

The Potency of Rosemary Essential Oil on Tick Lethal Time *In Vitro* Test

Bayu F. Prasetyo^{1*}, Upik K. Hadi², Tytha N. Winarto³

¹Department of Clinic, Reproduction and Patology, Veterinary Medicine of Faculty, IPB University, Bogor, Indonesia

²Department of Animal Diseases and Veterinary Health, Veterinary Medicine of Faculty, IPB University, Bogor, Indonesia

³Bachelor of Veterinary Medicine, Veterinary Medicine of Faculty, IPB University, Bogor, Indonesia

Submitted 20 August 2022; Revised 27 October 2022; Accepted 14 November 2022; Published 27 December 2022

*Corresponding author: febram1977@gmail.com

Abstract

Rosemary essential oil is already used in many fields for its health benefit. One of less known benefits are the antiparasitic properties. This study aims to analyze the effect of rosemary essential oil administration on the time of tick death tick (*Rhipicephalus sanguineus*). In this study, 50 ticks were divided into 5 groups and each group got 5 different treatments such as 10%, 15%, and 20% concentration of rosemary essential oil, also commercial anti parasite containing fipronil 3% as control positive and virgin coconut oil as control negative. The tick groups were observed in 3 periods of 30 minutes each. The group with rosemary essential oil concentration 10% treatment have LT₅₀ at 2 hours 27 minutes, the 15% concentration rosemary essential oil treatment group have LT₅₀ at 1 hour 10 minutes, and the 20% concentration rosemary essential oil treatment group have LT₅₀ at 34 minutes. The result of this study concluded that the rosemary essential oil in 20% concentration is almost as effective as the commercial anti parasite containing active ingredient fipronil 3% in its acaricidal properties.

Keywords: acaricidal, essential oil, rosemary, tick

Potensi Minyak Rosemari pada Waktu Kematian Caplak secara *In Vitro*

Abstrak

Minyak esensial rosemari telah banyak digunakan di berbagai bidang karena manfaatnya bagi kesehatan. Salah satu manfaat yang kurang diketahui adalah sifat antiparasitnya. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian minyak esensial rosemari terhadap waktu kematian caplak *Rhipicephalus sanguineus*. Pada penelitian ini, 50 ekor caplak dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok mendapatkan 5 perlakuan yang berbeda yaitu minyak esensial rosemari konsentrasi 10%, 15%, dan 20% serta antiparasit komersial yang mengandung fipronil 3% sebagai kontrol positif dan minyak kelapa murni sebagai kontrol negatif. Kelompok caplak diamati dalam 3 kali periode masing-masing 30 menit. Kelompok perlakuan minyak esensial rosemari konsentrasi 10% memiliki LT₅₀ pada 2 jam 27 menit, kelompok perlakuan minyak esensial rosemari konsentrasi 15% memiliki LT₅₀ pada 1 jam 10 menit, dan kelompok perlakuan minyak esensial rosemari konsentrasi 20% memiliki LT₅₀ pada menit ke-34. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa minyak esensial rosemari dalam konsentrasi 20% hampir sama efektifnya dengan antiparasit komersial yang mengandung bahan aktif fipronil 3% yang memiliki sifat akarisidal.

Kata Kunci: akarisidal, minyak esensial, rosemari, caplak

1. Pendahuluan

Hewan anjing telah menjadi bagian dari peradaban manusia, manusia banyak memanfaatkan hewan anjing untuk berburu, menjaga hewan ternak dan sebagai hewan kesayangan, hingga yang paling mutakhir sebagai media terapi seperti alat bantu untuk penyandang disabilitas. Keberadaan anjing di lingkungan manusia memiliki manfaat untuk kesehatan seperti menurunkan tingkat stress dan meningkatkan kualitas kesehatan kardiovaskular¹. Namun perlu diperhatikan resiko yang dapat ditimbulkan oleh anjing terhadap manusia seperti penyakit menular (zoonosis). Salah satunya adalah ektoparasit, dimana hewan ini hidup dan berkembangbiak di rambut anjing yang hangat dan lembut².

Prevalensi kejadian ektoparasit anjing cukup tinggi, dengan persentase tertinggi infestasi caplak anjing *Rhipicephalus sanguineus* yaitu sebesar 73.3%, diikuti *Haemaphysalis* sp. (46.7%), *Dermacentor* sp. (20%), *Ctenocephalides canis* (13.3%) dan *Laelapidae* sp. (6,7%)². Infestasi ektoparasit caplak pada anjing menimbulkan manifestasi klinis berupa penurunan berat badan, kerontokan rambut, trauma, iritasi, anemia, bahkan kematian³. Hal ini tentunya menurunkan derajat kesejahteraan hewan pada anjing. Selain itu, potensi zoonosis akibat infestasi caplak ini perlu diantisipasi oleh pemilik hewan. Berbagai bahan aktif akarisisida lain dilaporkan telah mengalami resistensi pada caplak anjing. Kekurangan lain dari akarisisida yang dijual secara komersil pada saat ini umumnya kurang terjangkau dan durasi efektif dari obat tersebut dinilai pendek sehingga perlu dilakukan pengulangan dalam jangka waktu yang singkat⁴. Contoh sediaan yang beredar di pasaran yaitu amitraz, fipronil, dieltrin dan ivermectin.

Salah satu alternatif sediaan anti-ektoparasit yang banyak dipelajari saat ini adalah tanaman herbal. Salah satunya adalah tanaman herbal dari keluarga Lamiaceae. Lamiaceae merupakan kelompok tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan dan kaya akan kandungan polifenol. Salah satu tanaman potensial dari keluarga Lamiaceae adalah tanaman rosemary

(*Rosmarinus officinalis*) yang memiliki minyak esensial. Rosemary memiliki kandungan triterpenoid, asam fenolik, dan flavonoid serta asam karnosik, karnosol dan asam rosmarinik yang merupakan senyawa antioksidan utama yang ada di dalamnya⁵.

Studi penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rosemary memiliki efek akarisisida terhadap caplak dari keluarga Tetranychidae⁶ dan efek akarisisida terhadap strain caplak *Boophilus microplus* dari keluarga caplak Ixodidae yang resisten terhadap akarisisida komersil⁷. Namun studi mengenai efek akarisisidal minyak rosemary terhadap caplak *Rhipicephalus sanguineus* belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian minyak esensial rosemary terhadap waktu kematian caplak dengan menganalisis perbedaan jumlah kematian caplak dan *Lethal Time 50* (LT₅₀) berdasarkan konsentrasi pemberian minyak esensial rosemary.

2. Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, pipet tetes, beaker glass, gelas ukur, stopwatch atau timer, timbangan analitik.

2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah caplak *Rhipicephalus sanguineus* (Isolasi selektif dari anjing terinfeksi daerah Pejaten Shelter Jakarta), anti caplak komersial Deticks (Indonesia) memiliki kandungan aktif fipronil 3%, *Virgin Coconut Oil* (Indonesia), minyak rosemary komersial *Happy Green Organic Rosemary Essential Oil* (Indonesia).

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Pengumpulan Bahan

Sebanyak 50 ekor caplak *Rhipicephalus sanguineus* dengan ukuran yang sama diperoleh secara selektif pada anjing yang terinfeksi dari daerah Pejaten Shelter Jakarta digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

2.3.2. Uji Efektivitas pada Caplak

Penelitian ini dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan yaitu K+ (kontrol positif) diberikan anti caplak komersial Deticks yang memiliki kandungan aktif fipronil 3%, K- (kontrol negatif) diberikan *Virgin Coconut Oil* (VCO) murni tanpa campuran, P (perlakuan) diberikan minyak rosemary komersial *Happy Green Organic Rosemary Essential Oil* konsentrasi 10%, 15% dan 20%. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor caplak dengan dua kali pengulangan.

Caplak dari masing-masing kelompok perlakuan diletakkan ke dalam cawan petri dan diberikan perlakuan sebanyak 0,5 ml sesuai dengan perlakuan setiap kelompok. Kemudian cawan petri ditutup menggunakan kain kasa. Setiap kelompok dilakukan pengamatan selama 30 menit sebanyak 3 periode waktu. Parameter yang diamati dan dihitung adalah terjadinya kematian dengan kondisi tubuh caplak kaku, tidak bergerak, tidak berespon terhadap rangsangan jika disentuh, dan posisi kaki tidak teratur.

2.3.3. Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan perhitungan jumlah caplak mati menggunakan analisis univariat dan analisis hubungan variabel. Analisis univariat dilakukan untuk

mendapatkan gambaran distribusi frekuensi tentang efektivitas paparan minyak esensial rosemary dengan variasi konsentrasi terhadap mortalitas caplak, sedangkan analisis hubungan variabel dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah mortalitas caplak berdasarkan lama kontak dan konsentrasi cuka apel menggunakan oneway ANOVA dan LT_{50} (*Lethal Time 50*) menggunakan analisis probit.

3. Hasil

3.1. Jumlah Kematian Caplak

Sebanyak 50 ekor caplak telah dilakukan uji menggunakan Deticks (K+), VCO (K-), minyak rosemary 10% (P10%), 15% (P15%) dan 20% dengan dua kali pengulangan. Berdasarkan uji efektivitas yang telah dilakukan, hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase jumlah kematian caplak tiap kelompok (Tabel 1) yang terendah adalah K- yang diberi VCO (0%). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh jumlah caplak yang diamati tidak ada yang mati. Sedangkan persentase tertinggi adalah K+ yang diberi Deticks (100%) dan P20% yang diberi minyak rosemary 20% (100%). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh jumlah caplak yang diamati mengalami kematian. Caplak mengalami kematian hingga 100% pada periode ke 2

Tabel 1. Presentasi jumlah kematian caplak tiap kelompok dalam dua kali pengulangan

Pengulangan 1	K-	K+	P10%	P15%	P20%
Periode 1	0	2(40%)	1(20%)	3(60%)	4(80%)
Periode 2	0	5(100%)	2(40%)	4(80%)	4(80%)
Periode 3	0	5(100%)	4(80%)	4(80%)	5(100%)
Total	0	5	4	4	5
Presentasi Kematian	0%	100%	80%	80%	100%
Pengulangan 2					
Periode 1	0	2(40%)	0(0%)	1(20%)	4(80%)
Periode 2	0	5(100%)	3(60%)	1(20%)	4(80%)
Periode 3	0	5(100%)	4(80%)	5(100%)	5(100%)
Total	0	5	4	5	5
Presentasi Kematian	0%	100%	80%	100%	100%

dan 3. Pada P10% dan P15% menunjukkan persentase jumlah kematian caplak sebesar 80% di pengulangan 1, namun di pengulangan kedua P15% (100%) dibandingkan P10% (80%). Hal ini menunjukkan bahwa P15% memiliki jumlah kematian yang lebih tinggi dibandingkan dengan P10%.

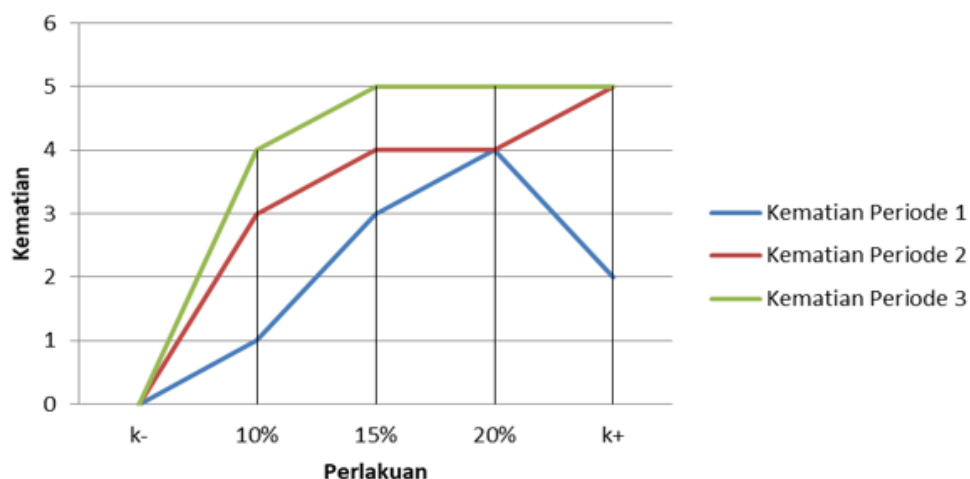
Berdasarkan grafik kematian perkonsentrasi perlakuan (Gambar 1) bahwa rata-rata kematian caplak semakin meningkat dari periode 1 hingga ke 3. Baik kelompok yang diberi perlakuan Deticks maupun minyak rosemary. Namun, kecepatan dalam mematikan caplak, P20% dengan minyak rosemary konsentrasi 20% lebih baik dari pada K+ yang diberi Deticks anticaplak komersil dengan kandungan fipronil.

3.2. Pengaruh Tingkat Konsentrasi dan Waktu Paparan Minyak Esensial Rosemary terhadap Mortalitas Caplak

Hasil dari analisis data berdasarkan pengaruh tingkat konsentrasi pada Tabel 2 menunjukkan nilai probabilitas signifikansi sebesar 0.000. Nilai tersebut masih dibawah <0.05 menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan antara perlakuan pemberian konsentrasi minyak esensial rosemary dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% terhadap jumlah kematian caplak yang diberi perlakuan minyak esensial rosemary tersebut. Sedangkan untuk hasil dari analisis data berdasarkan pengaruh tingkat waktu pada Tabel 3 menunjukkan hasil uji R square

yang sebesar 0.271. Angka ini menjadi Koefisien Penentu. Artinya pada taraf selang kepercayaan yang sebesar 95%, waktu menjadi faktor yang mempengaruhi jumlah kematian caplak dengan kontribusi 27.1%, sedangkan sisanya merupakan pengaruh faktor lain. Selain itu, dapat juga dilihat tingkat signifikan data sebesar 0.003 pada Tabel 4. Angka tersebut masih dibawah 0.005 sehingga dapat dikatakan waktu paparan mempengaruhi jumlah kematian caplak akibat perlakuan secara signifikan.

Berdasarkan hasil uji ANOVA (Tabel 4) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, dilakukan Uji Post Hoc yang bertujuan untuk melihat lebih lanjut mana saja kelompok yang berbeda. Berdasarkan hasil uji post hoc diatas. Minyak esensial rosemary konsentrasi 10% dengan minyak esensial rosemary konsentrasi 15% memiliki signifikansi 0,903. Angka tersebut diatas 0,05 sehingga dapat dikatakan tidak ada perbedaan yang signifikan diantara kedua konsentrasi tersebut. Hal ini berlaku pula pada minyak esensial rosemary 15% dengan kontrol positif yang mendapatkan nilai 0,684. Kemudian antara minyak esensial rosemary konsentrasi 20% dengan kontrol positif yang mendapatkan nilai signifikan 1,000. Hal ini berarti minyak esensial rosemary konsentrasi 20% tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol positif dan memiliki keefektifan yang hampir sama dalam membunuh caplak.



Gambar 1. Grafik kematian perkonsentrasi perlakuan

Tabel 2. Jumlah mortalitas caplak setelah perlakuan minyak esensial rosemary pada konsentrasi 10%, 15% dan 20%

Konsentrasi Minyak Esensial	Jenis	Jumlah Caplak yang diuji	Mortalitas		
			30 menit	60 menit	90 menit
10%	P	5	1	3	4
	K+	5	2	5	5
	K-	5	0	0	0
15%	P	5	3	3	5
	K+	5	2	5	5
	K-	5	0	0	0
20%	P	5	4	4	5
	K+	5	2	5	5
	K-	5	0	0	0

Tabel 3. Hasil uji R square

Model summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.520a	.271	.245	1.68254

Keterangan : a. Predictors: (Constant) , Perlakuan

Tabel 4. Hasil uji ANOVA waktu pemaparan minyak esensial rosemary terhadap mortalitas caplak

ANOVA ^b						
	Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	29.400	1	29.400	10.385	.003a
	Residual	79.267	28	2.831		
	Total	108.667	29			

Keterangan : a. Predictors: (Constant) , Perlakuan

b. Dependent Variable: Mortalitas

Tabel 5. Uji Lethal Time 50 (LT₅₀)

Konsentrasi Minyak Esensial Rosemary	LT ₅₀
10%	2 jam 27 menit
15%	70 menit
20%	34 menit

3.3. Lethal Time (LT₅₀)

Lethal Time (LT) merupakan lama waktu yang dibutuhkan untuk membunuh caplak pada presentasi waktu tertentu. Pada penelitian ini digunakan LT₅₀ dimana diperlukan untuk mematikan 50% populasi caplak terhadap minyak esensial rosemary dengan varian konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Berdasarkan data pada Tabel 5, dapat dilihat masing-masing waktu yang diperlukan untuk tiap konsentrasi membunuh 50% dari jumlah caplak yang diberi perlakuan. Minyak esensial rosemary konsentrasi 10% membutuhkan waktu 2 jam 27 menit untuk membunuh setengah dari jumlah caplak yang diberi perlakuan, sedangkan minyak esensial rosemary konsentrasi 15% membutuhkan waktu 70 menit, dan minyak esensial rosemary konsentrasi 20% membutuhkan waktu 34 menit untuk membunuh setengah dari jumlah caplak yang diberikan perlakuan.

4. Pembahasan

Pada penelitian ini, minyak esensial rosemary dengan berbagai konsentrasi memiliki aktivitas mematikan caplak lebih baik dari pada anticaplak komersial yaitu pada konsentrasi 20%. Hal ini diduga disebabkan karena kandungan eugenol pada minyak rosemary yang memiliki aktivitas sebagai akarisisidal, sehingga efektif dalam mematikan caplak. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan eugenol terbukti memiliki aktifitas akarisisidal yang baik terhadap *S. Scabiei*, *P. cuniculi*, *P. ovis* secara in vitro. Eugenol memiliki gugus hidroksil yang berperan penting dalam aktifitas akarisisidal, selain itu gugus *o*-methoxy dan *p*-allyl juga mempengaruhi toksisitas eugenol terhadap caplak. Selain itu pada dosis tertentu eugenol juga dapat menghambat aktifitas cytochrome P450 dan inhibisi AChE^{8,10}. Cytochrome P450 ketika dihambat akan mengganggu proses metabolisme berbagai hormon yang dapat menyebabkan kematian dari caplak, sedangkan ketika AChE diinhibisi maka akan terjadi gangguan dari transmisi neuron dan mengganggu pergerakan dari caplak¹¹. Rosemary memiliki kandungan utama berupa eucalyptol (49,66%), α -pinene (17,08) dan

camphor (14,79%)¹². Berdasarkan persentase jumlah kematian caplak menunjukkan bahwa K+ dan P20% memiliki aktivitas yang hampir sama dalam mematikan caplak. Pada varian konsentrasi minyak rosemary, konsentrasi 20% adalah konsentrasi terbaik jika dibandingkan dengan 10% dan 15%. Namun hal ini menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi minyak rosemary, efektivitasnya semakin baik dengan jumlah kematian caplak semakin meningkat.

Pada hasil LT₅₀ yang menunjukkan bahwa konsentrasi 20% memiliki waktu lebih cepat dalam membunuh caplak jika dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 15%. Hal ini menunjukkan besarnya konsentrasi mempengaruhi waktu kematian caplak, dimana semakin besar konsentrasi minyak esensial rosemary yang digunakan semakin sedikit waktu yang diperlukan untuk membunuh caplak dan membuktikan minyak esensial rosemary konsentrasi 20% paling efektif untuk membunuh caplak dan minyak esensial rosemary konsentrasi 10%. Hasil ini didukung oleh penelitian pada peternakan lebah, bahwa kandungan 1,8 cineole pada rosemary menjadi alternatif zat kimia dalam melawan tungau atau sebagai fumigan¹³. Selain itu, penelitian nanoemulsi rosemary dalam bentuk sediaan aerosol (*spray*) menunjukkan aktivitas akarisisidal terhadap tungau laba-laba *Tetranychus urticae* dewasa. Aktivitas akarisisidal yang tinggi, stabilitas, dan keamanan nanoemulsi rosemary memiliki potensi sebagai formulasi nano akarisisidal¹⁴.

Rosemary memiliki kandungan utama yaitu 1,8-cineole (52,06%), α -pinene (15,35%), camphor (7,69%), β -pinene (5,74%), camphene (5,34%), borneol (2,28%) dan γ -caryophyllene (2,21%)¹⁵. Rosemary memiliki aktivitas anti inflamasi, hepatoprotektif, antibakteri, antitrombotik, diuretik, antidiabetes, antinosiseptif, aktivitas antikanker dan antioksidan. Senyawa 1,8-cineole merupakan senyawa yang memiliki aktivitas anthelmintik terkuat, dimana ekstrak rosemary mampu dalam mengeliminasi parasit¹⁶. Ekstrak metanol *Rosmarinus officinalis* memiliki aktivitas antijamur dan antiparasit yang baik, serta minyak atsirinya mampu menghambat bakteri

termasuk *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, dan *Salmonella choleraesuis*¹⁷. Minyak atsiri rosemary mengandung 1,8-cineole dan l-camphor sebagai komponen utama dan senyawa lainnya adalah -pinene, borneol L, camphene, -terpineol, -pinene, trans-caryophyllene, lbornyl acetate, -myrcene, dan -terpinene. Berdasarkan studi senyawa carvacrol, 1,8-cineole, -thujone, borneol L, -pinene, p-cymene, dan -terpinene teridentifikasi sebagai agen akarisidal utama¹⁸. Minyak atsiri yang terkandung pada rosemary memiliki efek akarisidal dan anti parasite¹⁹, dimana minyak atsiri rosemary menghasilkan >85% kematian larva *Rhipicephalus microplus* pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 10 dan 20%. Penggunaan tanaman herbal menjadi pilihan alternatif yang aman selain penggunaan antiparasit komersial. Selain itu, adanya aktivitas antiinflamasi dari zat aktif yang terdapat pada rosemary yaitu *alpha-pinene*, 1,8-cineole, dan camphor²⁰.

5. Kesimpulan

Minyak esensial rosemary yang paling efektif membunuh caplak adalah minyak esensial rosemary dengan konsentrasi 20% dengan LT₅₀ 34 menit. Minyak esensial rosemary hampir sama efektifnya dengan antiparasit komersial dengan kandungan fipronil 3% yang menjadi kontrol positif.

Daftar Pustaka

1. Beals EE. Emotional Benefits of Dog Ownership: Impact of the Presence of a Pet Dog on Owners' Responses to Negative Mood Induction. [Disertasi]. New York: The New School for Social Research; 2009.
2. Dahelmi KMP, Mairawita. Jenis-Jenis dan Prevalensi Ektoparasit Pada Anjing Peliharaan. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 2014;3(3): 183-187.
3. Puri KM, Dahelmi, Mairawita. Jenis-jenis dan prevalensi ektoparasit pada anjing peliharaan. J Bio UA. 2014;3(3):183-187.
4. Beck S, Schein VE, Baldermann, Himmelstjerna G, Michniak-Kohn B, Samson G. Tick infestation and tick prophylaxis in dogs in the area of Berlin/ Brandenburg-results of a questionnaire study. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift. 2013;126(1):69-76.
5. Kontogianni VG, Tomic G, Nikolic I, Nerantzaki AA, Sayyad N, Stanislava SG, et al. Phytochemical profile of Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis extracts and corelation to their antioxidant and anti-proliferative activity. Food Chemistry. 2013;136:120-129.
6. Salman SY, Saritas S, Kara N, Ay R. Acaricidal And Ovicidal Effects Of Sage (*Salvia Officinalis* L.) And Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) (Lamiaceae) Extracts On *Tetranychus Urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Journal Of Agricultural Sciences. 2014;20:358-367.
7. Singh NK, Miller RJ, Mklafke G, Goolsby JA, Thomas DB, Peres DAA. In vitro efficacy of botanical acaricide and its active ingredients againts larvae of susceptible and acaricide resistant strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). Ticks and Tick-borne Diseases. 2018;9(2):201-206.
8. Ma W, Fan Y, Liu Z, Hao Y, Mou Y, Liu Y, et al. The acaricidal activity and mechanis, of eugenol on *Psoroptes cuniculi*. Veterinary Parasitology. 2018;226: 56-62.
9. Dunn JA, Prickett JC, Collins DA, Weaver RJ. Primary screen for potential sheep scab control agents. Veterinary Parasitology. 2016;224: 68-76.
10. Pasay C, Mounsey K, Stevenson, Davis R, Arlian L, Morgan M, et al. Acaricidal Activity of Eugenol Based Compounds against Scabies Mites. PLoS One. 2010;5(8): e12079.
11. Shang XF, Dai LX, Liu YQ, Zhao ZM, Li JC, Yang GZ, et al. Acaricidal activity of active compounds of essential oils against *Psoroptes cuniculi*. Veterinary Parasitology. 2019;267: 54-49.
12. Ataide JO, Deolindo FD, Holtz FG, Huver A, Zago HB, Menini L. Acaricidal activity and repellency of commercial essential oils on *Tetranychus urticae* in vitro and protected cultivation. Agronomia colombiana.

- 2021;39(2):226-233.
13. Ismaili MR, Ramzi H, Fidah A, Rahouti M, Kabouchi B, Aberchane M. Ismaili Chemical variability and acaricidal activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. *Mor J Chem*. 2019;4:636-651.
 14. Mossa ATH, Afia SI, Mohafrash SMM, Abou-Awad BA. R. Rosemary essential oil nanoemulsion, formulation, characterization and acaricidal activity against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Plant Protection Research*. 2019;59(1):102-112.
 15. Aouadi M, Sebai E, Saratsis A, Kantzoura V, Saratsi K, Msaada K, et al. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* induces in vitro anthelmintic and anticoccidial effects against *Haemonchus contortus* and *Eimeria* spp. in small ruminants. *Veterinari Medicina*. 2018;66(04):146-155.
 16. Zoral MA, Futami K, Endo M, Maita M, Katagiri T. Anthelmintic activity of *Rosmarinus officinalis* against *Dactylogyrus minutus* (Monogenea) infections in *Cyprinus carpio*. *Veterinary Parasitology*. 2017;247:1-6.
 17. Saeidi S, Forgani F, Javadian F, Javadian E. Effects of *Rosmarinus officinalis* plant extract on *Trichomonas vaginalis* parasites and *Candida albicans* under laboratory conditions: an experimental study. *Gene Cell Tissue*. 2019;6(3):e92867.
 18. Djebir S, Ksouri S, Trigui M, Tounsi S, Boumaaza A, Hadeif Y, et al. Activity of the essential oils of some plant species of Lamiaceae and Myrtaceae against the vector of tropical bovine theileriosis: *Hyalomma scupense* (syn. *Hyalomma detritum*). *BioMed Research International*. 2019;1-9.
 19. Velazquez MM, Cruz RR, Herrera GC, Fernandez MF, Alvarez H, Cervantes EL. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*. 2011;48(4):822-827.
 20. Borges RS, Keita H, Ortiz BLS, Sampaio TIS, Ferreira IM, Lina ES, et al. Antiinflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: in vitro and in zebrafish studies. *Inflammopharmacology*. 2018;26:1057-1080.