

## ***Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) Uçucu Yağının Antibakteriyel Aktivitesi\***

Rüstem DUMAN<sup>1</sup>, Emine KURUOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Kampus/KONYA

<sup>2</sup> Ticaret Borsası İlköğretim Okulu Meram/KONYA

**Özet:** *Cyperus rotundus* L.' un yumru köklerinden su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın antibakteriyel aktivitesi, bazı Gram (+) bakterilere (*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus mutans* NCTC 10449 ve *Streptococcus salivarius* Pasteur Ens. 55126) ve Gram (-) bakterilere (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 5046, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028 ve *Salmonella enteritidis* ATCC 13076) karşı disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı. Antibakteriyel aktivite araştırma sonuçları, *Cyperus rotundus* L.' un uçucu yağının Gram (+) bakterilere özellikle *Staphylococcus aureus*' a karşı etkili olduğunu, fakat Gram (-) bakterilere karşı ise hiçbir antibakteriyel etkisinin olmadığını göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cyperus rotundus* L., uçucu yağ, antibakteriyel aktivite, disk difüzyon metodu

## **Antibacterial Activity of Essential Oil from *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae)**

**Abstract:** The antibacterial activity of the essential oil from the tubers of *Cyperus rotundus* L., obtained by water-distillation, was investigated by the disc diffusion method against some Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus mutans* NCTC 10449 and *Streptococcus salivarius* Pasteur Ens. 55126) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 5046, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028 and *Salmonella enteritidis* ATCC 13076). Results of the antibacterial screening revealed that the oil of *Cyperus rotundus* L. was active against Gram-positive bacteria specially *Staphylococcus aureus* but had no inhibitory activity against Gram-negative bacteria

**Key Words:** *Cyperus rotundus* L., essential oil, antibacterial activity, disc diffusion method

\* Bu makale yüksek lisans tezinin bir bölümüdür.

<sup>1</sup> E-mail: rduman@selcuk.edu.tr

## Giriş

Cyperaceae familyasından kozmopolit bir bataklık otu olan *Cyperus rotundus* L., 2002 yılının Temmuz ayında İçel ilinin Mut ilçesine bağlı Suçatı köyünden ve Göksu' nun kıyı kesimlerinden toplandı. Doğal olarak tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde yetişen bu bitki, ülkemizin kıyı kesimlerindeki sulak yerlerde (Samsun, Antalya, İçel, İzmir, Trabzon, Çanakkale ve Muğla) yaygın olarak bulunmaktadır [1].

Yumru köklerinin dismenore ve adet düzensizliklerinin tedavisinde kullanıldığı *Cyperus rotundus* L., bilinen en eski tıbbi bitkilerden birisidir. Analjezik, sedatif, antispazmodik ve diyare hafifletici olarak da kullanılmaktadır [2]. *Cyperus rotundus* Hindistan, Çin ve Japonya' da spazma, mide rahatsızlıklarına ve enflamatuvar hastalıklara karşı geleneksel ilaç olarak kullanılmaktadır [3].

Bu bitki, ülkemizde halk arasında "Gece Biten" ve "Topalak" olarak adlandırılmakta ve yumru kökleri değişik terapötik amaçlarla (idrara artırıcı, kuvvet verici, adet söktürücü, kurt düşürücü, kabız-gaz giderici, vs.) kullanılmaktadır [4].

Yapılan fitokimyasal bir araştırma [5], bu tıbbi bitkinin başlıca kimyasal bileşenlerinin uçucu yağ, flavonoidler, sesquiterpenler ve kardiyak glikozitler olduğunu göstermiştir. *Cyperus rotundus* L.' un yumru köklerinden elde edilen uçucu yağ, Gaz Kromatograf (GC) ve Gaz Kromatograf/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile analiz edilmiş ve uçucu yağın bazı Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı aktiviteleri değerlendirilmiştir [6]. Araştırmacılar, uçucu yağın başta sesquiterpen hidrokarbonlar (% 66.5) olmak üzere, monoterpen hidrokarbonlar (% 5.3), oksijen içeren monoterpenler (% 0.3) ve oksijen içeren sesquiterpenler (% 26.5) gibi bileşiklerden oluştuğunu ortaya koyarak, yağın Gram (+) bakterilere özellikle *Staphylococcus aureus*' a karşı Gram (-) bakterilerden daha önemli antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar, Tunus' ta yetişen *Cyperus rotundus*' un yağ bileşiminin diğer ülkelerde yetişen *Cyperus rotundus* L. yağ bileşiminden [7] farklı olduğunu tespit ederek, bitkinin farklı kemotiplerinin mevcut olabileceğini bildirmişlerdir. *Cyperus rotundus* L.' un yumru köklerindeki bir uçucu yağın antibiyotik aktivitesine sahip olduğu ve *Micrococcus pyrogenes*' in üremesini önlediği bildirilmiştir [8]. Bitkinin yumru köklerinden değişik çözümlerle hazırlanan ekstraktların de çeşitli test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [9, 10].

Yukardaki bilgilerin ışığı altında, Türkiye' de yetişen ve fitokimyasal özellikleriyle ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanılmayan *Cyperus rotundus* L. bitkisinin diğer ülkelerde yetişen *C. rotundus* türlerinden farklı bir kemotip olabileceği düşünülerek, bitkinin yumru köklerinden izole edilen uçucu yağının muhtelif Gram (+) ve Gram (-) bakteri şuşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Böylelikle, ülkemizde doğal olarak yetişen bu bitkinin antibakteriyel özelliklerini tespit etmek ve enfeksiyöz hastalıklarla mücadelede alternatif antimikrobiyal maddeleri geliştirme çabalarına az da olsa bir katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Bitki materyali

*Cyperus rotundus* L. bitkisi örnekleri 2002 yılının Temmuz ayında İçel ilinin Mut ilçesine bağlı Suçatı köyünden ve Göksu' nun kıyı kesimlerinden toplandı. Toplanan numunelerin identifikasyonu, Flora of Turkey and the East Aegean Islands' ın [1] yardımı ile Dr. Kuddusi Ertuğrul (Selçuk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya-Türkiye) tarafından yapıldı. Numunelerin toplanmasından sonra, yumru kökler çeşme suyuyla yıkanıp gölgede kurutulduktan sonra ince bir toz halinde homojenize edildi ve işleme tabi tutuluncaya kadar hava geçirilmeyen şişelerde muhafaza edildi.

### Uçucu yağın izolasyonu

Uçucu yağ (0.5 ml), Clevenger cihazı kullanılarak 126 g tozun 500 ml distile su içinde 3 saat süreyle hidrodistilasyonu ile elde edildi. Elde edilen uçucu yağ, renkli bir şişeye konulup ağzı sıkıca kapatıldı ve teste tabi tutuluncaya kadar +4°C' de buzdolabında saklandı [11, 12].

### Bakteriyel şuşlar

Bu çalışmada kullanılan bakteriyel şuşların bir kısmı (*Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076) Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan, bir kısmı da (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Streptococcus salivarius* Pasteur Ens. 55126, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538,

*Escherichia coli* ATCC 29998, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 5046) Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bakteriyojoloji Ana Bilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

#### Antibakteriyel test

Uçucu yağın antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesinde disk difüzyon metodu kullanılmıştır [13, 14]. Bu metoda göre, ticari olarak elde edilen 6 mm çapındaki steril boş antibiyotik disklerine (Oxoid, Schleicher & Shüll No: 2668, Germany) steril Tween 20 (Merck) ile 1/8 oranında sulandırılan uçucu yağdan 20' şer µl emdirilmiştir. Buna ilaveten, yine ticari olarak elde edilen Safadroksil (CFR 30). (30 µg/disk, Oxoid) antibiyotik diskleri de kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Uçucu yağın antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesinde besiyeri olarak Mueller Hinton Agar (Oxoid), deneylerde kullanılacak olan bakteri kültürlerini aktive etmek için ise Brain Heart Infusion Broth (Oxoid) kullanılmıştır. Stok kültürlerden alınan bakteri suşları ayrı ayrı 4-5 ml Brain Heart Infusion Broth (Oxoid)' a pasajlanarak 35°C' de 24 saat süreyle etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland standart tüpüne göre steril serum fizyolojik ile ayar edildikten sonra 20' şer ml besiyeri (Mueller Hinton Agar) içeren 12 cm çapındaki petri kutularına 0.2' şer ml dağıtılmıştır. Daha sonra 5-15 dk süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılan petri plaklarının içerisine aseptik olarak 20 µl uçucu yağ emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. Bakteri aşılama plaklar 35°C' de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilmiştir. İnhibisyon zonlarının çapları ölçülürken disklerin çapı da ölçüme dahil edilmiş ve deneyler 3 kez tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Sonuçta her bir uçucu yağ ve mukayese antibiyotikine ait inhibisyon zonlarının ortalaması dikkate alınmıştır.

#### Sonuç ve Tartışma

*Cyperus rotundus* L.' un yumru köklerinden su distilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağın bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteri suşlarına karşı disk difüzyon yöntemiyle ortaya konulan antibakteriyel aktivite araştırma sonuçları, uçucu yağın başta *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (15 mm inhibisyon zonu) olmak üzere, diğer Gram (+) bakteri suşlarına karşı mukayese antibiyotik CFR 30' a göre değişik derecelerde [ *Streptococcus mutans* NCTC 10449 (11 mm inhibisyon zonu), *Sarcina lutea* ATCC 9341 ve *Bacillus cereus* NCTC 11778 (10' ar mm inhibisyon zonu), *Streptococcus salivarius* Pasteur Ens. 55126 (9 mm inhibisyon zonu) ] antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu, fakat testte kullanılan Gram (-) bakteri suşlarına karşı hiçbir antibakteriyel etkisinin olmadığını göstermiştir (Tablo 1).

Kilani ve ark. [6], Tunus' ta yetişen *Cyperus rotundus*' un yumru köklerinden buhar distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağın Gaz Kromatograf (GC) ve Gaz Kromatograf/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile analiz ederek bileşenlerini belirlemişler ve uçucu yağın farklı bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkilerini mikrodilüsyon agar tekniği ile ölçmüşlerdir. Yapılan bu ölçüm sonucunda; uçucu yağın Gram (+) bakterilere karşı dikkate değer bir antibakteriyel aktivite gösterdiği [ *Staphylococcus aureus* (MIC değeri 0.009 mg/ml) ve *Enterococcus faecalis* (MIC değeri 0.039 mg/ml)], fakat Gram (-) bakterilerden sadece 2.5 mg/ml MIC değeriyle *Salmonella typhimurium*' a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği, *Escherichia coli* ve *Salmonella enteritidis*' e karşı ise hiçbir antibakteriyel aktivite göstermediği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada da benzer şekilde en yüksek antibakteriyel aktivite (disk difüzyon metodu ile) Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı (15 mm inhibisyon zonu, Tablo 1) gözlenmiş, bunu sırayla yine diğer Gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite dereceleri [ *Streptococcus mutans* (11 mm inhibisyon zonu), *Sarcina lutea* ve *Bacillus cereus* (10' ar mm' lik inhibisyon zonları ve *Streptococcus salivarius* (9 mm inhibisyon zonu), Tablo 1] izlemiştir. Gram (-) bakterilerin ise hiçbirine karşı antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir. Gram (-) bakterilere karşı genelde antibakteriyel aktivite gözlenmemesinin nedenini Janssen ve ark. [15], Gram (-) bakterilerin muhtemelen hücre duvarlarındaki lipopolisakaritler yüzünden Gram (+) bakterilere göre yağa karşı daha dirençli olmasına bağlamışlardır.

Parekh ve Chanda [10], *Launaea procumbens* Roxb. (*Labiatae*), *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*) ve *Cyperus rotundus* L. (*Cyperaceae*)' un sulu ve etanol ekstraktlarının antibakteriyel

Tablo 1. *Cyperus rotundus* L.' un uçucu yağının disk difüzyon metoduyla antibakteriyel aktivitesi

Bakteriyel suşlar	İnhibisyon zonları (mm)*	
	Uçucu yağ	Mukayese antibiyotiği Şefadroksil (30µg/disk)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	15	25
<i>Streptococcus mutans</i> NCTC 10449	11	23
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	10	44
<i>Bacillus cereus</i> NCTC 11778	10	30
<i>Streptococcus salivarius</i> Pasteur Ens. 55126	9	27
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 14028	-	13
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	-	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 5046	-	17
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29998	-	13

\*Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her bir disk 6 mm çapında olup, 20 µl uçucu yağ emdirilmiştir. Değerler, üç deneyin ortalamasıdır. (-) : İnhibisyon görülmedi

aktivitelerini klinik olarak önemli bazı bakteri suşlarına karşı araştırmışlardır. Araştırma sonucunda; ekstrelerin Gram (-) bakteri suşlarına oranla Gram (+) bakteri suşlarına karşı daha duyarlı olduğunu ve *Cyperus rotundus*' un etanol ekstraktlarının Gram (-) bakterilere karşı daha az derecelerde olmak üzere geniş spektrumlu bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine yapılan bir başka araştırmada [9], *Cyperus rotundus*' dan farklı çözümlerle hazırlanan ekstraktların geniş spektrumlu bir antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu araştırmada ise; uçucu yağın sadece Gram (+) bakteri suşlarına karşı değişik derecelerde antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Kilani ve ark. [6], *Cyperus rotundus*' un yumru kökleri içinde bulunan antimikrobiyal aktiviteden sorumlu değişken yağ bileşiklerinin (terpenoidler) yapılarının bitki kökenine göre farklı olduğunu, değişik orijinli *Cyperus rotundus* türlerinde farklı sonuçlar alınabileceğini bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlar bunu doğrular niteliktedir.

Sivripoulou ve ark. [16], aynı cinsine ait bakteri türlerinde uçucu yağın etkisinin farklı olduğunu belirtmişlerdir. Bu savı destekleyecek nitelikte, yapılan bu çalışmada da *Cyperus rotundus*' un uçucu yağının *Streptococcus* cinsine ait *Streptococcus mutans* NCTC 10449 bakteri türüne karşı 11 mm' lik ve *Streptococcus salivarius* Pasteur Ens. 55126 bakteri türüne karşı ise 9 mm' lik bir inhibisyon zonu elde edilmiştir (Tablo 1).

Araştırma sonuçlarımız, *Cyperus rotundus*' un uçucu yağında özellikle Gram (+) bakterilere karşı etkili bileşiklerin varlığını ortaya koymaktadır. Ülkemizde yetişen bu tıbbi bitkinin bir an önce uçucu yağının kimyasal kompozisyon analizinin yapılarak aktif bileşiklerin ortaya konulmasıyla, enfeksiyöz hastalıklarla mücadelede yeni ve değişik antimikrobiyal aktiviteli bileşikler elde etme çabalarına az da olsa bir katkıda bulunacağını ümit etmekteyiz.

## Kaynaklar

1. Davis, P. H. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 1. Edinburgh at the University Press, Edinburgh, (1965).
2. Bhattarai, N. K. *Folk herbal remedies for diarrhoea and dysentery in central Nepal*. *Fitoterapia*, 64, 243-250, (1993).
3. Dassanayake, M., Fosberg, F. R. *A revised handbook of the Flora of Ceylon*, part V. A. A. Balkema, Rotterdam, 1985).
4. Baytop, T. *Türkiye' de bitkiler ile tedavi*. İst. Üniv. Ecz. Fak. Yayın., İstanbul, (1984).

5. Zhu, M., Luk, H. H., Fung, H. S. and Luk, C. T. **Cytoprotective effects of *Cyperus rotundus* against ethanol induced gastric ulceration in rats.** *Phytother. Res.*, 11, 392-394, (1997).
6. Kilani, S., Abdelwahed, A., Ammar, R. B., Hayder, N. and Ghedira, K. **Chemical composition, antibacterial and antimutagenic activities of essential oil from (Tunisian) *Cyperus rotundus*.** *J. Essent. Oil Res.*, 17, 695-700, (2005).
7. Sonwa, M. M., König, W. A. **Chemical study of the essential oil of *Cyperus rotundus*.** *Phytochemistry*, 58, 799-810, (2001).
8. Chopra, R. N., Nayar, S. L., Chopra, I. C. **Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement).** Council of Scientific and Industrial Research, CSIR Publications, New Delhi, (1986).
9. Puratchikody, A., Jaswanth, A., Nagalakshmi, A., Anagumeenal, P. K. and Ruckmani, K. **Antibacterial activity of *Cyperus rotundus* Linn.** *Ind. J. Pharm. Sciences*, 326-327, (2001).
10. Parekh, J. and Chanda, S. **In-vitro antimicrobial activities of extracts of *Launaea procumbens* Roxb. (Labiatae), *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) and *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae).** *Afr. J. Biomed. Res.*, 9, 89-93, 2006).
11. Guenther, E. **The production of essential oils: Methods of distillation enfleurage, maceration and extraction with volatile solvents.** In: Guenther E (ed.) *The essential oils. History-origin in plants. Production analysis.* Kriger Publ. Co., Malabar, 1, 85-188, (1972).
12. Baytop, T. **Farmakognozi Ders Kitabı**, cilt II, İst. Üniv. Yay. No.2003, İstanbul, (1983).
13. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turck, M. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method.** *Am. J. Clin. Pathol.*, 45, 493-496, (1966).
14. Finegold, S., Martin, W. J., Scott, E. G. **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology (II. eds.).** The C. V. Mosby Company, Saint Louis, (2002).
15. Outtara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. D., and Bégin, A. **Antimicrobial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms.** *Int. J. Food. Microbiol.*, 37, 155-162, (1997).
16. Sivripoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lamas, T. and Arsenakis, M. **Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oils.** *J. Agric. and Food. Chem.*, 45, 3197-3201, (1997).

