

Karakterisasi Senyawa Volatil dan Uji Antibakteri dari *Citrus bergamia* dan *Citrus sinensis*

Windri Handayani^{1*}, Retno Yunilawati^{2,3}

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Kampus UI, Depok, Jawa Barat 16424

²Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Kampus UI, Depok, Jawa Barat 16424

³Balai Besar Kimia Kemasan, Kementerian Perindustrian Republik Indonesia, Jl. Balai Kimia No.1, Pekayon, Jakarta 13710

*E-mail korespondensi: windri.h@sci.ui.ac.id

ABSTRAK

Minyak atsiri merupakan bahan organik yang bersifat volatil dan mengandung beberapa konsituen bahan aktif yang memiliki bioaktivitas tertentu. Minyak atsiri dari tanaman jeruk memiliki aroma yang khas dan berbagai kegunaan baik sebagai bahan aditif pada makanan ataupun bahan obat. Pada penelitian ini, minyak atsiri yang berasal dari *Citrus bergamia* dan *Citrus sinensis* dikarakterisasi dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS). Senyawa yang dominan ditemukan ialah *l-limonene* yang terkandung *C. sinensis*, sedangkan pada *C. bergamia* senyawa dominan ialah *Linalool acetate* diikuti oleh *d-Limonene*. Pengujian terhadap aktivitas antibakteri diujikan terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang lebih tinggi pada bakteri *S. aureus* oleh *C. bergamia* dari pada *C. sinensis*. Hal tersebut menunjukkan potensi biosprospeksi minyak atsiri dari *C. bergamia* sebagai agen antibakteri.

Kata Kunci: analisis GC-MS, bioprospeksi, Citrus, minyak atsiri

Characterization of Volatile Compounds and Antibacterial Activity from *Citrus bergamia* and *Citrus sinensis*

ABSTRACT

Essential oil is an organic material that is volatile and contains several active constituents that have certain bioactivity. Essential oils from citrus plants have a distinctive aroma and various uses, both as food additives and medicinal ingredients. In this study, essential oils from *Citrus bergamia* and *Citrus sinensis* were characterized using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The dominant compound detected in *C. sinensis* was *l-limonene*, while in *C. bergamia* the dominant compound was *Linalool acetate* followed by *d-Limonene*. Antibacterial activity was tested against Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and Gram-negative bacteria *Escherichia coli* by disc diffusion method. The results showed a higher inhibitory activity on *S. aureus* bacteria by *C. bergamia* than *C. sinensis*. This shows the potential bioprospection of the essential oils of *Citrus bergamia* as antibacterial agents.

Keywords: bioprospecting, citrus, essential oils, GC-MS analysis

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan salah satu tanaman yang tersebar luas hampir di seluruh dunia, dengan produksi sekitar 102×10^6 ton per tahun (Simeone *et al.*, 2020). Kelompok dari famili Rutaceae genus *Citrus* ini banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat. Jenis senyawa yang banyak dimanfaatkan dari tanaman jeruk ialah minyak atsiri yang bersifat aromatik dan mudah menguap (volatil). Kelompok senyawa ini dapat menjadi pengawet alami yang efektif untuk menghambat

pertumbuhan mikroba, memperpanjang umur simpan, dan bermanfaat bagi kesehatan manusia (Shu *et al.*, 2019). Penggunaan buah-buahan dari spesies jeruk sebagai obat tradisional telah dilaporkan di beberapa negara, di mana kulit atau buah utuh diindikasikan untuk mengobati gangguan pencernaan, peradangan kulit dan infeksi, nyeri otot, batuk dan hipertensi (Caputo *et al.*, 2020). *Citrus bergamia* (bergamot) dan *Citrus sinensis* (jeruk manis) termasuk jenis yang banyak dimanfaatkan.

Citrus bergamia (jeruk bergamot) merupakan hasil persilangan antara jeruk asam (*Citrus aurantium*)

dan lemon (*Citrus limon*). Buah bergamot umum dimanfaatkan untuk menghasilkan minyak atsirinya. Proses ekstraksi yang dilakukan dengan metode ekstraksi kompresi dingin dari bagian kulit buah. Minyak atsiri bergamot (MAB) banyak digunakan dalam industri parfum, kosmetik, dan makanan, karena intensitas aroma dan kesegaran. MAB berwarna kuning kehijauan atau kuning kecokelatan dengan rasa dan karakteristik aromatik yang pahit bau yang menyenangkan (Navarra, *et al.* 2015). Sementara itu, *Citrus sinensis* (jeruk manis) termasuk jenis yang banyak ditanam di daerah tropis. Jeruk manis memiliki nilai ekonomi dan gizi yang baik sehingga banyak dikonsumsi (Oyedepi *et al.*, 2020). Minyak atsiri dari jeruk manis telah diketahui memiliki potensi antikarsinogenik dengan menginduksi apoptosis pada sel leukemia manusia (HL-60) dan sel kanker usus besar, serta menghambat angiogenesis dan metastasis. Aroma dari minyak atsiri jeruk manis juga dapat menciptakan relaksasi fisiologis dan psikologis, aroma dari jeruk manis diketahui dapat mengurangi kecemasan dan meningkatkan suasana hati. Pijatan menggunakan minyak atsiri jeruk manis yang dikombinasikan dengan jahe efektif dalam meredakan nyeri lutut sedang hingga parah (Kammoun *et al.*, 2021).

Minyak atsiri dari jeruk dapat diekstraksi dari bagian kulit buah, buah, daun, dan bunga. Senyawa-senyawa dari minyak atsiri bersifat volatil dan merupakan turunan dari kelompok terpen. Terdapat beberapa metode untuk mengekstraksi minyak atsiri, yaitu destilasi uap dan ekstraksi dengan pelarut. Metode ekstraksi yang beragam akan mengakibatkan senyawa yang terkandung di dalam minyak atsiri bervariasi dari segi jenis senyawa dan kelimpahannya. Metode destilasi umum digunakan dalam skala industri, terutama untuk ekstraksi *limonene* dari berbagai jenis *Citrus*. Minyak atsiri dapat hilang atau mengalami kerusakan akibat beberapa hal, di antaranya suhu tinggi dan waktu ekstraksi yang lama, di mana senyawa-senyawa kelompok terpen cenderung tidak stabil (Simeone *et al.*, 2020). Ekstrak tumbuhan aromatik sangat potensial untuk aplikasi keamanan pangan dan pengawetan pangan (Atarés & Chiralt, 2016; Ribeiro-Santos *et al.*, 2017). Senyawa aktif yang terkandung dalam minyak atsiri tersebut juga dapat dimanfaatkan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Penelitian ini merupakan bagian dari proses penapisan jenis minyak atsiri yang dapat diprospeksi untuk dikembangkan dalam aplikasi pangan sebagai komponen kemasan aktif antimikroba. Dalam penelitian ini, minyak atsiri dari *Citrus bergamia* dan *Citrus sinensis* dikarakterisasi dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) untuk mengetahui kandungan senyawa volatil dan mengetahui potensi antibakteri. Informasi dari penelitian ini akan digunakan untuk mendukung riset lanjutan terkait pemanfaatan minyak atsiri untuk pengembangan kemasan aktif.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Minyak atsiri yang digunakan adalah minyak atsiri komersial yang diperoleh dari perusahaan kimia aromatik di Indonesia. Minyak atsiri tersebut berasal dari bagian kulit luar buah *Citrus bergamia* dan *Citrus sinensis*. Media yang digunakan adalah Nutrient Broth (NB) (Hi-Media) dan Mueller Hinton Agar (MHA) (Difco).

Karakterisasi Minyak Atsiri dengan GC-MS. Karakterisasi dan analisis minyak atsiri dilakukan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) dengan dua sistem GC-MS. (1- untuk *C. sinensis*) seri Agilent 6890 dengan kolom kapiler HP-5ms, ketebalan film 30 m x 0,25 mm id x 0,25 m. Gas helium (65 kPa) digunakan sebagai gas pembawa pada tekanan konstan dan volume injeksi 1 µL digunakan (rasio split 25:1); Suhu oven diprogram dari 60—250 °C, dengan peningkatan 3 °C/menit hingga mencapai 250 °C. (2- untuk *C. bergamia*) Agilent 6890 dengan kolom kapiler DB-5ms ketebalan film 30 m x 0,25 mm id x 0,25 m. Suhu awal di set pada 60 °C lalu dipertahankan selama 5 menit, kemudian dinaikkan dengan kecepatan 10°C /menit hingga suhu 250 °C dan setelah tercapai 250 °C dipertahankan selama 5 menit dengan split ratio 1:20. Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan tekanan konstan pada 7,65 psi. Komponen diidentifikasi berdasarkan perbandingan waktu retensi relatif dan spektrum massa yang diinterpretasikan berdasarkan *WILEY 7 library*.

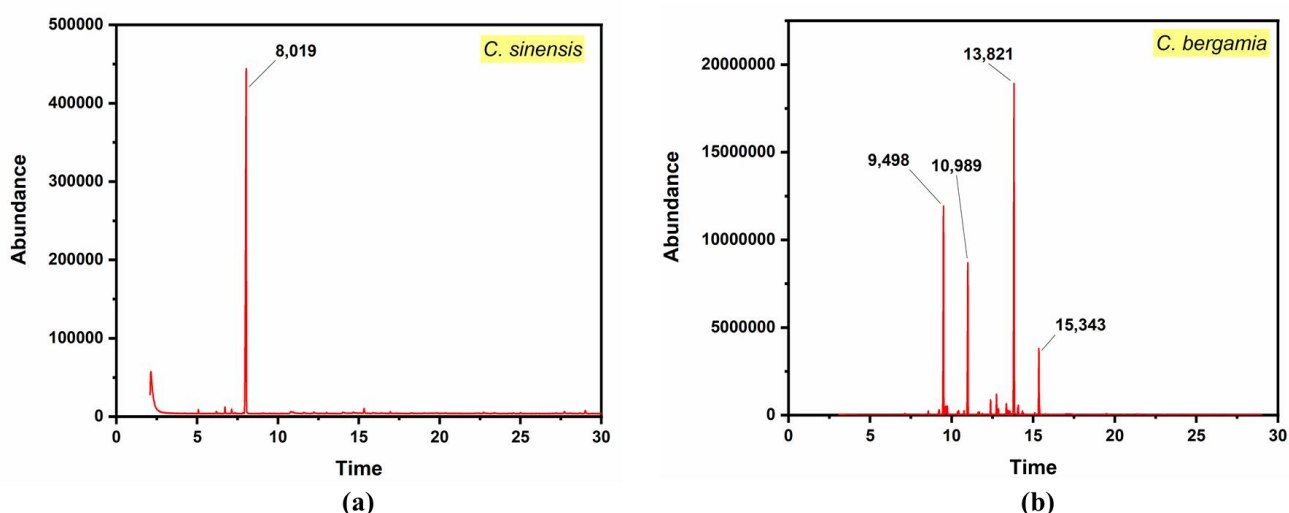
Pengujian antibakteri. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan media MHA. Pengujian ini menggunakan strain *Staphylococcus aureus* NBRC 100910 dan *Escherichia coli* NBRC 3301. Sebanyak 10 mL media MHA yang masih cair dituang ke dalam cawan Petri steril (d=90 mm) dan dibiarkan memadat selama 5 menit. Setelah itu, ke dalam tabung, 10 µL kultur bakteri sesuai standar McFarland 0,5 (1×10^8 CFU/mL) ditambahkan dengan 10 mL media dan diinokulasi sebelum dituangkan di atas lapisan media yang sudah memadat sebelumnya. Setelah dituang, medium dibiarkan memadat selama 5 menit. Sebanyak 10 µL larutan kontrol negatif (akuades steril), kontrol positif (tetrasin 15 µg/mL), dan sampel minyak atsiri (tanpa pengenceran) diteteskan pada kertas cakram dengan diameter 6 mm. Kertas cakram yang ditetesi sampel diletakkan pada permukaan media, lalu kultur bakteri diinkubasi pada suhu 32 °C selama 18 jam. Setelah akhir inkubasi terbentuknya zona bening di sekitar cakram diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Minyak Atsiri dengan GC-MS

Profil kromatogram dari GC-MS minyak atsiri *C. sinensis* menunjukkan ada satu puncak dominan di 8,0193 menit (**Gambar 1(a)**). Senyawa tersebut dideteksi sebagai *l-limonene*, yang termasuk kelompok monoterpen siklik. Kelimpahannya berdasarkan proporsi senyawa lainnya mencapai 100%. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa ini dominan terdapat pada minyak atsiri *C. sinensis*. Minyak atsiri tersebut, diperoleh dari bagian luar kulit jeruk dan diekstraksi dengan kompresi dingin. Pada penelitian yang dilakukan Geraci *et al.* (2016), hasil ekstraksi atsiri dari kulit buah menunjukkan mengandung *d-limonene*. Sementara penelitian lainnya, hasil GC-MS mendeteksi beberapa senyawa seperti *alpha pinene*, *sabineno*, *limonene*, *d-*

terpinolene, *hexanal*, *octanal*, *decanal*, dan *dodecana*. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa khas yang berperan dalam menghasilkan aroma yang khas dari minyak atsiri *C. sinensis* (Anaya-Gil *et al.*, 2021). Ada banyak manfaat kesehatan dari minyak atsiri jeruk seperti sebagai antispasmodik, kram otot dan diare ekstrim, kejang peregangan dan saraf. Manfaat kesehatan lainnya dari minyak atsiri *C. sinensis* ialah sebagai anti-inflamasi, antidepresan, antispasmodik, antiseptik, afrodisiak, karminatif, diuretik, tonik, dan obat penenang (Geraci *et al.*, 2017; Nwachukwu *et al.*, 2019). Oleh karena aroma yang khas dan menyegarkan, minyak atsiri dari *C. sinensis* juga banyak digunakan untuk meredakan stres, penyegar ruangan, dan meningkatkan sistem imun tubuh. Hasil karakterisasi GC-MS dari minyak atsiri dalam penelitian ini, komponen utama dan yang dominan ditemukan ialah senyawa *limonene*.



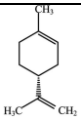
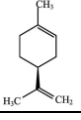
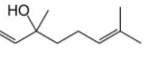
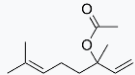
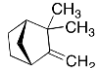
Gambar 1. Profil kromatogram hasil GC-MS dari (a) *Citrus sinensis* dan (b) *Citrus bergamia*

Sementara itu, **Gambar 1(b)** menunjukkan profil kromatogram dari *C. bergamia*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat empat senyawa yang cukup dominan dari komponen minyak atsiri *C. bergamia*, secara berurutan dari puncak tertinggi dan persentase area hingga terendah, yaitu *linalool acetate* (40,86%), *d-Limonene* (24,61%), *linalool* (18,41%), dan *camphene* (7,19%) (**Tabel 1**). Minyak atsiri dari *C. bergamia* secara umum terdiri dari volatil (93–96% dari total) dan fraksi non-volatil (4–7% dari total). Senyawa-senyawa tersebut terdiri dari kelompok hidrokarbon, monoterpen dan seskuiterpen, serta turunan senyawa teroksigenasi, bersama dengan aldehida alifatik, alkohol, dan ester. Jenis-jenis dari senyawa tersebut di antaranya monoterpen *limonene* (25–53%) dan jumlah tinggi oksigen senyawa, seperti *linalool* (2–20%), *linalyl asetat* (15–40%), *terpinene*, dan *pinene* (Nabiha *et al.*, 2010; Russo *et al.*, 2013). *D-limonene* dalam kulit bergamot

secara signifikan lebih rendah daripada kulit buah jeruk lainnya, seperti pada jeruk mandarin dan lemon. Sebaliknya, *linalyl asetat*, *linalool*, dan *pinene* terkandung dalam jumlah yang lebih tinggi dalam minyak esensial kulit bergamot (Marchese *et al.*, 2020). Hal tersebut terlihat dari hasil profil kromatogram dari *C. sinensis* dan *C. bergamia* yang dikarakterisasi dalam penelitian ini

Minyak atsiri dari *C. bergamia* merupakan salah satu konstituen dasar utama untuk pembuatan parfum, karena kemampuannya untuk memperbaiki aroma, mengharmonisasi, menyelaraskan, dan meningkatkan aroma (Navarra *et al.*, 2015). Selain itu, minyak atsiri dari bergamot juga diketahui dapat dimanfaatkan sebagai deodoran, antibiotik, antiseptik, antispasmodik, analgesik, antidepresan, disinfektan, meredakan stress dan obat penurun panas (Graziano *et al.*, 2012; Russo *et al.*, 2013; Marchese *et al.*, 2020).

Tabel 1. Senyawa volatil dominan yang diidentifikasi berdasarkan hasil analisis GC-MS dari *Citrus bergamia* dan *Citrus sinensis*

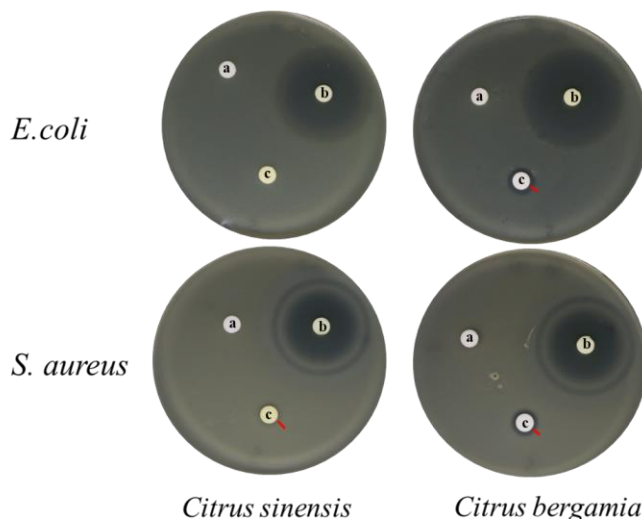
Jenis dan bagian yang diekstraksi	Senyawa	Rumus molekul & Berat Molekul (g/mol)	Struktur Molekul	Waktu retensi	Area persentase relatif	Kelompok senyawa
<i>Citrus sinensis</i> (buah)	<i>l-Limonene</i>	136,24		8,0193	100,00	Monoterpen siklik
	<i>d-Limonene</i>	136,23		9,4980	24,61	Monoterpen siklik
<i>Citrus bergamia</i> (kulit buah)	<i>Linalool</i>	154,25		10,9894	18,41	Monoterpen alkohol
	<i>Linalool acetate</i>	196,29		13,8212	40,86	Monoterpen ester
	<i>Camphene</i>	136,23		15,3437	7,19	Monoterpen bisiklik

Uji Antibakteri Minyak Atsiri

Kedua jenis minyak atsiri yang diujikan memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda-beda (**Gambar 2**). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa minyak atsiri *C. sinensis* tidak menunjukkan adanya aktivitas pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal tersebut terlihat dari tidak adanya zona bening yang terbentuk pada *C. sinensis*. Sementara itu, pada *C. bergamia* terdapat aktivitas penghambatan terhadap bakteri *E. coli* di mana zona bening yang terbentuk ialah 9,03 mm dan pada bakteri Gram-positif *S. aureus* 10,32 mm (**Tabel 2**). Hasil yang diperoleh menunjukkan bakteri Gram positif cenderung lebih rentan terhadap pemberian minyak atsiri daripada bakteri Gram negatif.

Bioaktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri dari minyak atsiri dapat terjadi karena adanya aktivitas yang saling bersinergi dari beberapa senyawa

(Teixeira *et al.*, 2013). Pada *C. sinensis* hanya terdeteksi satu senyawa dominan, yaitu *l-limonene*. Sementara pada *C. bergamia* terdeteksi adanya 4 komponen senyawa dari kelompok monoterpen siklik, bisiklik, ester dan alkohol. Mekanisme kerja terpen dikaitkan dengan kemampuan untuk merusak dan mengganggu stabilitas membran plasma bakteri. Selanjutnya, aktivitas bakterisidal dari minyak atsiri terkait dengan kemampuan molekul senyawa tersebut menembus membran bakteri dari luar sel ke dalam. Hal ini dapat menunjukkan aktivitas penghambatan dari fungsi sel dan sifat lipofiliknya yang menyebabkan kerusakan sel. Kebocoran ini dapat merusak sistem membran sel di sitoplasma, serta sistem adenosin trifosfat (ATP). Aktivitas ini menyebabkan terganggunya kesetimbangan di dalam sel mikroba yang berinteraksi dengan minyak atsiri (Furneri *et al.*, 2012; Marchese *et al.*, 2020).



Gambar 2. Pengujian antibakteri dari *Citrus sinensis* dan *Citrus bergamia* (a = kontrol negatif; b = kontrol positif; c = minyak atsiri)

Tabel 2. Pengujian aktivitas antibakteri dari minyak atsiri *C. sinensis* dan *C. bergamia*

Bakteri/ Perlakuan	Diameter zona bening (mm)	
	<i>C. sinensis</i>	<i>C. bergamia</i>
<i>E. coli</i>	-	9,03
<i>S. aureus</i>	-	10,32
Kontrol positif	27,84	33,95
Kontrol negatif	33,7	33,5

Keretangan: kontrol positif: tetrasiklin 15 µg/mL; kontrol negatif: akuades steril; -: tidak ada zona bening yang terbentuk.

Beberapa hal lain yang dapat memengaruhi efektivitas antibakteri dari minyak atsiri di antaranya ialah sinergitas dari kombinasi beberapa senyawa dan dosis yang sesuai. Dalam penelitian ini, minyak atsiri yang digunakan memiliki keragaman konstituen yang rendah. Kemungkinan lainnya ialah dari rendahnya aktivitas antibakteri dapat berkorelasi dengan rendahnya aktivitas *l-limonene*, di mana beberapa hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa *d-limonene* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat. Dua khiral isomer dengan karakteristik struktur yang berbeda, akan menunjukkan aktivitas yang berbeda pula, seperti (+)-limonen (juga disebut *R-limonene* atau *d-limonene*) memiliki bau seperti jeruk yang segar, sedangkan bentuk (-) (juga disebut *S-limonene* atau *l-limonene*) memiliki bau seperti terpenin yang lebih keras dengan aroma lemon, di mana *d-limonene* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat daripada *l-limonene* (Kousar et al., 2017). Hal lain yang juga perlu diperhatikan ialah senyawa *limonene* sangat rentan mengalami kerusakan akibat suhu dan cahaya. Semakin tinggi, aktivitas antibakteri atau fitotoksik dari suatu minyak atsiri dapat terkait pula dengan potensi sinergi antara konstituen mayor dan minor yang terkandung di dalamnya.

KESIMPULAN

Minyak atsiri dari 2 jenis *Citrus* memiliki konstituen senyawa volatil yang berbeda dari segi komposisi dan kelimpahannya. Senyawa yang dominan ditemukan ialah *l-limonene* yang terkandung pada *C. sinensis*, sedangkan pada *C. bergamia* senyawa dominan ialah *linalool acetate* diikuti oleh *d-limonene*. Pengujian antibakteri menunjukkan aktivitas penghambatan lebih kuat terhadap pada bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif. Pada penelitian ini, minyak atsiri dari *C. bergamia* memiliki aktivitas penghambatan, sedangkan minyak atsiri dari *C. sinensis* tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr.-Ing. Cuk Imawan (alm.) atas segala dukungan moril dan materiil untuk riset-riset terkait pengembangan material untuk kemasan aktif dan antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Anaya-Gil, J., Cabarcas-Caro, A., Leyva-Ricardo, M., Parra-Garrido, J., Gaitan-Ibarra, R., & Vivas-Reyes, R. (2021). Artificial modification of the chemical composition of orange oil (*Citrus sinensis* L.) and its effect on larvicidal activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1913–1918.
- Atarés, L., & Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 48, 51–62.
- Caputo, L., Cornara, L., Bazzicalupo, M., De Francesco, C., De Feo, V., Trombetta, D., & Smeriglio, A. (2020). Chemical composition and biological activities of essential oils from peels of three *Citrus* species. *Molecules*, 25(8), 1–17.
- Furneri, P. M., Mondello, L., Mandalari, G., Paolino, D., Dugo, P., Garozzo, A., & Bisignano, G. (2012). In vitro antimycoplasmal activity of citrus bergamia essential oil and its major components. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 66–69.
- Geraci, A., Di Stefano, V., Di Martino, E., Schillaci, D., & Schicchi, R. (2017). Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. *Natural Product Research*, 31(6), 653–659.
- Graziano, A. C. E., Cardile, V., Crascì, L., Caggia, S., Dugo, P., Bonina, F., & Panico, A. (2012). Protective effects of an extract from *Citrus bergamia* against inflammatory injury in interferon-gamma and histamine exposed human keratinocytes. *Life Sciences*, 90(25–26), 968–974.
- Kammoun, A. K., Altyar, A. E., & Gad, H. A. (2021). Comparative metabolic study of *Citrus sinensis* leaves cultivars based on GC-MS and their cytotoxic activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 198, 113991.
- Kousar, S., Nadeem, F., Khan, O., & Shahzadi, A. (2017). Chemical Synthesis of Various Limonene Derivatives-A Comprehensive Review. *Ijcbcs*, 11, 102–112.
- Marchese, E., D'onofrio, N., Balestrieri, M. L., Castaldo, D., Ferrari, G., & Donsì, F. (2020). Bergamot essential oil nanoemulsions: antimicrobial and cytotoxic activity. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 75(7–8), 279–290.
- Nabiha, B., Kachouri, F., & Herve, C. (2010). Chemical Composition of Bergamot (*Citrus Bergamia* Risso) Essential Oil Chemical Composition of Bergamot (*Citrus Bergamia* Risso) Essential Oil Obtained by Hydrodistillation. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 4(April), 60–62.
- Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M., & Calapai, G. (2015). Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. *Frontiers in Pharmacology*, 6(MAR), 1–7.
- Nwachukwu, B. C., Taiwo, M. O., Olisemeke, J. K., OOboro, J., & Abibu, W. A. (2019). Qualitative Properties and Antibacterial Activity of Essential

Oil obtained from Citrus sinensis Peel on Three Selected Bacteria. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 19(4), 14427–14432.

- Oyediji, A. O., Okunowo, W. O., Osuntoki, A. A., Olabode, T. B., & Ayo-folorunso, F. (2020). Insecticidal and biochemical activity of essential oil from Citrus sinensis peel and constituents on Callosobrunchus maculatus and Sitophilus zeamais. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 168(January), 104643.
- Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Melo, N. R. de, & Sanches-Silva, A. (2017). Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 132–140.
- Russo, R., Ciociaro, A., Berliocchi, L., Valentina Cassiano, M. G., Rombolà, L., Ragusa, S., & Corasaniti, M. T. (2013). Implication of limonene and linalyl acetate in cytotoxicity induced by bergamot essential oil in human neuroblastoma cells. *Fitoterapia*, 89(1), 48–57.
- Shu, H., Chen, H., Wang, X., Hu, Y., Yun, Y., Zhong, Q., & Chen, W. (2019). Antimicrobial Activity and Proposed Action Mechanism of 3-Carene against Brochothrix thermosphacta and Pseudomonas fluorescens. *Molecules*, 24(18).
- Simeone, G. D. R., Di Matteo, A., Rao, M. A., & Di Vaio, C. (2020). Variations of peel essential oils during fruit ripening in four lemon (Citrus limon (L.) Burm. F.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 193–200.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 587–595.