	+	374,00	Ç
3	5,79	Kateşin 7-O- α -L-ramnopiranosit	+	436,41	Ç/Y
4	6,87	Kateşin-7- α -L-arabinofuranosit	-	422,38	Ç/Y
5	6,87	Kikorik asit	-	474,37	Ç/Y
6	8,12	Klorojenic asit	-	354,31	Y
7	37,63/9,33	Şınga asit	-/+	198,17	Ç/Y
8	9,76	Kuersetin 3,5-O-diglukosit	-	626,52	Ç/Y
9	9,76/17,80	3,5,7,3',4'-pentahidroksi-6,8-dimetoksiflavon	-/+	362,00	Y
10	9,80/18,91	Sentaureidin	+	360,00	Ç/Y
11	10,22/16,53	Kumaroil-kuinik asit	-/+	338,31	Ç/Y
12	10,57	Kuinik asit	-	192,17	Ç/Y
13	10,57	4-O-kaffeoilkuinik	-	354,31	Ç/Y
14	10,60	3'-hidroksi-5,6,7,4'- tetrametoksiflavon	+	358,00	Ç/Y
15	11,04	3',4',5,7-tetrahidroksi-3,6,8-trimetoksiflavon	+	376,00	Ç/Y
16	11,11	5-O-feruloilkuinik asit	-	368,34	Ç/Y
17	11,92	Kaffeik asit	-	180,16	Ç/Y
18	12,33	Isoramnetin 3-O-ramnosit	-	462,40	Ç/Y
19	12,58	4',5,6,7-tetrametoksiflavon	-	342,34	Ç/Y

Tablo 4.7. (Devamı) *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel bileşikler.

20	13,67	Luteolin-4'-O-rutinosit	-	596,53	Ç/Y
21	13,69/29,43	Kaempferol-3-O-rutinosit	-/+	594,00	Ç/Y
22	15,06/13,70	Isokuersetin	-/+	464,00	Y
23	14,42/14,80	7-hidroksi-3,3',4',5,6,8-heksametoksiflavon	-/+	418,00	Ç/Y
24	15,06	Hiperosit	-	464,38	Ç/Y
25	15,49	1,5-dikaffeoilkuinik asit	-	516,45	Ç/Y
26	16,68/16,69	Kuersetin 3-O- β -D-2-glukosil-rutinosit	-/+	772,66	Ç/Y
27	16,69	Narsissin	-	624,54	Ç/Y
28	17,80	5,3',5'-trihidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflavon	+	390,00	Ç/Y
29	18,10	Amentoflavone	+	538,00	Ç/Y
30	20,35	Kaempferitrin	+	578,52	Y
31	23,56	Kateşin	-	290,27	Ç/Y
32	23,88/25,92	3',4',5,6,7-pentahidroksi-3-metoksiflavon	-/+	332,00	Ç/Y
33	24,19	Agestrisin D	-	346,33	Ç
34	24,19	Nevadensin	-	344,32	Ç/Y
35	25,58/24,70	Ombuin	-/+	330,00	Ç/Y
36	24,72	Ramnazin	-	330,29	Ç/Y
37	24,72	Subskandenin	-	316,31	Ç/Y
38	25,23	Avicularin	-	434,35	Y
39	25,92	Marionol	+	388,37	Ç/Y
40	25,92	4'-hidroksi-5,6,7,8,3'-pentametoksiflavon	+	388,00	Ç/Y

Tablo 4.7. (Devamı) *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel bileşikler.

41	25,92	Salisilik asit	+	138,12	Ç
42	26,42	Apigenin 5,7-dimetil eter	+	298,00	Ç/Y
43	26,44	Isoramnetin	+	316,00	Ç/Y
44	30,81/27,35	Diosmetin	-/+	300,00	Ç/Y
45	27,35	Padmatin	-	318,28	Ç/Y
46	27,35	Homoeriodiktiol	+	302,28	Ç/Y
47	28,49	Persikogenin	+	316,31	Ç/Y
48	28,50	Sirsimaritin	-	314,29	Ç/Y
49	28,85	Kumatakenin	-	314,00	Ç/Y
50	29,40	Kuersetin	+	302,00	Ç
51	29,43	Aromadendrin-4'-metil eter	+	302,28	Ç
52	29,45	Tilirosit	+	594,52	Ç/Y
53	29,93	Gossipetin	+	318,00	Y
54	30,81	Ramnositrin	-	300,26	Ç/Y
55	32,06	Ramnetin-3-O-β-D-glukopiranosit	+	478,40	Ç/Y

4.8. *S. japonica* var. *fortunei*'nin Antibakteriyel Aktivitesi

Antibakteriyel aktivitesi testi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Bu yöntemin tercih edilmesi, basit bir çalışma prosedürüne sahip olması, maliyetinin nispeten ucuz olması ve elden edilen sonuçların yorumlanmasının kolay olmasıdır. Test, kullanılan bakterisi ile aşılınmış agar ortamının yüzeyinde yerleştirilmiş test bileşiğini içeren ± 6 mm çapında bir kağıt disk kullanılarak gerçekleştirildi. Antibakteriyel aktivitenin varlığı, disk kağıdının etrafında temiz bir bölgenin varlığı ile gösterildi. Antibakteriyel aktivite testinde, inkübasyon sırasında, kağıt disk üzerinde test bileşiği, test bakterisi ile aşılınmış olan agar ortamına yayılmıştır. Kullanılan besiyeri MHA'dır (Muller Hinton Agar). Bu besiyeri çoğu bakteri kültürü için iyi besinler içerir ve nötr özelliklere sahiptir. Bu nedenle bakteri test prosedürünü etkilememektedir (Zahari, 2022).

Çalışmada kullanılan bakteriler *Eschericia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* idi. Gerçekleştirilen bakteri testlerinden, *S. japonica* var. *fortunei* çiçeklerinin ve yapraklarının metanol ve etanol ekstraktlarının *E. coli*, *P. Aeruginosa*, *L. monocytogenes* veya *B. Cereus* bakterilerine karşı bir inhibisyon bölgesi sağlamadığı gösterilmiştir. Antibakteriyel aktivite, ekstraktın konsantrasyonu, metabolitlerin içeriği, ekstraktın difüzivitesi ve inhiben edilen bakteri tipi olmak üzere dört faktörden etkilenmektedir. Bu sonuç muhtemelen, *E. coli*, *P. Aeruginosa*, *L. monocytogenes* veya *B. Cereus*'un sahip olduğu dört bakterinin duvarlarının yapısının çok karmaşık olması ve antibakteriyel bileşiklerin hücrelere girip çalışacak hedef bulmasını zorlaştırmadan kaynaklanmaktadır (Kusuma ve ark, 2021).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Pek çok araştırmacı için bitki ekstraktlarından yeni farmakolojik olarak aktif fitobileşenlerin tespiti umut verici ve değerli bir alternatiftir. Bu çalışmada daha önce üzerinde araştırmalar yapılmamış *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin potansiyel olarak sahip olduğu biyoaktif özelliklerin tam olarak belirlenebilmesi için toplam fenolik madde, flavonoid içerik, antioksidan aktivite ve antibakteriyel özellikler incelenmiştir.

Bu çalışmasından, *S. japonica* var. *fortunei* yapraklarının ekstraksiyon verimleri, her iki çözücü ile de çiçeklerinden oldukça yüksek bulunmuştur. En yüksek bitki ekstrakt verimi metanol ile ekstrakte edilen *S. japonica* var. *fortunei* yapraklarından (%32,5), en düşük ise etanol ile ekstrakte edilen çiçeklerden (%13,0) elde edilmiştir.

S. japonica var. *fortunei* yaprakları ve çiçeklerinin metanol ekstraktında bulunan toplam fenolün konsantrasyonunun sırasıyla $25,64 \pm 0,32$ ve $19,33 \pm 1,24$ mg GAE/g numune ve *S. japonica* var. *fortunei* yaprakları ve çiçeklerinin etanol ekstraktında bulunan toplam fenolün konsantrasyonunun sırasıyla $18,13 \pm 1,61$ ve $11,08 \pm 0,13$ mg GAE/g numune olduğu sonucuna varılabilmektedir. Bir numunedeki fenolik içeriğin, metal iyonlarına bağlanarak ve siklooksijenaz, mono-oksijenaz veya ksantin oksidaz gibi serbest radikallerin oluşumunda rol oynayan enzimatik sistemleri inhibe ederek serbest radikalleri azaltılabileceğini öne sürülmektedir.

S. japonica var. *fortunei* çiçek ve yapraklarındaki flavonoid içeriğinin analizin sonuçları, en yüksek flavonoid içeriği *S. japonica* var. *fortunei* yaprağının metanol ekstraktı ($11,62 \pm 0,74$ mg/gr QE) ve *S. japonica* var. *fortunei* yaprağının etanol ekstraktı ($7,09 \pm 0,88$ mg/gr QE) gösterilmiştir. En düşük flavonoid içeriği *S. japonica* var. *fortunei* çiçeğinin metanol ekstraktında ($5,67 \pm 0,66$ mg/gr QE) ve *S. japonica* var. *fortunei* çiçeğinin etanol ekstraktında ($4,24 \pm 0,77$ mg/gr QE) bulunmuştur. Bitkinin çeşitli kısımlarında fenollerin ve flavonoidlerin içeriğinde farklılıklar vardır. Genel olarak fenolik bileşikler en çok yapraklarda bulunmaktadır (Ramadhani ve ark, 2022).

S. japonica var. *fortunei* çiçek ve yapraklarındaki antioksidan aktivitesinin sonuçları, en düşük konsantrasyonda (0,156 mg/mL) çiçeklerin ve yaprakların etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri $12,3 \pm 0,79$, $21,6 \pm 1,80$, $29,4 \pm 4,30$ ve $30,0 \pm 0,67$ olarak belirlenirken en yüksek konsantrasyondaki (6,25 mg/mL) antioksidan aktiviteleri sırasıyla $66,43 \pm 0,11$, $69,76 \pm 0,34$, $65,71 \pm 0,90$ ve $69,29 \pm 2,58$ 'dir. Antioksidanların flavonoid bileşiklerle ilişkisi vardır çünkü flavonoidler doğal antioksidan olma potansiyeline sahip aktif bileşiklerdir.

S. japonica var. *fortunei* yaprak ve çiçek metanol ve etanol ekstraktları, *E. coli*, *P. Aeruginosa*, *L. monocytogenes* veya *B. Cereus* bakterilerine karşı bir inhibisyon bölgesi sağlamadı.

Mevcut araştırmada, *S. japonica* var. *fortunei* çiçeklerinden ve yapraklarından elde edilen ham ekstrakt ve etanol-metanol ekstraktlarının analizleri UV-VIS spektroskopisi ve FTIR tekniği kullanılarak yapılmıştır. *S. japonica* var. *fortunei* çiçeklerinde ve yapraklarında flavonoidler, fenoller, flavonol ve flavon gibi fitokimyasalların varlığını gösterir. UV bölgesinde (210-320 nm) piklerin meydana gelmesi, *S. japonica* var. *fortunei* çiçek ve yaprak, ekstraktlarında fenoliklerin ve flavonoidlerin varlığını doğrulamıştır. Bulunan fitokimyasallar da kızılötesi spektral verileriyle desteklenmektedir. *S. japonica* var. *fortunei* bitkisinin çiçek-yaprak ve ekstraktlarının FTIR spektrumları yapılarında benzer fitokimyasal bileşiklerin olduğunu doğrulamıştır.

Bu çalışmada ayrıca LCMS analizine dayalı *S. japonica* var. *fortunei* bitkilerinin çiçek ve yapraklarında 54 flavonoid ve 14 fenolik bileşik olabileceği bulunmuştur. Ayrıca LCMS kromatogramlarında muhtemel fitokimyasal bileşiklerin fonksiyonel gruplarına ait spesifik pikler FTIR spektrumlarında gözlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen önemli bulgular şu şekilde özetlenebilir:

- Ekstraksiyon için metanol en iyi çözücü olarak bulunmuştur çünkü etanole göre en yüksek yüzde verimi vermiştir.
- S. japonica* var. *fortunei* çiçek ve yaprak ekstraktları, reaktif serbest radikallerin neden olduğu hasarları azaltma potansiyeline sahiptir.
- Fenolik ve flavonoid içeriğinin miktarının belirlenmesine ilişkin bu çalışma, *S. japonica* var. *fortunei* hakkındaki ilk rapordur.

- d. Bu çalışma, *S. japonica* var. *fortunei*'nin yaprak ve çiçeklerinde dikkate değer miktarda toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin varlığını ortaya koymuştur.
- e. Bitkinin yaprakları, çiçeklerle kıyaslandığında biyoaktif bileşikler açısından daha zengindir.
- f. Hem yaprak hem de çiçekler antioksidan aktiviteye sahiptir. Çiçek ve yaprakların etanol ve metanol ekstraktları, reaktif serbest radikallerin dallanma zincir reaksiyonunu inhibe ederek güçlü antioksidan özelliği sergilemiştir. Bu nedenle, fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi daha yüksek miktarda fito bileşen içeren ve iyi antioksidan aktivitelere sahip olan *S. japonica* var. *fortunei* çiçeği ve yapraklarının etanol ve metanol ekstraktlarının, uygun maliyetli bir antiinflatuar ilacın oluşumu için mükemmel adaylar olduğu sonucuna varılmıştır.
- g. Muhtemel biyoaktif bileşikler ayrıca FTIR, UV-VIS ve LC-MS spektrum analizleriyle tamamlanmış ve doğrulanmıştır.

Bu çalışmada bulunan fitokimyasallar, antikanser, antioksidan ve antiinflatuar gibi özelliklerden sorumlu katkıda bulunan faktörlerden biri olabilmektedir. Bu fitokimyasalların çeşitli sağlık yararları olduğundan, *S. japonica* var. *fortunei* çiçeklerinin ve yapraklarının fitokimyasallarını belirlemek için umut verici bir araştırma olup terapötik kullanımlarına bağlı olarak farklı türde biyolojik aktiviteler ve hastalık yönetimi için alternatif bir kaynak olarak değerlendirilebilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdullah, W., Runtuwene, M. R.J. ve Kamu, V. S. (2014). Uji Fitokimia dan Penentuan Inhibition Concentration 50% pada Beberapa Tumbuhan Obat di Pulau Tidore. *Jurnal Ilmiah Sains*, 95-98. <https://doi.org/10.35799/jis.14.2.2014.6063>
- Anggraeni, D. N. (2016). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Katuk (Sauropus androgynus (L) Merr) sebagai Alternatif Pembuatan Handsanitizer* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Negeri Semarang
- Arif, T. (2015). Salicylic Acid as a Peeling Agent: a Comprehensive Review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 455-461. <https://dx.doi.org/10.2147/CCID.S84765>
- Astuti, S. (2008). Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 126-133. <http://dx.doi.org/10.23960/jtihp.v13i2.126%20-%20136>
- Azizah, D. N., Kumolowati, E. ve Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika J. Ilm. Far.*, 45-49. <http://dx.doi.org/10.26874/kjif.v2i2.14>
- Bakri, Z., Hatta, M. ve Massi, M. N. (2015). Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR. *JST Kesehatan*, 184-192.
- Belchor, M. N., Gaeta, H. H., Rodrigues, C. F. B., Costa, C. R. C., Toyama, D. O., Passero, L. F. D., Laurenti, M. D. ve Toyama, M. H. (2017). Evaluation of Rhamnetin as an Inhibitor of the Pharmacological Effects of Secretory Phospholipase A2. *Molecules*, 1-10. <https://doi.org/10.3390/molecules22091441>
- Benali, T., Jaouadi, I., Ghcime, R., Omari, N. E., Harboul, K., Hammani, K., Rebezov, M., Shariati, M. A., Mubarak, M. S., Simal-Gandara, J., Zengin, G., Park, M., Kim, B., Mahmud, S., Lee, L. ve Bouyahya, A. (2022). The Current State of Knowledge in Biological Properties of Cirsimatin. *Antioxidants*, 1-15. <https://doi.org/10.3390/antiox11091842>
- Bezmaternykh, K. V., Shirshova, T. I., Beshlei, I. V., Smirnova, A. N. ve Oktyabr'skii O. N. (2020). Antioxidant Properties of Extracts of Leaves and Inflorescences of *Spiraea Media* Franz Schmidt from the Flora of Komi Republic. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 622-625. <https://doi.org/10.1007/s11094-020-02246-3>
- Blainski, A., Mello, J. C. P. D. ve Lopes, G. (2013). Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*, 6853-6862. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>

- Budianto, Prajitno, A. ve Yuniarti, A. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare*, Mill) pada *Vibrio harveyi* dan *Vibrio alginolyticus*. *Agritech*, 266-270. <https://doi.org/10.22146/agritech.9336>
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M. ve Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 552-558. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i04.p07>
- Choi, H. J., Eom, H. S., Choi, M. J., Yang, S. ve Lee, J. H. (2019). Taxonomic Review of *Spiraea chartacea* compared with its related species of section *Chamaedryon* in Korea. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity* 12, 631-642. <https://doi.org/10.1016/j.japb.2019.08.008>
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- Damayanthi, E., Kustiyah, L., Khalid, M. ve Farizal, H. (2010). Aktivitas Antioksidan Bekatul Lebih Tinggi daripada Jus Tomat dan Penurunan Aktivitas Antioksidan Serum Setelah Intervensi Minuman Kaya Antioksidan. *Journal of Nutrition and Food*, 5(3): 205–210. <https://doi.org/10.25182/jgp.2010.5.3.205-210>
- Darusman, L. K., Heryanto, R., Rafi, M. ve Wahyuni, W. T. (2007). Potensi Daerah Sidik Jari Spektrum Inframerah sebagai Penanda Bioaktivitas Ekstrak Tanaman Obat. *J. Ilm. Pert. Indonesia*, 154-162. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/JIPI/article/view/6555>
- Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. S. ve Mohammad, N. S. (2009). Antioxidant Activity of the Methanol Extract of *Ferula assafoetida* and Its Essential Oil Composition. *Grasas Y Aceites*, 405-411. <https://doi.org/10.3989/gya.010109>
- Depkes. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, 13 OcaK 2000. Departemen Kesehatan RI.
- Doss, A. V. ve Thangavel, K. P. (2011). Antioxidant and Antimicrobial Activity Using Different Extracts of *Anacardium occidentale* L. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 436.
- Due, Y. P. ve Bukit, M. ve Johannes, A. Z. (2019). Kajian Awal Spektrum Serapan UV-Vis Senyawa Hasil Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) asal Tarus Kabupaten Kupang. *Jurnal Fisika Sains dan Aplikasinya*, 34-40. <https://doi.org/10.35508/fisa.v4i1.1437>
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. ve Hafezi, S. (2007). Antioxidant Activities of Iranian Corn Silk. *Turk. J. Biol.*, 44. <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol32/iss1/7>
- Ginting, P. A. W. (2018). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol, Etil Asetat, dan n-heksana dari daun Benalu Alpukat (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sumatera Utara

- Glasset, B., Herbin, S., Granier, S. A., Cavalie, L., Lafeuille, E., Guerin, C., Ruimy, R., Casagrande-Magne, F., Levast, M., Chautemps, N., Decousser, J., Belotti, L., Pelloux, I., Robert, J., Brisabois, A. ve Ramarao, N. (2018). *Bacillus cereus*, a Serious Case of Nosocomial Infections: Epidemiologic and Genetic Survey. *Plos One*, 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194346>
- Gong, G., Guan, Y., Zhang, Z., Rahman, K., Wang, S., Zhou, S., Luan, X. ve Zhang, H. (2020). Isorhamnetin: a Review of Pharmacological Effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110301>
- Görgüç, A., Özer, P. ve Yılmaz, F. M. (2020). Simultaneous Effect of Vacuum and Ultrasound Assisted Enzymatic Extraction on the Recovery of Plant Protein and Bioactive Compounds from Sesame Bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, 87. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103424>
- Hermawan, Purwanti, L. Ve Dasuki U. A. (2017). Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Pakis Sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz]. *Prosiding Farmasi Universitas Islam Bandung*, 642-649. <https://dx.doi.org/10.29313/v0i0.8189>
- Hidayati, N. ve Khaerunisa, D. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut pada Pengambilan Minyak Atsiri Daun Kelor dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction. *Simposium Nasional RAPI XVII*, 119-123.
- Hikmawanti, N. P. E., Hariyanti, H., Aulia, C. ve Viransa, V. P. (2016). Kandungan Piperin dalam Ekstrak Buah Lada Hitam dan Buah Lada Putih (*Piper nigrum* L.) yang Diekstraksi dengan Variasi Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode KLT-Densitometri. *Media Farmasi*, 173-185. <https://dx.doi.org/10.12928/mf.v13i2.7769>
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Huang, D., Zhou, J., Li, W., Zhang, L., Wang, X. ve Liu, Q. (2021). Casticin Protected Against Neuronal Injury and Inhibited the TLR4/NF- κ B Pathway after Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats. *Pharmacol. Res. Perspect.*, 1-10. <https://doi.org/10.1002/prp2.752>
- Huliselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J. ve Wewengkang, D. S. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 155-162. <https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.8855>
- Ikram, K. (2017). Penentuan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Samama (*Anthocephalus macrophyllus*) Asal Ternate, Maluku Utara. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 11-17. <https://doi.org/10.30872/jkm.v15i1.495>
- Imrawati, Baitz, M. ve Jannah, M. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daging Buah Asam (*Tamarindus indica* L.) Asal Kota Bima Nusa Tenggara Barat dengan Metode DPPH. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 76-77.

- Indra, Nirmalasari, N. ve Kusmiati, M. (2019). Fenolik Total, Kandungan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mareme (*Glochidion arborescens* Blume.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 206-212. <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.206-212.2019>
- Isnaeni, N. (2020). *Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* [Yüksek Lisan Tezi] Universitas Indonesia
- Ito, Y., Kanamaru, A. ve Tada, A. (2006). Centaureidin Promotes Dendrite Retraction of Melanocytes by Activating Rho. *Biochimica et Biophysica Acta*, 487-494. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.01.003>
- Janeiro, P. ve Brett, A. M. O. (2004). Catechin Electrochemical Oxidation Mechanisms. *Analytica Chimica Acta*, 109. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.05.038>
- Jannah, A., Rachmawaty, D. U. ve Maunatin, A. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccarata* Strurt) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia coli*. *Alchemy: Journal of Chemistry*, 132-137. <https://doi.org/10.18860/al.v5i4.4182>
- Karpagasundari, C. ve Kulothungan, S. (2014). Analysis of bioactive compounds in *Physalis minima* leaves using GC MS, HPLC, UV-VIS and FTIR techniques. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.*, 196-201. <https://www.phytojournal.com/archives?year=2014&vol=3&issue=4&ArticleId=435>
- Kashchenko, N. I., Chirikova, N. K. ve Olennikov, D. N. (2018). Acylated Flavonoids from *Spiraea* Genus as Inhibitors of α -Amylase. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 876-886. <https://doi.org/10.1134/S1068162018070051>
- Kashchenko, N. I., Chirikova, N. K. ve Olennikov, D. N. (2014). Ellagitannins in Rosaceous Plants from the Flora of Sakha (Yakutia) Republic. *Butl. Commun*, 127-138.
- Kate, D. I. (2014). *Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa (Lour) Hallier f.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma
- Kikiowo, B., Ogunleye, J. A., Iwaloye, O. ve Ijatuyi, T. T. (2020). Therapeutic Potential of *Chromolaena odorata* Phyto-constituents Against Human Pancreatic α -amylase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1833758>
- Kiss, T., Cank, K. B., Orban-Gyapai, O., Liktor-Busa, E., Zomborszki, Z. P., Rutkovska, S., Pucka, I., Nemeth, A., ve Csupor, D. (2017). Phytochemical and Pharmacological Investigation of *Spiraea chamaedryfolia*: a Contribution to the Chemotaxonomy of *Spiraea* Genus. *BMC Res Notes*, 1-6. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-3013-y>

- Koleva, I. I., Beek, T. A. V., Linssen, J. P. H., Groot, A. D. ve Evstatieva, L. N. (2002). Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis*, 8-15. <https://doi.org/10.1002/pca.611>
- Kostikova, V. A. ve Petrova, N. V. (2021). Phytoconstituents and Bioactivity of Plants of the Genus *Spiraea* L. (Rosaceae): A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 3. <https://doi.org/10.3390/ijms222011163>
- Kostikova, V. A. ve Shaldaeva, T. M. (2017). The Antioxidant Activity of the Russian Far East Representatives of the *Spiraea* L. (Rosaceae Juss.) Genus. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 790-794. <https://doi.org/10.1134/S1068162017070081>
- Kostikova, V. A., Zarubaev, V. V., Esaulkova, I. L., Sinegubova, E. O., Kadyrova, R. A., Shaldaeva, T. M., Veklich, T. N. ve Kuznetsov, A. A. (2022). The Antiviral, Antiradical, and Phytochemical Potential of Dry Extracts from *Spiraea hypericifolia*, *S. media*, and *S. salicifolia* (Rosaceae). *South African Journal of Botany* 147, 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.01.013>
- Kumar, S. S., Manoj, P. ve Giridhar, P. (2015). Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis, chlorophyll content and antioxidant properties of native and defatted foliage of green leafy vegetables. *J Food Sci Technol.*, 8131–8139. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1959-0>
- Kurniawan, A. (2011). *Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Herba Seledri (Apium graveolens L.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma
- Kusuma, A. S. W., Nurmalinda, S., Ramadhania, Z. M. Ve Indradi, R. B. (2021). Antibacterial Activity of Hanggasa Fruit Ethanolic Extract (*Amomum dealbatum* Roxb.) Against *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 25-32. <https://doi.org/10.24198/ijbp.v1i1.35164>
- Kusumawati, N. (2000). Peranan Bakteri Asam Laktat dalam Menghambat *Listeria monocytogenes* pada Bahan Pangan. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*, 14-25. <https://doi.org/10.33508/jtpg.v1i1.77>
- Lee, H. J., Sim, M., Jang, J. H., Lee, H. E., Jung, H., Kim, T., No, J. H., Jung, J., Jung, D. E. ve Cho, H. (2017). Anti-inflammatory and Antioxidant Effects of *Spiraea prunifolia* Sieb. Et Zucc. var. *simpliciflora* Nakai in RAW 264.7 Cells. *Korean J. Plant Res*, 335-342. <https://doi.org/10.7732/kjpr.2017.30.4.335>
- Lelita, D. I., Rohadi ve Putri, A. S. (2013). Sifat Antioksidatif Ekstrak Teh (*Camellia sinensis* Linn.) Jenis Teh Hijau, Teh Hitam, Teh Oolong, dan Teh Putih dengan Pengeringan Beku (Freeze Drying). *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Penelitian*, 15-27. <http://dx.doi.org/10.26623/jtph.v13i1.2372>
- Lenny, S. (2006). *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida* [Lisans Tezi] Universitas Sumatera Utara
- Lestari, R. (2012). *Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul, dan Gram* [Lisans Tezi] Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Yogyakarta

- Lestari, T. P. (2019). *Analisis Fitokimia dan Pengaruh Jenis Pelarut pada Penetapan Kadar Flavonoid dalam Buah dan Daun Black Mulberry (Morus nigra)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Pasundan
- Lin, H. (2014). In Vitro and in Vivo Atheroprotective Effects of Gossypetin Against Endothelial Cell Injury by Induction of Autophagy. *Chemical Research in Toxicology*, 1-14. <https://doi.org/10.1021/tx5003518>
- Lin, Y., Shi, R., Wang, X. ve Shen, H. (2008). Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy. *Current Cancer Drug Targets*, 634-646. <https://doi.org/10.2714/156800908786241050>
- Lopez, M., Martinez, F., Del Valle, C., Ferrit, M. ve Luque, R. (2003). Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants by a Fluorescence Method. *Talanta*, 610-615. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00191-7](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00191-7)
- Maesaroh, K., Kurnia, D. ve Anshori, J. A. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP, dan FIC terhadap Asam Askorbat, Asam Galat, dan Kuersetin. *Chimica et. Natura Acta*, 93-100. <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- Mariyah, Y. (2020). *Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kesambi (Schleichera oleosa (Lour.) Oken) dengan Pelarut Metanol* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Marsetya, Y. R. (2009). *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat, dan Flavonoid Ekstrak Buah Pare Belut (Trichosanthes anguina L.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sebelas Maret
- Martine, C. T., Herron, P., Leicht-Young, S. A. ve Latimer, A. (2009). *Fifteen Woody Species with Potential for Invasiveness in New England*. Retrieved from ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/232664181_Fifteen_woody_species_with_potential_for_invasiveness_in_New_England
- Masella, R., Benedetto, R. D., Vari, R., Filesi, C. ve Giovannini, C. (2005). Novel Mechanisms of Natural Antioxidant Compounds in Biological Systems: Involvement of Glutathione and Glutathione-related Enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 578. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013>
- Mayasari, E. (2005). *Pseudomonas aeruginosa; Karakteristik, Infeksi, dan Penanganan* [Lisans Tezi] Universitas Sumatera Utara
- Mazandarani, M., Momeji, A. ve Moghaddam, P. Z. (2012). Evaluation of Phytochemical and Antioxidant Activities from Different Parts of Nasturtium officinale R. Br. in Mazandaran. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 659-664.
- Mediani, A., Abas, F., Tan, C. P. ve Khatib, A. (2014). Effects of Different Drying Methods and Storage Time on Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Cosmos caudatus. *Antioxidants*, 358-370. <https://doi.org/10.3390/antiox3020358>
- Molyneux, P. (2003). The Use of the Stable Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 212-218. <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/index.php>

- Neldawati, Ratnawulan ve Gusnedi. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 76-82. <http://dx.doi.org/10.24036/756171074>
- Ningrum, W. A. (2018). Pembuatan dan Evaluasi Fisik Sediaan Masker Gel Peel-off Ekstrak Etanol Daun The (Camellia sinensis L.). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 57-61. <http://doi.org/10.31603/pharmacy.v4i2.2323>
- Nishanthini, A., Ruba, A. ve Mohan, V. (2012). Total Phenolic, Flavonoid Contents and In Vitro Antioxidant Activity of Leaf of Suaeda monoica Forssk ex. Gmel (Chenopodiaceae). *International Journal of Advanced Life Sciences*, 34-43.
- Nurhayati, Siadi, K. ve Harjono. (2012). Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat (Lycopersicum esculentum Mill). *Indo. J. Chem. Sci*, 159-162. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v1i2>
- Nwiloh, B. I., Monago-Ighorodje, C. C. ve Onwubiko, G. N. (2020). Analyses of Bioactive Compounds in Fiddleheads of Pteridium aquilinum L. Kuhn Collected from Khana, Southern Nigeria, Using Gas Chromatography-flame Ionization Detector. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1079-1086. <https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5093>
- Olennikov, D. N. ve Kashchenko, N. I. (2017). Spireasalicin, a New Acylated Quercetin Glycoside from Spiraea salicifolia. *Chemistry of Natural Compounds*, 1038-1043. <https://doi.org/10.1007/s10600-017-2197-7>
- Patle, T. K., Shrivastava, K., Kurrey, R., Upadhyay, S., Jangde, R. ve Chauhan, R. (2020). Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in Dillenia pentagyna using UV-vis and FTIR spectroscopy. *Spectrosc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118717>
- Pracima, R. (2015). *Pemanfaatan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (Ipomea batatas (L.) Poir) sebagai Zat Warna pada Sediaan Lipstik* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Pradana, M. D. W. (2021). *Peningkatan Konduktivitas Listrik Material PCM Air dan Minyak Jagung dengan Penambahan Partikel Karbon Nano* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma
- Pratiwi, A. ve Susilowati, R. (2021). Perbandingan Kandungan Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Nangka Matang [Artocarpus heterophyllus Lamk.] dari Kabupaten Sleman dan Bantul. *Journal of Biotechnology and Natural Science*, 21-32. <https://doi.org/10.12928/jbns.v1i1.4735>
- Prior, L. R., Wu, X. ve Schaich, K. (2005). Standarized Methods for Determination of Antioxidants Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*, 55. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Purwanto, T. L. (2009). *Optimasi Volume Etanol dan Akuades dalam Proses Perkolasi Daun Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni M.) dengan Aplikasi Desain Faktorial* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma

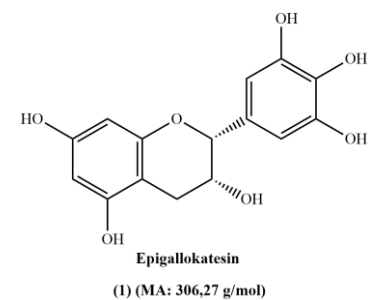
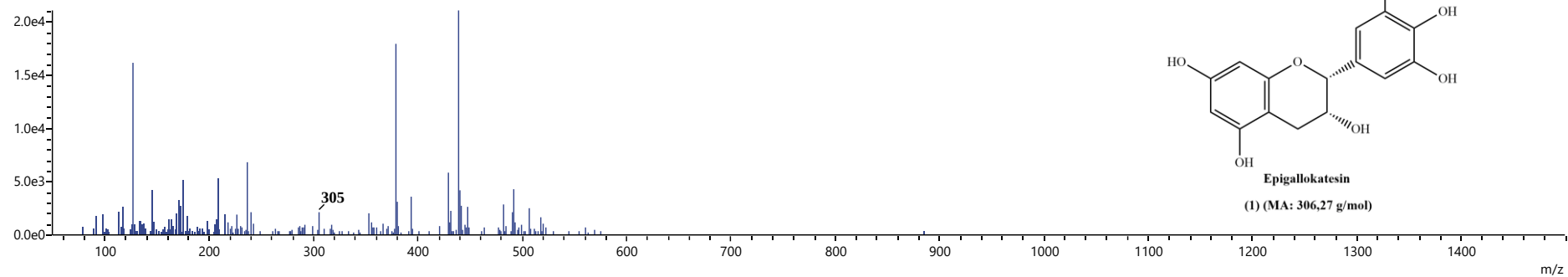
- Purwanto, D., Bahri, S. ve Ridhay, A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*, 24-32. <https://doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i1.8230>
- Rahayu, H. D. (2010). *Pengaruh Pelarut yang Digunakan terhadap Optimasi Ekstraksi Kurkumin pada Kunyit (Curcuma domestica Vahl.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Rahma, K. D. (2019). *Pengaruh Ekstrak Buah Kurma (Phoenix dactylifera L.) Sebagai Antioksidan Terhadap Gambaran Histopatologi Glomerulus Mencit yang Dipapar Rhodamin B* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Ramadhani, N., Samudra, A. G., Pertiwi, R., Utami, C. D., Muslimah, A., Syahidah, W. ve Khodijah, P. S. (2022). Analisis Total Fenol dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Sungkai (*Peronema canescens* Jack). *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*, 66-76. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v19i1.12554>
- Rasidah, Syahmani ve Iriani, R. (2019). Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tanaman Rambai Padi (*Sonneratia alba*) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*, 97-105. <https://doi.org/10.36873/jjms.v1i2.217>
- Ratri, O. L., Ebtavanny, T. G. ve Puspita, O. E. (2021). Systematic Literature Review: Efektivitas Ekstrak Kopi sebagai Antioksidan dalam Mengatasi Photoaging. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 55-62. <https://doi.org/10.21776/upb.pji.2021.007.01.9>
- Safithri, M, Indariani, S. ve Septiyani, D. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Total Fenolik Minuman Fungsional Nanoenkapsulasi Berbasis Ekstrak Sirih Merah. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 69-83. <http://dx.doi.org/10.21776/ub.ijhn.2020.007.01.7>
- Sari, E. L., Sudrajat ve Dharma, B. (2015). Bioaktivitas Ekstrak Etanol Batang Karamunting (*Melastoma malabathricum*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Salmonella enterica* serovar Typhi. *Journal Science East Borneo*, 17-22.
- Sembiring, B. Br. ve Suhirman, S. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan dan Teknik Ekstraksi terhadap Kualitas Simplisia dan Ekstrak Meniran. *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian Polinela*, 509-513. <https://doi.org/10.25181/proseminas.v0i0.432>
- Semwal, D. K., Semwal, R. B., Combrinck, S. ve Viljoen, A. (2016). Myricetin: a Dietary Molecule with Diverse Biological Activities. *Nutrients*, 1-21. <https://doi.org/10.3390/nu8020090>
- Septiani, N. K. A., Parwata, I. M. O. A. ve Putra, A. A. B. (2018). Penentuan Kadar Total Fenol, Kadar Total Flavonoid, dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Grynops versteegii*). *Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 78-87. <https://erepo.unud.ac.id/eprint/24763>
- Serebryakova, V. A. ve Vysochina, G. I. (2011). Research on the Composition and Content of Biologically Active Substances of Far East Representatives of Genus *Spiraea* (Rosaceae). *Plant Life Asian Russ*, 120-124.

- Sinala, S. ve Dewi, S. T. R. (2019). Penentuan Aktivitas Antioksidan secara in Vitro dari Ekstrak Etanol Propolis dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Media Farmasi Poltekkes Makassar*, 1-6. <https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.820>
- Sirin, Y., Keskin, S., Cakir, H. E., Kaya, G. ve Keskin, M. (2019). Phenolic Composition and Antioxidant Properties of *Spirea nipponica*. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 87-92. <https://doi.org/10.7176/JSTR/5-2-10>
- Sitepu, J. S. (2010). *Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi secara Maserasi dan dengan Alat Soxhlet terhadap Kandungan Kurkuminoid dan Minyak Atsiri dalam Ekstrak Etanolik Kunyit (Curcuma domestica Val.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma
- Song, X.C., Canellas, E., Asensio, E. ve Nerin, C. (2020). Predicting the antioxidant capacity and total phenolic content of bearberry leaves by data fusion of UV–Vis spectroscopy and UHPLC/Q-TOF-MS. *Talanta*. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120831>
- Suarsa, I. W. (2016). *Analisis Gugus Fungsi pada Bensin dengan Spektrofotometri Infra Merah* [Lisans Tezi] Universitas Udayana
- Suratmo, Retnowati, R. ve Azzuhro, D. (2013). Sintesis N,N-dietil-2-hidroksibenzamida Menggunakan Metil Salisilat dari Minyak Gandapura. *Natural*, 94-102. <http://dx.doi.org/10.21776/ub.natural-b.2013.002.01.14>
- Surtina, Sari, R. P., Lazir, A. M. ve Mahardika, R. G. (2019). Analisis Kualitatif Metabolit Sekunder Ekstraksi Daging Buah Kelubi (*Eleiodoxa conferta*) Menggunakan Microwave Assisted Extraction (MAE). *Jurnal Universitas Bangka Belitung*, 15-18. <https://doi.org/10.33019/snppm.v3i0.1303>
- Sutriana, A., Perdana, A. P., Panjaitan, B., Melia, J. ve Adam, M. (2022). Pemanfaatan Limbah Kulit Salak sebagai Antibakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Buletin Veteriner Udayana*, 752-755. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2022.v14.i06.p19>
- Theresia, L. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Protein dan Hidrolisat Protein Kerang Darah (Anadara granosa L.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sumatera Utara
- Valentova, K., Vrba, J., Bancirova, M., Ulrichova, J. ve Kren, V. (2014). Isoquercitrin: Pharmacology, Toxicology, and Metabolism. *Food and Chemical Toxicology*, 267-282. <https://doi.org/10.106/j.fct.2014.03.018>
- Wardhani, S. F. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Penangkap Radikal Bebas DPPH, UV Protection, dan Antibakteri Ekstrak Rimpang Temugiring (Curcuma heyneana Val. & V. Zipp)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma
- Widiyanto, A. (2007). *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Fraksi Eter Perasan Daging Buah Makuta Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.)* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Sanata Dharma

- Woo, J., Ahn, J., Jang, D. S., Lee, K. ve Choi, J. (2017). Kumatakenin Isolated from Cloves Induces Cancer Cell Apoptosis and Inhibits the Alternative Activation of Tumour-associated Macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1-17. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01543>
- Wrońska-Pilarek, D., Sowelo, M., Antkowiak, W., Bocianowski, J. ve Lechowicz, K. (2022). Pollen Morphology and Variability of Native and Alien, including Invasive, Species of the Genus *Spiraea* L. (Rosaceae) in Poland. *Plos One*, 1-28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273743>
- Wulandari, R. R. (2009). *Uji Aktivitas Penangkap Radikal DPPH Analog Kurkumin Siklik dan N-Heterosiklik Monoketon* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Xiong, X., Tang, N., Lai, X., Zhang, J., Wen, W., Li, X., Li, A., Wu, Y. ve Liu, Z. (2021). Insights into Amentoflavone: a Natural Multifunctional Biflavonoid. *Frontiers in Pharmacology*, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.768708>
- Xu, S., Chen, S., Xia, W., Sui, H. ve Fu, X. (2022). Hyperoside: a Review of Its Structure, Synthesis, Pharmacology, Pharmacokinetics, and Toxicity. *Molecules*, 1-20. <https://doi.org/10.3390/molecules27093009>
- Yamagata, K. (2018). Metabolic Syndrome: Preventive Effects of Dietary Flavonoids. *Studies in Natural Products Chemistry*, 1-28. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64181-6.00001-2>
- Yamin. (2021). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Ekstrak dan Fraksi Daun Ghoenu (*Abelmoschus manihot* L.) serta Uji Antiradikal secara in Vitro. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 39-43. <http://dx.doi.org/10.33772/pharmauho.v7i1.16545>
- Yang, M., Wu, C., Zhang, T., Shi, L., Li, J., Liang, H., Lv, X., Jing, F., Qin, L., Zhao, T., Wang, C., Liu, G., Feng, S. and Li, F. (2022). Chicoric Acid: Natural Occurrence, Chemical Synthesis, Biosynthesis, and Their Bioactive Effects. *Frontiers in Chemistry*, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.888673>
- Ye, Q., Zhang, Q., Zheng, C., Wang, Y. ve Qin, L. (2010). Casticin, a Flavonoid Isolated from *Vitex rotundifolia*, Inhibits Prolactin Release in Vivo and in Vitro. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1564-1568. <https://doi.org/10.1038/aps.2010.178>
- Zahari, M. (2022). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Tangkai Daun Talas (Colocasia gigantea (Blume) Hook.f.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi* [Yüksek Lisans Tezi] Universitas Perintis Indonesia

EKLER

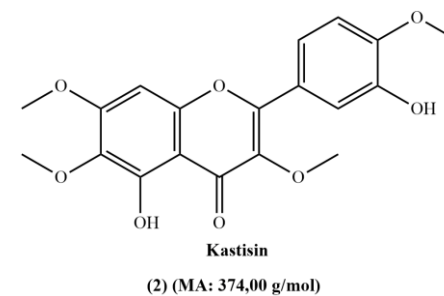
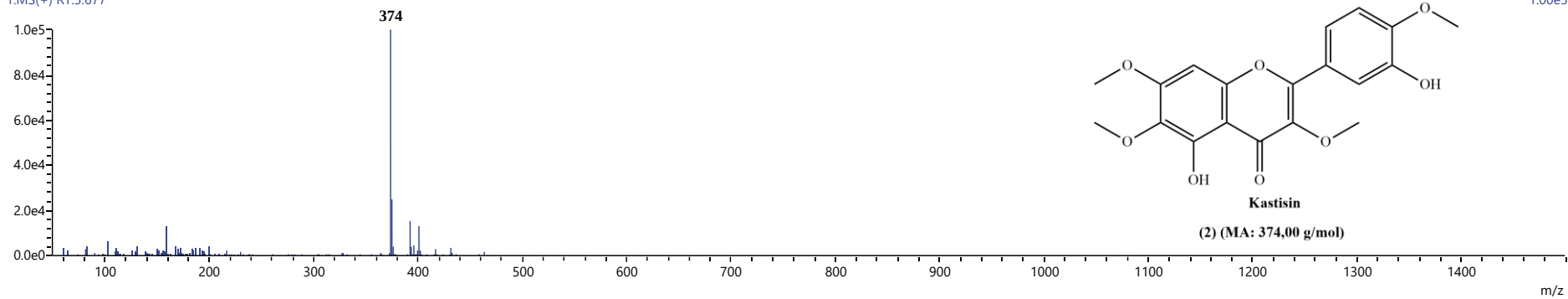
1:MS(-) RT:4.667



2.11e4

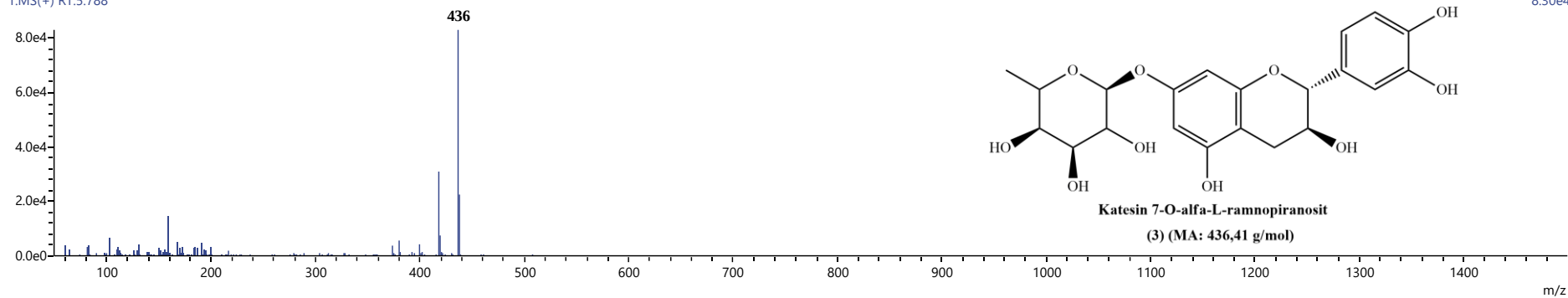
65

1:MS(+) RT:5.677

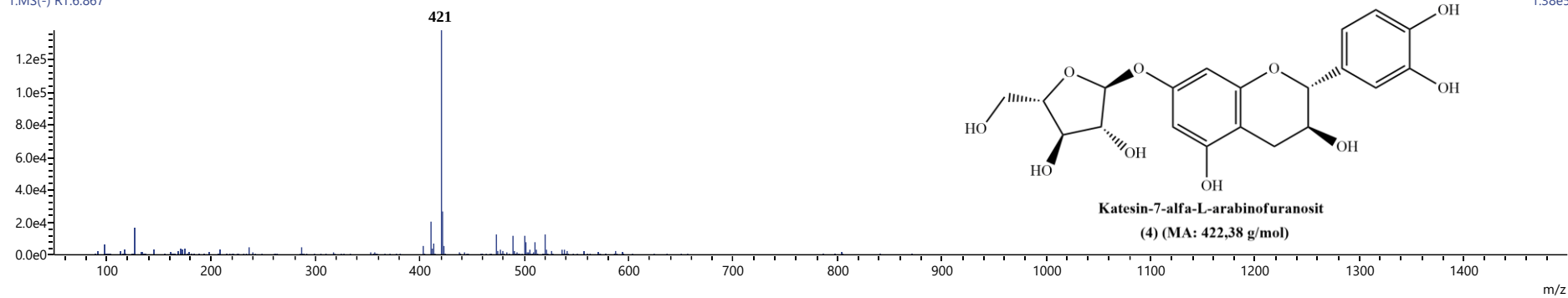


1.00e5

1:MS(+) RT:5.788



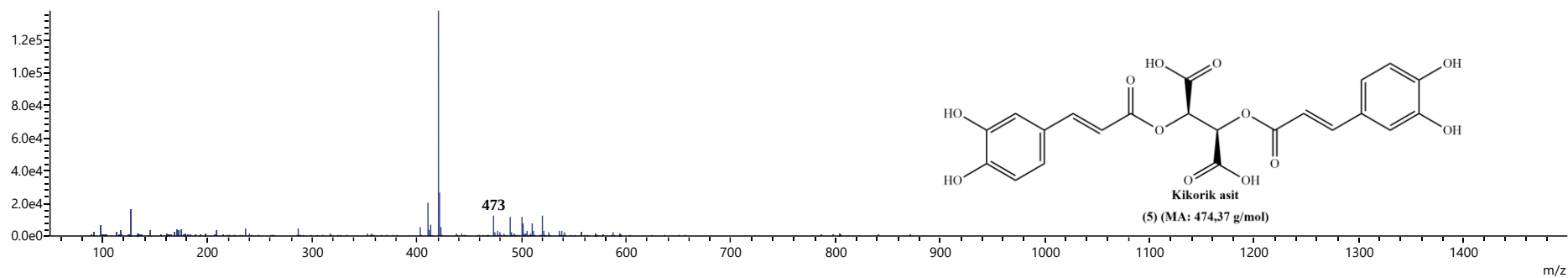
1:MS(-) RT:6.867





1:MS(-) RT:6.867

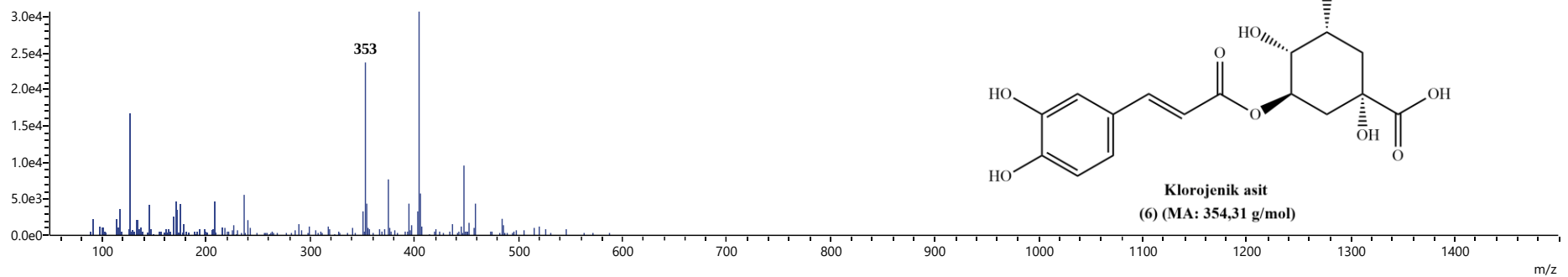
1.38e5



67

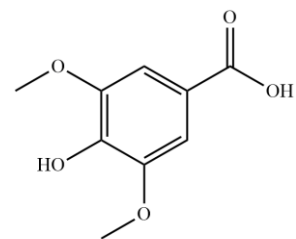
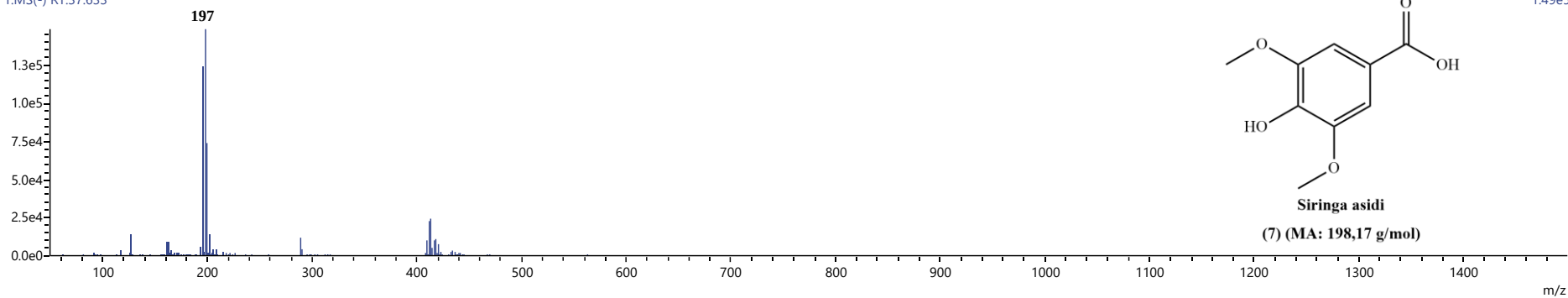
1:MS(-) RT:8.155

3.07e4



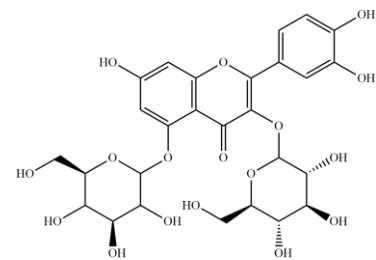
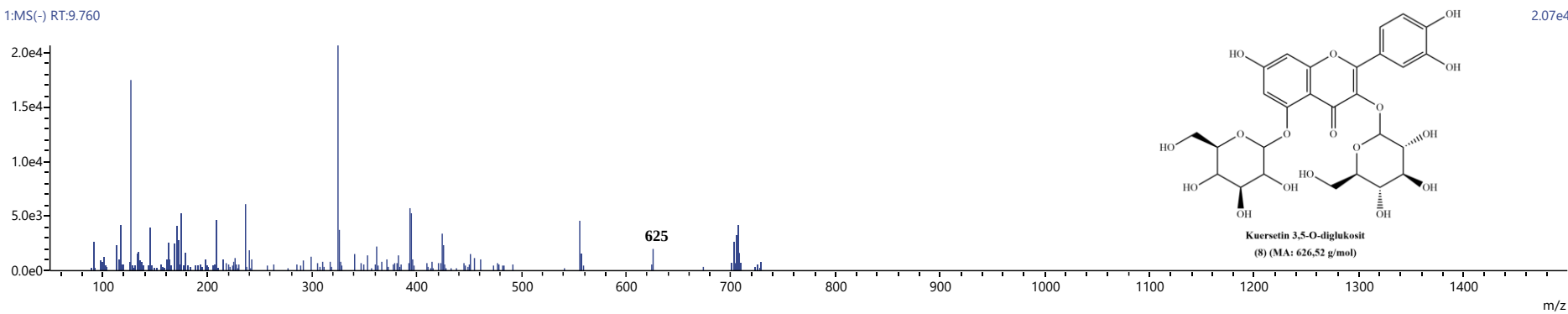


1:MS(-) RT:37.633



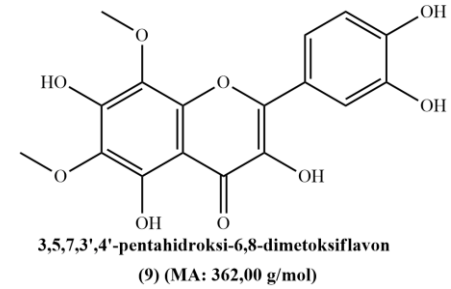
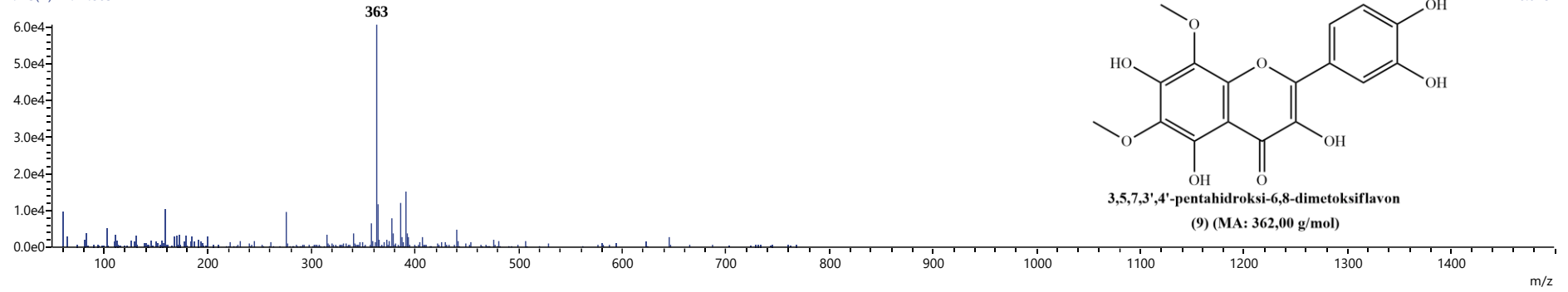
89

1:MS(-) RT:9.760





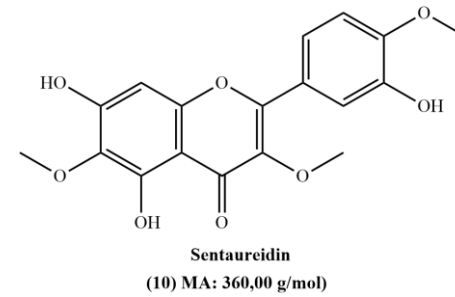
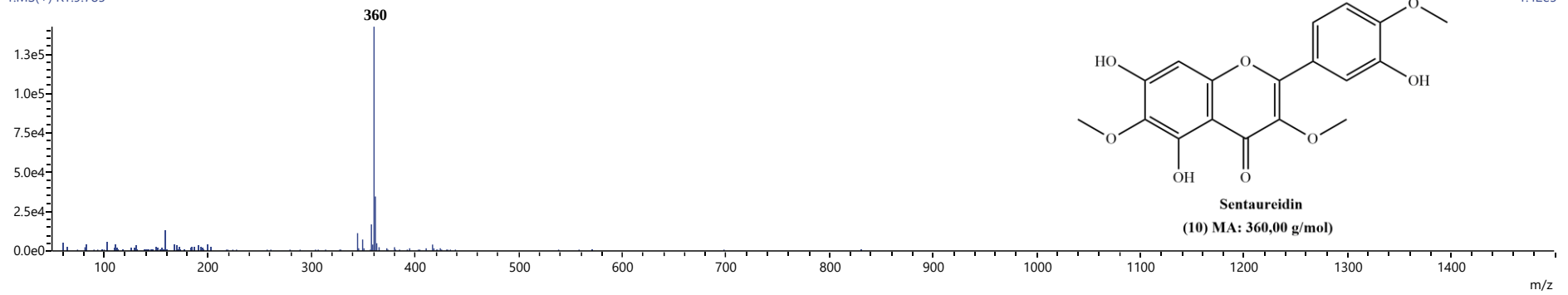
1:MS(+) RT:17.865



6.07e4

69

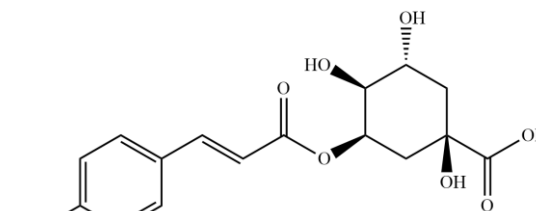
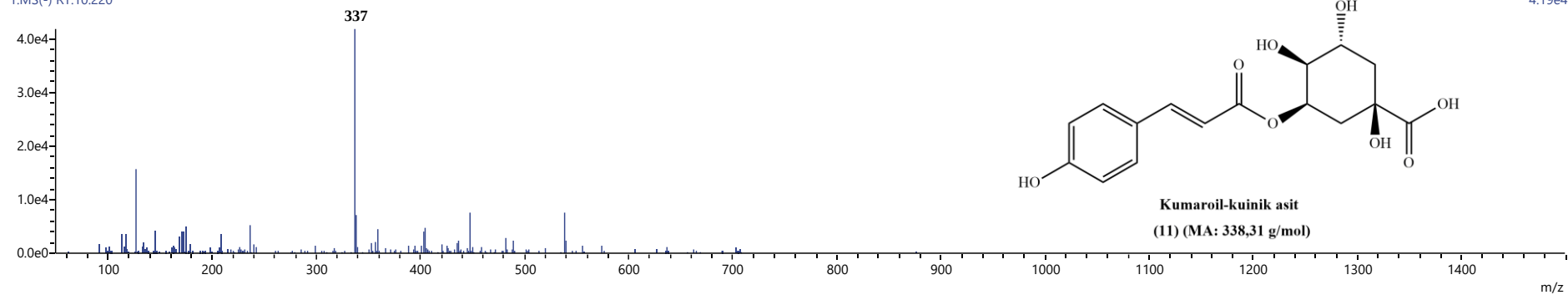
1:MS(+) RT:9.785



1.42e5

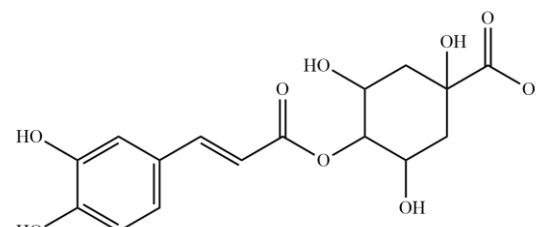
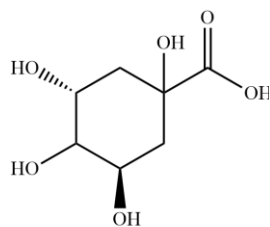
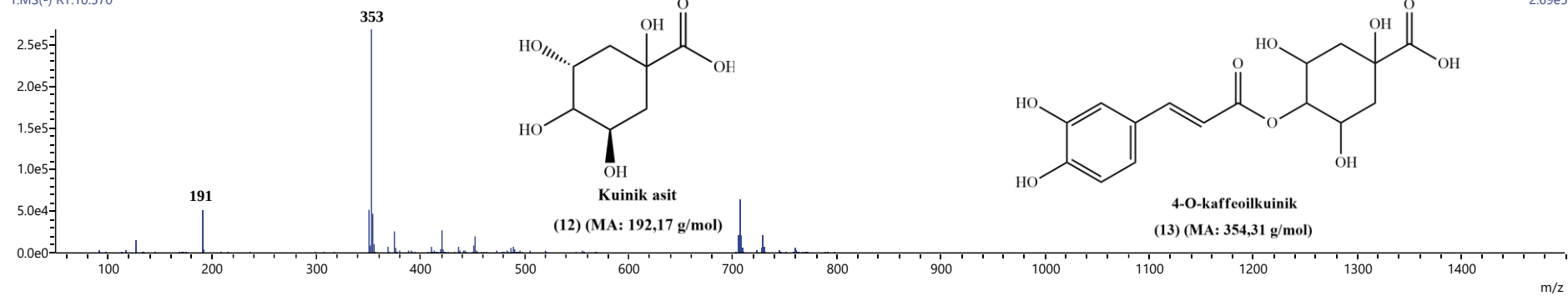


1:MS(-) RT:10.220



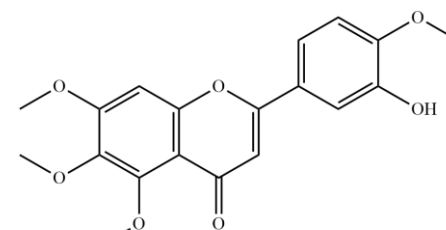
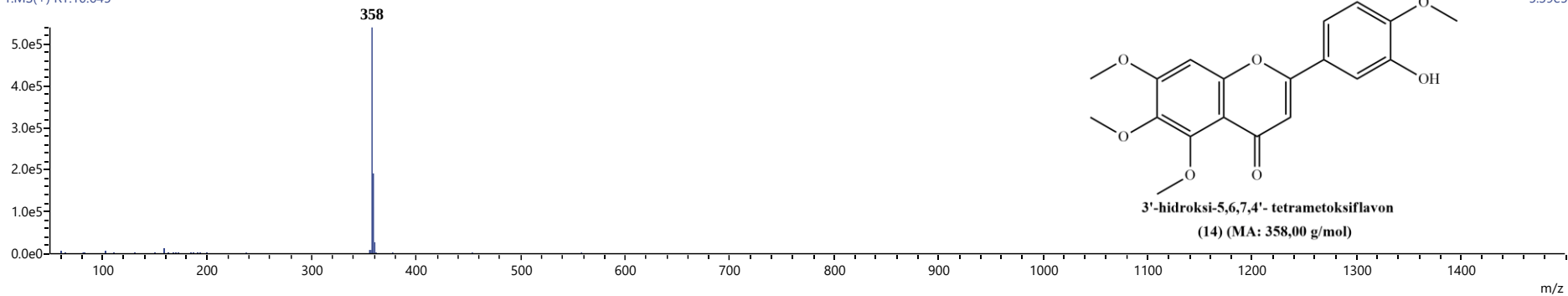
70

1:MS(-) RT:10.570





1:MS(+) RT:10.645

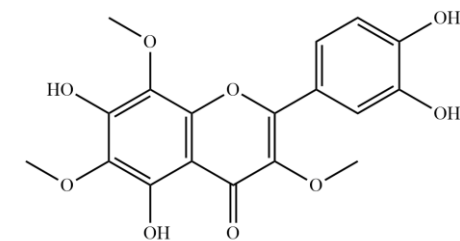
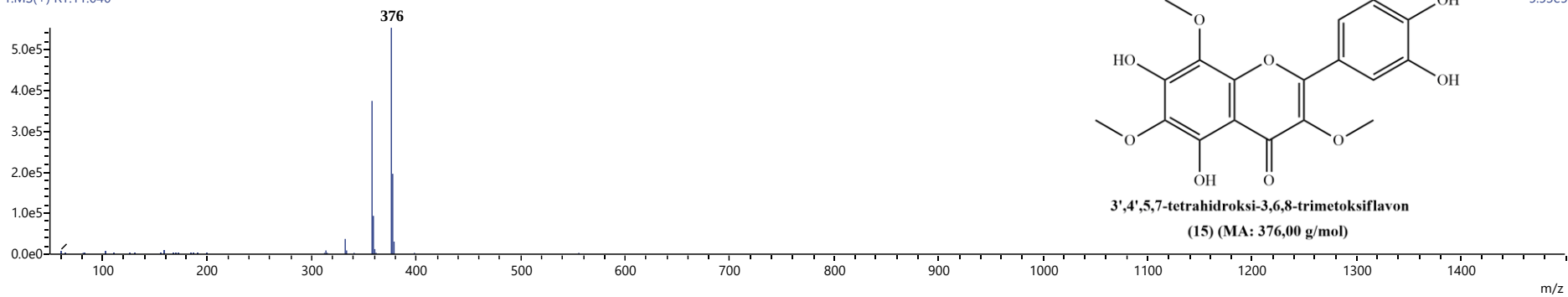


3'-hidroksi-5,6,7,4'- tetrametoksiflavinon
(14) (MA: 358,00 g/mol)

5.39e5

71

1:MS(+) RT:11.040



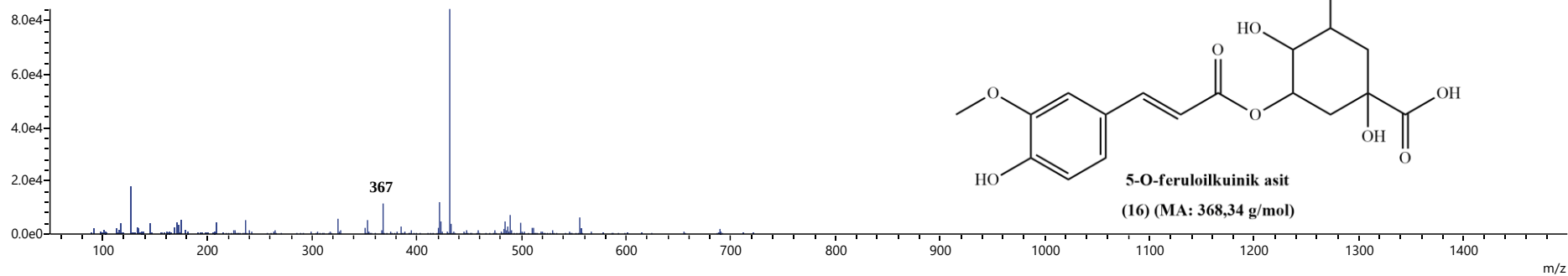
3',4',5,7-tetrahidroksi-3,6,8-trimetoksiflavinon
(15) (MA: 376,00 g/mol)

5.3e5



1:MS(-) RT:11.112

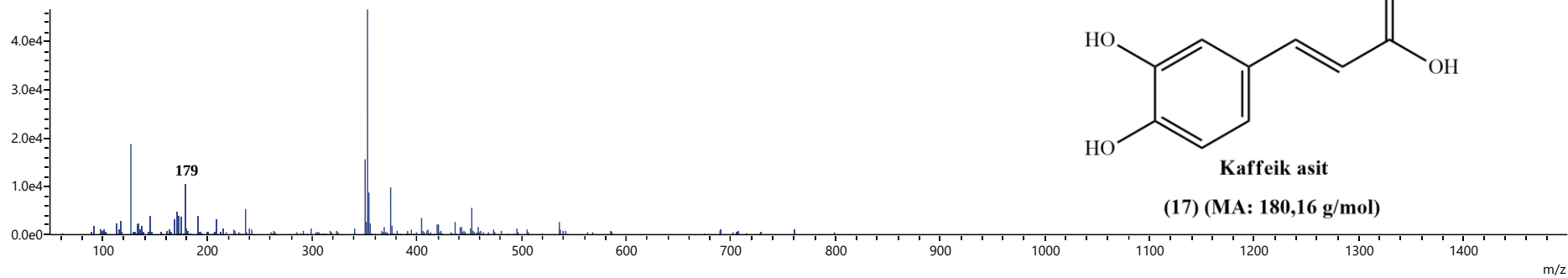
8.45e4



72

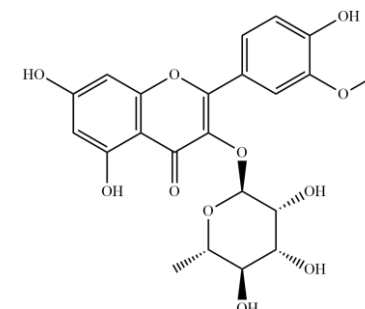
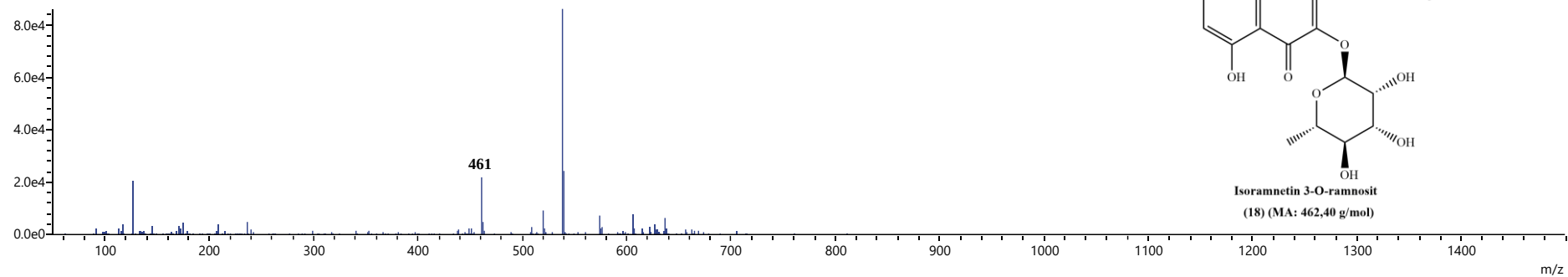
1:MS(-) RT:11.920

4.67e4





1:MS(-) RT:12.332

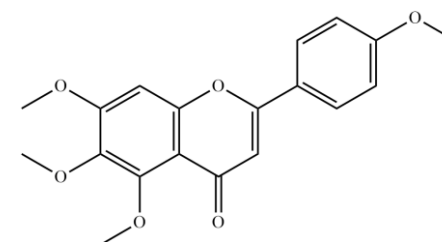
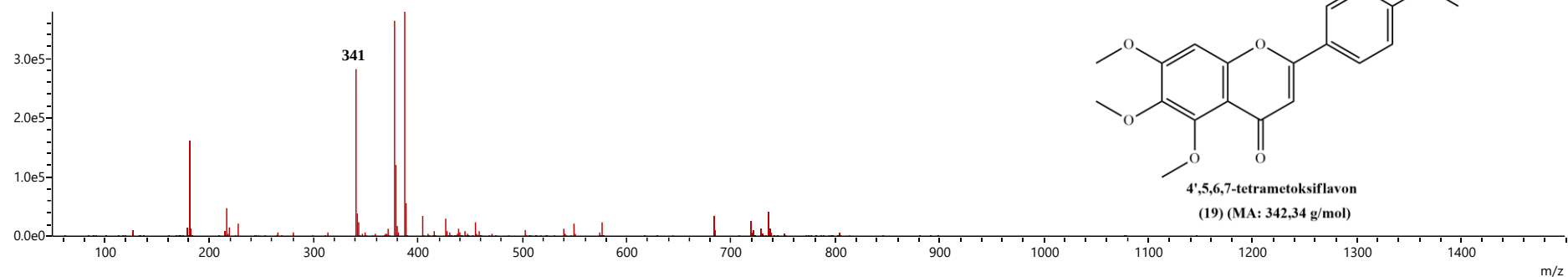


Isoramnetin 3-O-ramnosit
(18) (MA: 462,40 g/mol)

8.61e4

73

1:MS(-) RT:12.570

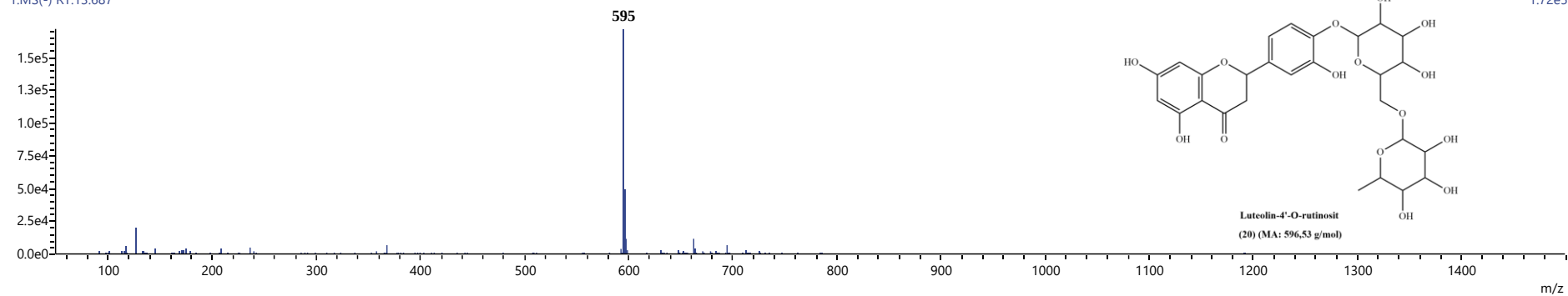


4',5,6,7-tetrametoksiflavin
(19) (MA: 342,34 g/mol)

3.79e5

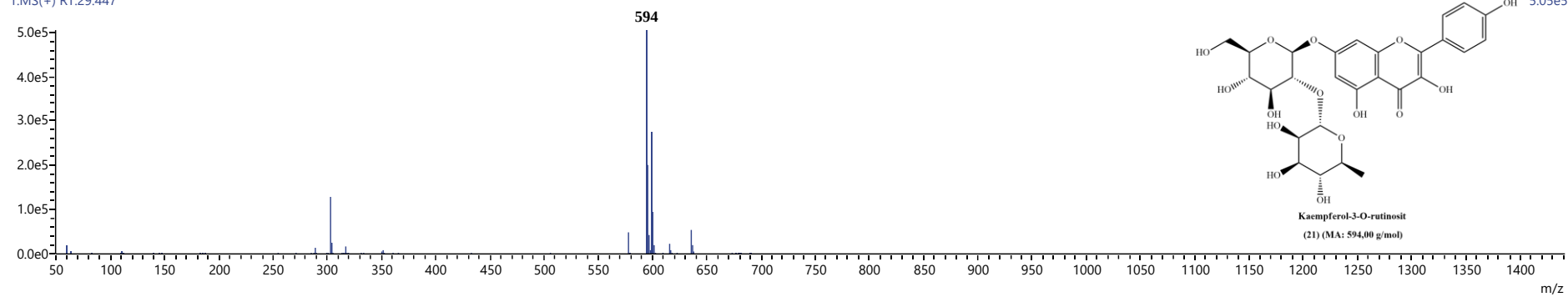


1:MS(-) RT:13.687



1.72e5

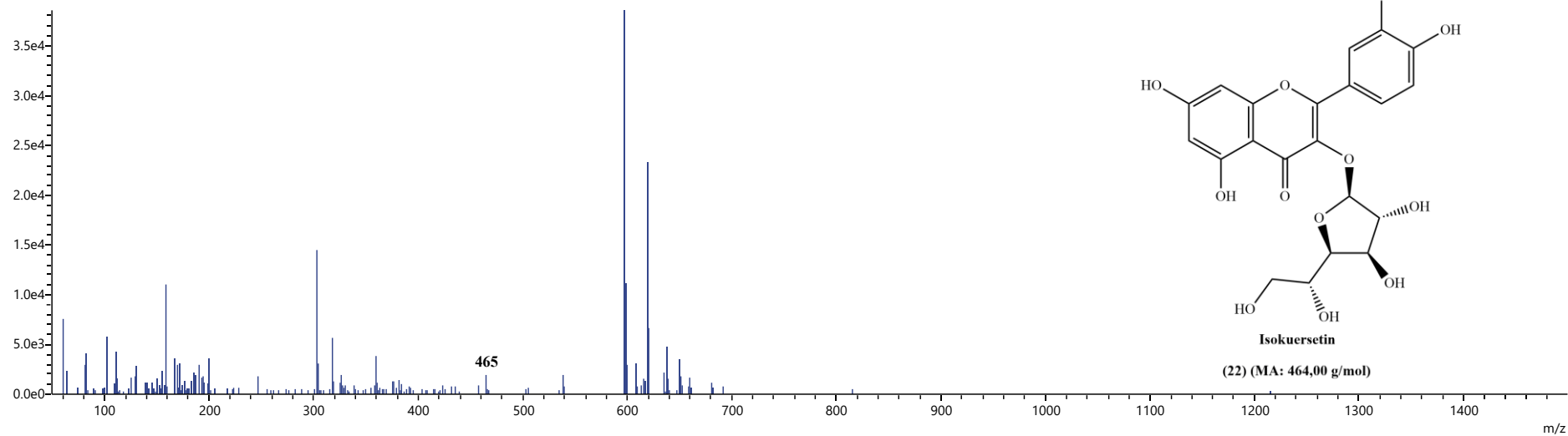
1:MS(+) RT:29.447



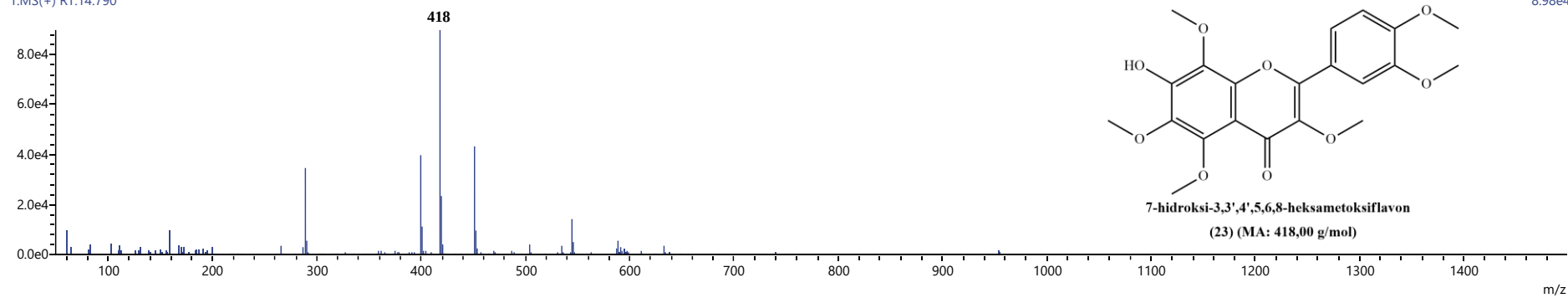
5.05e5



1:MS(+) RT:13.680

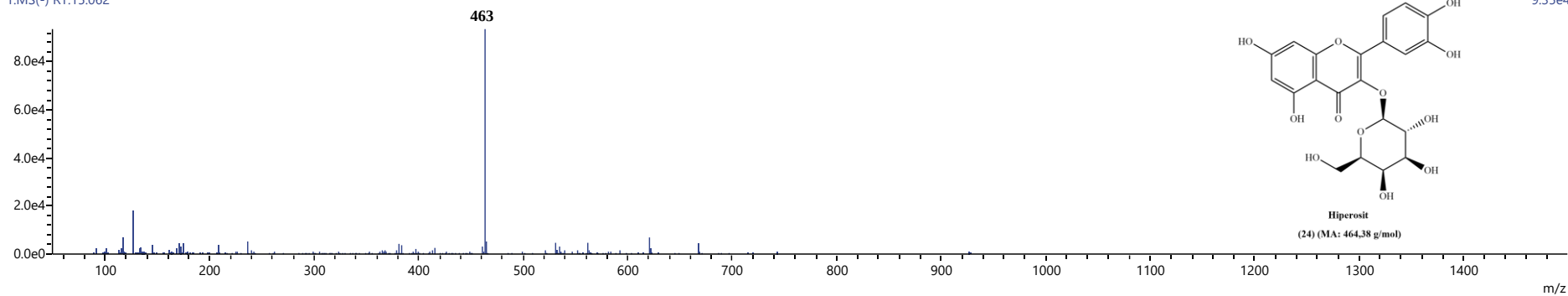


1:MS(+) RT:14.790





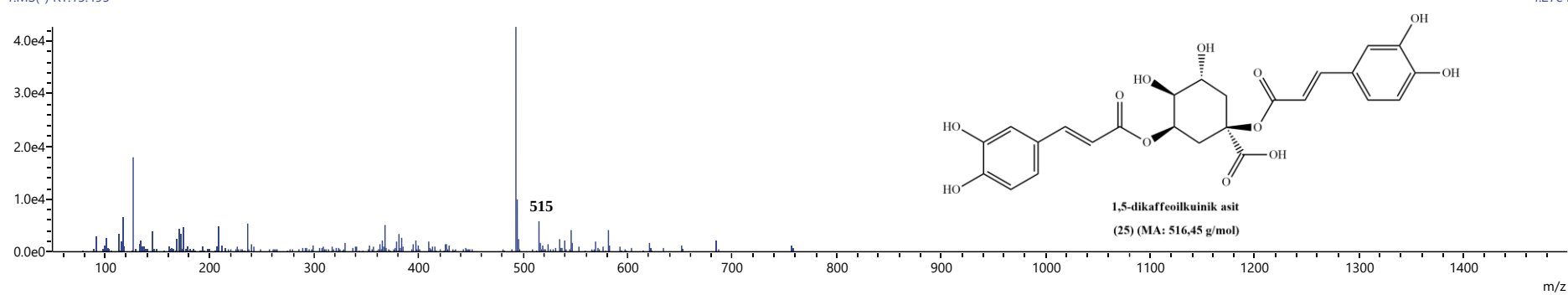
1:MS(-) RT:15.062



9.35e4

76

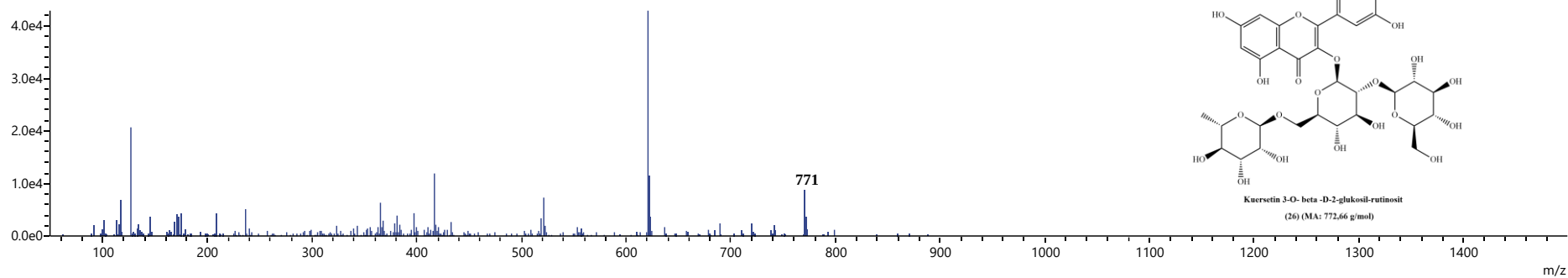
1:MS(-) RT:15.495



4.27e4

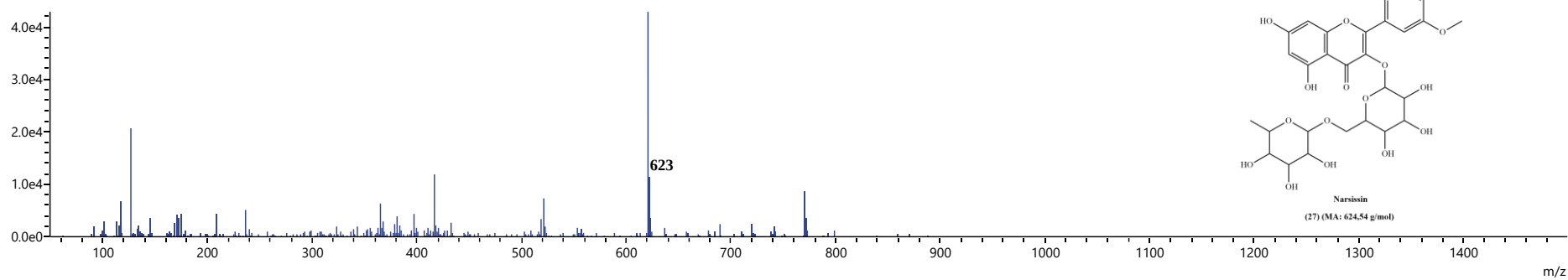


1:MS(-) RT:16.688



4.28e4

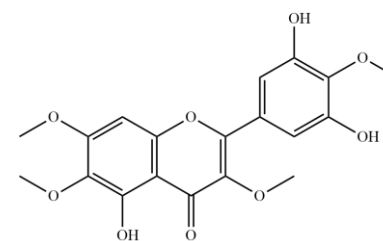
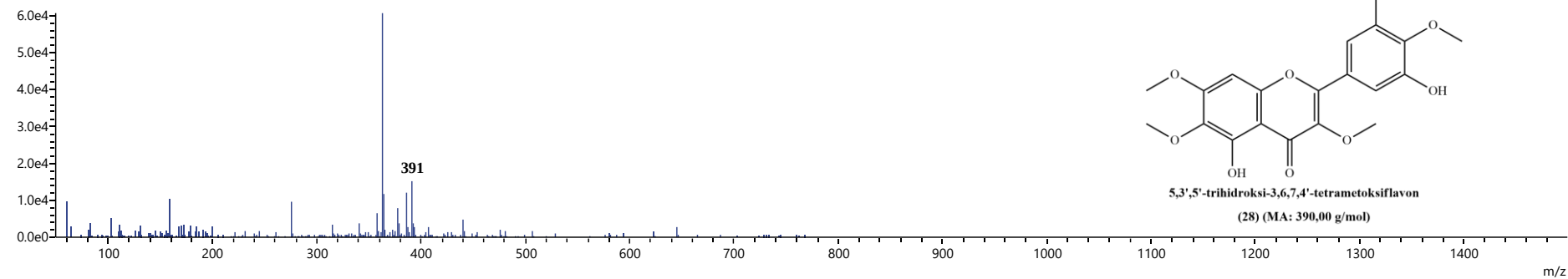
1:MS(-) RT:16.688



4.28e4



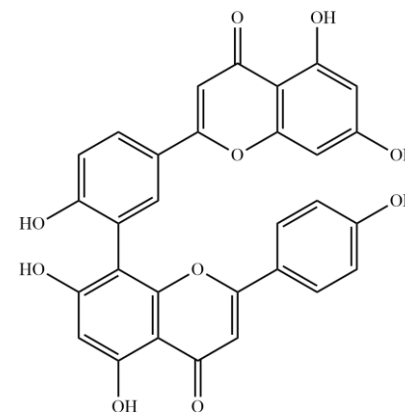
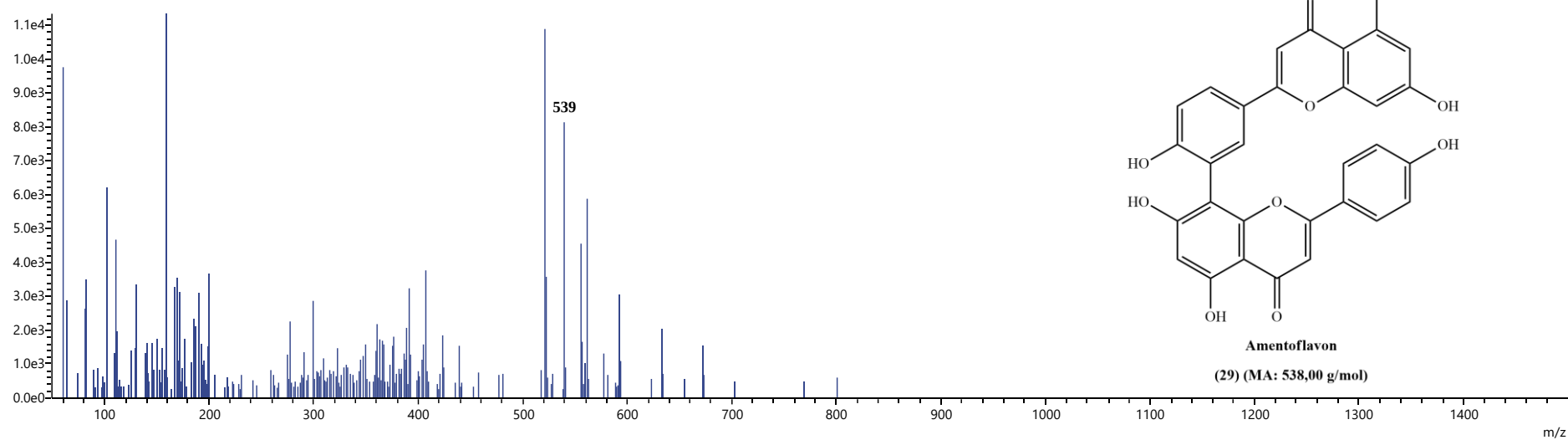
1:MS(+) RT:17.865



5,3',5'-trihidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflapon
(28) (MA: 390,00 g/mol)

6.07e4

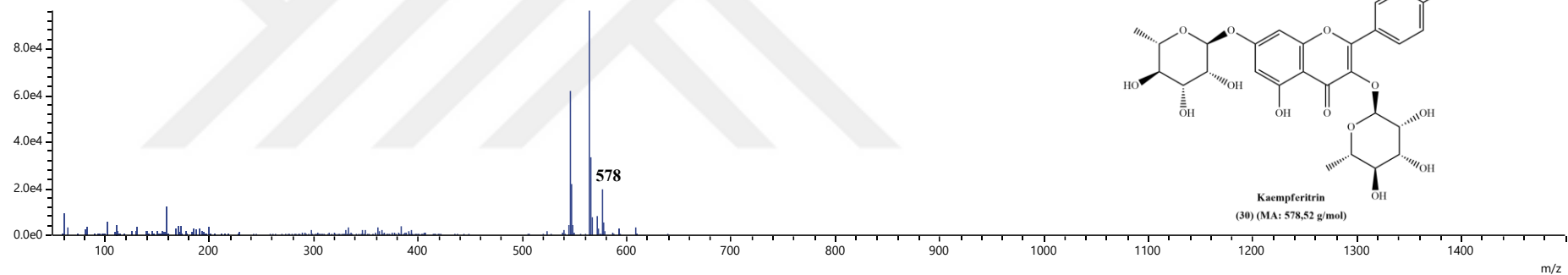
1:MS(+) RT:18.078



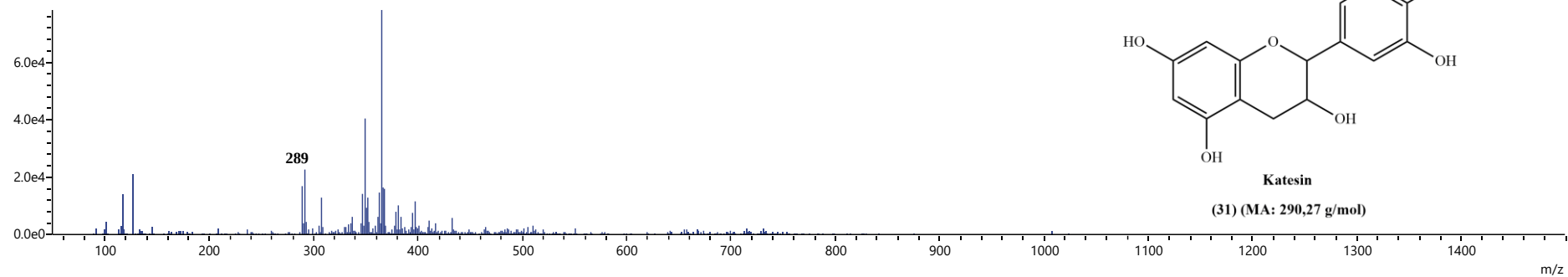
Amentoflapon
(29) (MA: 538,00 g/mol)

1.13e4

1:MS(+) RT:20.352

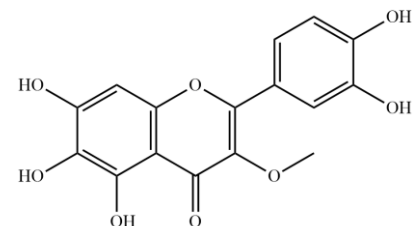
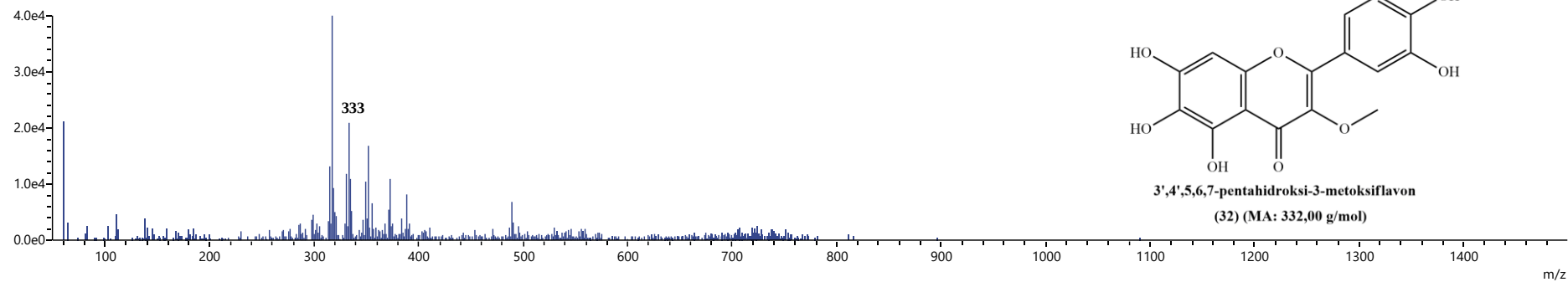


1:MS(-) RT:23.563





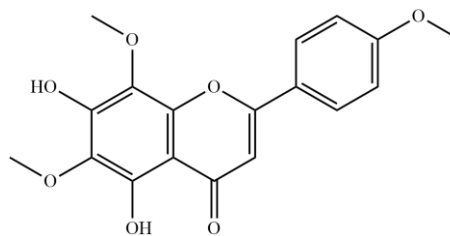
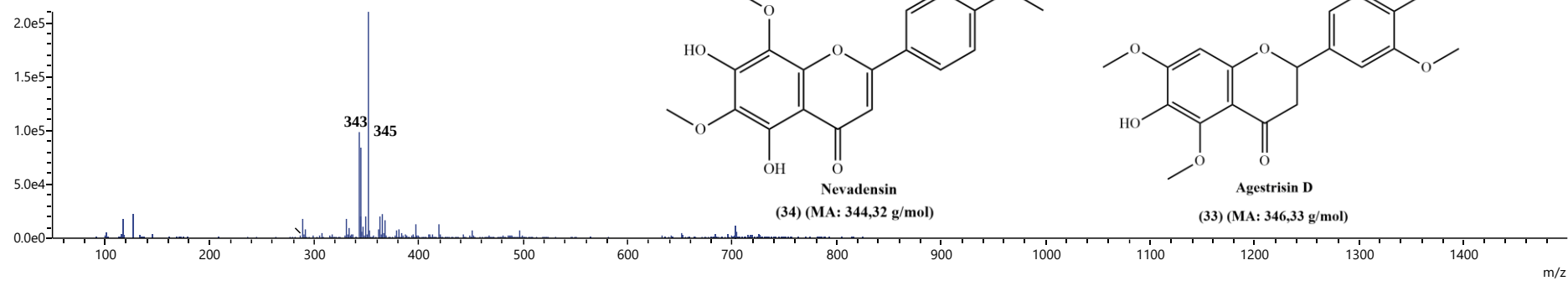
1:MS(+) RT:25.920



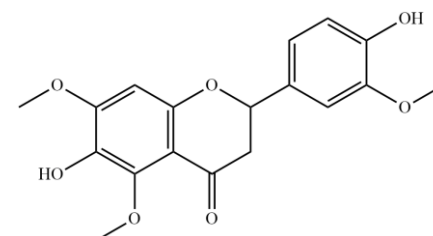
3',4',5,6,7-pentahidroksi-3-metoksiflavon
(32) (MA: 332,00 g/mol)

4.00e4

1:MS(-) RT:24.187



Nevadensin
(34) (MA: 344,32 g/mol)

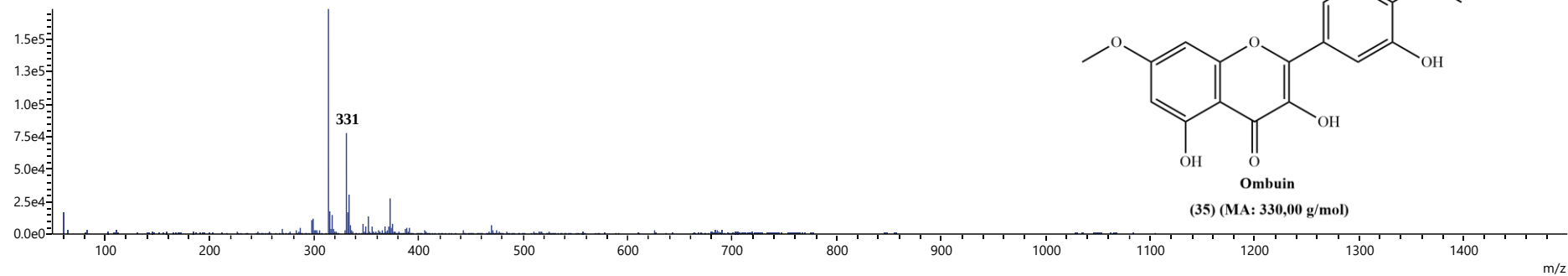


Agestrisin D
(33) (MA: 346,33 g/mol)

2.10e5

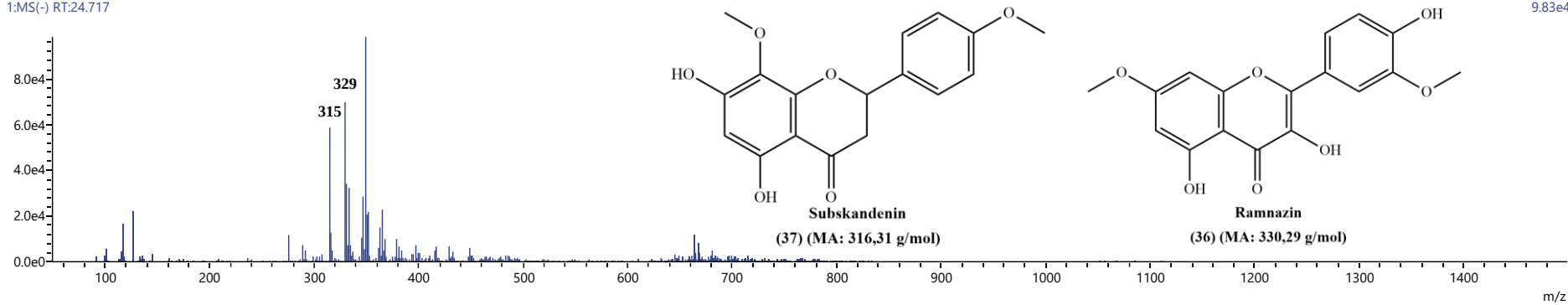


1:MS(+) RT:24.685

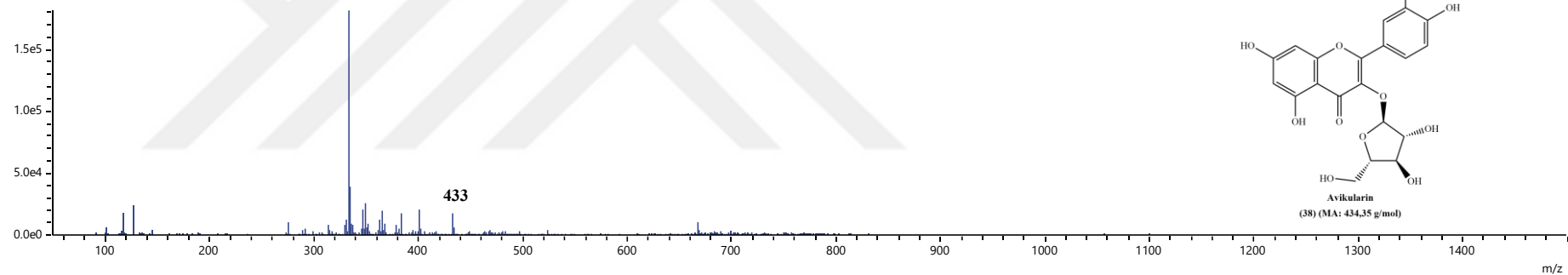


81

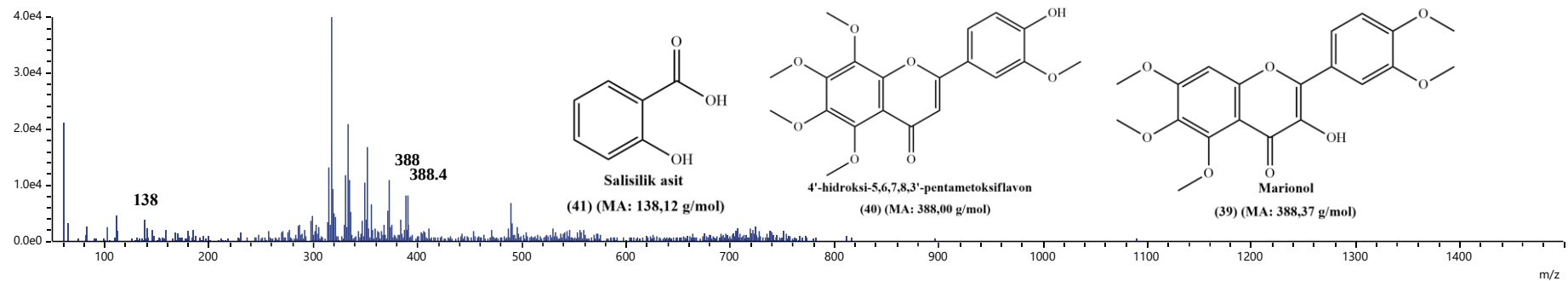
1:MS(-) RT:24.717



1:MS(-) RT:25.228

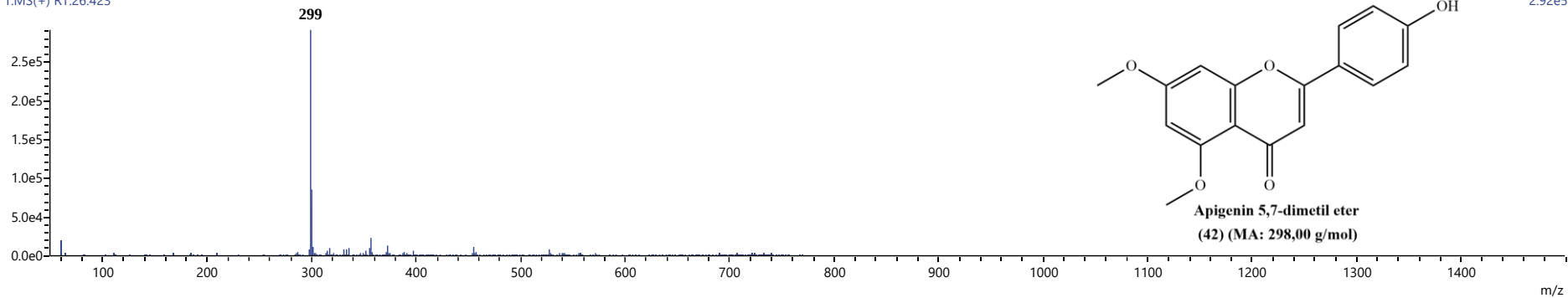


1:MS(+) RT:25.920



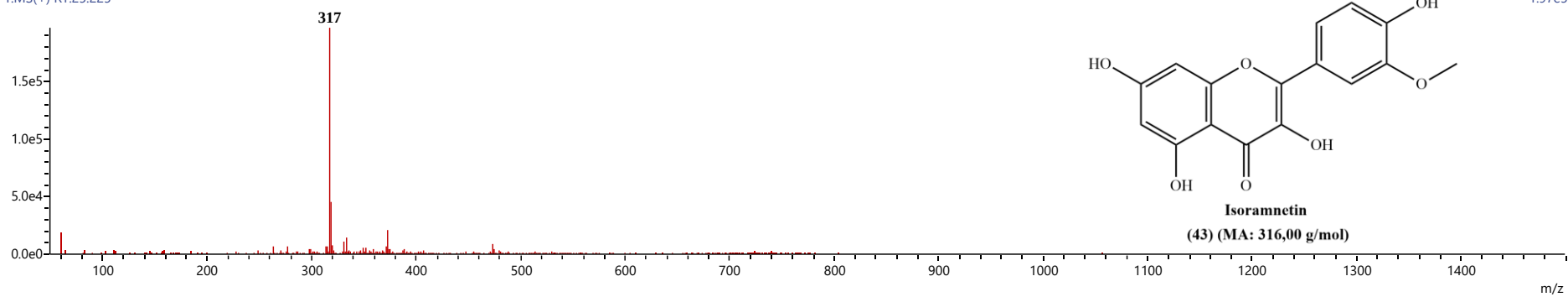


1:MS(+) RT:26.423



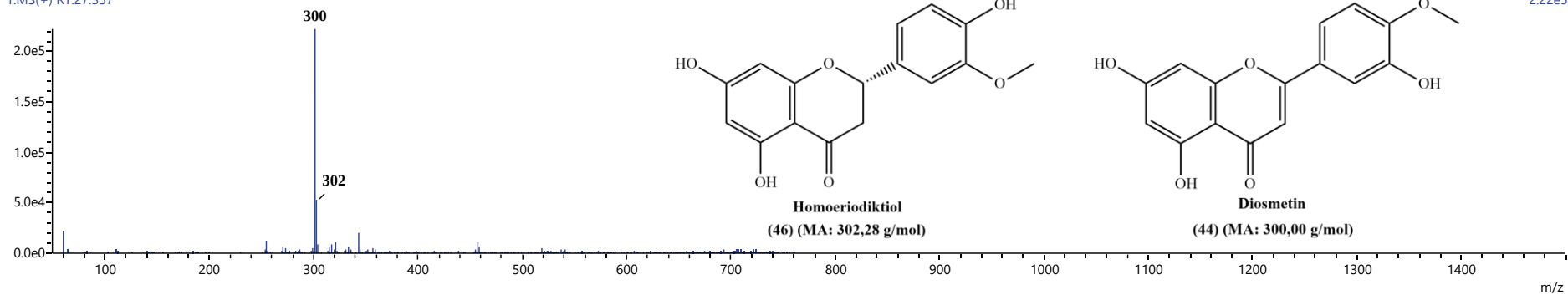
83

1:MS(+) RT:25.225



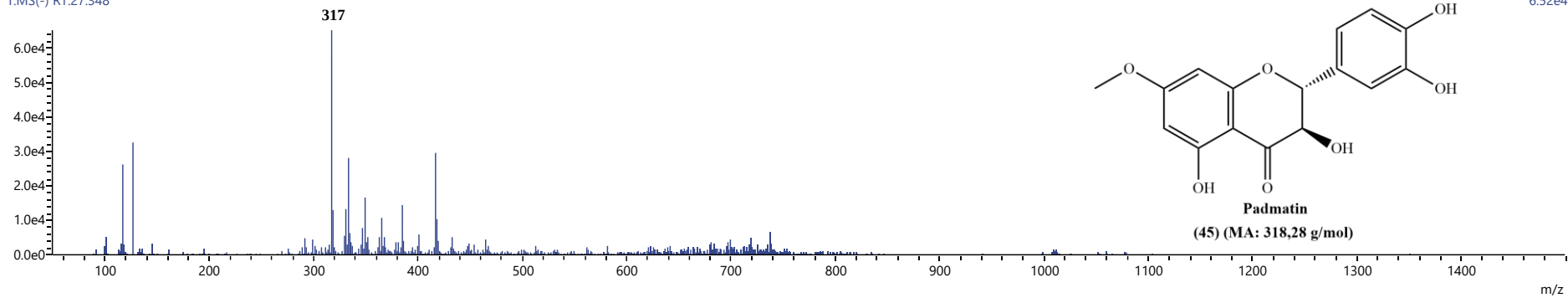


1:MS(+) RT:27.357



2.22e5

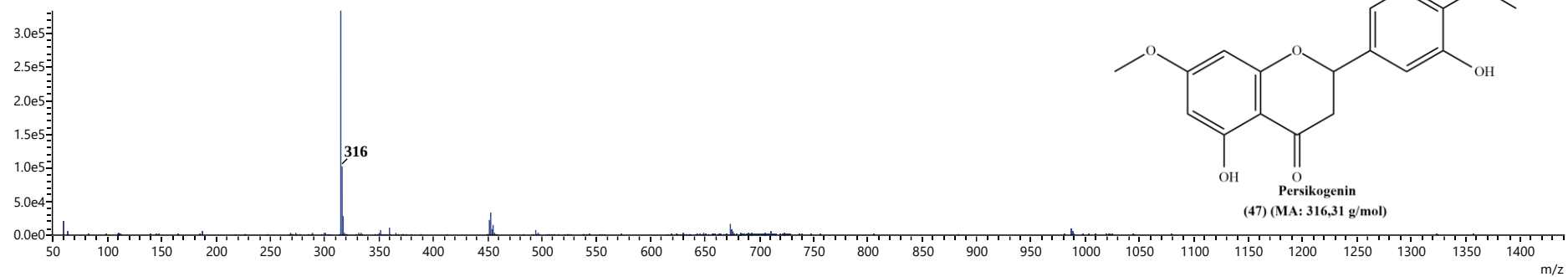
1:MS(-) RT:27.348



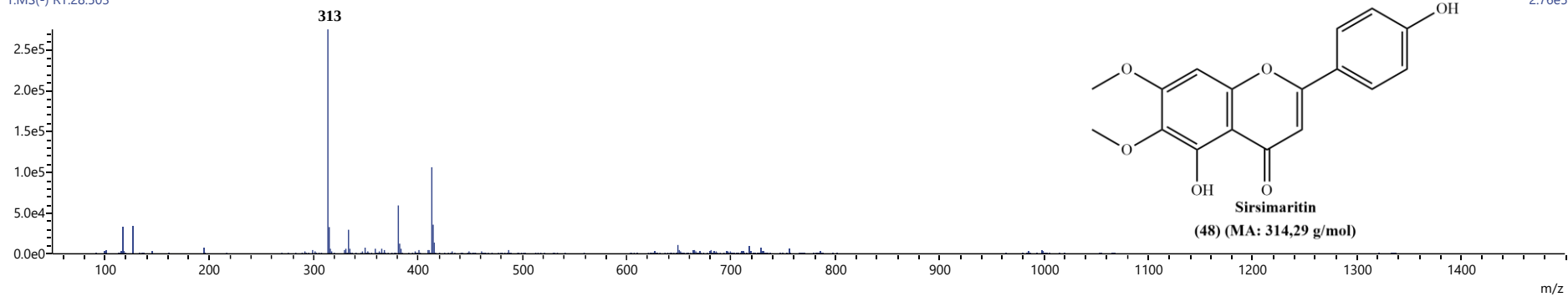
6.52e4



1:MS(+) RT:28.497

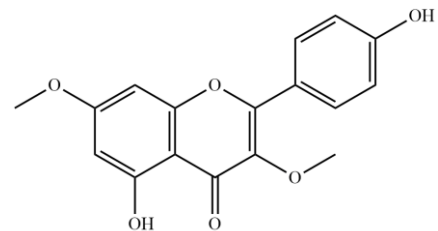
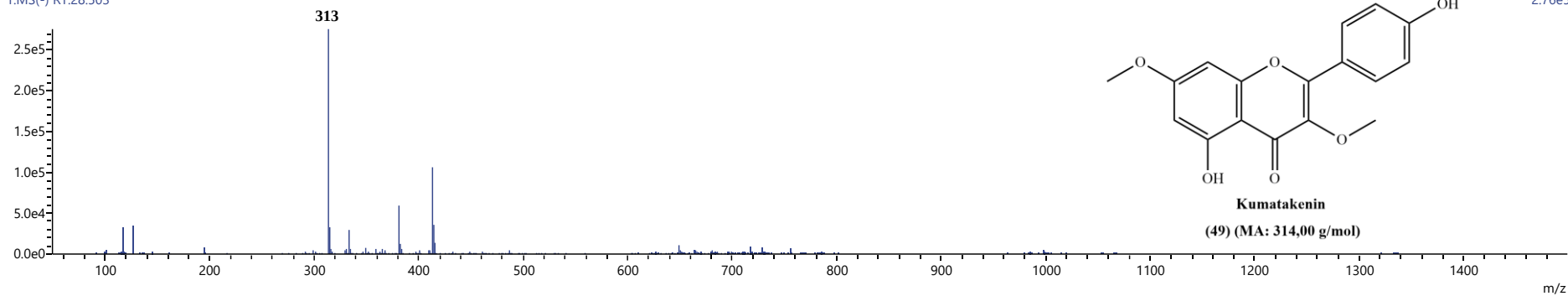


1:MS(-) RT:28.503



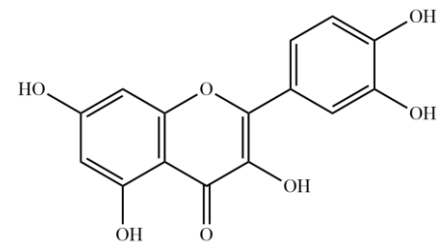
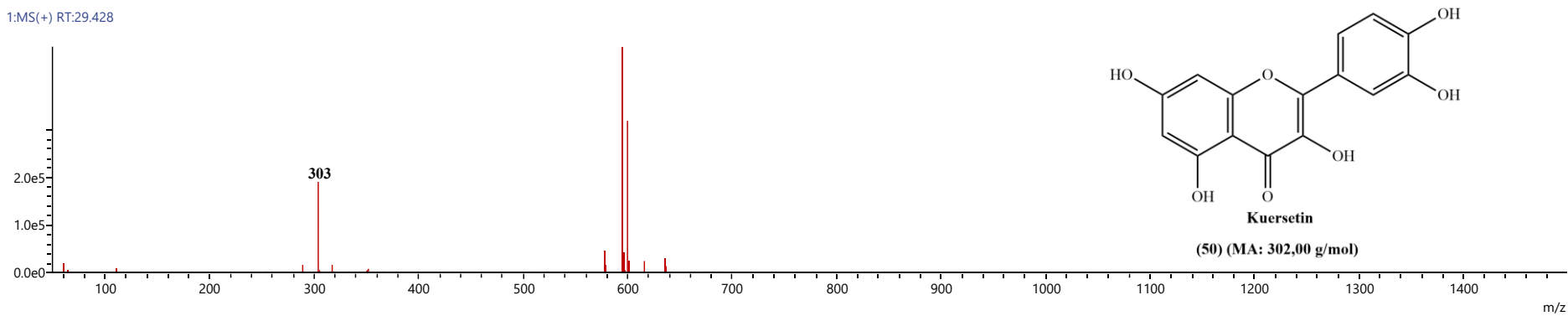


1:MS(-) RT:28.503

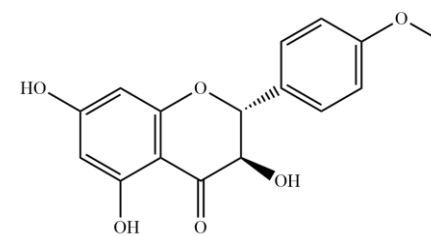
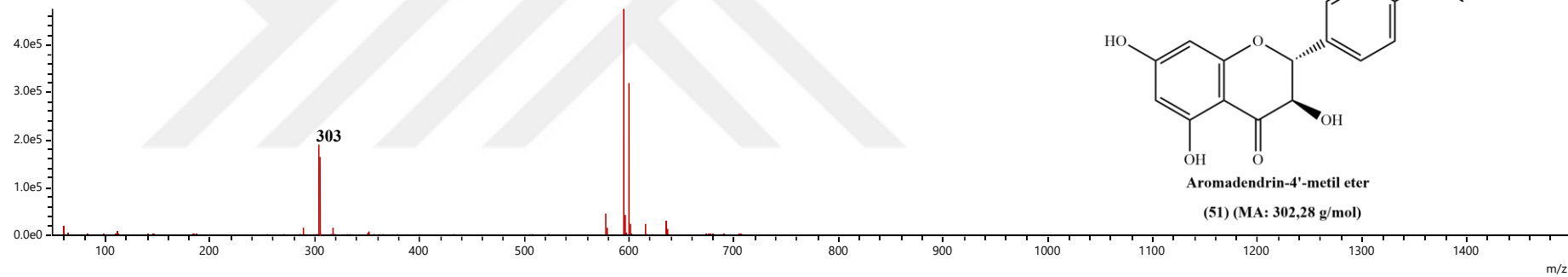


86

1:MS(+) RT:29.428



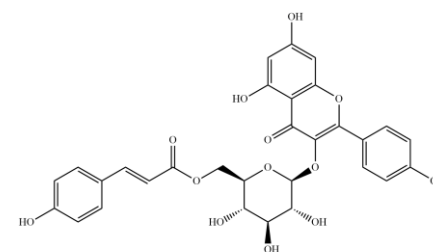
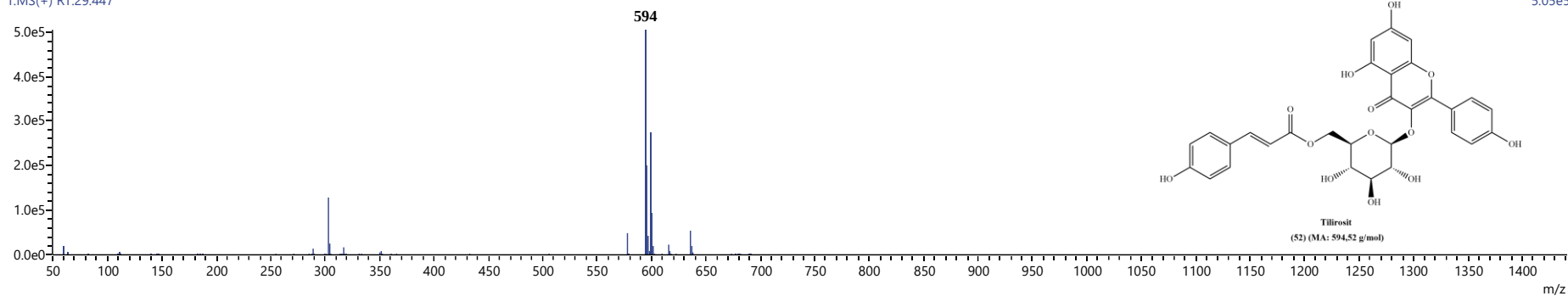
1:MS(+) RT:29.428



Aromadendrin-4'-metil eter
(51) (MA: 302,28 g/mol)

4.76e5

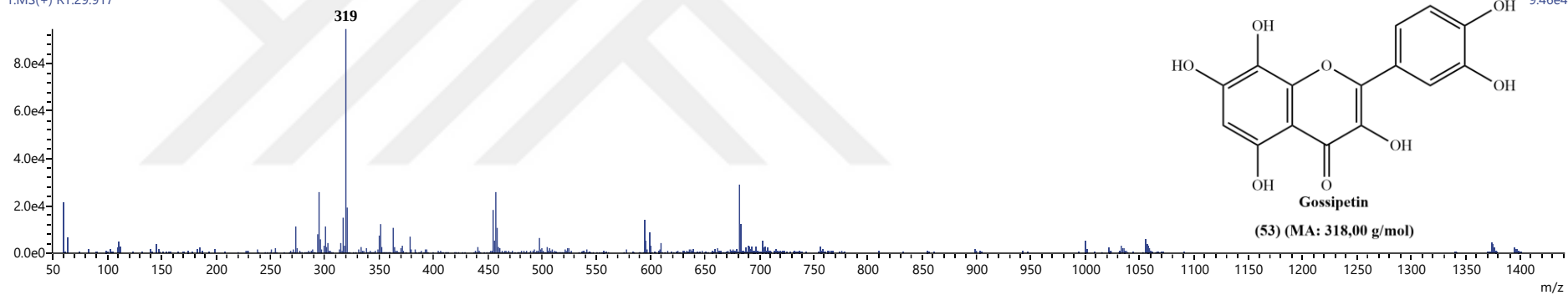
1:MS(+) RT:29.447



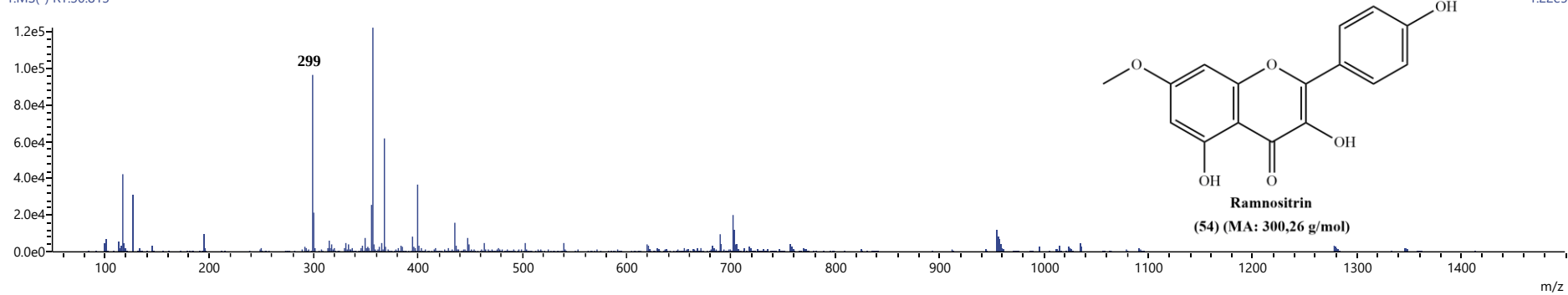
Tilliroside
(52) (MA: 594,52 g/mol)

5.05e5

1:MS(+) RT:29.917

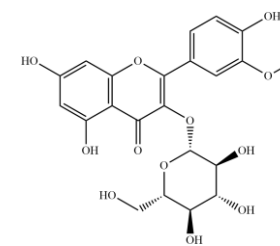
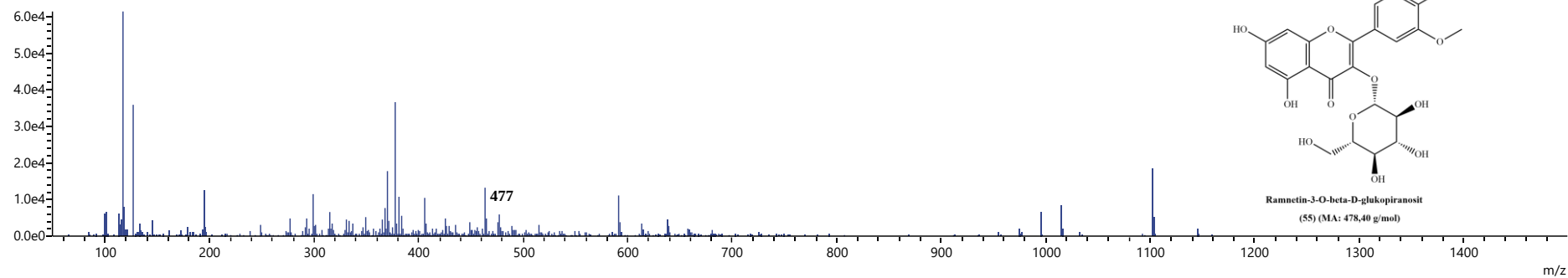


1:MS(-) RT:30.813





1:MS(-) RT:32.055



Ramnetin-3-O-beta-D-glukopiranosit
(5S) (MA: 478,40 g/mol)

6.13e4



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Haka Fajriana Febda Kurnia

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2020-2021 yılları arasında Hradec Kralove Üniversitesinde Erasmus öğrenci olarak okudu.
- 2021 yılında YTB Başarı Bursunu kazandı.
- 2021-2022 yılları arasında Hradec Kralove Üniversitesinde Erasmus bursuyla stajyer olarak çalıştı.

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- Yılmaz Keskin S., Avcı A. ve Kurnia H.F.F., (2022, 23-25, Kasım). Spectrofotometric Determination of Total Phenolics and Flavonoids in the Leaf and Flower Extracts of Spiraea japonica var. fortunei. 5th International Eurasian Congress on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Turkey.

D