

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIMIKROBA MINYAK JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) DAN KOMPONEN UTAMANYA

<sup>1</sup>Warsito, <sup>2</sup>Noorhamdani, <sup>3</sup>Sukardi, <sup>1</sup>Suratmo

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

<sup>3</sup>Program Studi Teknologi Agroindustri, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya

<sup>1,3</sup>Institut Atsiri, Universitas Brawijaya

Email: <sup>1</sup>warsitoub88@yahoo.com, <sup>1</sup>suratmoub@gmail.com, <sup>3</sup>kardios26@yahoo.com

### ABSTRACT

Kaffir lime oil (*C. hystrix* DC.) is consist of a complex mixture of hydrocarbons terpenoids and terpenoids which contain oxygen are distributed in every part of the plant. In this research tested the antioxidant and antimicrobial activity, both against kaffir lime oil from twigs, leaves and rind including the main components citronellal. The antioxidant was evaluated by testing its ability to catch DPPH radical. Antimicrobial activity is measured by its ability to inhibit the growth of gram-negative bacteria, *Escheria coli*. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) is used to analyze chemical composition of kaffir lime oil. Value of IC<sub>50</sub> of kaffir lime oil obtained was 6,43 (µL/mL); 6,83 (µL/mL); 9,48 (µL/mL) and 10,1 (µL/mL), consecutive to kaffir lime oil from rind, leaves, twig-leaf mixture and citronellal. Compared to the other kaffir lime oil and major components citronellal, kaffir lime oil from rind show the most vigorous activity in inhibiting growth of *Escheria coli* bacteria, by MIC values of 12,5 (µL/mL). GC-MS analysis showed that citronellal and citronellol as major component on kaffir lime oil from leaves and twig-leaf mixture, while the major component of kaffir lime oil from rind is β-pinene, limonene, citronellal dan terpinen-4-ol.

**Keywords:** *kaffir lime oil, citronellal, citronellol, antioxidant, antimicrobial*

### 1. PENDAHULUAN

Jeruk, famili *Rutaceae* dikenal sebagai salah satu tanaman hortikultura penting yang dibudidayakan luas di daerah tropis dan subtropis selatan wilayah Asia. Jika jeruk pomelo (*C. grandis* (L.) Osbeck) dikenal luas diantara jeruk manis lainnya di Vietnam (Lan-

Phi and Vy, 2015), tetapi jeruk purut (*C. hystrix* DC.) yang dikenal sebagai jeruk untuk memasak sangat populer di Thailand, Malaysia dan Indonesia (Fah Chueachongthong, *et al.*, 2011). Lebih jauh bagian tanaman jeruk, seperti daun, kulit buah dan ranting digunakan sebagai sumber bahan penghasil minyak atsiri (Doorant, *et al.*, 2011; Yunus, 2011), termasuk minyak jeruk purut yang berasal dari Tulungagung Jawa Timur diperoleh dari penyulingan ranting tanaman jeruk (Warsito, dkk., 2013). Produksi minyak jeruk purut di Indonesia masih sangat terbatas hanya berkisar 2-3 ton per tahun (Rusli, 2012).

Secara umum minyak atsiri tersusun atas campuran kompleks hidrokarbon terpenoid, terpenoid teroksigenasi dan seskuiterpen (Chamorro, *et al.*, 2012; Sousa, *et al.*, 2011), fenilpropanoid dan benzenoid teroksigenasi (Sousa, *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa ini dikategorikan sebagai metabolit sekunder tanaman dan bertanggung jawab terhadap aroma khas (Chamorro, *et al.*, 2012). Minyak jeruk manis pomelo *C. grandis* (L.) Osbeck dari Vietnam tersusun atas 91 senyawa (Lan-Phi, 2010) yang didominasi oleh komponen terpenoid hidrokarbon dengan kadar limonen mencapai 67,2 – 95,7% (Lan-Phi, *et al.*, 2015), sedangkan minyak jeruk purut Indonesia hasil penyulingan uap ranting, daun dan kulit buah tersusun atas 29 senyawa dengan komponen utama sitronelal mencapai 46,85 – 80,4 % (Loh, *et al.*, 2011; Warsito, dkk., 2013).

Dalam beberapa laporan dinyatakan bahwa minyak atsiri memiliki berbagai manfaat kesehatan dan digunakan dalam aromaterapi, industri farmasi serta untuk aroma dan rasa makanan. Bahkan dilaporkan pula minyak atsiri dari kulit buah jeruk manis pomelo Vietnam memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba tinggi (Viuda-Martos, *et al.*, 2008; Choi, 2010; Hung, *et al.*,

2013.; Lan-Phi, *et al.*, 2015). Lebih jauh minyak atsiri dari kulit buah jeruk *C. aurantium* dari Iran, juga memiliki aktivitas antidermatofit, sitotoksitas, *anxiolytic*, obat penenang dan efek *gastro-protective* (Jong Seok *et al.*, 2008; Sanguinetti, *et al.*, 2007; Carvalho-Freitas dan Costa, 2002; Pultrini, *et al.*, 2006; Moraes, *et al.*, 2009). Dalam penelitian dilakukan uji aktivitas antimikroba dan antioksidan minyak jeruk purut dari beberapa bagian tanaman dan komponen majornya.

## 2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

### 2.1. Bahan Penelitian

Minyak jeruk purut yang digunakan terdiri dari minyak jeruk purut dari ranting, daun dan kulit buah. Minyak jeruk purut ranting, MJR-R (Bj 0,85 g/mL dan  $n_D^{20}$  1,44) hasil produksi dari rakyat di daerah Ngunut, Tulungagung, Jawa Timur, sedangkan minyak jeruk purut daun (MJR-D) dan kulit buah jeruk purut (MJR-KB) hasil sulungan uap yang sampel berasal dari Kebun milik Pusat Riset dan Entreprenurial (PURAA) - LPPM Universitas Brawijaya di Kesamben Blitar.

### 2.2. Destilasi minyak jeruk dari purut daun dan kulit buah jeruk purut

Daun jeruk purut yang segar ditimbang 2.000 gram, kemudian dilakukan destilasi uap-air selama 4 jam. Dengan cara yang sama sejumlah 2.700 gram kulit buah jeruk (10 kg buah jeruk purut) juga dilakukan destilasi uap-air. Minyak jeruk purut yang dipisahkan dari campuran air-minyak (destilat) dikeringkan dengan  $Na_2SO_4$  anhidrous.

### 2.3. Isolasi komponen mayor sitronellal

Komponen mayor minyak jeruk purut diisolasi menggunakan reagen  $Na_2SO_3$  yang dilakukan sebagai berikut : 20 mL MJR-RD ditambahkan 15 mL  $Na_2SO_3$  jenuh sambil diaduk homogen di atas pemanas air yang dididihkan. Endapan garam yang dihasilkan didinginkan, disaring, dicuci dengan etanol. Kemudian endapan garam dihidrolisis dengan larutan 1 M  $H_2SO_4$  hingga dipertahankan sedikit basa dan lapisan organik dipisahkan.  $Na_2SO_4$  anhidrat digunakan untuk menyerap air dalam fraksi organik.

### 2.4. Analisis dengan GC-MS

Setiap sampel dianalisis dengan GC-MS menggunakan tipe Shimadzu (QP 2010S) dengan sistem bombardir elektron tegangan : 70 eV, suhu injektor 300 °C, suhu detektor 320 °C, tekanan 12 Pa. Kolom kapiler DB-1 (L 30 m, ID 0,25 mm), suhu dari 50 - 260 °C (kenaikan 5 °C/menit). Gas pembawa He, kec aliran 3 mL/menit. Kromatogram yang dihasilkan di-scanning untuk memperoleh data spektra massa. Database pada library digunakan sebagai pembanding otomatis untuk membantu analisis struktur kimia.

### 2.5. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Aktivitas antioksidan dari sampel ditentukan dengan mengukur perubahan warna ungu larutan DPPH dalam pelarut etanol. Sampel MJR-R MJR-D, MJR-KB, fraksi MJR-R, komponen mayor sitronelal masing-masing dibuat konsentrasi 1,25 µg/mL, 2,5 µg/mL, 5 µg/mL, 7,5 µg/mL, 10 µg/mL, 12,5 µg/mL, 15 µg/mL dan 20 µg/mL dalam pelarut etanol. Kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,4 mg/mL (dalam etanol) yang dibuat segar sebanyak 1 mL. Setelah campuran dikocok, divortex, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang yang gelap. Selanjutnya larutan diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. BHT (Aldrich-Sigma) dipakai sebagai kontrol positif. Persentase inhibitor dari radikal DPPH (I %) dihitung dengan rumus:  $I (\%) = (1 - A_{Sampel}/A_{Blanko}) \times 100$ ,  $A_{Blanko}$  dan  $A_{Sampel}$  merupakan absorbansi larutan blanko dan sampel.

### 2.6. Uji aktivitas antimikroba

#### 2.6.1. Pembuatan Suspensi Bakteri

Ditimbang 20 gram NA (bubuk) dan dilarutkan dengan aquades 1000 ml, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sambil diaduk hingga homogen. Setelah itu, media di autoklaf pada suhu 121°C, 1 atm selama 15 menit. Media diangkat dari autoklaf dan ditunggu sampai media menjadi hangat (suhu  $\pm 50^\circ C$ ). Selanjutnya media dituangkan ke petri dish sebanyak 15 ml, dan didiamkan sampai media menjadi memadat.

Peremajaan bakteri dimulai dengan menyiapkan media *nutrien agar* (NA) steril dengan memasukkan media ke dalam tabung reaksi dan ditunggu sampai memadat. Inokulasi bakteri dilakukan dengan mengambil 1 ose kultur bakteri dengan jarum ose dari stok kultur, kemudian dipindahkan ke media agar miring NA steril yang baru dengan cara di goreskan zig-zag pada permukaan media agar miring. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari (24 jam).

Menyiapkan media cair steril NB dalam tabung reaksi dan mengambil 1 ose kultur dari agar miring, kemudian dicelupkan kepada media cair. Di vortex untuk melarutkan suspensi bakteri secara sempurna. Kemudian suspensi bakteri dibuat jumlah koloni 10<sup>7</sup> CFU/ml.

#### 2.6.2. Penentuan *Minimum Inhibition Concentration* (MIC)

Penentuan MIC dilakukan menggunakan metode kontak (*microdilution*) dengan menggunakan media cair. Konsentrasi yang dibuat dengan cara mengencerkan sampel yang konsentrasi 100 µL/mL dengan 1 mL media NB, sehingga didapatkan berbagai konsentrasi yaitu 50 µL/mL, 25 µL/mL, 12,5 µL/mL, 6,25 µL/mL, 3,12 µL/mL dan 1,56 µL/mL. Setelah dibuat seri pengeceran di inokulasi secara aseptis pada setiap konsentrasi dengan 1 mL suspensi bakteri yang jumlah koloni 10<sup>7</sup> CFU/mL. Kemudian campuran media uji di vortex sampai homogen dan di inkubasi dengan *inkubator shaker* dengan kecepatan 120 rpm, suhu ruang dan selama 18-24 jam. Setelah di inkubasi, media uji di angkat dan diambil media uji 10 µL dan ditanam pada media NA cair, digoyang media sampai membentuk angka delapan sehingga media memadat. Setelah memadat, media di inkubasi selama 18-24 jam dan dilakukan perhitungan jumlah bakteri dari setiap konsentrasi. Dapat dikatakan sebagai bakterisidal apabila ekstrak minyak atsiri jeruk purut dapat membunuh bakteri 90% dan apabila sebaliknya maka minyak atsiri jeruk purut dikatakan bersifat bakteristatis.

### 3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Komposisi Minyak Jeruk Purut

Minyak atsiri dalam jeruk purut dapat terdistribusi di beberapa bagian tanaman, seperti daun, buah (kulit buah) dan ranting tanaman. Kompleksitas komposisi minyak atsiri dapat dikaitkan dengan reaksi biosintesis yang terjadi pada jaringan masing-masing bagian tanaman. Secara umum minyak atsiri jeruk purut tersusun atas monoterpen hidrokarbon dan monoterpen yang mengandung oksigen, keduanya dapat berbentuk siklis maupun asiklis.

Komposisi minyak atsiri dari tiga jenis minyak jeruk purut hasil distilasi uap ranting (MJP-R), campuran ranting-daun (MJP-RD) dan kulit buah jeruk purut (MJP\_KB) dalam penelitian ini telah dianalisis dengan GC-MS. Persentase komposisi minyak atsiri ini disajikan dalam Tabel 1.

Secara garis besar minyak atsiri jeruk purut mengandung campuran kompleks dari monoterpenoid hidrokarbon (MH) dan monoterpenoid yang mengandung oksigen (MO). Sejumlah 28 senyawa telah diidentifikasi dari beberapa minyak jeruk purut dan secara struktural baik komponen MH atau MO dalam bentuk isomer. Sedikitnya terdapat 7-8 komponen utama yang menyusun minyak atsiri jeruk purut, baik MJP-R dan MJP-D dengan persentase yang beragam.

Komponen MH dalam MJP-R dan MJP-D lebih rendah (4.73 – 12.19%) dibanding MO (87,81 – 95,27%), sedangkan dalam MJP-KB, komponen tersebut berada pada tingkat yang sama (rasio 50,10% : 49,90%). Tiga komponen utama MH yang menyusun MJP-KB, meliputi sabinene (9.21%), β-pinene (21.44%), limonene (12.59%), sebaliknya sitronellal yang merupakan komponen paling dominan dalam ketiga sampel MJP-R dan MJP-D mencapai (46.40 – 85.07%). Dalam MJP-KB komponen sitronellal ini berada pada tingkat paling rendah (20.91%), sebaliknya 4-terpeniol paling tinggi (11.93%).

Tabel 1. Komposisi kimia beberapa minyak jeruk purut

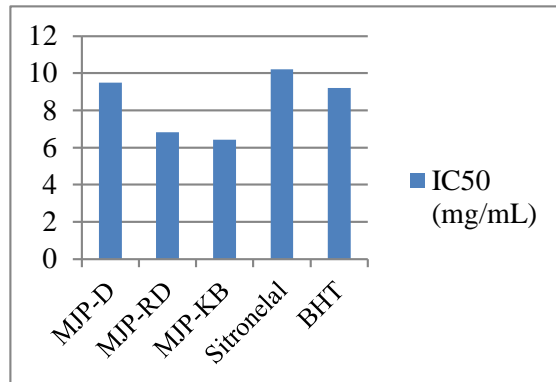
No	Nama Senyawa	% Komponen		
		MJP-R	MJP-D	MJP-KB
1	Pelladhrene	-	-	0.10
2	$\alpha$ -Pinene	-	-	1.26
3	Sabinene (s)	5.91	2.79	9.21
4	$\beta$ -Pinene (s)	1.24	0.33	21.44
5	$\beta$ -Mycrene	1.27	1.04	1.98
6	Cimene	0.80	-	-
7	$\alpha$ -Terpinene	-	-	1.23
8	Limonene (s)	0.90	0.13	12.59
9	$\beta$ -Ocimene	1.56	0.44	-
10	$\gamma$ -Terpinene (s)	0.51	-	2.29
11	Linalool epoxyde	0.69	0.70	3.29
12	Linalool oxide	-	0.33	1.57
13	$\alpha$ -Terpenilene	-	-	0.62
14	Linalool	13.11	3.46	4.23
15	Sitronellal	46.40	85.07	20,91
16	Isopulegol	1.57	-	-
17	Terpinene-4-ol	1.52	-	11.93
18	$\alpha$ -Terpeniol	0.93	-	5.16
19	Rodinol	0.59	-	0.46
20	Citronellol	11.03	-	-
21	Lynallil Oxide	1.86	-	-
22	Citronelyl acetate	6.76	2.77	-
23	Geranyl acetate	0.77	0.61	0.43
24	cyclo-Germacrene	-	0.3	-
25	Copaene	-	-	0.18
26	Caryophylene	1.48	1.77	0.24
27	Cadinene	-	0.22	0.23
28	Nerodinol	1.11	-	-

Ket : MJP-R : minyak jeruk purut ranting, MJP-D : minyak jeruk purut daun, MJP-KB : minyak jeruk purut kulit buah

### 3.2. Aktivitas abtiksiidan beberapa minyak jeruk purut, fraksi dan komponen major

Suatu antioksidan dapat didefinisikan sebagai berbagai jenis zat yang mampu berkompetisi terhadap substrat teroksidasi pada tingkat konsentrasi yang relatif rendah dan menghambat atau mencegah proses oksidasi substrat. Uji aktivitas antioksidan dari empat macam sampel minyak jeruk purut,

fraksi minyak jeruk purut, komponen mayor serta kontrol BHT ditandai dengan turunnya aktivitas (absorbansi) dari radikal DPPH. Nilai konsentrasi penghambatan sebesar 50 % untuk masing-masing sampel uji (nilai IC<sub>50</sub>) disajikan dalam Gambar 1.

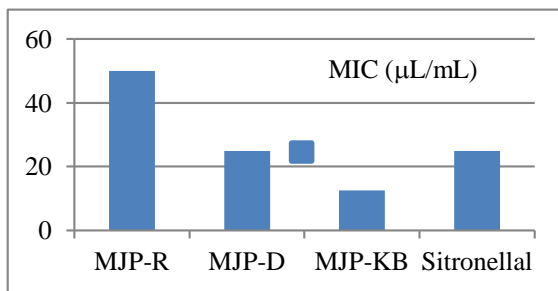


Gambar 1. Konsentrasi penghambatan 50 % dari sampel uji (nilai IC<sub>50</sub>)

Diantara tiga jenis minyak jeruk purut, MJP-KB memiliki daya hambat terhadap radikal bebas DPPH paling baik dengan nilai IC<sub>50</sub> (6.43  $\mu$ g/mL). Aktivitas ini dapat dikaitkan dengan kandungan komponen MH dalam MJP-KB yang sangat tinggi (50.10%), terutama kontribusi tiga komponen yang cukup signifikan, yaitu sabinene,  $\beta$ -pinene, micrene dan limonene. Menurut Wojtunik, *et al* (2014) dan Behrendorff, *et al*, (2013) yang bertanggungjawab dengan radikal bebas dari DPPH adalah ikatan  $\pi$  dalam molekul monoterpen. Mekanisme interaksi radikal DPPH dengan molekul-molekul monoterpen tersebut diindikasikan dengan menurunnya aktivitas antioksidan dari monoterpen. Namun kenaikan daya hambat terhadap radikal bebas DPPH ini tidak seiring dengan meningkatnya kandungan komponen major sitronelal. Aktivitas antioksidan dari MJP-RD dan MJP-D juga lebih kuat dibanding aktivitas reference BHT.

### 3.3. Uji aktivitas antimikroba

Ditinjau dari nilai MIC hasil uji secara *microdillution* diperoleh bahwa MJP-R memiliki aktivitas paling rendah, MJP-D dan komponen major sitronelal memiliki aktivitas yang setingkat, sedangkan MJP-KB memiliki aktivitas paling kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *E. coli*. dengan nilai MIC 12,5  $\mu$ L/mL (Gambar 2).



Gambar 2. Konsentrasi hambat minimum, MIC terhadap bakteri *E. coli*

Fakta ini menunjukkan bahwa penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli* tidak hanya ditentukan oleh tingginya kadar sitronellal, tetapi lebih cenderung ditentukan oleh tingginya kandungan komponen monoterpen hidrokarbon. MJP-KB yang memiliki kadar  $\beta$ -pinen dan limonen berturut-turut (21,44%) dan (12,59%), sedangkan sitronellal lebih rendah (20,91%) dibanding kadar sitronellal dalam MJP-D (85,07%) justru memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli* lebih kuat.

#### 4. KESIMPULAN

1. Nilai IC<sub>50</sub> dari minyak jeruk purut diperoleh sebesar 6,43 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ); 6,83 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ); 9,48 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) dan 10,1 ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), berturut-turut untuk MJP-KB, MJP-D, MJP-R dan komponen mayor sitronellal.
2. MJP-KB menunjukkan aktivitas paling kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, dengan nilai MIC 12,5  $\mu\text{L}/\text{mL}$  dan untuk MJP-D dan sitronellal tingkat aktivitas sama dengan MIC 25  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , sedangkan MJP-R aktivitas paling lemah dengan MIC 50  $\mu\text{L}/\text{mL}$

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- CARVALHO-FREITAS, M.I., COSTA, M., 2002, Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. *Biol. Pharm. Bull.* 25: 1629-1633
- CHOI, H.S., 2010, Functional Properties. Sawamura, M. (Ed.), *Citrus essential oils – Flavour and Fragrance*, pp. 132–145. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons
- DOORANT, S.H, ROSE, L.C, SUHAIMI, H., MOHAMAD, H, ROZAINI, M.Z.H., TAI M., 2011, Preliminary evaluation on the antibacterial activities of *Citrus hystrix* oil emulsions stabilized by tween 80 and span 80, *Int J Pharm Pharm Sci* 3 (Suppl 2), 209–211.
- ESTER R. CHAMORRO, SILVIA N. ZAMBÓN, WALTER G. MORALES, ALFREDO F. SEQUEIRA AND GUSTAVO A. VELASCO, 2012, Study of the Chemical Composition of Essential Oils by Gas Chromatography, National Technological University, Regional Faculty Resistance, UTN QUIMOBÍ Group, Argentina, www.intechopen.com
- FAH CHUEAHONGTHONG, AMPASA VATE, A., OKONOJI, S., TIMA, S. AND S. ANUCHAPREEDA, 2011, Cytotoxic effects of crude kaffir lime (*Citrus hystrix*, DC.) leaf fractional extracts on leukemic cell lines, *J. Med. Plants Res.*, Vol. 5,14, 3097-3105
- HUNG, P. V., CHI, P. T. L, AND LAN-PHI, N. T., 2013, Comparison of antifungal activities of Vietnamese citrus essential oils. *Natural Product Research* 27: 506-508.
- JONG SEOK B., KIM, S.S., LEE, J.A., OH, T.H., KIM, J.Y., LEE, N.O., HYUN, C.G., 2008, Chemical composition and biological activities of essential oils extracted from Korean endemic Citrus species. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 74-79
- LAN-PHI, N. T., HUNG, P. V., LAN-CHI, N. T. AND TUAN, P. D., 2015, Impact of Growing Locations and Genotypes on Antioxidant and Antimicrobial Activities of Citrus Essential Oils in Vietnam. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* (published online). Doi:10.1080/0972060X.2015.1004124
- LAN-PHI, N. T. AND VY, T. T., 2015, Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of peels' essential oils of different pomelo

- varieties in the south of Vietnam, *Inter. Food Res. Journal* 22(6): 2426-2431
- MAJNOONI, M.B., MANSOURI, K., GHOLIVAND, M.B., MOSTAFAIE, A., MOTLAGH, R.M., AFNANZADE, N.S., ABOLGHASEMI, M.M. AND PIRIYAEI, M., 2012, Chemical composition, cytotoxicity and antioxidant activities of the essential oil from the leaves of *Citrus aurantium* L., *African J. Biotech.*, Vol. 11(2), pp. 498-503.
- MORAES, T.M., KUSHIMA, H., MOLEIRO, F.C., SANTOS, R.C., ROCHA, L.R., MARQUES, M.O., VILEGAS, W., HIRUMA-LIMA, C.A., 2009, Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chem. Bio. Intera.*, 180: 499-505.
- PULTRINI ADE, M., GALINDO, L.A., COSTA, M., 2006, Effect of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. *Life Sci.* 78: 1720-1725
- RUSLI, M. S., 2012, Effort and challenges for sustainable essential oil production in Indonesia, Conference Proceeding the IFEAT International Conference in Singapore, 161-169
- SANGUINETTI, M.B., POSTERARO, L., ROMANO, F., BATTAGLIA, T., LOPIZZO, E., CAROLIS, D., FADDA, G., 2007, In vitro activity of *Citrus bergamia* (bergamot) oil against clinical isolates of dermatophytes, *J. Antimicrob. Chemother.*, 59: 305-308
- SOUSA, OV., DEL-VECHIO-VIEIRA, G., ALVES, M.S., AÍLSON A., ARAÚJO, L., PINTO, M.A.O., AMARAL, M.P.H., RODARTE, M.P. AND M.A. C. KAPLAN, 2012, Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Duguetia lanceolata* St. Hil. Barks, *Molecules*, 17, 11056-11066.
- VIUDA-MARTOS, M., RUIZ-NAVAJAS, Y., FERNANDEZ - LOPEZ, J. AND PEREZ - ALVAREZ, J., 2008, Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils., *Food Control*, 19: 1130-1138.
- WARBITO, UMI KALSUM, EDI PRIYO UTOMO, WAODE CAKRA NIRWANA, 2013, Preparasi komponen-komponen minyak jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai bahan obat antimikroba dan antioksidan, Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Brawijaya.
- YUNUS, M.M., 2009, Comparison of % composition of essential oil from peel and leaves of kaffir lime (*Citrus hystrix*) using hydrodistillation and solvent (ethyl acetate) extraction, Faculty of Applied Science, Universiti Teknologi MARA, Selangor