



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN JERUK SAMBAL (*Citrus x hystrix*) TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Yurisa dan Muhamad Agus Wibowo*

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat, Indonesia
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*Corresponding author: m.agus.wibowo@chemistry.untan.ac.id

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 July 2019

Accepted

30 July 2019

Available online

30 July 2019

Keywords:

Escherichia coli,
essential oils, Jeruk
Sambal leaf,
Staphylococcus aureus.

ABSTRACT

Essential oils of Jeruk Sambal leaves (*Citrus x hystrix*) have as antibacterial agents. This study aims to determine the antibacterial activity of dried Jeruk Sambal leaves originating from Sungai Kakap area against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Stages in this study were divided into two stages (1) isolation of volatile oil by steam distillation, (2) test the antibacterial activity by pitting diffusion method. Essential oil yield of 0.22% was obtained. The results of GC-MS analysis showed that the essential oil of Jeruk Sambal leaves dried has 4 main compounds, namely elemol (26.27%), β -eudesmol (14.47%), 2- β -pinene (13.84%) and linalool (7.77%). The test results showed that the antibacterial activity of essential oils of Jeruk Sambal leaves was more active in inhibiting the growth of *S. aureus* than *E. coli* bacteria.

© 2019 IJoPAC. All rights reserved

1. Pendahuluan

Tanaman jeruk merupakan tumbuhan yang ditemukan dengan berbagai genus dan spesies di dunia. Genus *Citrus* merupakan yang paling banyak dibudidayakan^[1]. Beberapa penelitian telah dilakukan menggunakan jeruk sambal dari jenis *Citrus microcarpa* Bunge sebagai penghasil minyak atsiri. Oleh karena itu, dalam penelitian ini menggunakan jeruk sambal jenis *Citrus x hystrix* yang merupakan hasil persilangan antara jeruk purut (*Citrus hystrix*) dengan jeruk lainnya di daerah Sungai Kakap, sesuai hasil determinasi di Laboratorium Biologi FMIPA Untan. Jeruk sambal merupakan salah satu jenis jeruk yang banyak terdapat di Kalimantan Barat dan dapat menghasilkan minyak atsiri baik dari daun maupun kulit buahnya^{[2][3][4]}.

Minyak atsiri yang berasal dari tanaman jeruk dapat diisolasi dengan berbagai metode, salah satunya yaitu distilasi uap. Rendemen minyak atsiri dari daun jeruk sambal (*C. microcarpa* Bunge) segar yang diisolasi dengan metode distilasi uap diperoleh sebesar 0,189% (b/b)^[5]. Novitasari dkk. (2014) memperoleh rendemen minyak atsiri daun jeruk sambal (*C. microcarpa* Bunge) dengan kondisi dan metode yang sama sebesar 0,3594% (b/b)^[3]. Selain metode isolasi, perlakuan pengeringan juga dapat memengaruhi rendemen minyak atsiri jeruk. Menurut Muhtadin dkk. (2013) pengeringan selama 24 jam pada suhu 40°C dapat meningkatkan rendemen minyak atsiri kulit buah jeruk sambal

(*C. amblycarpa* (Hassk) Ochse) secara maksimal dibandingkan pengeringan selama 12 jam atau tidak dikeringkan sama sekali^[6].

Beberapa penelitian telah dilakukan mengenai aktivitas antibakteri minyak atsiri jeruk dari beberapa spesies. Penelitian Mulyani dkk. (2009) menyatakan minyak atsiri daun jeruk limau (*C. amblycarpa* (Hassk.) mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan minyak atsiri kulit buahnya^[7]. Minyak atsiri daun jeruk sambal (*C. microcarpa* Bunge) dinyatakan lebih efektif sebagai antiinfeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* dibandingkan dengan minyak atsiri yang berasal dari kulit buahnya^[8]. Minyak atsiri jeruk purut juga mempunyai aktivitas antibakteri, terutama terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut terhadap *E. coli* memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) $\leq 0,0625\%$, sedangkan terhadap *S. aureus* nilai KHM dan KBM minyak atsiri daun jeruk purut sebesar 1 dan 2%^[9].

Jeruk sambal spesies *Citrus x hystryx* merupakan hasil persilangan dari jeruk purut dengan jeruk spesies lainnya di daerah Sungai Kakap, Kalimantan Barat. Perbedaan spesies, lokasi pengambilan sampel, serta proses preparasi sampel dapat memengaruhi komponen dan rendemen minyak atsiri. Perlakuan pengeringan ketika preparasi dapat menyebabkan senyawa yang bersifat volatil menguap terlebih dahulu^{[6][10]}. Perbedaan komponen minyak atsiri dapat memengaruhi aktivitas minyak tersebut^[11]. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan proses isolasi dan pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal (*Citrus x hystrix*) yang berasal dari daerah Sungai Kakap.

2. Metode

2.1. Pengumpulan dan preparasi sampel

Sampel daun jeruk sambal diperoleh dari kebun jeruk sambal yang berada di daerah Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Untan dengan mengidentifikasi bagian batang, ranting, daun, bunga dan buah dari tanaman jeruk sambal yang akan digunakan. Sampel daun jeruk sambal yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang sudah tua. Preparasi sampel dilakukan dengan cara mengering-anginkan daun jeruk sambal segar selama 24 jam pada ruangan terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Daun jeruk sambal yang telah dikering-anginkan kemudian dipotong kecil-kecil hingga berukuran 1-3 cm. Sampel daun jeruk sambal siap diekstraksi dengan menggunakan teknik distilasi uap.

2.2. Penyulingan minyak atsiri dengan alat distilasi uap

Sebanyak 1,00 kg sampel daun jeruk yang telah dipreparasi dimasukkan ke dalam tabung sampel dan air dimasukkan ke dalam tabung pelarut. Alat distilasi kemudian dinyalakan dan dibiarkan selama 4 jam terhitung saat distilat dihasilkan. Distilat yang masih bercampur air kemudian dipisahkan menggunakan teknik ekstraksi cair-cair sehingga diperoleh minyak atsiri. Kemudian minyak atsiri tersebut ditambah Na_2SO_4 anhidrat secukupnya ($\pm 1 \text{ g}$). Persentase rendemen minyak atsiri dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{massa minyak (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

2.3. Penentuan bobot jenis

Penentuan bobot jenis dilakukan pada suhu kamar menggunakan piknometer volume 5 mL. Piknometer kosong yang telah dibersihkan dan dikeringkan kemudian ditimbang (a). Setelah ditimbang, piknometer tersebut kemudian diisi dengan akuades dan ditimbang kembali (b).

Piknometer yang sama dibersihkan dan dikeringkan kemudian diisi minyak atsiri dan ditimbang (c). Hasil penimbangan yang diperoleh dihitung dengan rumus:

$$\text{Bobot Jenis} = \frac{b - a}{c - a}$$

2.4. Uji aktivitas antibakteri

2.4.1. Preparasi kultur bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan yaitu *E. coli* dan *S. aureus*. Satu ose koloni bakteri *E. coli* diinokulasi ke dalam media Nutrient Broth (NB) (0,5% NaCl, 0,5% pepton dan 0,2% yeast) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 jam. Inkubasi dilakukan dengan pengocokan pada kecepatan 150 rpm. Prosedur yang sama dilakukan terhadap bakteri *S. aureus*.

2.4.2. Pengujian aktivitas antibakteri

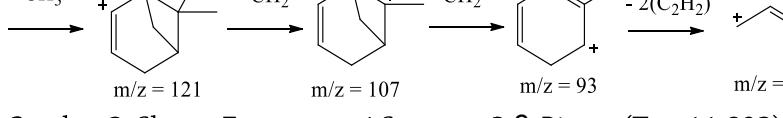
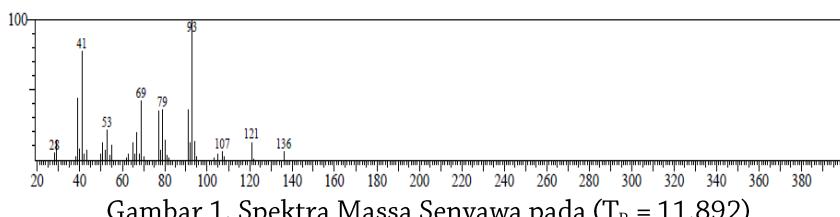
Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal ditentukan dengan menggunakan metode difusi sumuran dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Sebanyak 60 µL bakteri uji dicampur dengan 20 mL media Nutrient Agar (NA) (2% agar, 0,5% NaCl, 0,5% pepton dan 0,2% yeast), kemudian dituangkan ke dalam petri. Setelah padat, dibuat sumur (lubang) pada media dengan menggunakan alat pembuat sumur yang steril. Sebanyak 20 µL minyak atsiri daun jeruk sambal (50 µg/µL), DMSO (kontrol negatif), dan amoksisilin 1 µg/µL (kontrol positif) dimasukkan ke dalam sumur, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 jam. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong.

3. Hasil dan Diskusi

Hasil distilasi diperoleh minyak atsiri dengan rendemen 0,22% dan bobot jenis 0,92 g/cm³. Hasil analisis GC-MS menunjukkan minyak atsiri daun jeruk sambal kering memiliki 40 senyawa dengan 4 senyawa utama. Berikut senyawa utama minyak atsiri daun jeruk sambal (*Citrus x hystrix*).

Tabel 1. Senyawa Utama Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal (*Citrus x hystrix*)

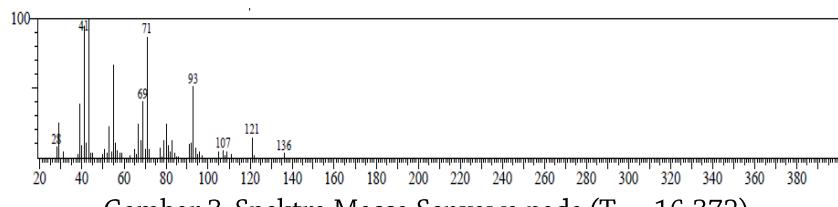
| Waktu Retensi (T _R) | Kemiripan (SI) | Senyawa | Area (%) |
|---------------------------------|----------------|--------------------|----------|
| 11.892 | 96 | 2- β -Pinene | 13.84 |
| 16.372 | 95 | Linalool | 7.77 |
| 29.800 | 91 | Elemol | 26.27 |
| 32.517 | 88 | β -Eudesmol | 14.47 |



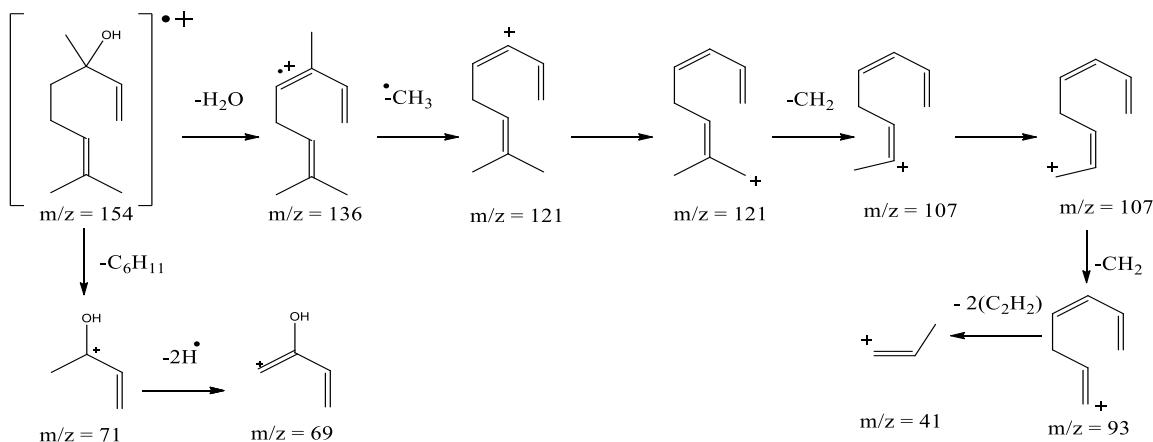
Gambar 2. Skema Fragmentasi Senyawa 2- β -Pinene (T_R = 11.892)

Senyawa pada T_R = 11.892 (Gambar 1) merupakan senyawa 2- β -Pinene (C₁₀H₁₆) dengan kemiripan 96% dan memiliki berat molekul (m/z = 136). Fragmentasi senyawa 2- β -Pinene ditunjukkan pada Gambar 2, di mana ketika ion molekul ditembak oleh elektron berenergi tinggi

maka gugus (-CH₃) radikal akan lepas kemudian membentuk puncak dengan m/z = 121 (C₉H₁₃). Fragmentasi terjadi lagi dengan melepas (-CH₂) membentuk fragmen dengan m/z = 107 (C₈H₁₁). Fragmen m/z = 107 terfragmentasi kembali dengan melepas (-CH₂) membentuk fragmen m/z = 93 (C₇H₉). Fragmen m/z = 93 melepas 2(-C₂H₂) membentuk fragmen m/z = 41 (C₃H₅) yang kemudian dapat terfragmentasi kembali dengan melepas (-CH₂) membentuk fragmen terakhir yaitu m/z = 27 (C₂H₃).

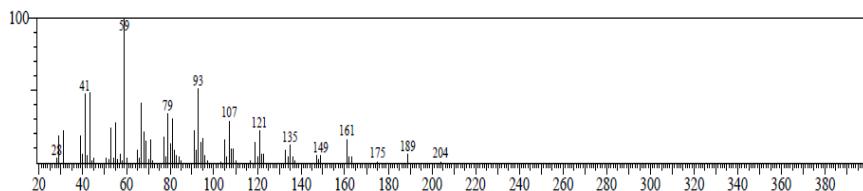


Gambar 3. Spektra Massa Senyawa pada ($T_R = 16.372$)

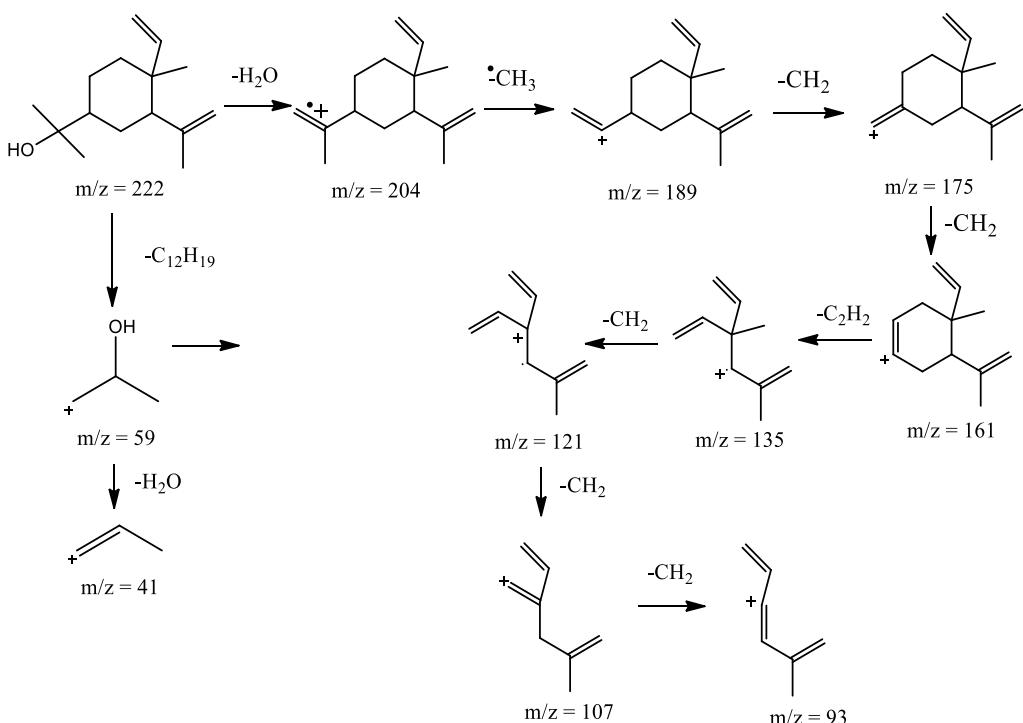


Gambar 4. Skema Fragmentasi Senyawa *Linalool* ($T_R = 16.372$)

Senyawa pada $T_R = 16.372$ (Gambar 3) memiliki m/z = 154 merupakan senyawa *Linalool* (C₁₀H₁₈O) dengan tingkat kemiripan sebesar 95%. Gambar 4 menunjukkan skema fragmentasi senyawa *Linalool* ($T_R = 16.372$). Senyawa *Linalool* ketika ditembak elektron berenergi tinggi akan terfragmentasi membentuk fragmen m/z = 136 (C₁₀H₁₆) dengan melepas (H₂O). Fragmen m/z = 136 terfragmentasi melepas (-CH₃) radikal membentuk fragmen dengan m/z = 121 (C₉H₁₃). Fragmen m/z = 121 akan terfragmentasi kembali membentuk fragmen m/z = 107 (C₈H₁₁) dengan melepas (-CH₂). Fragmen m/z = 107 terfragmentasi melepas (-CH₂) membentuk fragmen 93 (C₇H₉) yang kemudian melepas 2(-C₂H₂) membentuk fragmen m/z = 41 (C₃H₅). Senyawa *Linalool* juga dapat terfragmentasi melepas (-C₆H₁₁) membentuk fragmen m/z = 71 (C₄H₇O) yang mana fragmen ini akan terfragmentasi kembali membentuk fragmen m/z = 69 (C₄H₅O) dengan melepas (2H).

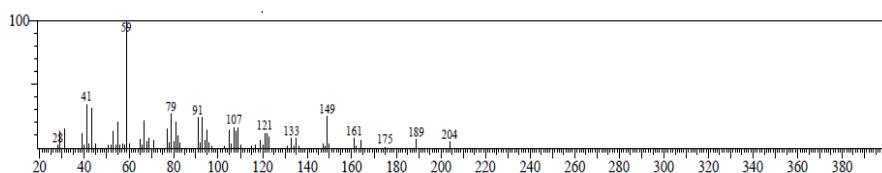


Gambar 5. Spektra Massa Senyawa pada ($T_R = 29.800$)

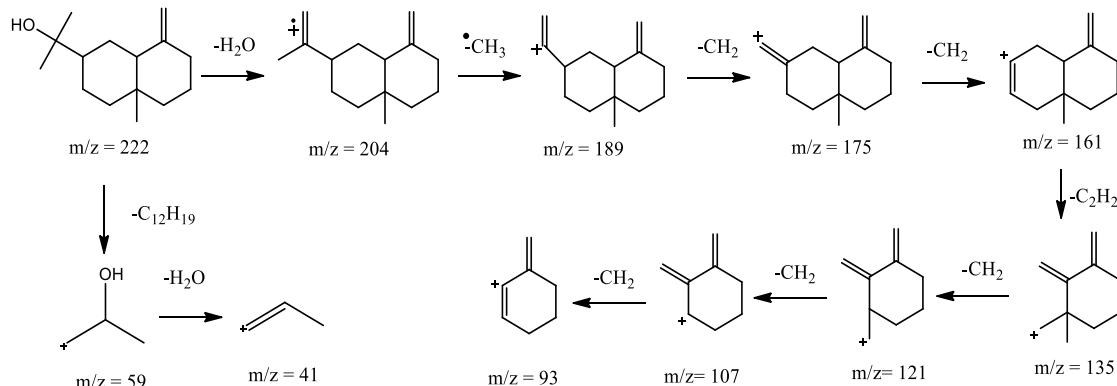


Gambar 6. Skema Fragmentasi Senyawa *Elemol* ($T_R = 29.800$)

Senyawa pada $T_R = 29.800$ (Gambar 5) memiliki $m/z = 222$ merupakan senyawa *Elemol* ($C_{15}\text{H}_{26}\text{O}$) dengan kemiripan 91%. Gambar 6 menunjukkan fragmentasi senyawa *Elemol* ($T_R = 29.800$) dengan melepas (H_2O) membentuk fragmen $m/z = 204$ ($C_{15}\text{H}_{24}$) yang kemudian terfragmentasi terus menerus membentuk beberapa fragmen lain. Fragmen $m/z = 204$ melepas ($\cdot\text{CH}_3$) radikal membentuk fragmen $m/z = 189$ ($C_{14}\text{H}_{21}$) yang melepas (CH_2) membentuk fragmen $m/z = 175$ ($C_{13}\text{H}_{19}$). Fragmen $m/z = 175$ akan melepas (CH_2) kembali membentuk fragmen $m/z = 161$ ($C_{12}\text{H}_{17}$) yang kemudian akan terfragmentasi melepas (C_2H_2) membentuk fragmen $m/z = 135$ ($C_{10}\text{H}_{15}$). Fragmentasi berikutnya yaitu melepas (CH_2) membentuk fragmen $m/z = 121$ ($C_9\text{H}_{13}$), $m/z = 107$ ($C_8\text{H}_{11}$), dan $m/z = 93$ ($C_7\text{H}_9$). Selain itu senyawa *Elemol* dapat juga membentuk fragmen $m/z = 59$ ($C_3\text{H}_7\text{O}$) dengan melepas ($\text{C}_{12}\text{H}_{19}$) yang kemudian akan melepas (H_2O) membentuk fragmen $m/z = 41$ ($C_3\text{H}_5$).



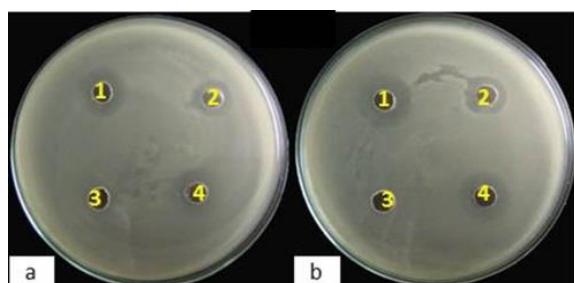
Gambar 7. Spektra Massa Senyawa pada ($T_R = 32.517$)



Gambar 8. Skema Fragmentasi Senyawa β -Eudesmol ($T_R = 32.517$)

Senyawa pada $T_R = 32.517$ (Gambar 7) memiliki $m/z = 222$ merupakan senyawa β -Eudesmol ($C_{15}H_{26}O$) dengan tingkat kemiripan sebesar 88%. Gambar 8 menunjukkan senyawa β -Eudesmol terfragmentasi membentuk fragmen $m/z = 204$ ($C_{15}H_{24}$) dengan melepas (H_2O). Fragmen dengan $m/z = 204$ terfragmentasi menjadi $m/z = 189$ ($C_{14}H_{21}$) dengan melepas ($-CH_3$) radikal. Fragmen $m/z = 189$ terfragmentasi dengan melepas ($-CH_2$) membentuk fragmen $m/z = 175$ ($C_{13}H_{19}$) dan fragmen $m/z = 161$ ($C_{12}H_{17}$). Fragmen $m/z = 161$ terfragmentasi melepas ($-C_2H_2$) membentuk fragmen dengan $m/z = 135$ ($C_{10}H_{15}$) yang kemudian terus melepas ($-CH_2$) membentuk fragmen $m/z = 121$ (C_9H_{13}), $m/z = 107$ (C_8H_{11}), dan $m/z = 93$ (C_7H_9). Fragmen lain dengan $m/z = 59$ (C_3H_7O) dapat terbentuk dari senyawa *Elemol* dengan melepas ($-C_{12}H_{19}$). Fragmen dengan $m/z = 59$ akan melepas ($-H_2O$) membentuk fragmen $m/z = 41$ (C_3H_5).

Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal terhadap *E. coli* dan *S. aureus* diketahui berdasarkan uji zona hambat melalui metode difusi sumuran (Gambar 9). Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan minyak atsiri daun jeruk sambal kering aktif menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2. Jenis aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal yaitu bakteriostatik, di mana minyak atsiri mampu menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 9. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal Kering terhadap a) *E. coli* dan b) *S. aureus*; 1) dan 4) minyak atsiri ($1000 \mu\text{g}/\text{sumur}$); 2) kontrol positif ($20 \mu\text{g}/\text{sumur}$); dan 3) kontrol negatif

Minyak atsiri daun jeruk sambal kering menunjukkan aktivitas terhadap kedua bakteri uji. Besarnya zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2. Senyawa utama minyak atsiri daun jeruk sambal diduga sebagai senyawa aktif yang menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Minyak atsiri yang mengandung senyawa *elemol*, β -eudesmol dan *germacrene D* telah diteliti mempunyai aktivitas terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*^{[12][13]}. Menurut Leite *et al.* (2007) senyawa β -pinene aktif menghambat pertumbuhan bakteri, terutama bakteri Gram (+)^[14]. Herman *et al.* (2015) menyatakan bahwa senyawa *linalool* dapat meningkatkan aktivitas antibakteri minyak atsiri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*^[15].

Tabel 2. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal (*Citrus x hystric*)

| Sampel Uji | Dosis ($\mu\text{g}/\text{sumur}$) | Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD | |
|--------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------|
| | | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| Daun Jeruk Sambal Kering | 1000 | $7,87 \pm 1,93$ | $9,88 \pm 0,67$ |
| Amoksisilin (kontrol +) | 20 | $6,52 \pm 0,13$ | $6,81 \pm 0,18$ |

Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal kering lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan terhadap bakteri *E. coli*. Hasil ini sama seperti hasil penelitian sebelumnya^[8] di mana minyak atsiri daun jeruk sambal (*C. microcarpa* Bunge) lebih aktif terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan terhadap *E. coli*. Selain itu, penelitian Mulyani dkk. (2009) juga menyatakan hal yang sama bahwa minyak atsiri daun jeruk limau (*C. amblycarpa* (Hassk) Ochse) lebih aktif membunuh dan menghambat bakteri *S. aureus* dibandingkan minyak atsiri yang berasal dari kulit buahnya. Hal

ini kemungkinan disebabkan karena dinding sel bakteri Gram (+) relatif lebih sederhana yaitu terdiri dari peptidoglikan dan asam teikoat, sementara dinding sel bakteri Gram (-) relatif lebih kompleks yaitu terdiri dari peptidoglikan, lipoprotein dan lipopolisakarida. Selain itu, kemungkinan juga disebabkan adanya senyawa terpena teroksigenasi seperti *linalool* yang dapat menyebabkan sel lisis lebih banyak, terutama terhadap bakteri Gram (+) karena tidak adanya lapisan lipopolisakarida^[7].

4. Simpulan

Minyak atsiri daun jeruk sambal mempunyai 4 senyawa utama, yaitu: *Elemol*, β -*Eudesmol*, 2- β -*Pinene* dan *Linalool*. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal (*Citrus x hystrix*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Ucapan Terima Kasih

YR mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, atas fasilitas yang telah disediakan, serta terima kasih kepada Dr. M. Agus Wibowo, M.Si yang telah membantu mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Naharsari. (2007). *Bercocok Tanam Jeruk*. Azka Mulia Media, Jakarta.
- [2] Wulandari M, Idiawati N, Gusrizal. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge). *JKK*, 2 (2), 90-94.
- [3] Novitasari, Jayuska A, Wibowo M.A. (2014). Bioaktivitas Anti Rayap Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) terhadap Rayap Tanah *Macrotermes* sp. *JKK*, 3 (1), 57-62.
- [4] Sihotang T.M. (2013). Isolasi Minyak Atsiri dari Kulit Buah Jeruk Kasturi (*Citrus Microcarpa* Bunge) Segar dan Kering serta Analisis Komponennya Secara GC-MS. *Skripsi*, USU, Medan.
- [5] Rahayu S, Desnita R, Sari R. (2015). Penggunaan Tween 80 Sebagai Surfaktan dalam Formulasi Mikroemulsi Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) dan Uji Aktivitas terhadap *Propionibacterium acne*. Naskah Publikasi, Untan, Pontianak.
- [6] Muhtadin A.F, Wijaya R, Prihatini P, Mahfud. (2013). Pengambilan Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Segar dan Kering dengan Menggunakan Metode *Steam Distillation*. *J. Tek. Pomits*, 2 (1), 2301-9271.
- [7] Mulyani S, Susilowati, Hutabarat M.M. (2009). Analisis GC-MS dan Daya Anti Bakteri Minyak Atsiri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse. *Majalah Farm. Indo*, 20 (3), 127-132.
- [8] Jamal Y, Praptiwi, Agusta A. (2000). Komponen Kimia dan Efek Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Buah dan Daun Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa* Bunge). *Majalah Farm. Indo*, 11 (2), 77-85.
- [9] Yuliani R, Peni I, Septi, S.R. (2011). Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacom*, 12 (2), 2303-2311.
- [10] Astuti E, Sunarminingsih R, Jenie U.A, Mubarika S, Sismindari. (2014). Pengaruh Lokasi Tumbuh, Umur Tanaman dan Variasi Jenis Destilasi Terhadap Komposisi Senyawa Minyak Atsiri Rimpang *Curcuma mangga* Produksi Beberapa Sentra di Yogyakarta. *J. Man dan Ling*, 21 (3), 323-330.
- [11] Jamaluddin N, Pulungan M.H, Warsito. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC. *J. Tek. dan Manaj. Agroindustri*, 6 (2), 61-66.

- [12] Belhamel K, Abderrahim A, Ludwig R. (2009). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Schinus molle* L. Growth in Algeria. *Acta Hort*, 826, 34-36.
- [13] Sitarek P, Rijo P, Garcia C, Skala E. (2017). Antibacterial, Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Antiproliferative Properties of Essential Oils from Hairy and Normal Roots of *Leonurus sibiricus* L. and Their Chemical Composition. *HINDAWI*, 2017, 1-2.
- [14] Leite E.M, Lima E.D.O, Souza E.L.D, Diniz M.D.F.F.M, Trajano V.N, Medeiros I.A.D. (2007). Inhibitory Effect of β -Pinene, α -Pinene and Eugenol On The Growth of Potential Infectious Endocarditis Causing Gram-Positive Bacteria, *RBCF*, 43 (1), 121-126.
- [15] Herman A, Tambor K, Herman A. (2015). Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils. *Springer*, 72 (2), 165-172.