

monograf

BAWANG PUTIH TUNGGAL **Khasiat dan manfaatnya**

Sri Rahayu Lestari



editor:

● **Muhaimin Rifa'i**

● **Abdul Gofur**

um
Penerbit & Percetakan

Lestari, S.R.

Monograf BAWANG PUTIH TUNGGAL: Khasiat dan Manfaatnya – Oleh: Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si – Cet. I – Malang: Penerbit Universitas Negeri Malang, 2021.

xiv, 182 hlm; 15 x 23 cm

ISBN: 978-602-470-361-5

Monograf
BAWANG PUTIH TUNGGAL:
Khasiat dan Manfaatnya

Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si

Editor:

Prof. Muhaimin Rifai

Prof. Abdul Gofur

Desain Cover dan Layout:

Siti Nur Arifah, S.Pd., M.Si

- Hak cipta yang dilindungi:
Undang-undang pada : Penulis
Hak Penerbitan pada : Universitas Negeri Malang
Dicetak oleh : Universitas Negeri Malang

Dilarang mengutip atau memperbanyak dalam bentuk apapun tanpa izin tertulis dari penulis. Isi diluar tanggung jawab Penerbit.

- Universitas Negeri Malang
Anggota IKAPI No. 059/JTI/89
Anggota APPTI No. 002.103.1.09.2019
Jl. Semarang 5 (Jl. Gombang 1) Malang, Kode Pos 65145
Telp. (0341) 562391, 551312; psw. 1453
-

- Cetakan I: 2021
-

Monograf
BAWANG PUTIH
TUNGGAL:
Khasiat dan Manfaatnya

Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si

Editor:
Prof. Muhaimin Rifa'i
Prof. Abdul Gofur



Penerbit & Percetakan

Universitas Negeri Malang
Anggota IKAPI No. 059/JTI/89
Anggota APPTI No. 002.103.1.09.2019
Jl. Semarang 5 (Jl. Gombong 1) Malang, Kode Pos 65145
Telp. (0341) 562391, 551312 psw 1453

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena dengan rahmat-Nya penulis mampu menyelesaikan monograf yang berjudul *Bawang Putih Tunggal: Khasiat dan Manfaatnya*. Monograf ini disusun berdasarkan hasil penelitian di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Manusia, FMIPA, Universitas Negeri Malang.

Monograf dilengkapi kajian peran senyawa aktif bawang tunggal dalam memperbaiki fisiologi hewan coba yang diberi pakan tinggi kalori dan lemak. Monograf ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber materi belajar mahasiswa untuk mempelajari fisiologi hewan.

Ucapan terima kasih penulis tujukan pada Tim Peneliti Fisiologi Hewan, seluruh asisten dosen Fisiologi Hewan yang membantu persiapan penyusunan monograf. Semoga monograf ini bermanfaat bagi para pembacanya.

Malang, April 2021

Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Metode Pemecahan Masalah	6
BAB II METABOLIT SEKUNDER PADA BAWANG PUTIH TUNGGAL	9
A. Hasil LC-MS dan HPLC Bawang Putih Tunggal	10
B. Hasil LC-MS Bawang Papua	19
C. Hasil LC-MS Bawang Majemuk	24
D. Keunggulan Metabolit Sekunder pada Bawang Tunggal	30
BAB III KAJIAN <i>MOLECULAR DOCKING</i> EKSTRAK BAWANG PUTIH TUNGGAL SEBAGAI KANDIDAT <i>HERBAL MEDICINE</i> POTENSIAL	36
A. Identifikasi Target	37
B. Validasi Target	39
C. Identifikasi Senyawa	39
D. Optimasi Senyawa	40

BAB IV POTENSI BAWANG PUTIH TUNGGAL UNTUK MEMPERBAIKI FISIOLOGI HEWAN COBA YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK.....	82
A. Perbaikan Profil Lipid setelah Pemberian Ekstrak Bawang Putih Tunggal	82
B. Peran Bawang Putih Tunggal pada Radikal Bebas	88
C. Peningkatan Antioksidan Endogen oleh Ekstrak Bawang Putih Tunggal	102
D. Peran bawang putih tunggal pada sistem reproduksi mencit jantan	108
 BAB V POTENSI BAWANG PUTIH SEBAGAI ANTI-INFLAMASI UNTUK MENEKAN BERBAGAI INFEKSI.....	120
A. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih Tunggal terhadap Jumlah Limfosit pada mencit yang diinduksi Diet Tinggi Lemak	123
 BAB VII PENUTUP.....	143
 DAFTAR RUJUKAN	145
GLOSSARIUM.....	174

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Profil senyawa hasil LC-MS ekstrak bawang tunggal	16
2.2	Profil senyawa hasil LC-MS ekstrak bawang Papua	21
2.3	Profil senyawa hasil LC-MS ekstrak bawang majemuk	27
3.1	Ringkasan Farmakokinetik pada Bawang Putih Tunggal (<i>Allium sativum</i>) Lokal Jawa Timur	48
3.2	LD ₅₀ Senyawa Aktif Bawang Putih Tunggal (<i>Allium sativum</i>) Lokal Jawa Timur	51
3.3	Hasil <i>Molecular Docking</i> Berupa Afinitas Pengikatan	52
3.4	Nilai Afinitas Pengikatan dari Hasil <i>Molecular Docking</i>	54
3.5	Residu Asam Amino Pada Masing-Masing Senyawa	56
3.6	Hasil Nilai <i>Binding Affinity</i> Senyawa Ligan dengan Menggunakan <i>Software</i> Pyrx	58
3.7	Hasil Jenis dan Jarak Ikatan Senyawa Ligan Menggunakan <i>Software</i> Discovery Studio	60
3.8	Nilai Energi Ikatan Ligan	61
3.9	Ikatan dan Jarak Ikatan ligan dengan Enzim Lanosterol Synthase	63
4.1	Rerata diameter zona hambat pada kultur bakteri <i>S. aureus</i>	69
4.2	Hasil <i>Molecular docking</i> Senyawa Organosulfur dalam Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>) Tunggal dan Senyawa Kontrol dengan Enzim LpxC menggunakan <i>Software</i> PyRx	76

4.3	Hasil pengukuran zona hambat dari ekstrak bawang tunggal terhadap pertumbuhan bakteri <i>P. aeruginosa</i>	79
5.1	Profil lipid serum darah mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Struktur kimia dari komponen organosulfur utama pada bawang putih	11
2.2	Kromatografi hasil LC-MS Ekstrak Bawang Tunggal	12
2.3	Kromatografi hasil HPLC ekstrak bawang tunggal dengan standart alliin dan allicin	13
2.4	Kromatografi hasil HPLC ekstrak bawang tunggal dengan standart Z-ajone dan E-ajoene	15
2.5	Kromatografi hasil LC-MS Ekstrak Bawang Papua	20
2.6	Kromatografi hasil LC-MS ekstrak bawang majemuk	26
3.1	Alur Proses Penemuan Obat dengan Komponen Komputasi	38
3.2	Ringkasan Penemuan Obat Baru	42
3.3	Visualisasi tiga dimensi kompleks HMG-KoA reduktase dengan senyawa BPT yang terikat dengan ikatan hidrogen	53
3.4	Visualisasi tiga dimensi kompleks BVT-2733 pada enzim 11β -HSD1 dengan senyawa BPT yang terikat dengan ikatan hidrogen	55
3.5	Jenis ikatan dan jarak pengikatan senyawa dengan residu asam amino enzim 11β -HSD1	57
3.6	Hasil Visualisasi Posisi Pengikatan Senyawa Ligan dengan Protein Target	59
3.7	Posisi pengikatan senyawa ligan dan kontrol pada sisi aktif enzim lanosterol synthase	62

4.1	Hasil Pengamatan Morfologi bakteri <i>S. aureus</i> menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> dengan perbesaran 25000X	70
4.2	Klarifikasi Sisi Pengikatan Senyawa Organosulfur dari Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>) Tunggal dan Kontrol (Ciprofloxacin dan Imipenem) pada Enzim LpxC	77
4.3	Metode disk diffusion untuk mengukur zona hambat bakteri <i>P. aeruginosa</i>	80
4.4	Kerusakan bakteri <i>P. aeruginosa</i> diamati menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	81
5.1	Jumlah adiposit	87
5.2	Diameter adiposit	88
5.3	Kadar ROS serum	90
5.4	Kadar MDA hepar mencit	93
5.5	Hasil pengamatan preparat histologi hati mencit (perbesaran 400x)	95
5.6	Ekspresi VCAM-1 pada aorta mencit	99
5.7	Mekanisme Antioksidan Senyawa <i>S-allylcysteine</i> (SAC)	101
5.8	Aktivasi VCAM-1 dimediasi oleh NFκB	102
5.9	Kadar SOD serum	104
5.10	Kadar katalase serum dan hepar mencit	105
5.11	Kadar GPx serum dan hepar mencit	106
5.12	Peran antioksidan SOD, CAT, dan GSHPx dalam mengonversi radikal bebas	109
5.13	Kualitas sperma mencit	111
5.14	Berbagai jalur pembentukan AGE	115
5.15	Kadar AGE dan RAGE epididimis mencit	117

6.1	Proses terjadinya Inflamasi	122
6.2	Perlakuan minyak bawang tunggal menekan ekspresi NF κ B dan mengurangi produksi sitokin proinflamasi IFN- γ dan TNF- α oleh sel T pada mencit diet tinggi lemak. pada mencit diet tinggi lemak	129
6.3	Pemberian minyak bawang putih tunggal mampu menurunkan kadar sitokin pro inflamasi TNF- α dan IL-6 pada serum darah dan aorta mencit yang diberi diet tinggi lemak	121
6.4	Pemberian minyak bawang putih tunggal (<i>A. sativum</i>) memicu aktivasi sel T regulator dan meningkatkan sitokin anti inflamasi IL-10 dan TGF- β pada mencit yang diinduksi dengan diet tinggi lemak	132
6.5	Grafik rerata jumlah limfosit setiap perlakuan	135
6.6	Penurunan jumlah makrofag yang mensekresikan sitokin pro inflamasi TNF- α dan IL-1b pada mencit HFD yang diberi EBT	136
6.7	Peningkatan jumlah makrofag yang memproduksi sitokin anti inflamasi pada mencit HFD setelah diberi EBT	139

BABI

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Keanekaragaman tumbuhan di Indonesia mempunyai potensi untuk dapat dikembangkan sebagai bahan alam berkhasiat obat. Bawang putih sejak lama digunakan oleh masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit. Bawang putih (*Allium sativum* L.) termasuk dalam family Alliaceae yang telah dikenal ratusan tahun, dan dibudidayakan untuk berbagai tujuan seperti kuliner, pengobatan maupun keagamaan. Bawang putih menempati salah satu posisi teratas di antara sayuran yang berkontribusi dalam pemeliharaan kesehatan manusia (Ayalew dkk., 2015).

Bawang putih telah dikenal selama ratusan tahun dan memiliki banyak kualitas yang bermanfaat. Penggunaan bawang putih sebagai promotor kesehatan dan agen terapeutik dalam pengobatan tradisional telah berlangsung lebih dari 4000 tahun (Morales-González dkk., 2019). Bawang putih memiliki variasi yang cukup tinggi berdasarkan aspek ukuran, bentuk, dan warna umbi, jumlah siung per umbi, ukuran siung, aroma, dan kemampuan berbunga serat karakteristik daun (Devy & Suprianto, 2007).

Terdapat lebih dari 600 sub-varietas bawang putih yang tersebar di seluruh dunia (Omar, 2013), dan Indonesia memiliki beberapa kultivar bawang putih yang lebih unggul dibandingkan dengan bawang putih impor dari negara lain baik dari segi aroma maupun rasa.

Perbedaan varietas pada bawang putih juga dapat diketahui berdasarkan skrining fitokimia kandungan metabolit sekunder pada masing-masing varietas.

Bawang putih tunggal merupakan bawang yang secara morfologi hanya tersusun dari satu umbi. Umbi tunggal yang terjadi merupakan ekspresi stress lingkungan yang dialami oleh bawang karena ketinggian tempat dan nutrisi dalam tanah. Berdasarkan penelitian Pujiastuti dkk. (2017) minyak bawang putih yang diberikan secara oral selama 28 hari tidak menimbulkan toksisitas bagi penggunaannya. Minyak bawang putih tunggal juga bermanfaat untuk meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis (Agnesa dkk., 2017a). Kandungan senyawa aktif bawang putih tunggal diduga lima kali lebih tinggi dibandingkan dengan bawang normal.

Kajian metabolit sekunder berupa senyawa aktif bawang putih tunggal menjadi hal yang menarik untuk dilakukan. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak diperlukan oleh suatu organisme untuk kelangsungan hidup, namun memiliki dampak positif bagi kesehatan bila dikonsumsi. Hasil penelitian kami mengenai karakterisasi metabolit sekunder bawang putih tunggal melalui metode *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS), menunjukkan dalam ekstrak kasar bawang putih tunggal mengandung banyak senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan. Hasil kuantifikasi kadar senyawa dengan komposisi tertinggi dalam ekstrak menggunakan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) juga menunjukkan kandungan senyawa pada bawang tunggal cukup tinggi.

2 Monograf: Bawang Tunggal: Khasiat dan Manfaatnya

Beberapa penelitian menunjukkan senyawa bawang putih dapat dimetabolisme dengan baik di dalam tubuh. Analisis senyawa bawang putih dalam napas, plasma atau cairan lambung mengungkapkan diallyl-disulfida, alil-mercaptan, metil-allyl sulfida mungkin dimetabolisme pada manusia (Rosen dkk., 2000). Dalam studi lain alil-metil-sulfon dan *alil-metil-sulfoxide* ditemukan di dalam perut, plasma, jaringan hati dan urin dari mencit yang diberi makan dengan diallyl-disulfida (Gupta & Porter, 2001; Liu & Yeh, 2002). Bawang putih juga dapat menghambat sintesis trigliserida melalui penghambatan enzim *Fatty Acid Synthase* (FAS) (Liu & Yeh, 2002).

Bawang putih melemahkan stres oksidatif dengan menghambat hidrogen peroksida (H_2O_2) dan produksi anion superoksida (O_2^-) melalui penghambatan enzim anti-oksidatif superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan *glutathione peroksidase* (GPx) (Farias-Campomanes dkk., 2014). Penelitian lain menunjukkan bawang putih dapat mengurangi tembaga-induced (Cu^{2+}) oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) (Numagami & Ohnishi, 2001). Bawang putih berinteraksi dengan produksi nitrit oksida (NO), selain itu allicin mampu menghambat ekspresi lipopolisakarida (LPS) diinduksi *NO-synthase* (iNOS) dan *S-allyl cysteine* (Dirsch dkk., 1998).

Bawang putih dapat memediasi efek imunomodulator melalui aktivitas fagositosis sel darah perifer pada mencit yang diinduksi dengan LPS (Hodge dkk., 2002; Kyo dkk., 2001). Bawang putih diduga

dapat menghambat nuclear factor kappa B (NF- κ B) dan TNF- α serta ekspresi molekul adhesi. Berdasarkan hal tersebut diduga bawang putih dapat menghambat mekanisme penekanan proliferasi sel-sel otot polos dan sel endotel pada menciit yang mengalami aterosklerosis.

Hiperkolesterolemia berhubungan erat dengan hiperlipidemia dan hiperlipoproteinemia (Nelson, 2013). Hiperkolesterolemia dapat terjadi akibat kelainan kadar lipoprotein dalam darah yang dalam jangka panjang mempercepat kejadian aterosklerosis dan stroke yang bermanifestasi dalam berbagai penyakit kardiovaskuler (Bantas dkk., 2012). Jumlah penderita penyakit kardiovaskuler akibat aterosklerosis di dunia pada tahun 2008 yang dinyatakan meninggal sebesar 31% atau 17.5 juta jiwa dan 80% karena serangan jantung dan stroke (World Health Organization (WHO), 2011). Penyakit kardiovaskuler diperkirakan pada tahun 2025 akan meningkat 80-90% di seluruh dunia di negara maju maupun berkembang (Roth-Gregory dkk., 2015).

Aterosklerosis merupakan penyakit inflamasi karena konsentrasi kolesterol plasma yang tinggi, khususnya pada kolesterol LDL. LDL merupakan salah satu faktor risiko utama pada aterosklerosis (Hansson, 2005). Aterosklerosis secara umum terjadi pada tunika intima arteri. Pada arteri ini partikel LDL dapat mengalami oksidasi (oxLDL) dan menjadi promotor aterogenesis (Rocha & Libby, 2009). LDL merupakan bentukan akhir yang akan diangkut dalam serum dari sintesis berlebih kolesterol di dalam hati.

Biosintesis kolesterol diprekursori oleh squalene (Yoshioka dkk., 2020) dan metabolisme kolesterol dimulai dari 2 karbon

intermediet metabolik, asetil-CoA yang akan diregulasi menjadi sejumlah reaksi enzimatik dan akhirnya menjadi kolesterol 27 molekul karbon. Pembentukan asetil-CoA diperoleh dari katabolisme dari lipid, karbohidrat, dan protein. asetil-CoA akan dikonversi oleh serangkaian reaksi yang diawali dengan pembentukan *3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA* (HMG-CoA). HMG-CoA kemudian dikonversi ke mevalonate dengan enzim HMG-CoA reduktase atau HMGR, suatu enzim yang terikat dalam retikulum endoplasma, RE). Reaksi yang dikatalis dengan HMG-CoA reduktase untuk membatasi tingkat biosintesis kolesterol (DeBose-Boyd, 2008).

Sampai saat ini penjelasan tentang dinamika bahan aktif allicin dan ajoene dalam metabolisme tubuh penderita hiperkolesterol belum dilaporkan. Bahan aktif kompleks allicin dan ajoene merupakan bahan penting dalam menghambat pembentukan kolesterol melalui penghambatan enzim HMG-CoA dan FAS (Borlinghaus dkk., 2014a).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah yang akan diangkat pada tulisan ini adalah

1. Senyawa apa saja yang terkandung dalam ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum*)?

2. Bagaimana potensi dan peran ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum*) terhadap penyakit metabolik baik secara *in silico* maupun *in vivo*?

Tujuan dari penulisan ini adalah mengkaji peran ekstrak bawang putih tunggal sebagai bahan lokal yang bermanfaat bagi kesehatan baik secara studi *in silico* maupun *in vivo*.

C. Metode Pemecahan Masalah

Metode pemecahan masalah pada tulisan ini adalah melalui penelitian eksperimental. Hasil penelitian kemudian dikaitkan dengan beberapa hasil penelitian dari artikel dengan topik yang terkait. Beberapa artikel hasil penelitian tentang ekstrak bawang putih serta pengaruhnya terhadap penyakit metabolisme dikumpulkan dari penerbit publikasi untuk dijadikan sumber rujukan.

Pada penulisan ini akan mengkaji beberapa hal mengenai karakterisasi ekstrak bawang putih tunggal, peran ekstrak bawang putih tunggal sebagai antibakteri, pendugaan potensi senyawa ekstrak bawang putih tunggal melalui studi komputasi, dan peran ekstrak bawang putih tunggal dalam kasus inflamasi berdasarkan dengan hasil penelitian dan didukung dengan teori dari beberapa hasil penelitian lain yang berhubungan. Hal-hal yang akan dikaji untuk melihat potensi ekstrak bawang putih tunggal adalah 1) karakteristik senyawa berdasarkan hasil analisa LCMS dan HPLC; 2) studi antibakteri melalui uji zona hambat, 3) membuat preparat imunohistokimia (IHK) untuk menganalisis ekspresi sitokin proinflamasi; dan 4) analisis *flow*

cytometry untuk menganalisis peran ekstrak bawang putih tunggal sebagai anti-inflamasi.

Monograf ini diharapkan dapat menambah atau melengkapi informasi tentang potensi ekstrak bawang putih tunggal dalam bidang kesehatan. Informasi dalam monograf nantinya diharapkan banyak digunakan oleh pemerintah dan masyarakat untuk bahan belajar manfaat bawang putih tunggal dalam terapi penyakit metabolik.

BAB II

METABOLIT SEKUNDER PADA BAWANG PUTIH TUNGGAL

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak diperlukan oleh suatu organisme untuk kelangsungan hidup, namun berperan penting dalam interaksi organisme dengan lingkungannya. Struktur senyawa metabolit sekunder tersusun atas senyawa karbon yang unik dengan konstituen spesifik dalam spesies tertentu, sehingga digunakan juga dalam penentuan sistematis sebagai penanda untuk klasifikasi botani (kemotaksonomi). Senyawa metabolit sekunder sering berbeda antara individu dari populasi tanaman yang sama sehubungan dengan jumlah dan jenisnya. Metabolit sekunder berasal dari berbagai famili metabolit yang strukturnya sangat dipengaruhi oleh induksi respon stress lingkungan organisme baik secara biotik maupun abiotik. Pemanfaatan metabolit sekunder terutama sebagai bahan kimia seperti obat-obatan, wewangian, insektisida, dan bahan pewarna dengan nilai ekonomi yang tinggi (Nasim dkk., 2010; Pagare dkk., 2015).

Analisis metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk mengklasifikasikan metabolit berdasarkan studi profil metabolit, yang memungkinkan analisis secara cepat dari data kompleks dan identifikasi senyawa baru. Salah satu metode yang umum digunakan untuk pembuatan profil metabolit dengan analisis metabolit yang lebih komprehensif menggunakan teknologi LC-MS. Keuntungan paling

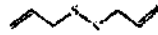
utama dari penggunaan LC-MS adalah sensitivitas tinggi dan kemampuan tinggi dan mengkonfirmasi identitas komponen yang ada dalam sampel biologis yang kompleks, serta deteksi dan identifikasi senyawa baru yang tidak diketahui (Kim dkk., 2016; Viette dkk., 2012). Metode analisis lain yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan karakterisasi metabolit sekunder menggunakan HPLC. HPLC merupakan teknik kromatografi yang digunakan dalam analisis fitokimia untuk mengidentifikasi, mengukur, memisahkan, dan memurnikan suatu komponen senyawa dalam campuran. Penggunaan HPLC untuk karakterisasi dan kuantifikasi metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman, terutama senyawa fenol, steroid, flavonoid, alkaloid (Boligon & Linde, 2014). Metabolit sekunder pada berbagai jenis bawang putih dapat dianalisis menggunakan metode LC-MS atau HPLC.

A. Hasil LC-MS dan HPLC Bawang Putih Tunggal

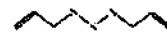
Bawang tunggal atau bawang lanang merupakan tanaman tropis yang ditemukan di Indonesia, dan tumbuh pada kondisi lingkungan yang ekstrim. Bawang tunggal termasuk jenis bawang putih dengan kandungan sulfida yang lebih tinggi daripada bawang majemuk biasa yang ditandai dengan aroma khas yang lebih kuat. Bawang tunggal telah banyak digunakan sebagai obat herbal dengan berbagai manfaat kesehatan (Arifah dkk., 2020b, Ilmawati dkk., 2019b).



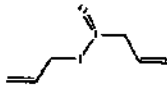
Diallyl sulfide (DAS)



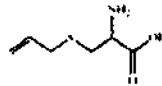
Diallyl disulfide (DADS)



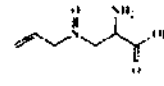
Diallyl trisulfide (DATS)



Allicin



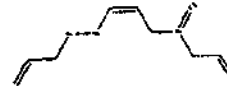
S-allyl-cysteine



Alliin



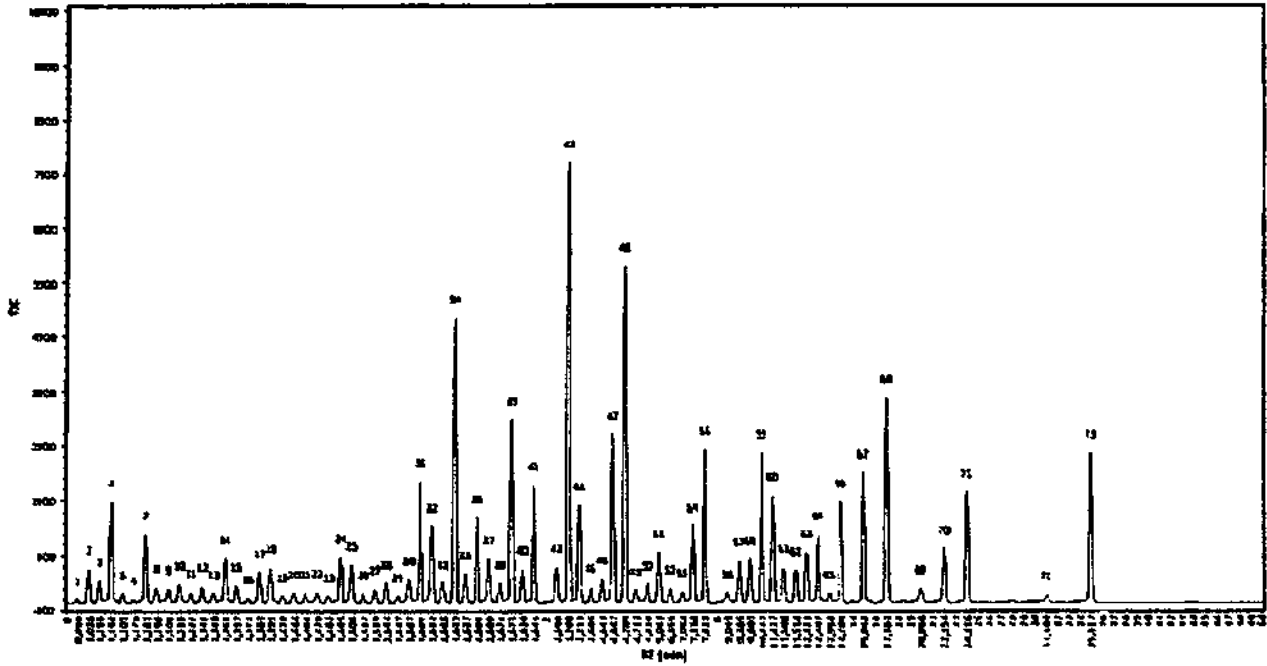
E-ajoene



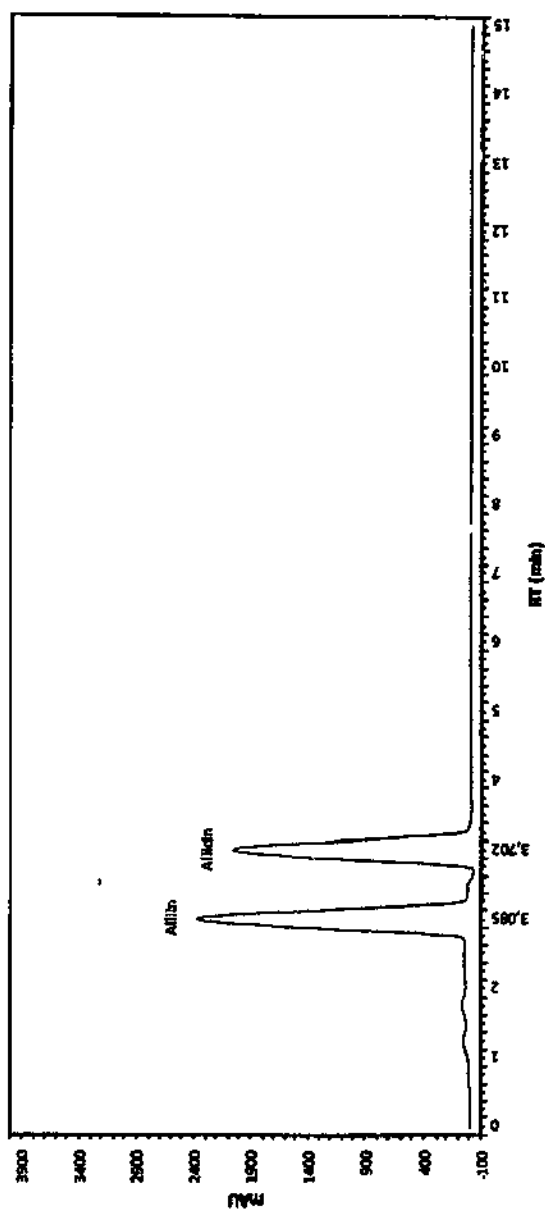
Z-ajoene

Gambar 2.1 Struktur kimia dari komponen organosulfur utama pada bawang putih.
Sumber: (Shang dkk., 2019)

Bawang tunggal mengandung senyawa organosulfur hidrofobik utama berupa *S-allyl-L-cysteine sulfoxide* atau *alliin*. *Alliin* akan dikonversi menjadi *allicin* oleh *alliinase* (Gambar 2.1). *Allicin* merupakan prekursor dari berbagai alil sulfida seperti *diallyl disulfide* (DADS), *diallyl trisulfide* (DATS), *dialil sulfida* (DAS), *E-ajoene*, *Z-ajoene*, *thioacrolein* dan *vinylidithiins* (Arifah dkk., 2020b).



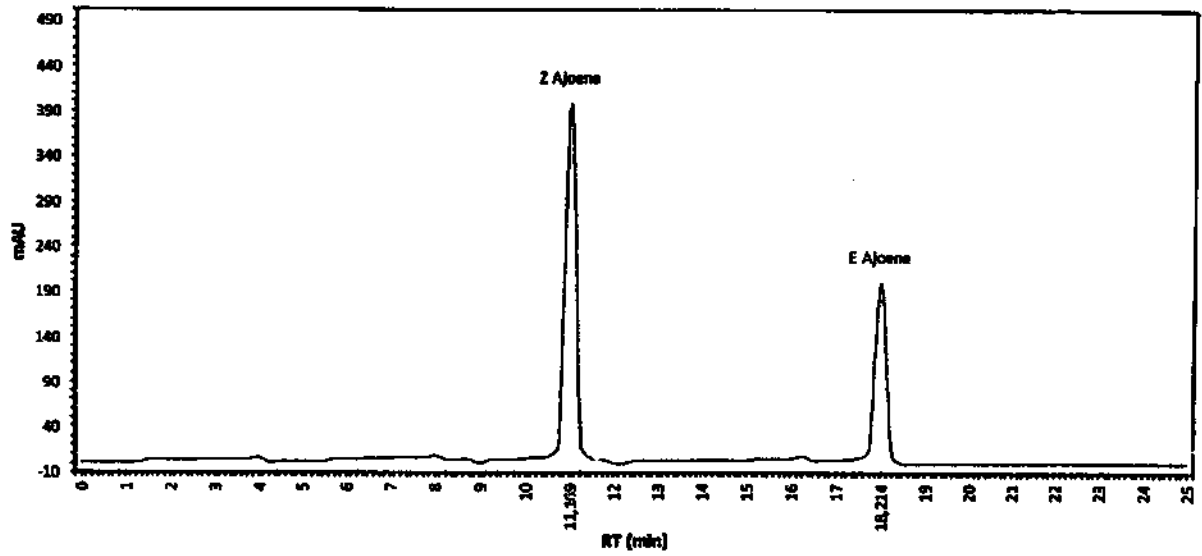
Gambar 2.2 Kromatografi hasil LC-MS Ekstrak Bawang Tunggai



Gambar 2.3 Kromatografi hasil HPLC ekstrak bawang tunggal dengan standart *alliin* dan *allicin*

Hasil LC-MS pada ekstrak bawang tunggal ditemukan 73 jenis senyawa (Gambar 2.2). Ditemukan 11 senyawa utama dengan persentase terbesar berturut-turut adalah alliin sebesar 9,79 %, glukosa sebesar 7,47 %, geraniol sebesar 6,31 %, β -sitosterol sebesar 4,55 %, allicin sebesar 4,10 %, fruktosa sebesar 3,77%, ajoene sebesar 3,40 %, kaempferol sebesar 3,34 %, rutin sebesar 3,33 %, campesterol sebesar 2,92 %, dan arabinose sebesar 2,75 % (Tabel 2.1). Persentase senyawa aktif tertinggi yakni alliin yang merupakan senyawa aktif paling dominan pada ekstrak bawang tunggal.

Alliin sebagai senyawa aktif dengan komposisi tertinggi pada bawang tunggal menunjukkan retensi pada menit ke 3 dengan kadar 0,041 gram/mL, sedangkan allicin sebesar 0,026 gram/mL pada retensi menit ke 3,7 dari hasil HPLC dengan standar alliin dan *allicin* (Gambar 2.3). Senyawa *allicin* menghasilkan senyawa turunan dari jalur pembentukan thiosulfinat membentuk kelompok senyawa sulfur yakni *ajoene*. Sedangkan hasil HPLC dengan standar senyawa *Z ajoene* dan *E ajoene* menunjukkan retensi pada menit ke 11,16 dengan kadar 0,025 gram/mL untuk *Z ajoene*, dan retensi pada menit ke 18,21 dengan kadar 0,011 gram/mL untuk *E ajoene* (Gambar 2.4). Senyawa *Z-ajoene* dan *E-ajoene* merupakan senyawa turunan dari *allicin* yang jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan kadar allicin dalam 1 mL ekstrak bawang putih tunggal.



Gambar 2.4 Kromatografi hasil HPLC ekstrak bawang tunggal dengan standart Z-ajone dan E-ajoene

Tabel 2.1. Profil senyawa hasil LC-MS ekstrak bawang tunggal

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
1	Acetaldehyde	44,05	0,10414
2	Allyl alcohol	58,08	0,75953
3	1,2 Epithiopropane	74,14	0,49931
4	Allyl mercaptan	74,14	2,25312
5	Dimethyl disulfide	94,2	0,22764
6	1 Hexanol	102,17	0,10571
7	α Aminobutyric acid	103,12	1,54121
8	2,5 Dimethylpyrazine	108,14	0,35812
9	2,6 Dimethylpyrazine	108,14	0,33458
10	2,5 Dimethylthiophene	112,19	0,42225
11	3 Methyl 2 cyclopentene 1 thione	112,19	0,25025
12	Isobutyl isothiocyanate	115,2	0,38396
13	2,5 Dimethyltetrahydrothiophene	116,22	0,22778
14	Succinic acid	118,09	1,00512
15	Propyl disulfide	118,24	0,39623
16	2 Methylbenzaldehyde	120,15	0,13046
17	1,3 Dithiane	120,24	0,70892
18	Allyl methyl disulfide	120,24	0,79578
19	Niacin	123,11	0,17336
20	4 Methyl 5 vinylthiazole	125,19	0,22523
21	2,3,4 Trithiapentane	126,26	0,21446
22	1,2 Dimercaptocyclopentane	134,26	0,24732
23	3 Ethyl 2,5 dimethylpyrazine	136,19	0,16655

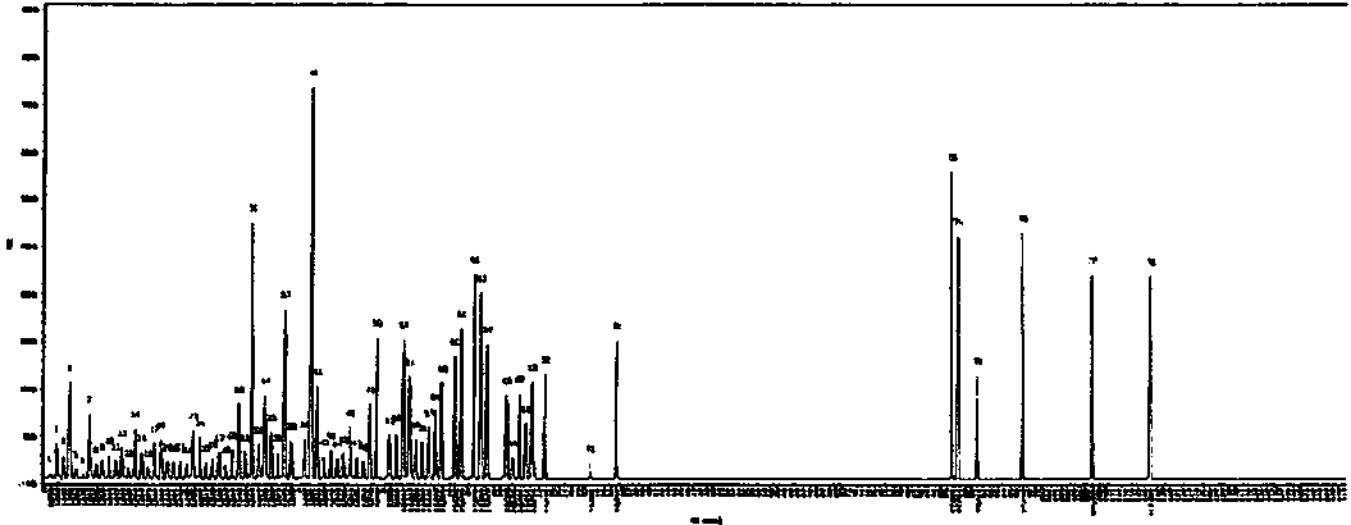
Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
24	α Phellandrene	136,23	1,03184
25	p Hydroxybenzoic acid	138,12	0,85954
26	2 Vinyl 4H 1,3 dithiin	144,26	0,21313
27	3 Vinyl 1,2 dithiacyclohex 4 ene	144,26	0,31624
28	E 1 Propenyl allyl disulfide	146,27	0,46739
29	2 Propenyl 1 propenyl disulfide	146,27	0,15951
30	Allyl propyl disulfide	148,29	0,54276
31	Arabinose	150,13	2,75112
32	Citral	152,23	1,73621
33	Allyl methyl trisulfide	152,30	0,48068
34	Geraniol	154,25	6,31333
35	Linalool	154,25	0,66285
36	Deoxyalliin	161,22	1,92941
37	1 Propenyl allyl thiosulfinate	162,27	0,99323
38	2 Propene 1 sulfinothioic acid s 1 propenyl ester	162,27	0,45448
39	Allicin	162,27	4,10394
40	p Coumaric acid	164,16	0,75845
41	Rhamnose	164,16	2,62904
42	Ascorbic acid	176,12	0,79464
43	Alliin	177,22	9,78942
44	Cycloalliin	177,22	2,1715
45	Allyl trisulfide	178,34	0,35861
46	Caffeic acid	180,16	0,52889

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
47	Fructose	180,16	3,7652
48	Glucose	180,16	7,46441
49	3,5 Diethyl 1,2,4 trithiolane	180,35	0,31064
50	Dimethyl diselenide	187,99	0,442
51	Ferulic acid	194,18	1,12908
52	Pantothenic acid	219,23	0,33324
53	Sinapic acid	224,21	0,2532
54	Allixin	226,27	1,71738
55	Ajoene	234,1	3,40016
56	Thiamin	265,35	0,22774
57	Apigenin	270,24	0,92884
58	Diallyl hexasulfide	274,53	0,97922
59	Kaempferol	286,24	3,34211
60	Quercetin	302,24	2,39833
61	Diallyl heptasulfide	306,6	0,79585
62	Myrcetin	318,24	0,74666
63	Chlorogenic acid	354,31	1,12781
64	Allithiaminc	354,49	1,54112
65	Riboflavin	376,36	0,22871
66	S (2 carboxypropyl) glutathione	393,41	2,26501
67	Campesterol	400,68	2,92136
68	β Sitosterol	414,71	4,55104
69	α Tocopherol	430,71	0,33579
70	24 Methylene cycloartanol	440,74	1,21886
71	Isoquercitrin	464,38	2,48012

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
72	β Carotene	536,87	0,18715
73	Rutin	610,52	3,33176

B. Hasil LC-MS Bawang Papua

Bawang Papua termasuk dalam varietas lokal bawang putih asli Indonesia yang ditemukan di area Pegunungan Arfak, Papua. Bawang Papua merupakan tanaman lokal yang ditanam sendiri oleh masyarakat asli Papua secara turun-temurun dengan menggunakan sistem pertanian tradisional. Bawang Papua memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, dan memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan (Balqis dkk., 2018). Hasil analisis LC-MS kandungan senyawa aktif dalam bawang putih lokal Papua terdapat 78 senyawa aktif yang dikategorikan sebagai senyawa organosulfur dan non-organosulfur (Gambar 2.5). Ada 32 jenis senyawa organosulfur yang terkandung dalam bawang putih lokal Papua dengan komposisi yang cukup tinggi, yaitu *alliin* (6,734%), *allicin* (2,901%) dan *ajoene* (2,430%). Sedangkan, 46 jenis sisa senyawa lainnya diklasifikasikan ke dalam berbagai kelompok senyawa, antara lain saponin, flavonoid dan steroid. Beberapa senyawa non-organosulfur yang mewakili sebagian besar komposisi, yaitu erubosida B (5,280%) dari kelompok saponin, geraniol (4,400%) dari kelompok terpenoid dan isoeruboside (4,160%) dari kelompok saponin (Tabel 2) (Balqis dkk., 2018).



Gambar 2.5 Kromatografi hasil LC-MS Ekstrak Bawang Papua

Tabel 2.2 Profil senyawa hasil LC-MS ekstrak bawang Papua

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
1	Acetaldehyde	44,05	0,08907
2	Allyl alcohol	58,04	0,60499
3	1,2 Epithiopropane	74,14	0,39688
4	Allyl mercaptan	74,14	1,66197
5	Dimethyl disulfide	94,2	0,17055
6	1 Hexanol	102,17	0,07398
7	α Aminobutyric acid	103,12	1,11644
8	2,5 Dimethylpyrazine	108,14	0,25195
9	2,6 Dimethylpyrazine	108,14	0,31487
10	2,5 Dimethylthiophene	112,19	0,39655
11	3 Methyl 2 cyclopentene 1 thione	112,19	0,31474
12	Isobutyl isothiocyanate	115,2	0,53526
13	2,5 Dimethyltetrahydrothiophene	116,22	0,20227
14	Succinic acid	118,09	0,86653
15	Propyl disulfide	118,24	0,44697
16	2 Methylbenzaldehyde	120,15	0,20915
17	1,3 Dithiane	120,24	0,62114
18	Allyl methyl disulfide	120,24	0,67965
19	4 Methyl 5 vinylthiazole	125,19	0,29534
20	2,3,4 Trithiapentane	126,26	0,28809
21	1,2 Dimercaptocyclopentane	134,28	0,31022
22	3 Ethyl 2,5 dimethylpyrazine	136,1	0,25581
23	α Phellandrene	136,23	0,83866

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
24	p Hydroxybenzoic acid	138,12	0,72260
25	2 Vinyl 4H 1,3 dithiin	144,26	0,28719
26	3 Vinyl 1,2 dithiacyclohex 4 ene	144,26	0,35664
27	E 1 Propenyl allyl disulfide	146,27	0,45845
28	2 Propenyl 1 propenyl disulfide	146,27	0,25108
29	Allyl propyl disulfide	148,29	0,50922
30	Citral	152,23	1,31310
31	Allyl methyl trisulfide	152,23	0,46741
32	Geraniol	154,25	4,39614
33	Linalool	154,25	0,59011
34	Deoxyalliin	161,22	1,44324
35	1 Propenyl allyl thiosulfinate	162,27	0,81265
36	2 Propene 1 sulfinothioic acid s 1 propenyl ester	162,02	0,44976
37	Allicin	162,02	2,90795
38	p Coumaric acid	164,16	0,65451
39	Ascorbic acid	178,12	0,67888
40	Alliin	177,22	6,73756
41	Cycloalliin	177,22	1,60630
42	Allyl trisulfide	178,34	0,38518
43	Caffeic acid	180,04	0,49988
44	3,5 Diethyl 1,2,4 trithiolane	180,01	0,35287
45	Dimethyl diselenide	187,99	0,44135
46	Fenulic acid	194,06	0,90415
47	Pantothenic acid	219,23	0,36809
48	Sinapic acid	224,07	0,31418

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
49	Allixin	226,12	1,30042
50	Ajoene	234,4	2,43390
51	Apigenin	270,24	0,76927
52	Diallyl hexasulfide	274,53	0,80321
53	Kaempferol	286,05	2,39480
54	Quercetin	302,24	1,75909
55	Diallyl heptasulfide	306,2	0,67970
56	Myricetin	318,04	0,64657
57	Chlorogenic acid	354,31	0,90330
58	Allithiamine	354,49	1,18170
59	S (2 carboxypropyl) glutathione	393,41	1,66929
60	Campesterol	400,68	2,11139
61	Stigmasterol	412,37	2,57558
62	Diosgenin	414,62	3,52781
63	β Sitosterol	414,71	3,20911
64	Tigogenin	416,64	2,33208
65	Laxogenin	430,62	1,46028
66	α Tocopherol	430,71	0,36981
67	Gitogenin	432,64	1,47004
68	24 Methylene cycloartanol	440,74	0,96463
69	Agigenin	448,32	1,69686
70	Isoquercitrin	464,38	1,81419
71	β Carotene	536,87	0,26969
72	Rutin	610,52	2,38783

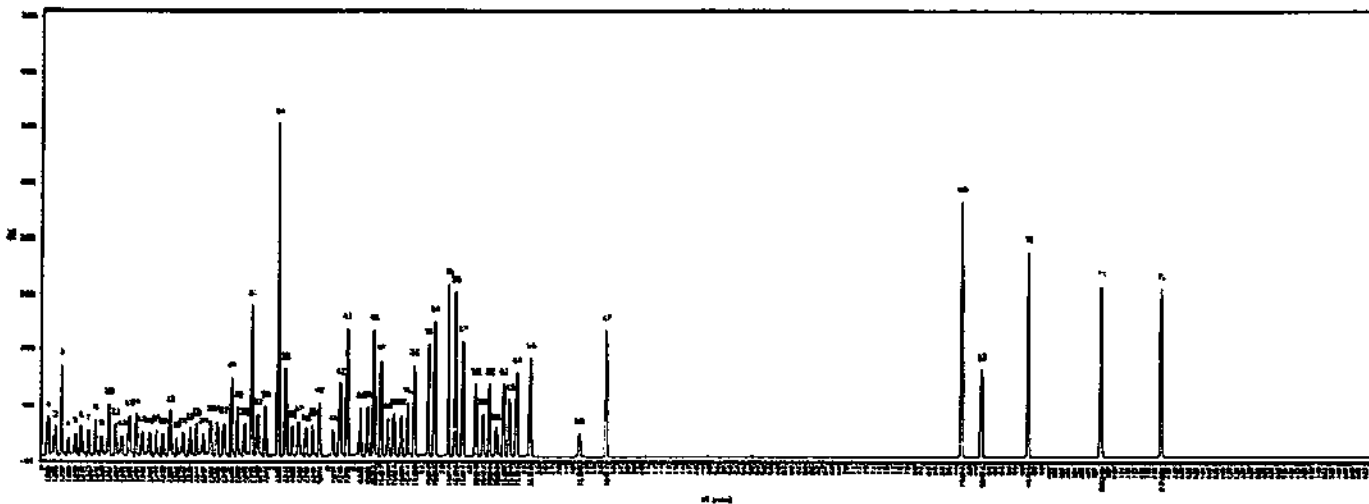
Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
73	Eruboside B1	1081,2	5,28095
74	Isoeruboside	1080,54	4,16222
75	Sativoside R2	1197,31	1,77858
76	Protoeruboside B1	1260,6	4,22690
77	Sativoside R1	1377,47	3,49739
78	Sativoside B1	1423,49	3,4738

C. Hasil LC-MS Bawang Majemuk

Bawang putih (bawang majemuk) terdiri dari 8 – 20 siung bawang dalam 1 umbi utuh. Bawang putih merupakan bumbu yang umum digunakan dengan banyak manfaat kesehatan, terutama karena beragam senyawa bioaktifnya, seperti sulfida organik, saponin, senyawa fenolik, dan polisakarida (Shang dkk., 2019). Hasil analisis LC-MS dari ekstrak bawang majemuk 72 jenis senyawa (Gambar 5). Ditemukan 6 senyawa utama organosulfur dengan kandungan tertinggi, meliputi *Alliin* (6,73 %), *Allicin* (3,03 %), *Ajoene* (2,57 %), *Cycloalliin* (1,77 %), *Deoxyalliin* (1,61 %), dan *Allixin* (1,47 %). Golongan senyawa steroid juga ditemukan dalam kandungan yang cukup tinggi, yaitu Diosgenin (3,47 %), β -sitosterol (3,22 %), Tigogenin (2,29 %), Campesterol (2,26 %) dan Agigenin (1,6 %).

Senyawa glikosida steviol ditemukan dengan kandungan tinggi, meliputi Eruboside-B1 (5,14 %), Sativoside-R2 (1,76 %), Proteruboside-B1 (4,12 %), Sativoside-R1 (3,42 %), dan Sativoside-B1 (3,4 %). Senyawa lain yang ditemukan pada ekstrak bawang majemuk

adalah golongan Flavonoid dengan kandungan tertinggi pada senyawa Quercetin (1,92 %), Isoquercetin (2,52 %), dan Kaempferol (1,97 %).



Gambar 2.6 Kromatografi hasil LC-MS ekstrak bawang majemuk

Tabel 2.3 Profil senyawa hasil LC-MS ekstrak bawang majemuk

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
1	Allyl alcohol	58,08	0,80471
2	1,2 Epithiopropane	74,141	0,60348
3	Allyl mercaptan	74,141	1,82675
4	Dimethyl disulfide	94,19	0,38463
5	2,5 Dimethylpyrazine	108,144	0,46334
6	2,5 Dimethylthiophene	112,19	0,60316
7	3 Methyl 2 cyclopentene 1 thione	112,19	0,52406
8	Isobutyl isothiocyanate	115,194	0,73729
9	2,5 Dimethyltetrahydrothiophene	116,22	0,4153
10	Succinic acid	118,08	1,05761
11	Propyl disulfide	118,23	0,65192
12	2 Methylbenzaldehyde	120,15	0,42196
13	1,3 Dithiane	120,22	0,82033
14	Allyl methyl disulfide	120,22	0,87691
15	4 Methyl 5 vinylthiazole	125,189	0,5053
16	2,3,4 Trithiapentane	126,25	0,49828
17	1,2 Dimercaptocyclopentane	134,255	0,51969
18	3 Ethyl 2,5 dimethylpyrazine	136,1	0,46708
19	p Hydroxybenzoic acid	138,122	0,91843
20	Salicylic acid	138,122	0,39201
21	2 Vinyl 4H 1,3 dithiin	144,25	0,49742
22	3 Vinyl 1,2 dithiacyclohex 4 ene	144,25	0,56458
23	E 1 Propenyl allyl disulfide	144,266	0,66302

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
24	2 Propenyl 1 propenyl disulfide	144,266	0,4625
25	Allyl propyl disulfide	148,282	0,71211
26	Arabinose	150,13	0,69727
27	Allyl methyl trisulfide	152,288	0,67168
28	Deoxyalliin	161,219	1,61525
29	1 Propenyl allyl thiosulfinate	162,265	1,00551
30	2 Propene 1 sulfinothioic acid s 1 Propenyl ester	162,265	0,65461
31	Allicin	162,265	3,03154
32	p Coumaric acid	164,16	0,85259
33	Rhamnose	164,157	1,00998
34	Alliin	177,218	6,73454
35	Cycloalliin	177,218	1,77292
36	Allyl trisulfide	178,326	0,59217
37	Caffeic acid	180,159	0,70307
38	3,5 Diethyl 1,2,4 trithiolane	180,342	0,56093
39	Dimethyl diselenide	187,99	0,64648
40	Ferulic acid	194,186	1,09398
41	Sinapic acid	224,212	0,52352
42	Allixin	226,272	1,47715
43	Ajoene	234,39	2,57316
44	Apigenin	270,24	0,96357
45	Diallyl hexasulfide	274,506	0,99638
46	Kaempferol	286,239	2,53535
47	Quercetin	302,238	1,92066
48	Leucocyanidin	306,27	0,75288

Peak Number	Nama Senyawa	Berat Molekul	Composition (%)
49	Diallyl heptasulfide	306,566	0,87695
50	Myricetin	318,237	0,84491
51	Chlorogenic acid	354,311	1,09316
52	S (2 carboxypropyl) glutathione	393,411	1,83383
53	Campesterol	400,691	2,26131
54	Stigmasterol	412,702	2,71016
55	Diosgenin	414,63	3,47363
56	β Sitosterol	414,718	3,32274
57	Tigogenin	416,646	2,29679
58	Lupeol	426,729	1,47015
59	β Amyrin	426,729	0,86381
60	Laxogenin	430,629	1,45381
61	α Tocopherol	430,381	0,57731
62	Gitogenin	432,645	1,46325
63	24 Methylene cycloartanol	440,756	1,15246
64	Agigenin	448,644	1,68257
65	Isoquercitrin	464,379	1,97393
66	β Carotene	536,88	0,4805
67	Rutin	610,521	2,52861
68	Eruboside B1	1081,209	5,14817
69	Sativoside R2	1197,325	1,76159
70	Protoeruboside B1	1261,365	4,12897
71	Sativoside R1	1377,481	3,42357
72	Sativoside B1	1423,506	3,40077

D. Keunggulan Metabolit Sekunder pada Bawang Tunggal

Bawang putih telah digunakan sepanjang sejarah untuk keperluan kuliner dan medis, karena karakteristik aroma khas dan rasa pedas, serta beragam senyawa bioaktifnya (Bayan dkk., 2014; Morales-González dkk., 2019). Dalam beberapa dekade terakhir, telah banyak penelitian menunjukkan fungsi biologis yang luar biasa dari bawang putih meliputi imunomodulator, antioksidan, anti-inflamasi, anti-obesitas, antikanker, antidiabetes, antibakteri, anti-fungi, proteksi saraf, proteksi hepar, proteksi ginjal, proteksi sistem pencernaan, dan proteksi jantung (Bayan dkk., 2014; Ragavan dkk., 2017; Shang dkk., 2019). Bawang putih sejak lama digunakan oleh masyarakat untuk mengobati beragam penyakit. Jenis bawang putih yang banyak digunakan oleh masyarakat Asia sebagai bahan pengobatan alternatif adalah bawang tunggal. Kandungan senyawa aktif pada bawang tunggal lebih tinggi, yaitu satu siung bawang putih tunggal setara dengan 5-6 siung bawang putih biasa (Ilmawati dkk., 2019b).

Komponen aktif utama dari metabolit sekunder bawang putih adalah senyawa organosulfur, meliputi *diallyl thiosulfinate (allicin)*, *diallyl sulfide (DAS)*, *diallyl disulfide (DADS)*, *diallyl trisulfide (DATS)*, *E/Z-ajoene*, *S-allyl -cysteine (SAC)*, dan *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* (Arifah dkk., 2020b; Moutia dkk., 2018). *Allicin* menjadi komponen utama yang bertanggung jawab atas aroma dan rasa khas bawang putih serta memiliki efek paling besar terhadap fungsi biologis bawang putih dalam bidang kesehatan (Mikaili dkk., 2013;

Moutia dkk., 2018). Metabolit sekunder pada bawang tunggal memiliki berbagai keunggulan dalam bidang kesehatan.

Keunggulan metabolit sekunder pada ekstrak bawang putih tunggal sebagai antioksidan mampu menekan produksi *reactive oxygen species* (ROS) pada mencit yang diberi diet tinggi lemak. Kandungan S-allyl cysteine dari bawang tunggal mampu melindungi sel dari kerusakan oksidatif, dan senyawa organosulfur pada bawang tunggal dapat bertindak sebagai *radical scavenger* yang memiliki aktivitas antioksidan untuk menghambat peroksidasi lipid, meningkatkan aktivasi enzim SOD, katalase, dan GPx pada sel endotel pembuluh darah (Ilmawati dkk., 2019b). Ekstrak bawang putih tunggal mengandung sebagian besar organosulfur yang larut dalam minyak seperti allicin, alliin dan ajoene. Allicin merupakan senyawa aktif yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan endogen SOD. Peningkatan aktivitas enzim antioksidan SOD dapat menurunkan kadar peroksida lipid yang bertindak sebagai radikal bebas, serta dapat mengubah anion superoksida radikal bebas ($2O_2^{\cdot-}$) menjadi H_2O_2 , dan katalase akan mendorong konversi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Adanya peningkatan aktivitas SOD akan diikuti oleh peningkatan aktivitas enzim antioksidan lain, yaitu GPx (Arifah dkk., 2020b).

Allicin dalam ekstrak bawang tunggal juga mampu berperan sebagai anti-hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia merupakan kondisi peningkatan kolesterol dalam tubuh, terutama LDL.

Mekanisme kerja Allicin untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan mengurangi sintesis kolesterol melalui penghambatan HMGR, enzim yang berperan dalam mengkatalisis pembentukan kolesterol. Allicin dan HMG-CoA memiliki kemiripan struktur, sehingga allicin dapat menjadi penghambat kompetitif enzim HMGR yang berdampak pada penurunan signifikan ox-LDL (Ilmawati dkk., 2019b; Lestari & Rifa'i, 2018c).

Selain keunggulannya sebagai anti-hiperkolesterolemia, metabolit sekunder bawang tunggal juga berperan sebagai anti-aterosklerosis. Aterosklerosis terjadi karena disfungsi endotel berupa plak aterosklerotik pada dinding pembuluh darah yang disebabkan oleh akumulasi LDL yang memicu respon inflamasi pada arteri endotel. Plak aterosklerotik ditandai oleh akumulasi *vascular cell-adhesion molecule 1* (VCAM-1), pembentukan sel busa, rekrutmen sel inflamasi, dan ROS. Pada kondisi aterosklerosis, ekstrak bawang tunggal berperan dalam mengurangi ekspresi VCAM-1 yang diikuti dengan penurunan respon inflamasi, penghambatan pembentukan LDL menjadi ox-LDL, dan penurunan pembentukan sel busa sebagai karakteristik utama aterosklerosis.

Selain HMGR, senyawa organosulfur pada bawang tunggal juga mampu menghambat aktivitas enzim lipogenik dan kolesterogenik lain, seperti enzim malat, FAS, dan glukosa 6-fosfat dehidrogenase. Ekstrak bawang putih tunggal juga mengandung ajoene yang memiliki aktivitas anti-trombosis dan anti-agregasi yang dapat mencegah pengikatan trombosit pada reseptor fibrinogen sehingga mencegah pembentukan

trombin pada aterosklerosis (Arifah dkk., 2020b; Ghofur, dkk., 2019; Lestari & Rifa'i, 2019).

Aktivitas anti-inflamasi merupakan keunggulan lain dari metabolit sekunder bawang tunggal. Studi pada mencit yang diinduksi diet lemak tinggi menunjukkan bahwa terapi menggunakan ekstrak bawang tunggal dapat mengurangi sekresi dan ekspresi sitokin proinflamasi IL-6, melalui jalur pensinyalan IL-6/MEK5/ERK5 (Ilmawati dkk., 2019b). Allicin dalam ekstrak bawang tunggal juga terbukti dapat menghambat aktivasi NF- κ B yang akan memicu penurunan kadar TNF- α . NF- κ B merupakan faktor transkripsi yang terlibat dalam sintesis sitokin proinflamasi TNF- α .

Selain itu, aktivitas Allicin dapat menekan efek ox-LDL yang dimediasi oleh peningkatan kadar SOD pada sel dendritik dan reseptor pada makrofag seperti *Toll-like Receptor 4* (TLR4). Regulasi bawah pada reseptor TLR4 juga dapat menurunkan produksi TNF- α (Arifah dkk., 2020b). Pada studi yang sama, ekstrak bawang tunggal memainkan peran dalam peningkatan aktivasi sel T-regulator (Treg) yang diikuti dengan peningkatan produksi sitokin anti-inflamasi interleukin (IL)-10 dan *transforming growth factor-beta* (TGF- β). Regulasi sel T-reg memainkan peran penting dalam memodulasi proses pro-inflamasi menjadi anti-inflamasi (Lestari & Rifa'i, 2019).

Aktivitas imunostimulan juga ditunjukkan terdapat pada ekstrak bawang putih tunggal pada mencit yang diinduksi *Escherichia coli*

berdasarkan peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag serta penurunan berat limpa mencit. Jika terjadi invasi oleh bakteri di dalam tubuh, respon imun bawaan (non-spesifik) akan melakukan respon primer dengan memperbanyak jumlah efekturnya seperti makrofag, dan jika invasi terus berlanjut tubuh akan melakukan respon imun sekunder dengan mengaktifkan respon imun adaptif (spesifik) dengan memperbanyak jumlah efekturnya seperti limfosit B dan limfosit T.

Pengaktifan respon imun bawaan dan adaptif akan mempengaruhi jumlah efektor respon imun tersebut yang pada akhirnya mempengaruhi berat limpa. Pemberian ekstrak bawang putih tunggal pada mencit yang dipapar dengan *E. coli* meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag yang mengindikasikan bahwa, respon imun bawaan dapat menanggulangi invasi bakteri dan tubuh tidak melakukan respon sekunder (respon imun adaptif tidak diaktifkan) sehingga berat limpa tidak banyak berubah dari keadaan kedua respon imun inaktif (Agnesa dkk., 2017b).

Keunggulan utama lainnya dari metabolit sekunder ekstrak bawang tunggal adalah sebagai antibakteri. Hasil *virtual screening* dari senyawa organosulfur pada bawang tunggal, menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terbaik ditunjukkan oleh senyawa Alliin dengan nilai afinitas pengikatan paling rendah pada sisi aktif enzim (*UDP-3-O-(R-3-hidroksimiristoyl)-N-asetilglukosamina deasetilase* (LpxC). Enzim LpxC merupakan target pengembangan antibiotik untuk gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* (Fitriana dkk., 2018).

Pengujian secara in-vitro pada *P. aeruginosa* juga menunjukkan hasil yang sejalan bahwa ekstrak bawang putih tunggal dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menyebabkan kerusakan pada membran bakteri (Lestari dkk., 2018). Ekstrak bawang putih tunggal juga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit infeksi kulit yang disebabkan infeksi bakteri *S. aureus*, dengan menghambat pertumbuhannya (Gofur dkk., 2019). Metabolit sekunder dari bawang tunggal memiliki beragam keunggulan di bidang kesehatan yang harus terus dieksplorasi potensi dan mekanismenya

BAB III
KAJIAN MOLECULAR DOCKING EKSTRAK BAWANG
PUTIH TUNGGAL SEBAGAI KANDIDAT *HERBAL*
***MEDICINE* POTENSIAL**

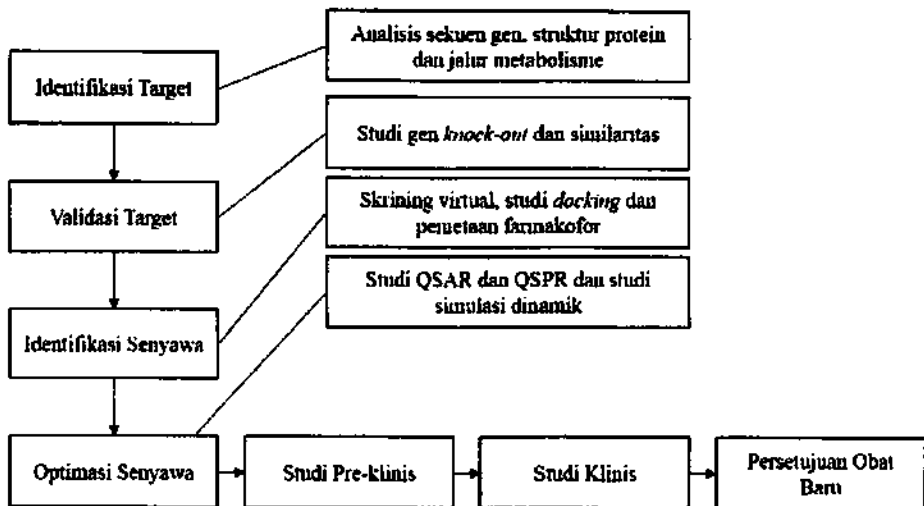
Penemuan obat (*drug discovery*) adalah suatu awal dari proses panjang kandidat obat baru ditemukan. Secara umum, penemuan obat dimulai dengan diagnosis suatu penyakit dengan gejala yang dapat mengurangi kualitas hidup seseorang. Secara konvensional, obat yang diinginkan untuk mengurangi dampak gejala suatu penyakit adalah dengan mengonsumsi obat-obatan dari bahan kimia (berupa bahan kimia sederhana atau protein-protein kompleks).

Sifat obat yang diinginkan masyarakat yaitu, murah, menguntungkan bagi perusahaan obat, dan kemungkinan resistensi obat rendah. Dengan demikian, obat yang diinginkan adalah obat yang tidak hanya berkhasiat dengan sedikit efek samping, tetapi juga memiliki minimal efek negatif jangka panjang pada pasien, masyarakat, lingkungan, serta meningkatkan produksi obat bagi produsen (pabrik).

Kepopuleran bioinformatika dalam kurun waktu 25 tahun terakhir menjadi kunci sukses dalam penemuan obat dalam waktu singkat dengan biaya rendah. Bioinformatika menjadi bidang baru yang dikenal sebagai desain obat berdasarkan komputer (*computer-aided drug design/ CADD*). Proses penemuan obat ditinjau dalam berbagai aspek yaitu, secara proteomik, sekuensing genom, teknik prediksi struktur dan pengembangan alat berbasis data pada *database* besar. Secara umum, proses penemuan obat dapat digambarkan sebagai

identifikasi dan validasi interaksi antara senyawa kimia pada suatu target suatu penyakit.

Komponen-komponen penting dalam proses penemuan obat dari senyawa kandidat termasuk pemodelan molekul, penemuan pola mekanisme kinerja, prediksi struktur kimia, akses *database* pada suatu sistem besar yang heterogen dan pemodelan dari sistem. Setiap langkah penemuan langkah harus melewati proses identifikasi target, validasi target, pemilihan senyawa kandidat, optimasi senyawa dan metode komputasi lainnya yang berbeda (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Alur Proses Penemuan Obat dengan Komponen Komputasi. Sumber: (Xia, 2017)

A. Identifikasi Target

Identifikasi target obat yang akurat adalah langkah yang penting dalam memulai mendesain pengembangan obat. Dalam prosesnya

harus memahami pada tingkat molekuler dari penyakit tertentu, termasuk pengambilan data dan dilanjutkan analisis urutan genom atau proteome (dan penjelasannya), modifikasi pasca-translasi, struktur sekunder, profil ekspresi dan jalur metabolisme. Tujuan utama dari identifikasi target adalah untuk menemukan makromolekul yang dapat menjadi target pengikatan untuk senyawa kandidat yang berpotensi sebagai obat. Dengan bantuan alat bioinformatika dan *database*, jumlah senyawa potensial untuk proses penemuan obat akan meningkat secara eksponen.

Identifikasi target dapat diperoleh dari sekuen struktur pengenalan homologi. Struktur protein merupakan sumber informasi dari keanggotaan famili protein. Struktur protein secara dinamis berevolusi dengan cepat, sehingga perlu dikenali karena mungkin protein-protein tersebut menunjukkan struktur dan fungsi yang serupa. Secara umum, protein yang diduga homolog diidentifikasi, urutannya diselaraskan dan struktur tiga dimensi dimodelkan. Hal ini akan membantu dalam mengusulkan sisi pengikatan dan fungsi molekuler.

Perangkat lunak yang dapat dirangkum sebagai penunjang analisis bioinformatika untuk identifikasi target yaitu, *Human Metabolome Database* (HMDB) untuk data metabolomik pada manusia, *Protein Data Bank* (PDB) untuk data protein-protein, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), *Gene Ontology*, *PantherDB*, *Reactome*, *Biocarta* untuk analisis jalur sintesis, *PharmGKB* untuk data farmakogenomik, *Protein Atlas* untuk informasi ekspresi protein, *Comparative Toxicogenomics Database* (CTD), dan *Target-toxin*

database (T3DB) untuk *database* toksik, *ChEMBL*, dan Pubchem untuk mendapatkan data struktur-struktur kimia.

B. Validasi Target

Tak kalah pentingnya seperti identifikasi target, langkah kedua dalam penemuan obat baru adalah validasi target karena merupakan dasar dari eksplorasi obat yang sepenuhnya baru yang didapatkan dari senyawa-senyawa tumbuhan. Hubungan antara target dengan senyawa harus memiliki hubungan antar molekul yang kuat. Validasi target obat adalah proses evaluasi biomolekul secara fisiologis, patologis dan farmakologis, dan dilakukan pada tingkat molekuler, seluler pada hewan. Peran target dalam jalu penyakit harus didefinisikan dengan jelas, selanjutnya divalidasi secara bioinformatika.

Bioinformatika mempunyai peran penting dalam validasi target dengan menghubungkan target terduga dengan senyawa yang ditawarkan. Dugaan tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak seperti *Proteome Analyst* untuk memprediksi lokalisasi subseluler dan fungsi molekul protein. *Eukaryotic Linear Motif* (ELM) adalah perangkat yang digunakan untuk pengaturan fosforilasi, asetilasi, glikosilasi, penargetan kompartemen sel, interaksi protein-protein dan berbagai modifikasi pasca-translasi lainnya.

C. Identifikasi Senyawa

Identifikasi senyawa adalah tantangan berikutnya setelah identifikasi target dan validasi dalam serangkaian proses penemuan

obat. Proses ini melibatkan identifikasi senyawa-senyawa aktif (senyawa kimia) pada tumbuhan sebagai pelengkap target yang menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis yang diinginkan.

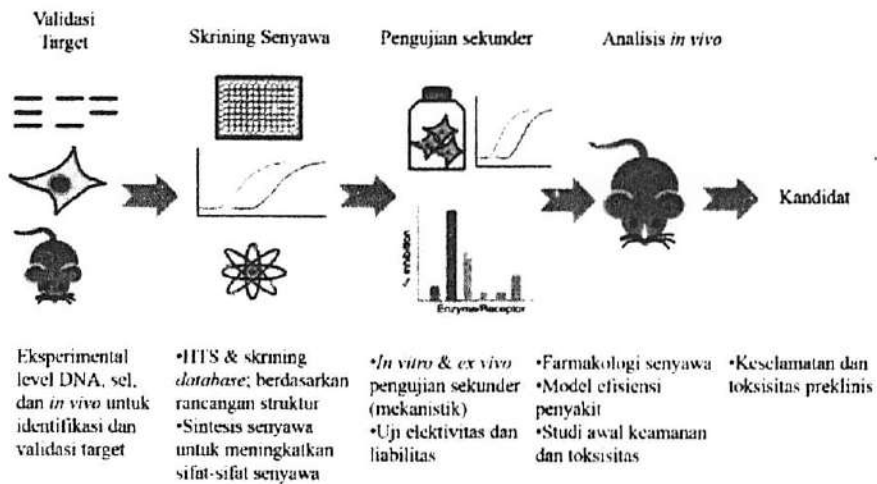
Dalam metode konvensional, skrining acak pada produk alami (*natural product*) dan perpustakaan kimia (*chemical library*) memakan banyak waktu dan mahal. Perangkat-perangkat lunak bioinformatika mampu mengidentifikasi senyawa-senyawa tanaman melalui skrining *high throughput screening* (HTS). HTS adalah pendekatan teknologi tinggi untuk memilih senyawa-senyawa untuk target yang dipilih. Program ini berpotensi untuk menskrining sekitar 10.000 senyawa per hari, sedangkan *Ultra High Throughput Screening* (UHTS) menskrining 10 kali HTS, yaitu 100.000 senyawa per hari.

Teknik *in silico* untuk identifikasi senyawa digunakan berdasarkan kondisi target. Jika struktur target sudah diketahui, maka pemodelan molekul digunakan untuk menemukan sisi aktif pengikatan makromolekul. Setelah itu, senyawa-senyawa kandidat dirancang untuk mampu masuk dan mengikat pada sisi pengikatan di makromolekul. Beberapa perangkat berbasis data yang digunakan identifikasi senyawa-senyawa adalah *ChEMBL*, *PubChem*, *ZINC* untuk informasi senyawa kimia, *Schrodinger* dan *Sybyl* untuk skrining virtual, dan *Dragon* untuk pendeskripsi molekuler.

D. Optimasi Senyawa

Output dari skrining senyawa biasanya disebut molekul hit, yang telah ditunjukkan memiliki aktivitas spesifik pada protein target. Skrining molekul hit membentuk dasar dari program kimia optimasi

senyawa untuk meningkatkan potensi seri kimia pada protein target obat utama. Selama penemuan senyawa, molekul fase juga disaring dalam tes berbasis sel yang memprediksi keadaan penyakit dan pada model hewan untuk mengkarakterisasi kemanjuran senyawa dan kemungkinan profil keamanannya. Alur proses hingga terbentuknya molekul hit dijelaskan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Ringkasan Penemuan Obat Baru. (Sumber: Hughes dkk., 2011)

Optimasi senyawa dilakukan untuk meningkatkan potensi dan selektivitas pada parameter farmakokinetik. Struktur-struktur kimia senyawa digunakan sebagai awal untuk modifikasi. Selanjutnya, mengidentifikasi properti *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity* (ADMET). Molekul senyawa yang tidak memiliki toksisitas dan tidak mutagenisitas, dianggap memiliki potensi untuk digunakan sebagai molekul senyawa kandidat. Optimalisasi lebih

lanjut menghasilkan kualitas molekul senyawa yang lebih baik. Molekul-molekul senyawa ini selanjutnya dapat dikembangkan sebagai obat dengan mengacu pada beberapa parameter berikut;

1. Meninjau penyerapan oral, kelarutan untuk injeksi intravena dan penetrasi sistem saraf pusat (SSP) yang sesuai.
2. Tidak ada kelompok fungsional (*functional group*) atau reaktivitas kimia yang tidak diinginkan.
3. Desain dan sintesis pada perpustakaan kompleks yang berfokus pada senyawa kandidat.
4. Konfirmasi *structure-activity relationship* (SAR) ada didalam rangkaian bahan-bahan kimia.
5. Menetapkan arah target yang jelas untuk meningkatkan potensi dan selektivitas sambil mengurangi segala tanggung jawab metabolisme.
6. Meningkatkan sifat senyawa seperti kebaruan, keragaman, kemiripan obat, paten, sifat fisik dan skalabilitas.
7. Melakukan profil *in-vitro* termasuk potensi dan selektivitas
8. Melakukan profil *in-vivo* termasuk bioavailabilitas oral pada hewan

ADMET praklinis termasuk metabolisme obat, penyerapan, dan toksisitas.

E. Penemuan Obat Masa Depan

Tumbuhan banyak ditemukan di setiap lingkungan dengan sebagian besar hidup di darat. Menghadapi banyak tekanan dan stres

lingkungan, tanaman mengembangkan banyak senyawa atau molekul untuk menangkal dan mengurangi dampak buruk lingkungan dan serangan hewan. Senyawa-senyawa ini memberikan tanaman kemampuan untuk mengeluarkan aroma, warna dan racun. Selain itu, banyak temuan sejarah melaporkan penggunaan awal tanaman untuk tujuan pengobatan.

Penemuan tanaman obat oleh manusia prasejarah melewati proses *trial and error* yang diperlukan untuk meringankan manifestasi penyakit. Sebelum munculnya tulisan dan rekaman sejarah, pengetahuan seperti itu diturunkan dari generasi ke generasi melalui mulut ke mulut untuk mengobati banyak kondisi patologis. Tantangan saat ini untuk penggunaan produk alami (*natural product*) meliputi, (1) kurangnya prosedur standarisasi (2) kurangnya isolasi produk biokimia atau senyawa murni (3) kurangnya penjelasan mekanisme biologis (4) mendokumentasikan uji klinis sesuai dengan 'standar'. Mencari kandidat obat baru dari produk alami sering dipersulit oleh kompleksitas campuran molekuler. Aktivitas terapi dari ekstrak tumbuhan biasanya karena aksi sinergis dan simultan dari beberapa senyawa lainnya.

Proses penemuan dan pengembangan senyawa alami tanaman sebagai kandidat obat dapat dicapai dengan kemajuan dalam teknik komputasi. Dalam waktu singkat, target dapat ditemukan dengan memodelkan proses genetik dan metabolisme, sehingga senyawa alami dapat disintesis dan diuji hampir seluruhnya dalam komputer.

Kemajuan dalam komputasi juga dapat memungkinkan solusi yang mengambil proses dari identifikasi penyakit sampai uji klinis.

Pada bab ini akan jelaskan mengenai proses senyawa aktif bawang putih tunggal sebagai kandidat inhibitor enzim HMG-KoA reduktase dalam perannya sebagai katalisator utama pada biosintesis kolesterol.

1. Skrining Sifat Farmakokinetik Senyawa Bawang Putih Tunggal

Produk alami/ *Natural Product* (NP) selalu memainkan peran penting dalam penemuan obat sampai hari ini. Ini karena keduanya berfungsi sebagai prinsip aktif dalam obat dan sebagai acuan (*template*) untuk sintesis obat baru. Selain itu, proporsi obat yang baik yang telah disetujui untuk uji klinis, adalah NP atau analognya. Fakta bahwa semakin banyak obat yang gagal masuk pasar karena profil farmakokinetik yang buruk, dan mengharuskan dimasukkannya pertimbangan farmakokinetik pada tahap awal program penemuan obat.

Ini membutuhkan pencarian senyawa kandidat yang dapat dengan mudah diserap secara oral, mudah diangkut ke lokasi aksi yang diinginkan, tidak mudah dimetabolisme menjadi produk beracun sebelum mencapai lokasi aksi yang ditargetkan dan mudah dihilangkan dari tubuh sebelum diakumulasi dalam jumlah yang cukup yang dapat menghasilkan efek samping yang merugikan. Jumlah dari properti yang disebutkan di atas sering disebut sebagai properti ADMET (*absorption, distribution, metabolism, elimination, and toxicity*).

Metode berbasis komputer telah digunakan dalam prediksi sifat ADMET dari senyawa alami yang mengarah pada tahap awal penemuan obat dan pendekatan tersebut menjadi semakin populer.

Skrining senyawa pada bawang putih untuk uji farmakokinetik sebagai langkah awal penemuan obat ditunjukkan pada Tabel 3.1. Prediksi bioavailabilitas senyawa tergantung pada proses penyerapan (*absorption*) dan metabolisme di liver. Penyerapan pada gilirannya tergantung pada kelarutan dan permeabilitas senyawa, serta interaksi dengan transporter dan enzim metabolisme di dinding usus. Prosedur perhitungan kelarutan yang diterapkan tergantung pada kesamaan ruang properti antara molekul yang diberikan dan analog yang paling mirip.

Senyawa aktif bawang putih tunggal dapat diserap dalam usus dengan baik dan dapat melalui membran selektif permeabilitas. Hasil uji farmakokinetik menunjukkan senyawa aktif bawang putih tunggal maupun obat kontrol bukan sebagai inhibitor ataupun substrat CYP2D6. Ketiga senyawa bawang putih tunggal dan obat kontrol diprediksi bahwa proses metabolisme pada hati dapat tertunda, sebab metabolisme hepatik harus dikatalis oleh enzim golongan sitokrom P450 (CYP), yaitu enzim CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 dan CYP2C19. Diindikasikan senyawa aktif bawang putih tunggal akan dimetabolisme melalui jalur lain.

Obat oral yang masuk ke dalam tubuh akan diekskresikan setelah di metabolisme di dalam tubuh. Ketiga senyawa aktif bawang putih tunggal dan obat kontrol memiliki nilai total clearance kurang dari < 1,5 ml/min, artinya senyawa aktif bawang putih tunggal dapat diabsorpsi dan diekskresi tanpa meninggalkan residu dari obat. Ginjal

memiliki *organic cation transporters* (OCTs) yang merupakan transporter di ginjal, berfungsi mensekresikan obat ke urin dan mengeliminasi obat dari plasma maupun dari ginjal. Hasil uji menunjukkan bahwa senyawa bawang putih tunggal bukan substrat dari OCT2 yang berarti tidak akan menghambat kerja dari OCT2, sehingga molekul dapat diekskresi keseluruhan tanpa meninggalkan residu. Penentuan toksisitas senyawa dilakukan dengan uji toksisitas Ames, hasilnya menunjukkan senyawa aktif bawang putih tunggal dan obat kontrol tidak memiliki potensi sifat mutagenik. Parameter toksisitas lainnya adalah hepatotoksitas, yang dapat menunjukkan sifat toksik pada hati. Hati merupakan organ penting yang berperan memelihara homeostasis gastrointestinal dan fungsi tubuh secara umum, sehingga dalam perancangan farmakologi penting untuk melakukan analisis hepatotoksitas calon obat.

Tabel 3.1 Ringkasan Farmakokinetik pada Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Lokal Jawa Timur

Parameter	Absorption		Distribution		Metabolism		Excretion	Toxicity		
	Permeabilitas sel Caco-2 (Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	Absorpsi pada sistem pencernaan manusia (%)	Volume Distribution (VD) pada manusia (logL/kg)	Blood Brain Barrier (BBB) (logBB)	CYP2D6 Inhibitor	CYP2D6 Substrate	Total Clearance (log ml/min/kg)	Substrat Renal OC2T	Toksistas AMES	
Referensi	Nilai > 0,90 log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s terserap baik	Nilai > 30% terserap sempurna	Nilai > 0,45 distribusi tinggi	Nilai < -1 distribusi sedikit Nilai > 0,3 siap distribusi			(log ml/min/kg)	Tidak	Tidak	
Senyawa	Allyl Mercaptan	1,385	100	0,055	0,113	Tidak	Tidak	0,359	Tidak	Tidak
	Cyclo-alliin	0,543	87,507	-0,63	-0,353	Tidak	Ya	0,277	Tidak	Tidak
	Alliin	1,301	93,438	-0,008	0,193	Tidak	Tidak	0,419	Tidak	Tidak
	Alliin	96,229	1,316	-0,045	0,506	Tidak	Tidak	0,714	Tidak	Tidak

	Alliin	76.495	0.619	-0.553	-0.271	Tidak	Tidak	0.365	Tidak
	E-ajoene	95.186	1.329	0.083	0.703	Tidak	Tidak	0.538	Tidak
	Z-ajoene	95.186	1.329	0.083	0.703	Tidak	Tidak	0.538	Tidak
	Quercetin	77,207	-0,229	1,559	-1,098	Tidak	Tidak	0,407	Tidak
	Isoquercetin	47,99	0,242	1,846	-1,688	Tidak	Tidak	0,394	Tidak
	Kaempferol	74,29	0,032	1,274	-0,939	Tidak	Tidak	0,477	Tidak
	RO 48-8071	92,32	1,063	1,331	0,776	Ya	Tidak	1,026	Tidak
Kontrol	BVT-2733	1,641	91,013	-0,436	-0,017	Ya	Tidak	-0,334	Tidak
	Ezetimibe	1,641	91,013	-0,436	-0,017	Ya	Tidak	-0,334	Tidak
	Statin	60.451	0.584	-0.584	-0.504	Tidak	Tidak	0.291	Tidak

Hasil analisa ADMET menunjukkan bahwa kesepuluh senyawa aktif bawang putih tunggal dan kontrol tidak menunjukkan sifat toksik pada hati. Informasi penting dari ADMET adalah dosis LD50 yang dihitung dalam hewan model tikus (*Rattus norvegicus*). Membandingkan dosis LD50, senyawa dengan dosis lebih rendah lebih letal daripada senyawa yang memiliki LD50 lebih tinggi (Tabel 3.2). aktif bawang putih tunggal sebagai kandidat obat dilanjutkan ke tahap *molecular docking* untuk melihat penambatan antara senyawa dengan enzim atau protein target secara komputasi.

Tabel 3.2 LD₅₀ Senyawa Aktif Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Lokal Jawa Timur

Senyawa	Median Lethal Dose (LD50) (mg/kg)
Allyl Mercaptan	682
Cycloalliin	4000
Allixin	1000
Alicin	2.366
Alliin	2.051
E-ajoene	2.472
Z-ajoene	2.472
Quercetin	159
Isoquercetin	5000
Kaempferol	3919
Ezetimibe (Kontrol)	1350
RO 48-8071 (Kontrol)	1300
BVT-2733 (Kontrol)	2.201
Statin (Kontrol)	1.662

2. Identifikasi dan Validasi Target

Identifikasi dan Validasi target adalah hal yang menentukan yang mengarah pada tujuan yang akan dicapai untuk mengurangi masalah pada manusia. Manusia sekarang dihadapkan dengan morbiditas yang mengancam jiwa seperti gangguan kardiovaskular dan kanker. Angka kematian penyakit kardiovaskuler mencapai 17 juta jiwa di seluruh dunia dan aterosklerosis adalah faktor utamanya. Peningkatan LDL dan trigliserida serta turunnya HDL menjadi penyebab utama aterosklerosis. Perubahan metabolisme pada penderita aterosklerosis

disebabkan adanya *overexpression* dari beberapa enzim penyebab meningkatnya LDL melalui jalur biosintesis kolesterol. Enzim-enzim dan protein tersebut diantaranya HMGR, *11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1* (11 β -HSD1), protein *Niemann-Pick C1-Like 1* (NPC1L1), dan *Lanosterol Synthase*. Senyawa-senyawa bawang aktif tunggal (Tabel 3.1) akan diprediksi dengan enzim yang berperan penting dalam biosintesis kolesterol adalah sebagai berikut;

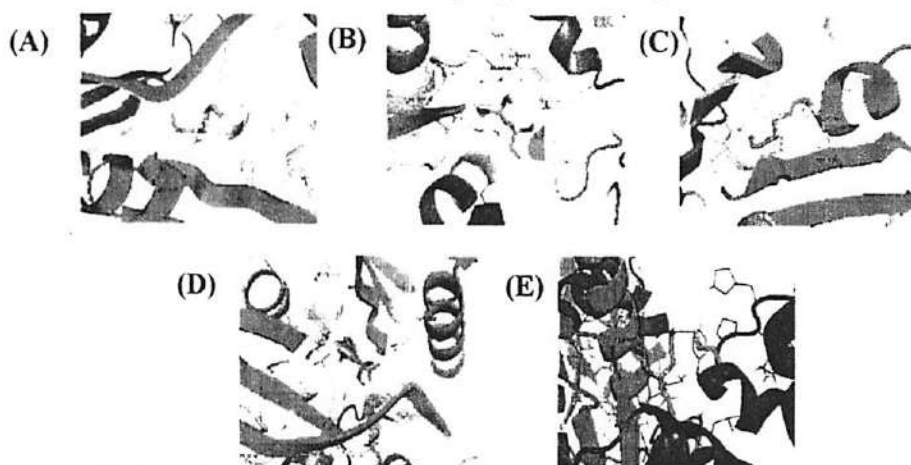
1. Senyawa Allicin, Alliin, Statin, E- dan Z-ajoene dengan Enzim HMG-CoA reduktase

Hasil *molecular docking* (MD) antara protein target dan senyawa (ligan) berupa afinitas pengikatan (*binding affinity*) (Tabel 3.3) dan posisi pengikatan (*binding site*) (Gambar 3.3). Protein target yang digunakan adalah model 3D enzim HMG-CoA reduktase. Ligan yang digunakan yaitu model 3D senyawa Allicin, Alliin, E- dan Z-ajoene serta model 3D senyawa kontrol yaitu Statin. Senyawa kontrol Statin telah diketahui sebagai inhibitor bagi enzim HMG-CoA reduktase.

Tabel 3.3. Hasil *Molecular Docking* Berupa Afinitas Pengikatan

Ligan	Energi Ikatan (kcal/mol)
Alliin	-4.8
Allicin	-4.2
E-ajoene	-4.1
Z-ajoene	-4.2
Statin (Kontrol)	-7.6

Berdasarkan Tabel 3.3, diketahui bahwa empat senyawa bawang putih tunggal memiliki afinitas pengikatan pada enzim HMG-CoA sebesar -4.8 kcal/mol (alliin), -4.2 kcal/mol (allicin), -4.1 kcal/mol (E-ajoene), dan -4.2 kcal/mol (Z-ajoene). Afinitas pengikatan pada statin sebesar -7.6 kcal/mol. *Binding affinity* yang baik ditunjukkan dengan nilai yang paling kecil, hal ini menunjukkan bahwa energi yang dibutuhkan untuk berikatan semakin kecil. Urutan ligan yang paling baik berikatan dengan enzim HMG-CoA reduktase, yaitu Alliin, Z-ajoene, Allicin, dan E-ajoene. Hasil *molecular docking* antara protein target dan senyawa (ligan) berupa posisi pengikatan (*binding site*), residu asam amino dan jarak ikatannya (Gambar 3.3).



Gambar 3.3 Visualisasi tiga dimensi kompleks HMG-CoA reduktase dengan senyawa bawang putih tunggal yang terikat dengan ikatan hidrogen. (A) Allicin dengan Lys-606, (B) Alliin dengan Asn-755, Lys-691, Asp-690, Lys-692, Lys-735, (C) E-ajoene dengan Lys-606 dan Thr-636, (D) Statine dengan Lys-606, His-635, dan Tyr-687, dan (E) Z-ajoene dengan Asn-567.

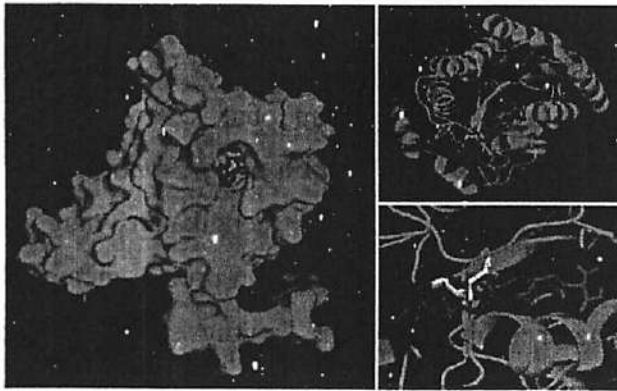
2. Senyawa *Allicin*, *Alliin*, *Ajoene* dan *11 β-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1* (11β-HSD1)

Ketiga senyawa aktif bawang putih tunggal memiliki afinitas pengikatan yang lebih kecil dibandingkan obat kontrol *3-kloro-2-metil-N-[4-[2-(4-metil-1-piperazinil)-2-oksoetil]-2-thiazolil] benzenesulfonamide* (BVT-2733). Afinitas pengikatan yang kecil menyebabkan ikatan kurang kuat dan pengikatan protein memerlukan energi yang lebih besar sehingga ikatan kurang stabil, meskipun demikian ketiga senyawa aktif bawang putih tunggal memiliki interaksi antara ketiga senyawa sehingga dapat bekerja secara sinergis dan memiliki kemungkinan toksisitas rendah yang efektif untuk pengobatan (Tabel 3.4).

Tabel 3.4 Nilai Afinitas Pengikatan dari Hasil *Molecular Docking*

Ligan	Energi Ikatan (kcal/mol)
<i>Allicin</i>	-4,1
<i>Alliin</i>	-4,7
<i>Ajoene</i>	-4,5
BVT-2733	-8,9

Hasil klarifikasi menunjukkan bahwa senyawa aktif bawang putih dan obat kontrol BVT-2733 berada dalam satu sisi pengikatan pada enzim 11 β -HSD1. Klarifikasi ini ditunjukkan melalui gambar enzim 11 β -HSD1 dengan bentuk permukaan berwarna hijau (Gambar 3.4A) dan dapat diperjelas dengan tampilan bentuk cartoon (Gambar 3.4B) dengan keempat ligan berbentuk batang. Klarifikasi pengikatan hasil docking antara ketiga senyawa aktif bawang putih tunggal dan enzim 11 β -HSD1 ditunjukkan pada Gambar 3.4.



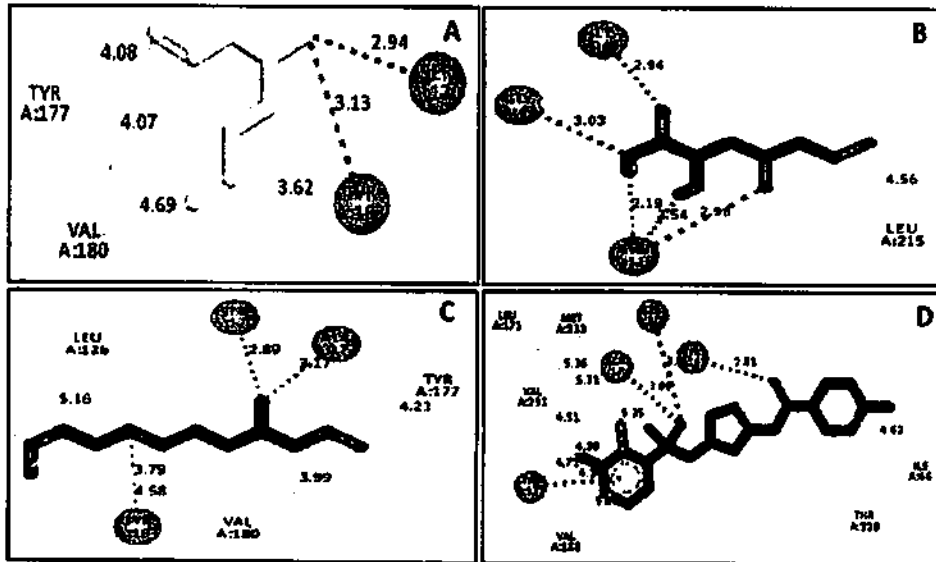
Gambar 3.4 Visualisasi tiga dimensi kompleks BVT-2733 pada enzim 11β -HSD1 dengan senyawa BPT yang terikat dengan ikatan hidrogen (A) Klarifikasi sisi pengikatan allicin, alliin, ajoene dan BVT-2733 pada enzim 11β -HSD1 menggunakan tampilan surface, (B) Klarifikasi sisi pengikatan menggunakan tampilan cartoon, (C) Perbesaran klarifikasi sisi pengikatan seluruh senyawa yang digunakan. Ket ligan: Allicin (warna kuning), alliin (warna merah), ajoene (warna biru), dan BVT-2733 (warna ungu).

Hasil *docking* molekul dapat divisualisasikan menggunakan *software* Discovery Studio. Visualisasi ini dilakukan untuk mengetahui interaksi antara ligan dengan makromolekul dan mengetahui residu asam amino. Residu asam amino dari penambatan senyawa aktif bawang putih dan obat kontrol dengan enzim 11β -HSD1 tersaji pada Tabel 3.5.

Tabel 3.5 Residu Asam Amino Pada Masing-Masing Senyawa

Senyawa	Residu Asam Amino dengan Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino dengan Ikatan Pi-Alkyl
<i>Allicin</i>	Ser A:170, Tyr A:183	Tyr A:177, Val A:180, Tyr A:183
<i>Alliin</i>	Ile A:46, Gly A:47, Asn A:119	Leu A:215
<i>Ajoene</i>	Ser A:170, Ala A:172, Tyr A:183	Leu A:126, Val A:180, Tyr A:177
BVT-2733	Ala A:172, Ser A:170, Tyr A:183	Ile A:46, Ala A:172, Leu A:171, Tyr A:177, Met A:233, Val A:231, Val A:180

Hasil visualisasi *docking* molekul menunjukkan senyawa aktif bawang putih dan obat kontrol BVT-2733 berada dalam satu sisi pengikatan pada enzim 11 β -HSD1 dan tampak memiliki sisi penambatan beberapa asam amino yang sama. Visualisasi berupa jarak ikatan beserta dengan jenis ikatan tersaji pada Gambar 3.5.



 Ikatan Hidrogen
 Ikatan Alkyl

Gambar 3.5 Jenis ikatan dan jarak pengikatan senyawa dengan residu asam amino enzim 11β -HSD1. (A) Pengikatan *alliin*, (B) Pengikatan *alliin*, (C) Pengikatan *ajoene*, dan (D) Pengikatan BVT-2733.

Hasil visualisasi docking molekul menunjukkan bahwa senyawa aktif bawang putih dan obat kontrol BVT-2733 berada dalam satu sisi pengikatan pada enzim 11β -HSD1 dan memiliki beberapa sisi penambatan asam amino yang sama, adapun residu asam amino yang sama adalah Ala A:172, Ser A:170, Tyr A:183, Ile A:46, Tyr A:177, dan Val A:180. Kesamaan residu asam amino enzim 11β -HSD1 yang berikatan dengan senyawa aktif bawang putih tunggal dan obat kontrol menandakan bahwa bawang putih tunggal dapat menghambat aktivitas enzim 11β -HSD1. Senyawa aktif bawang putih tunggal dan obat kontrol BVT-2733 memiliki ikatan hidrogen maupun ikatan hidrofobik (ikatan alkyl) yang dapat mengoptimalkan afinitas pengikatan dan menstabilkan interaksi antara ligan dengan protein target. Jarak ikatan

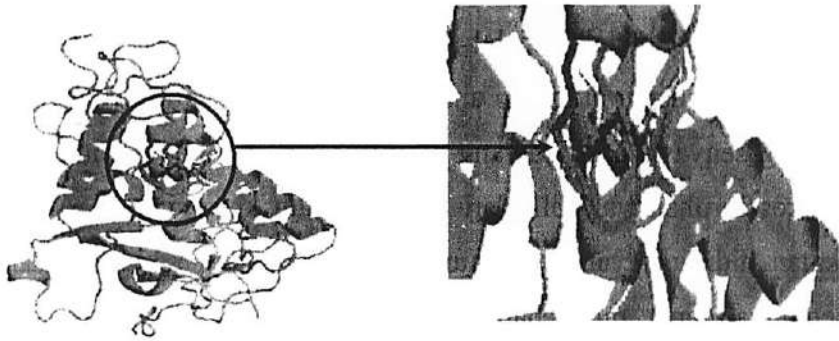
hidrogen yang dianggap stabil adalah 1,85 Å, berdasarkan visualisasi hasil docking jarak ikatan hidrogen antara residu asam amino dengan masing-masing senyawa aktif bawang putih tunggal dan obat kontrol BVT-2733 keseluruhannya lebih dari 1,85 Å, yaitu kisaran 2—5 Å, artinya ikatan hidrogen yang terbentuk merupakan ikatan hidrogen lemah, sehingga dapat menyebabkan perubahan menjadi interaksi hidrofobik. Berdasarkan hasil *docking* menunjukkan bahwa allixin, alliin dan ajoene memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim 11β-HSD1.

3. *Allyl Mercaptan, Cycloalliin, Allixin, Ezetimibe* dengan NPC1 Like Intracellular Cholesterol Transporter 1 (NPC1L1)

Hasil *molecular docking* menggunakan *software* Pyrx diketahui nilai *binding affinity* (Tabel 4.6) dan posisi pengikatan antara protein NPC1L1 dengan senyawa ligan pada dimensi koordinat X: 9,5506 Å; Y: 13,4840 Å; dan Z: 12,9605 Å, sehingga seluruh senyawa ligan berada pada posisi pengikatan yang sama (Tabel 3.6).

Tabel 3.6 Hasil Nilai *Binding Affinity* Senyawa Ligan dengan Menggunakan *Software* Pyrx

Senyawa	Energi Ikatan (kcal/mol)
<i>Allyl Mercaptan</i>	-1,7
<i>Cycloalliin</i>	-3,9
<i>Allixin</i>	-4,4
<i>Ezetimibe</i> (Kontrol)	-5,8



Gambar 3.6 Hasil Visualisasi Posisi Pengikatan Senyawa Ligan dengan Protein Target

Nilai *binding affinity* yang digunakan sebagai data merupakan nilai pada mode 0 dengan nilai *binding affinity* paling rendah sehingga dapat menunjukkan energi yang digunakan untuk melakukan pengikatan semakin besar. Berdasarkan Tabel 3.6 dapat diketahui bahwa nilai ikatan senyawa ezetimibe sebagai obat kontrol memiliki nilai *binding affinity* paling rendah sebesar -5,8 kcal/mol. Senyawa organosulfur bawang putih tunggal (*A. sativum*) yang memiliki nilai *binding affinity* paling rendah yaitu allixin dengan nilai sebesar -4,4 kcal/mol, artinya allixin memiliki pengikatan yang tinggi dengan reseptor.

Hasil visualisasi jenis dan jarak ikatan senyawa organosulfur bawang putih tunggal (allyl mercaptan, cycloalliin, dan allixin) dan ezetimibe sebagai obat kontrol menggunakan *software Discovery Studio* (Tabel 3.7).

Tabel 3.7 Hasil Jenis dan Jarak Ikatan Senyawa Ligan Menggunakan *Software Discovery Studio*

Ligan	Jenis Ikatan	Residu Asam Amino	Jarak Ikatan (Å)
Allyl Mercaptan	Alkyl	ALA : 241	3,65
		GLN : 247	3,14
Cycloalliin	Hidrogen	ARG : 80	3,19
		ALA : 241	3,01
	Alkyl	GLY : 239	2,39
		ALA : 241	3,77
Allixin	Hidrogen	PRO : 79	4,26
		ARG : 80	3,07
	Carbon Hidrogen	ASP : 118	3,33
	Pi-Donor Hidrogen	GLN : 247	3,73
	Hidrogen	SER : 246	1,88
Ezetimibe (Kontrol)	Halogen	ASP : 118	3,37
	Pi-Donor Hidrogen	GLN : 247	3,43
	Pi-Alkyl	ALA : 241	4,83
	Pi-Sigma	GLN : 247	3,70

Berdasarkan Tabel 3.7 dapat diketahui bahwa interaksi hidrofobik yang sama antara senyawa organosulfur bawang putih tunggal (*A. sativum*) dengan obat kontrol berupa residu asam amino ALA241, GLN247, ARG80, dan ASP118. Seluruh senyawa memiliki ikatan hidrogen dengan jarak yang berbeda-beda, terutama *cycloalliin* yang memiliki jumlah ikatan hidrogen paling banyak, serta *allixin* memiliki jarak ikatan hidrogen paling dekat apabila dibandingkan dengan *allyl mercaptan* dan *ezetimibe*.

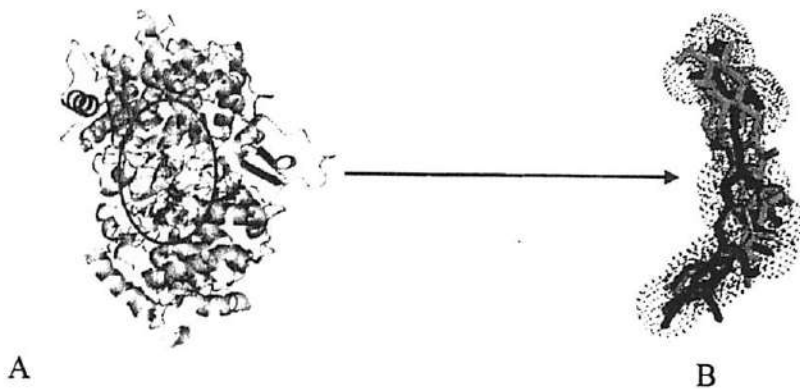
4. Senyawa Quercetin, Isoquercetin, Kaempferol, RO 48-8071 dengan *Lanosterol Synthase*

Molecular docking menggunakan *software* Pyrx 8.0, dengan *Blind docking* native ligan untuk mengetahui sisi aktif enzim *lanosterol synthase*, selanjutnya dilakukan *matching approach* sesuai dengan koordinat hasil *blind docking* yakni pada X: 16,4741 Å, Y: 14,4133 Å, dan Z sebesar 16,7797 Å (Gambar 3.7). Hasil *molecular docking* berupa nilai energi pengikatan (*binding affinity*) (Tabel 3.8).

Tabel 3.8. Nilai Energi Ikatan Ligan

Ligan	Energi Ikatan (kcal/mol)
Quercetin	-9,8
Isoquercetin	-6,8
Kaempferol	-9,9
RO 48-8071	-10,3

Senyawa kontrol memiliki nilai *binding affinity* terendah sebesar -10,3 kcal/mol, sedangkan dari ketiga senyawa flavonoid bawang putih tunggal yang memiliki energi ikatan terendah adalah kaempferol sebesar -9,9 kcal/mol. Obat dengan potensi terapeutik yang lebih baik, memiliki *binding affinity* yang paling rendah, semakin rendah nilai *binding affinity*, maka semakin rendah energi yang diperlukan untuk berikatan dengan target.



Gambar 3.7 Posisi pengikatan senyawa ligan dan kontrol pada sisi aktif enzim lanosterol synthase (a) RO 48-8071 (hitam), quercetin (merah muda), isoquercetin (hijau), dan kaempferol (cyan).

Ikatan ligan dengan enzim berpengaruh pada kestabilan dan proses biologis enzim, hasil visualisasi ikatan menggunakan *discovery studio* menunjukkan jenis ikatan, asam amino residu dan jarak ikatan yang terbentuk antara senyawa flavonoid bawang putih tunggal dengan enzim lanosterol synthase (Tabel 3.9). Residu asam amino yang berikatan dengan senyawa bawang putih tunggal dan kontrol, memiliki persamaan dengan sisi aktif enzim *lanosterol synthase* berdasarkan webserver COFACTOR (C. Zhang dkk., 2017) yakni Tyr98, Trp192, Trp230, His232, Cys 233, Val236, Ile338, Gly380, Thr381, Trp387, Phe444, Asp455, Thr502, Ile524, Cys533, Trp581, Phe696, Asn697, Tyr704 kecuali Phe521 pada RO 48-8071 dan Tyr 503, Val453 pada isoquercetin.

Tabel 3.9 Ikatan dan Jarak Ikatan ligan dengan Enzim Lanosterol Synthase

Ligan	Residu asam amino dan jarak ikatan (Å)		
	Hidrogen	Hidrofobik	Alkyl
RO-48-8071		Phe : 521; 5,08	Trp : 192 ; 4,73
		Phe : 696; 3,78	Phe : 521 ; 4,53
		Trp : 192; 5,08	Phe : 444 ;4,93
		His : 232; 4,32	Trp : 387 ; 5,04
			Ile : 524 ; 3,49
Isoquercein	Tyr : 98 ; 2,82	Phe : 696; 3,99	Val :453; 5,35
	Tyr : 98 ; 3,02	Phe : 696; 4,85	
	Asp: 455 ; 2,36	His : 232; 4,36	
	Tyr : 704 ; 2,36	His : 232; 4,38	
		His : 232; 5,29	
Quercetin		Phe : 696; 4,01	Ile: 524 ; 5,07
		Phe : 696; 4, 00	
		His : 232; 4, 56	
		His : 232; 4,16	
		Trp : 230; 5,38	
		Trp: 192; 4,95	
Kaempferol	Gly :380 ; 2,18	Phe: 696 ; 2,18	Ile : 524 ; 5,07
		Phe: 696 ; 3,98	
		His: 232 ;4,06	
		His: 232 ; 4,15	
		Trp: 192 ;4,56	
		Trp :230 ;4,96	

Berdasarkan Tabel 3.9, ikatan yang bersifat menstabilkan seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik terdapat pada senyawa flavonoid bawang putih tunggal. Ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik mampu mengoptimalkan afinitas ikatan karena berperan dalam *macromolecular recognition*, *folding*, dan stabilitas ikatan kompleks obat—target, serta dapat berperan sebagai *molecular recognition* dalam proses katalitik substrat. Jarak ikatan berpengaruh pada kekuatan ikatan, jarak ikatan rata-rata terpendek dimiliki oleh senyawa kaempferol.

Jarak ikatan yang pendek maka semakin besar elektronegativitas kation, terjadi penumpukan kerapatan elektron di sepanjang ikatan, sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat. Pengembangan penelitian dapat dilakukan dengan pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* berdasarkan potensi yang telah dimiliki flavonoid bawang putih tunggal (isoquercetin, quercetin, dan kaempferol) dengan optimasi absorpsi senyawa.

BAB IV

POTENSI METABOLIT SEKUNDER PADA BAWANG TUNGGAL SEBAGAI ANTI BAKTERI

Ekstrak bawang putih telah digunakan untuk mengobati infeksi selama ribuan tahun. Pada perang Dunia Pertama, bawang putih telah digunakan sebagai antiseptik alami untuk membersihkan dan mengobati luka. Adanya senyawa organosulfur pada bawang putih yang bertanggung jawab atas aroma dan rasa bawang putih yang khas dan kuat diyakini memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan (Ibrahim dkk., 2018; Nejad dkk., 2014; Palaksha dkk., 2010).

Senyawa organosulfur utama yang terdapat dalam bawang putih yang masih utuh adalah *γ-glutamyl-S-allyl-L-cysteines* dan *S-allyl-L-cysteine sulfoxides* (alliin). Alliin merupakan senyawa utama asam amino yang mengandung sulfur yang tidak berbau. Alliin akan dikonversi menjadi *allicin* melalui reaksi enzimatik setelah bawang putih dipotong atau dihancurkan. Alliinase merupakan enzim kunci yang memfasilitasi transformasi substrat *S-allyl-L-cysteine sulfoxides* (alliin) menjadi *allicin* (Rasooli, 2011).

Allicin menjadi komponen biologis dan biokimia yang memiliki sumbangan terbesar terhadap efek kesehatan yang dimiliki bawang putih. *Allicin* menjadi substansi utama pada bawang putih segar yang dapat dengan mudah terurai di bawah pengaruh panas, cahaya, oksidan dan waktu untuk menjadi bentuk senyawa yang stabil (Kim dkk., 2009). Proses pembentukan lengkap *allicin* yang dimediasi oleh *allinase* terjadi

setelah periode antara 2 dan 5 menit ketika air ditambahkan ke bawang putih segar atau bubuk bawang putih. Namun, pembentukannya dalam tubuh setelah dikonsumsi dipengaruhi oleh aktivasi enzim allinase, karena enzim tidak aktif pada pH lebih rendah dari 3,5 (Lee dkk., 2014; Morales-González dkk., 2019).

Allicin memiliki ikatan disulfida yang membuatnya sangat reaktif, volatile dan tidak stabil dengan waktu paruh kimianya berkisar dari beberapa jam hingga beberapa hari, tergantung pada kondisinya (Farias-Campomanes dkk., 2014). Bawang putih adalah antibiotik potensial dan menunjukkan hasil efektif terhadap bakteri yang resisten terhadap antibiotik farmasi (Nejad dkk., 2014). Metabolit sekunder pada bawang putih, termasuk pada bawang tunggal berpotensi sebagai antibakteri pada beragam bakteri gram positif maupun gram negatif.

A. Potensi Metabolit Sekunder Bawang Tunggal sebagai Anti Bakteri pada *Staphylococcus aureus* (Bakteri Gram Positif)

S. aureus adalah bakteri gram-positif yang patogen utama pada manusia dan menyebabkan berbagai manifestasi klinis. Infeksi *S. aureus* menjadi salah satu infeksi bakteri yang paling umum pada manusia dan merupakan agen penyebab berbagai penyakit infeksi pada manusia, seperti bakteremia, infeksi endokarditis, infeksi kulit dan jaringan lunak (misalnya, impetigo, folikulitis, furunkel, karbunkel, selulitis, sindrom kulit melepuh, dan lainnya), osteomielitis, radang

sendi septik, infeksi alat prostetik, infeksi paru (misalnya, pneumonia dan empiema), gastroenteritis, meningitis, dan infeksi saluran kemih.

S. aureus ditemukan di lingkungan dan juga ditemukan pada flora normal manusia, terletak di kulit dan selaput lendir dari individu yang sehat. Infeksi *S. aureus* sering terjadi di lingkungan yang didapat dari masyarakat atau infeksi yang didapat dari rumah sakit, sehingga perawatan untuk infeksi ini masih sulit untuk dikelola karena munculnya strain yang resisten terhadap beberapa obat seperti Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) (Sizar & Unakal, 2020; Taylor & Unakal, 2020).

Strain MRSA membawa gen *mec* pada kromosomnya, yang merupakan komponen besar dari region *Staphylococcal chromosomal cassette mec* (SCC*mec*). Gen *mec* memberikan kemampuan resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik tergantung pada jenis SCC*mec*. Gen *mec* mengkode protein PBP-2A (penicillin-binding protein 2A) yang merupakan protein pengikat penicillin atau enzim esensial pada dinding sel bakteri yang mengkatalisis produksi peptidoglikan pada dinding sel bakteri.

Protein PBP-2A memiliki afinitas yang lebih rendah untuk mengikat beta-laktam dan antibiotik turunan penicillin lainnya, sehingga PBP-2A terus mengkatalisis sintesis dinding sel bakteri bahkan dengan banyak antibiotik. Oleh sebab itu, strain MRSA yang mampu mensintesis PBP-2A dapat tumbuh dalam kondisi antibiotik yang tinggi, dan resisten terhadap banyak antibiotik seperti metisilin,

nafcillin, *oxacillin*, dan sefalosporin (Rasigade & Vandenesch, 2014; Taylor & Unakal, 2020).

Pengobatan infeksi *S. aureus* sangat tergantung pada jenis infeksi serta ada atau tidak adanya strain yang resisten terhadap obat. Secara umum, penicillin tetap menjadi obat pilihan jika terjadi infeksi yang isolatnya sensitive (MSSA atau methicillin sensitive *S. aureus* strains), dan *vancomycin* untuk MRSA. Namun, karena banyak strain MRSA yang kebal terhadap beberapa antibiotik penambahan terapi alternatif diperlukan untuk mengurangi infeksi (Tong dkk., 2015). Antibiotik *vancomycin* mampu menghambat pertumbuhan bakteri, terutama bakteri gram-positif dengan menghambat sintesis dinding sel dengan mengikat asam amino D-Ala-D-Ala rantai peptida sehingga mengganggu kerja *transpeptidase* untuk melakukan *cross-linking* antara rantai peptida sehingga rantai peptida tidak dapat digabungkan dan dinding sel menjadi lemah (Rahmaniar, 2017).

Penggunaan antibiotik secara luas dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan banyak bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik, sehingga perlu dikembangkan antibiotik alternatif. Bahan alam yang berpotensi sebagai antibakteri yakni bawang putih tunggal yang dapat digunakan sebagai salah satu solusi menanggulangi terjadinya resistensi bakteri.

Ekstrak bawang putih tunggal terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dari hasil pengujian menggunakan metode difusi cakram. Penggunaan ekstrak bawang

tunggal putih dengan rentang konsentrasi 25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml dan 100 mg/ml menunjukkan efek yang berbanding lurus dengan pembentukan diameter zona hambat (Tabel 4.1). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak bawang tunggal yang diberikan, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk.

Tabel 4.1 Rerata diameter zona hambat pada kultur bakteri *S. aureus*

Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)	Diameter zona hambat (mm)
DMSO 1%	6,00
Vancomycin 30 µg/mL	17,40
25 mg/mL	9,04
50 mg/mL	10,24
75 mg/mL	11,56
100 mg/mL	14,15

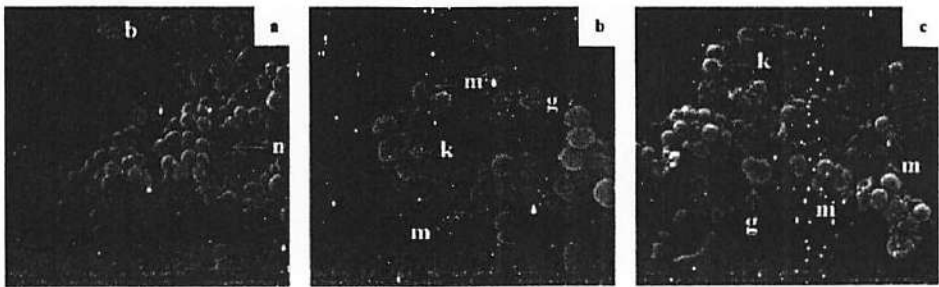
(Gofur dkk., 2019).

Kemampuan ekstrak minyak bawang tunggal membentuk zona hambat pada kultur bakteri *S. aureus* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder pada ekstrak minyak bawang tunggal yang bersifat antibakteri, yaitu *allicin*, *ajoene*, *diallyl sulfide* (DAS), *diallyl disulfide* (DADS), dan *diallyl trisulfide* (DATS). Bawang putih pada keadaan utuh memiliki senyawa *gamma-glutamyl-S-alk (en) il-L-sistein* yang merupakan senyawa sulfur utama yang dapat dihidrolisis dan teroksidasi untuk menghasilkan *S-alkil (en) yl-L-cysteine sulfoxide* (alliin).

Bawang putih yang dipotong atau dicincang akan mengubah kandungan alliin menjadi *allicin* dengan bantuan enzim alinase. *Allicin*

merupakan produk yang tidak stabil dan sangat reaktif yakni mudah mengalami reaksi tambahan untuk membentuk turunan lainya seperti membentuk berbagai senyawa yang larut dalam minyak yakni *diallyl sulfide* (DAS), *diallyl disulfide* (DADS), *diallyl trisulfide* (DATS) dan *ajoene* jika kondisi sesuai (Gofur dkk., 2019).

Senyawa Allicin pada bawang putih memiliki aktivitas antibakteri yang utama karena adanya gugus thiol yang akan bereaksi dengan enzim-enzim yang memiliki gugus thiol seperti *suksinik dehidrogenase*, *heksokinase*, *triosefosfate dehidrogenase* atau alkohol dehidrogenase. Gugus thiol pada allicin akan mengubah reaksi senyawa thiol dalam enzim bakteri sehingga menyebabkan gangguan pada metabolisme dan pertumbuhan bakteri. Selain itu, *allicin* dan *ajoene* memiliki kemampuan menghambat sintesis RNA secara total dan menghambat sebagian sintesis DNA dan protein pada sel bakteri, yang berdampak pada penghambatan pertumbuhan sel bakteri serta menyebabkan kematian pada sel bakteri *S. aureus* (Borlinghaus dkk., 2014b; Daka, 2011; Gofur dkk., 2019; Mairaj & Rehman, 2013).



Gambar 4.1 Hasil Pengamatan Morfologi bakteri *S. aureus* menggunakan Scanning Electron Mikoscopy dengan perbesaran 25000X (a) bakteri *S. aureus*

tanpa perlakuan, (b) bakteri *S. aureus* dengan pemberian antibiotik *vancomycin*, (c) bakteri *S. aureus* dengan pemberian ekstrak minyak bawang tunggal. b: membelah, g: menggembung, k: permukaan kasar, m: mengerut, n: normal (Gofur dkk., 2019).

Aktivitas antibakteri pada ekstrak bawang tunggal terhadap kultur bakteri *S. aureus* juga ditunjukkan dengan adanya kerusakan pada struktur morfologis sel bakteri yang diamati menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (Gambar 4.1). Kerusakan struktur morfologi sel bakteri menjadi mengerut dan membengkak dengan pemberian ekstrak minyak bawang tunggal disebabkan oleh senyawa allicin pada bawang tunggal yang mampu mendegradasi dinding sel bakteri dengan melemahkan lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri.

Allicin juga mampu memodifikasi membran sel bakteri yang mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Akumulasi zat yang masuk ke dalam sel dapat menyebabkan sel bakteri mengalami pembengkakan, sebaliknya apabila zat yang berada di dalam sel seperti ion organik, enzim, asam amino, dan nutrisi keluar dari sel dapat menyebabkan sel mengerut. Ketidakseimbangan transport zat yang keluar dan masuk dalam sel bakteri, juga menyebabkan penghambatan metabolisme sel sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Booyens dkk., 2014; Gofur dkk., 2019).

Senyawa lain dari turunan allicin yang memiliki sifat antibakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri *S. aureus* yakni *diallyl sulfide* (DAS), *diallyl disulfide* (DADS), *diallyl trisulfide* (DATS). Senyawa tersebut memiliki sifat hidrofobik, dapat merusak fosfolipid yang merupakan komponen utama penyusun membran bakteri. Kerusakan fosfolipid menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan keluarnya sitoplasma sel dan substansi sel lainnya dengan berat molekul rendah dari dalam sel menembus membran sel sehingga sel mengerut yang menyebabkan kematian bakteri (Gofur dkk., 2019; Mnayer dkk., 2014).

Bentuk kerusakan morfologi lain pada sel bakteri *S. aureus* berupa tonjolan-tonjolan di permukaan sel dapat disebabkan karena peptidoglikan pada dinding sel bakteri mengalami kerusakan akibat senyawa ajoene dalam bawang tunggal. Ajoene merupakan salah satu senyawa organosulfur turunan dari allicin yang memiliki sifat antibakteri dengan cara menghilangkan komponen peptidoglikan pada permukaan dinding sel bakteri gram-positif. Kerusakan pada peptidoglikan mengakibatkan penipisan dinding sel sehingga dinding sel tidak mampu menahan tekanan intraseluler yang tinggi dan membentuk tonjolan-tonjolan kecil yang merupakan tanda terganggunya proses biosintesis pada sel bakteri *S. aureus* (Gofur dkk., 2019; Miksusanti dkk., 2008).

B. Potensi Metabolit Sekunder Bawang Tunggal sebagai Anti Bakteri pada *Pseudomonas aeruginosa* (Bakteri Gram Negatif)

P. aeruginosa merupakan bakteri gram-negatif patogen pada manusia yang infeksiya umum didapatkan di lingkungan rumah sakit, khususnya di ICU melalui paparan peralatan rumah sakit yang belum menjalani sterilisasi dengan tepat. Bakteri *P. aeruginosa* menyebabkan infeksi nosokomial seperti endokarditis dan septikemia, infeksi saluran kemih, sistitis, pneumonia, dan infeksi luka bedah. *P. aeruginosa* dapat menghasilkan metabolit sekunder, fitotoksin, dan β -Laktamase yang menyebabkan bakteri *P. aeruginosa* menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik (Jenny & Kingsbury, 2018; Xu dkk., 2017).

P. aeruginosa memiliki *envelope* (selubung membran) yang terdiri dari tiga lapisan. Lapisan pertama adalah membran luar yang hanya dimiliki bakteri gram-negatif berupa lapisan fosfolipid yang terikat pada lapisan dalam membran dan LPS yang terikat di bagian luarnya, dan diketahui menyebabkan syok endotoksin. Selain itu, OM mengandung protein yang disebut protein membran luar seperti porin dan lainnya yang memungkinkan lewatnya molekul kecil seperti asam amino dan sakarida.

Lapisan kedua adalah dinding sel peptidoglikan yang merupakan eksoskeleton kaku yang menentukan bentuk sel dan terdiri dari unit berulang asam disakarida N-asetilglukosamin (GlcNAc) dan asam N-asetil muramik (MurNAc). Lapisan ketiga adalah membran dalam yang merupakan lapisan fosfolipid ganda yang bertanggung jawab dalam

proses metabolisme, transportasi, dan fungsi biosintesis (Breijyeh dkk., 2020).

Membran bagian luar bakteri merupakan faktor utama resistensi *P. aeruginosa* terhadap beberapa antibiotik. Sebagian besar antibiotik harus melewati membran luar untuk mengakses targetnya pada sel bakteri, misalnya, obat hidrofobik dapat melewati jalur difusi, sedangkan antibiotik hidrofilik seperti β -laktam melewati porin.

P. aeruginosa memiliki kemampuan untuk setiap perubahan pada membran luar oleh bakteri Gram-negatif seperti mengubah sifat hidrofobik pada membrannya sehingga dapat menciptakan resistensi. Strain *P. aeruginosa* tertentu juga dapat bermutasi atau secara endogen menghasilkan β -Laktamase yang menyediakan kemampuan resistensi terhadap penicillin. β -Laktamase dapat mengganggu struktur atom pusat beberapa antibiotik termasuk Penisilin, Sefalosporin, Monobaktam, dan Karbapenem (Breijyeh dkk., 2020; Jenny & Kingsbury, 2018; Xu dkk., 2017).

Terdapat beberapa mekanisme yang menyebabkan munculnya sifat resisten pada *P. aeruginosa* yakni mekanisme resistensi bawaan (*innate*) dan mekanisme resistensi yang diperoleh (*acquired*) terhadap beragam jenis antibiotik dan antiseptik. Pada mekanisme resistensi innate pada *P. aeruginosa* melibatkan ekspresi berlebihan dari pompa efflux yang berperan sebagai protein transmembran, sehingga menyebabkan penurunan permeabilitas membran luar bakteri dan peningkatan sekresi fitotoksin. Sedangkan pada mekanisme resistensi

P. aeruginosa yang diperoleh melibatkan akuisisi dari gen resistensi atau mutasi pada gen yang mengkode protein porin, pompa efflux, penicillin-binding proteins, dan kromosom β -laktamase, yang semuanya berkontribusi terhadap resistensi terhadap β -laktam, karbapenem, aminoglikosida, dan fluoroquinolone (Lister dkk., 2009; Pachori dkk., 2019).

P. aeruginosa memiliki kapasitas untuk menimbulkan infeksi dengan memanipulasi interaksi patogen pada inang, yang dapat muncul secara bersamaan dengan mekanisme resistensi antibiotik, sehingga memberikan resistensi kombinasi terhadap banyak antibiotik. Resistensi terhadap antibiotik ini merupakan ancaman terhadap pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan *P. aeruginosa*. Oleh karena itu, untuk mengatasinya, pengembangan pengobatan alternatif baru dan manjur diperlukan yang bertindak sebagai antibakteri yang berasal dari bahan alami tanaman, seperti bawang tunggal.

Studi *in-silico* membuktikan bahwa semua senyawa organosulfur pada bawang tunggal berpotensi sebagai antibakteri, antibiotik, dan imunomodulator berdasarkan hasil analisis *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) untuk mengevaluasi potensi biologis molekul organik pada bawang tunggal, dan hasil analisis *virtual screening* menggunakan metode *molecular docking* pada enzim UDP-3-O-asil-N-asetilglukosamin deasetilase (LpxC).

LPS merupakan struktur pada permukaan membran *P. aeruginosa* yang menyebabkan resistensi bawaan terhadap antibiotik dan disinfektan. LPS memiliki komponen hidrofobik berupa Lipid A yang

diketahui sangat bertanggung jawab terhadap efek toksik pada inang. Sintesis lipid A dimulai dengan sintesis Kdo₂-lipid A, terjadi dalam sitoplasma, dan difasilitasi oleh sembilan enzim berbeda. LpxC merupakan enzim yang berperan sebagai katalisator dalam proses biosintesis lipid A dan target dalam pengembangan antibiotik karena adanya kofaktor berupa Zn²⁺ (Doerrler, 2006; Fitriana dkk., 2018; Wang & Quinn, 2010).

Tabel 4.2 Hasil *Molecular docking* Senyawa Organosulfur dalam Bawang Putih (*Allium sativum*) Tunggal dan Senyawa Kontrol dengan Enzim LpxC menggunakan *Software PyRx*

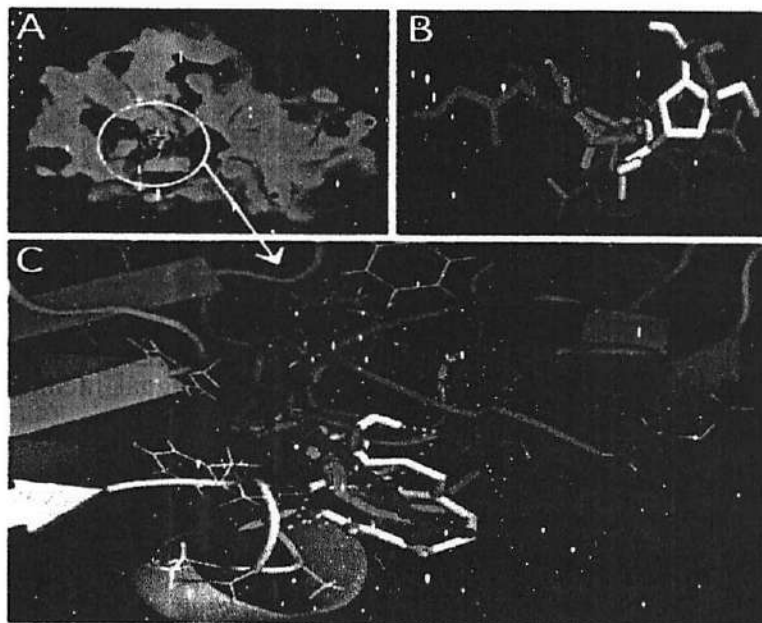
Senyawa	Afinitas Pengikatan (kcal/mol)
Ciprofloxacin	-7,7
Imipenem	-6,1
Alliin	-5,2
E-Ajoene	-4,8
Z-Ajoene	-4,8
Allicin	-4,7

(Fitriana dkk., 2018)

Senyawa organosulfur utama pada bawang tunggal memiliki potensi sebagai antibakteri, antibiotik, dan imunomodulator berdasarkan hasil prediksi PASS SERVER. Besar potensi senyawa pada bawang tunggal diprediksi berdasarkan perbandingan nilai Pa dengan Pi (Pa: Pi atau *active, inactive ratio*) dengan keakuratan prediksi yaitu sebesar 95% berdasarkan penilaian *Leave-One-Out Cross Validation* (LOO CV) yang diinterpretasikan melalui dua kriteria, yaitu $0,5 < Pa < 0,7$ dan $Pa < 0,5$ Hasil prediksi menunjukkan senyawa

organosulfur dengan nilai tertinggi adalah Alliin (0,522) sebagai imunomodulator, serta allicin (0,549) sebagai antibakteri dan (0,303) sebagai antibiotik.

Senyawa organosulfur merupakan salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai imunomodulator untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh. Pada mekanisme infeksi bakteri, pemberian Alliin dapat menurunkan fosforilasi *Extracellular signal-regulated kinase 1* dan 2 (ERK 1/2) yang terlibat dalam peradangan pada adiposit akibat adanya induksi LPS (Fitriana dkk., 2018; Parasuraman, 2011; Quintero-Fabián dkk., 2013).



Gambar 4.2 A. Klarifikasi Sisi Pengikatan Senyawa Organosulfur dari Bawang Putih (*Allium sativum*) Tunggal dan Kontrol (Ciprofloxacin dan Imipenem) pada Enzim LpxC; B. Visualisasi Seluruh Senyawa yang Digunakan; C. Perbesaran Klarifikasi Sisi Pengikatan Senyawa Organosulfur dari Bawang Putih (*Allium sativum*) Tunggal dan Kontrol (Ciprofloxacin dan Imipenem) pada Enzim LpxC.

Alliin memiliki aktivitas antibakteri paling kuat dengan afinitas pengikatan tertinggi dibandingkan senyawa organosulfur yang lain, dengan pengikatan lebih negatif dibandingkan tiga senyawa organosulfur lainnya dari hasil *molecular docking* (Tabel 4.2). Kenegatifan yang lebih rendah pada fungsi penilaian melalui proses *docking* menunjukkan aktivitas interaksi yang lebih baik antara ligan-reseptor (Amudha & Rani, 2016). Nilai afinitas pengikatan pada Alliin menunjukkan potensinya sebagai antibakteri. Alliin merupakan senyawa bersulfur yang belum memiliki aktivitas biologis (Amudha & Rani, 2016; Fitriana dkk., 2018).

Visualisasi *molecular docking* menunjukkan keempat senyawa organosulfur memiliki sisi pengikatan yang sama pada enzim LpxC. (Gambar 4.2). Hasil visualisasi menggunakan *software* LigPlot⁺ menunjukkan terdapat tiga residu asam amino yang sama (Ser295, Tyr296, dan Val182) dihubungkan pada ligan (Alliin, Allicin, Z-Ajoene, dan Imipenem) dan sisi aktif enzim LpxC dengan jarak ikatan hidrogen berbeda dan interaksi hidrofobik (Phe152, Phe181, Gly85, Phe176, Ala84, Val182, Ser180, Ile241, Leu86, Tyr296, Ser295, dan Met297) antara ligan-protein target.

Sisi aktif interaksi ligan-reseptor dapat diketahui dengan adanya ikatan hidrogen yang bereaksi dengan residu asam amino pada sisi aktif protein. Interaksi ini membuktikan bahwa ligan berupa senyawa aktif pada bawang tunggal memiliki peran yang sangat penting dalam

menghambat fungsi enzim LpxC (Fitriana dkk., 2018; Sahoo dkk., 2016).

Tabel 4.3 Hasil pengukuran zona hambat dari ekstrak bawang tunggal terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*

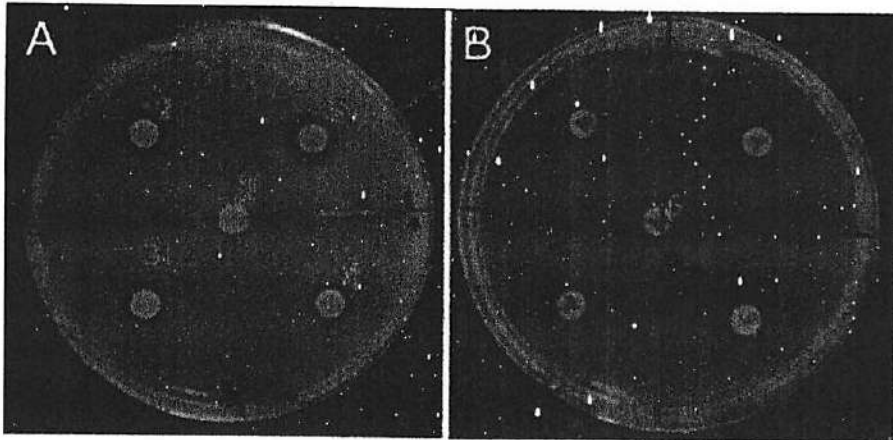
Konsentrasi Ekstrak Bawang Tunggal	Diameter zona hambat (mm)
DMSO 1%	6
Ceftazidime 30 μ g/ml	14
25 mg/mL	7,9
50 mg/mL	8,4
75 mg/mL	9,3
100 mg/mL	11,1

Sumber: (Lestari dkk., 2018)

Potensi metabolit sekunder bawang tunggal sebagai antibakteri pada *P. aeruginosa* juga telah dibuktikan secara *in vitro* melalui penghambatan pertumbuhan bakteri dan kerusakan membran sel bakteri. Penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa* oleh metabolit sekunder bawang tunggal dibuktikan melalui pengujian *disk diffusion* pada kultur bakteri (Gambar 4.3).

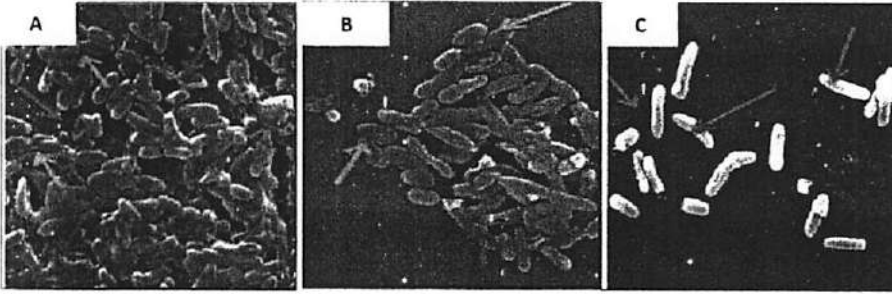
Ekstrak bawang putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan kuat pada konsentrasi 100 mg/ml (Tabel 4.3). Senyawa utama yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa* adalah allicin. Mekanisme kerja allicin sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis RNA dan merusak dinding sel bakteri. Penghambatan sintesis RNA dilakukan dengan membentuk ikatan yang kuat dengan enzim bakteri berupa *DNA dependent RNA polymerase*, sehingga dapat menghambat sintesis RNA bakteri dan menyebabkan

pertumbuhan bakteri terhambat (Durairaj DKK., 2009; Lestari DKK., 2018).



Gambar 4.3 Metode *disk diffusion* untuk mengukur zona hambat bakteri *P. aeruginosa*. A) Zona hambat *P. aeruginosa* pada berbagai konsentrasi ekstrak bawang tunggal (1= DMSO sebagai kontrol negatif; 2= 25mg/ml, 3= 50mg/ml, 4 = 75mg/ml, 5= 100mg/ml). B) Kontrol positif Ceftazidime 30µg/ml = 6.

Ekstrak bawang putih tunggal pada *P. aeruginosa* juga merusak dinding sel (Gambar 4.4). Kerusakan dinding sel ditandai dengan penyusutan sel bakteri yang disebabkan oleh senyawa aktif dalam ekstrak yang memiliki sifat hidrofilik sehingga dapat menembus membran luar sel yang ditutupi dengan LPS hidrofilik. Selain itu, terjadi penipisan bentuk sel karena adanya peningkatan permeabilitas membran yang menyebabkan hilangnya komponen sel, serta terjadi pembentukan '*ghost cell*'. *Ghost cell* (sel hantu) merupakan struktur sel yang terlihat tipis dan kosong (Lestari dkk., 2018; Mangoni dkk., 2004).



Gambar 4.4 Kerusakan bakteri *P. aeruginosa* diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). A) Kerusakan bakteri oleh ekstrak bawang tunggal. B) Kerusakan bakteri oleh Ceftazidime 30µg/ml. C) Bakteri pada media liquid nutrient. Panah merah menunjukkan permukaan membran sel yang mengalami penyusutan, panah hijau menunjukkan permukaan membran sel yang mengalami penyusutan dan lisis dan panah biru menunjukkan sel normal. Perbesaran 25000X. (Lestari dkk., 2018).

Peningkatan permeabilitas dalam membran sel bakteri *P. aeruginosa* menyebabkan penyusutan dan penipisan komponen fosfolipid pada dinding sel bakteri. Senyawa antibakteri pada ekstrak bawang tunggal yang menyerang fosfolipid akan membuat senyawanya terurai menjadi senyawa seperti gliserol dan asam fosfat. Oleh karena itu, fosfolipid tidak dapat mempertahankan bentuk membran sel dan akibatnya terjadi kebocoran pada membran sel bakteri yang menyebabkan lisis (Astutiningsih dkk., 2016; Lestari dkk., 2018).

BAB V
POTENSI BAWANG PUTIH TUNGGAL UNTUK
MEMPERBAIKI FISILOGI HEWAN COBA YANG
DIBERI DIET TINGGI LEMAK

A. Perbaikan Profil Lipid setelah Pemberian Ekstrak Bawang Putih Tunggal

Lipid merupakan suatu substansi biologis yang mempunyai sifat relatif tidak larut di dalam air dan larut di dalam pelarut organik. Lipid dapat larut dalam plasma darah jika berikatan dengan protein tertentu yaitu berupa lipoprotein. Lipoprotein adalah senyawa yang berbentuk sferis dan mempunyai inti trigliserida dan kolesterol ester yang dikelilingi fosfolipid, sedikit kolesterol bebas, dan pada bagian luar terdapat apoprotein (Feingold & Grunfeld, 2000).

Berdasarkan struktur dan densitasnya, lipoprotein dibagi menjadi 4 kelompok yaitu HDL, VLDL, LDL, dan kilomikron (Feingold & Grunfeld, 2000). HDL merupakan lipoprotein yang memiliki ikatan rangkap dan berperan dalam meningkatkan efluks kelebihan kolesterol dari jaringan perifer dan mentransportasikan ke hati untuk diekskresikan dalam bentuk getah empedu (Rader, 2006).

VLDL adalah lipoprotein yang dihasilkan oleh hati dan berfungsi mengangkut triasilgliserol dalam darah. LDL merupakan salah satu lipoprotein hasil metabolisme triasilgliserol dalam bentuk VLDL dan tidak memiliki ikatan rangkap serta berfungsi mengangkut kolesterol dan trigliserida dari hati menuju jaringan perifer (Harsa,

2014). Kilomikron adalah lipoprotein yang diproduksi oleh usus halus dan bertugas mengangkut trigliserida dari usus halus ke sistem sirkulasi kemudian menuju ke jaringan perifer (Shepherd, 2001).

Lipid memiliki banyak manfaat dalam tubuh namun jika kadar lipid berlebihan maka akan memberikan efek samping yaitu terjadinya hiperlipidemia (Bays dkk., 2013). Hiperlipidemia merupakan suatu kelainan yang ditandai dengan kadar kolesterol total yang tinggi, peningkatan terjadi pada LDL, VLDL, trigliserida, dan penurunan kadar HDL (Kolovou, 2005).

Data profil lipid mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak menunjukkan pemberian pakan tinggi lemak memiliki kadar kolesterol total, LDL dan trigliserida lebih tinggi dan HDL lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan normal (Arifah dkk., 2020c). Pemberian ekstrak bawang tunggal dosis 12.5; 25; dan 50 mg/kgBB secara berturut-turut pada mencit yang diberi diet tinggi lemak dapat memperbaiki profil lipid mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak (Tabel 5.1). Ekstrak bawang putih tunggal dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL, dan trigliserida serta meningkatkan kadar HDL dalam serum darah mencit.

Tabel 5.1 Profil lipid serum darah mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak. Keterangan: N = diet normal, K- = diet lemak tinggi saja, K+ = diet lemak tinggi + simvastatin 2,6 mg/kg BB, P1-P3 = diet lemak tinggi + ekstrak bawang tunggal dosis 12,5, 25, dan 50 mg/kg BB secara berurutan. Huruf yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji lanjut Duncan.

Perlakuan	Profil Lipid (mg/dL)			
	Kolesterol Total	LDL	Trigliserida	HDL
N	122,33 ^{ab} ± 27,79	76,00 ^{ab} ± 14,73	82,33 ^a ± 4,04	54,60 ^b ± 7,2
K-	266,33 ^c ± 26,38	166,67 ^c ± 12,66	156,33 ^b ± 17,09	39,17 ^a ± 4,2
K+	99,33 ^a ± 8,14	62,33 ^a ± 16,65	75,67 ^a ± 13,31	62,67 ^{bc} ± 5,
P1	118,67 ^{ab} ± 14,57	88,00 ^b ± 16,64	94,00 ^a ± 7,55	58,97 ^b ± 2,7
P2	127,00 ^{ab} ± 23,64	80,00 ^{ab} ± 4,00	75,00 ^a ± 13,00	66,67 ^c ± 6,1
P3	156,33 ^b ± 20,23	89,33 ^b ± 7,09	93,00 ^a ± 6,24	66,00 ^c ± 5,0

Sumber: Arifah dkk., 2020c

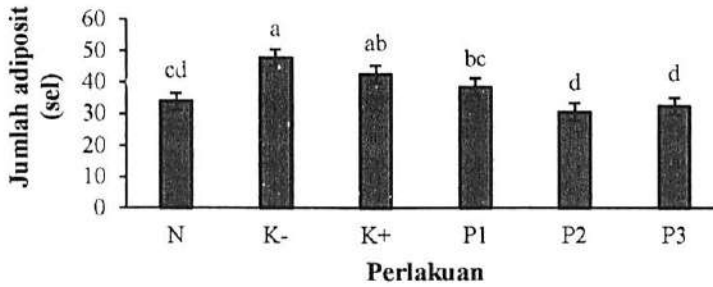
Jaringan lemak atau adiposa adalah tempat penyimpanan energi atau kalori yang disimpan dalam bentuk trigliserida. Sel lemak (adiposit) dapat berdiferensiasi dari sel prekursor khusus yaitu pre-adiposit. Proses adipogenesis atau perubahan sel pre-adiposit menjadi sel adiposit yang matang memegang peranan pada patogenesis hiperlipidemia (Lestari dkk., 2015; Lin dkk., 2005). Peningkatan proses adipogenesis disebabkan karena makanan tinggi lemak akan berdampak pada peningkatan *Insulin-like Growth Factors 1* (IGF1) (Lestari dkk., 2015) yang kemudian berikatan dengan reseptornya sehingga mengaktifasi jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK).

Jalur MAPK yang sudah teraktivasi kemudian akan mengaktifkan *Extracellular signal-Regulated Kinase* (ERKs) yang

selanjutnya akan mengekspresikan *CCAAT/Enhancer Binding Protein* (c/EBP). c/EBP akan mengekspresikan *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ* (PPAR γ) (Lin dkk., 2005), selanjutnya gen tersebut yang akan mengaktifkan *Fatty Acid Binding Protein 4* (FABP4), sehingga mengakibatkan masuknya asam lemak yang berada diluar sel sehingga sel pre-adiposit berdiferensiasi menjadi sel adiposit yang matang (Ahmadian dkk., 2013; Lestari dkk., 2015).

Pada jalur *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) akan menginisiasi fosforilasi dari protein kinase B (AKT) yang kemudian akan mengaktifkan protein kinase *mammalian target of rapamycin* (mTOR) yang mempunyai peran dalam proliferasi sel adiposit (Chiba dkk., 2003). Peningkatan jumlah lemak dalam tubuh akibat makanan tinggi lemak dapat menyebabkan penambahan jumlah sel adiposit (hiperplasia) dan/ penambahan diameter sel adiposit (hipertrofi) (Lin dkk., 2005).

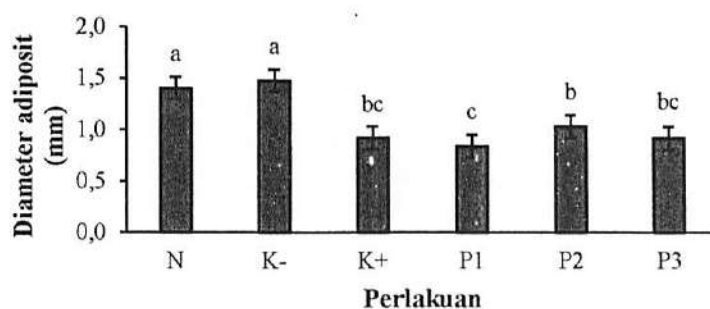
Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak bawang putih tunggal terhadap jumlah sel adiposit menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bawang putih tunggal mampu menurunkan jumlah sel adiposit pada mencit yang diberi pakan tinggi lemak (Gambar 5.1) (Rosyidah, 2020).



Gambar 5.1 Jumlah adiposit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Rosyidah, 2020)

Ekstrak bawang putih tunggal memiliki kandungan senyawa antioksidan yang dapat bersifat sebagai anti hiperplasia (Vanamala, 2010). Bawang putih tunggal memiliki berbagai senyawa aktif antara lain allicin, alkaloid, saponin, dan steroid, senyawa flavonoid, senyawa polar fenolik, *ajone*, serta *S-alil sistein* (SAC), tanin dan minyak atsiri (Gholkar dkk., 2013). Senyawa antioksidan mampu menekan ekspresi IGF-1 dan menurunkan aktivasi jalur AKT yang berperan dalam proliferasi sel adiposit akibat konsumsi makanan tinggi lemak secara berlebihan sehingga dapat menurunkan tingkat hiperplasia melalui penurunan jumlah sel adiposit (Vanamala dkk., 2010).

Rosyidah juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak bawang putih tunggal mampu menurunkan diameter sel adiposit pada mencit yang diinduksi makanan tinggi lemak (Rosyidah, 2020). Diameter sel adiposit pada kelompok hewan yang diberi ekstrak bawang putih tunggal mengecil secara signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberi diet tinggi lemak saja (Gambar 5.2).



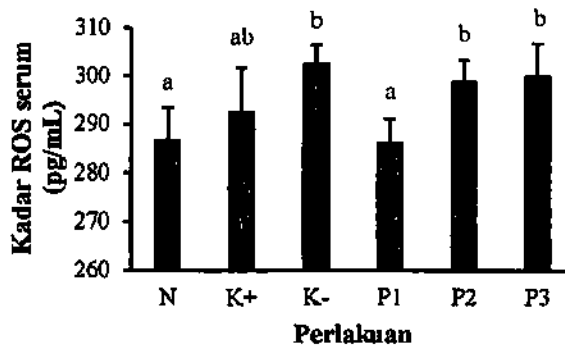
Gambar 5.2 Diameter adiposit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Rosyidah, 2020)

Penurunan ukuran diameter sel adiposit disebabkan adanya inhibisi pada mekanisme kerja dari faktor transkripsi dalam

adipogenesis yaitu PPAR γ , sehingga mengakibatkan penurunan asam lemak dari luar yang akan masuk melewati membran sel yang disandi oleh gen target PPAR γ dan pengikatan asam lemak menurun oleh senyawa antioksidan yang terdapat pada ekstrak bawang putih tunggal (Rosen dkk., 2000). Aktivitas senyawa yang bersifat antioksidan dapat menghambat aktivitas PPAR γ sehingga terjadi penurunan aktivitas di jalur ERK/MAPK. Mekanisme ini dapat mengakibatkan diferensiasi sel pre-adiposit menjadi sel adiposit yang matang mengalami penurunan (Nakagawa dkk., 2004).

B. Peran Bawang Putih Tunggal pada Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang mempunyai sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan, bersifat sangat reaktif, dan mempunyai waktu paruh yang sangat pendek (Griending dkk., 2016; Halliwell & Gutteridge, 2015). Radikal bebas yang aktif, reaktivitasnya dapat merusak seluruh jenis makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat (Halliwell & Gutteridge, 2015). Jenis radikal bebas terdiri atas *Reactive Oxygen Species (ROS)*, *Radical Nitrogen Species (RNS)*, serta radikal lainnya. *ROS* meliputi *superoxide anion* ($O_2^{\bullet-}$), *hydroxy radical* (HO^{\bullet}), *peroxyl radical* (ROO^{\bullet}), *hydroperoxide* ($ROOH$), *hydrogen peroxide* (H_2O_2), *hydroperoxyl radical* (HOO^{\bullet}), *hypochloride anion* (OCl^-), oksigen singlet (1O_2), dan ozon (O_3) (Griending dkk., 2016).



Gambar 5.3 Kadar ROS serum. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (12.5 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (25 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (50 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Ilmawati dkk., 2019c)

Kadar ROS berbeda signifikan pada serum mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak apabila dibandingkan dengan mencit yang diberi pakan normal (Gambar 5.3). Makanan tinggi lemak menyebabkan timbunan lemak meningkat. Lemak mengalami hidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol, kemudian dibawa ke limfe melalui pembuluh *chyll* dan melalui vena hepatika dibawa ke hati. Di hati, lemak mengalami hidrolisis menjadi vLDL yang akan dibawa ke sistem sirkulasi darah. vLDL akan mengalami hidrolisis kembali

menjadi LDL dengan bantuan enzim lipoprotein lipase (Shepherd, 2001). Peningkatan LDL menyebabkan peningkatan radikal bebas dalam tubuh, yaitu ROS. ROS yang melebihi kapasitas antioksidan endogen dapat bersifat toksik dan mendorong terjadinya stres oksidatif (Chaiyasut dkk., 2011). Kondisi stres oksidatif merupakan kondisi peningkatan kecepatan kerusakan sel yang diakibatkan oleh ROS, karena ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan sistem penangkapan radikal (antioksidan endogen) (Nelson, 2013).

Perlakuan ekstrak bawang putih tunggal fraksi heksana dapat menekan produksi ROS pada serum mencit yang diberi pakan tinggi lemak (Ilmawati dkk., 2019c). Ekstrak bawang putih tunggal mengandung senyawa aktif allicin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Febyan dkk., 2015). Antioksidan dapat menghambat autooksidasi (Panovska dkk., 2005) dan menghambat peroksidasi lipid (Borek, 2001; Guyonnet dkk., 2001; Okada dkk., 2005). Aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih dapat meningkatkan enzim protektif, yaitu SOD (Arifah dkk., 2020c), katalase, GPx pada sel endotel pembuluh darah (Badr & Al-Mulhim, 2014; Borek, 2001).

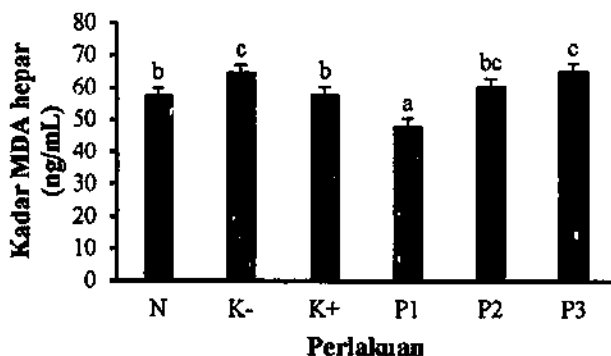
Hati merupakan organ utama untuk sintesis kolesterol. Akumulasi asam lemak dapat menyebabkan kerusakan hati melalui aktivasi jalur persinyalan intraseluler di sel *kupffer*, sel *stellate* dan hepatosit. sel *kupffer* dan sel *stellate* mensekresikan mediator pro-inflamasi dan pro-fibrotik yang dapat mempengaruhi sel di sekitarnya, sehingga memicu terjadinya inflamasi dan fibrogenesis.

ROS merupakan salah satu bentuk radikal bebas yang dapat menyebabkan terbentuknya lipid peroksida (Singh dkk., 2017).

Lipid peroksidasi dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan tubuh. Kerusakan diawali oleh pembentukan radikal bebas yang terjadi sewaktu pembentukan peroksida dan asam lemak yang terdapat di dalam struktur molekul *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Lipid *hydroperoxide* (ROOH) dapat terurai dan dikatalisis oleh logam transisi melalui reaksi Fenton menghasilkan senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehid dan keton yang bersifat sitotoksik. Pemecahan ikatan karbon selama peroksidasi lipid menyebabkan pembentukan alkanal seperti malondialdehid (MDA) (Aulanni'am dkk., 2011; Singh dkk., 2017). Peningkatan kadar ROS dalam sel mengakibatkan peningkatan reaksi peroksidasi lipid sehingga produksi MDA dapat meningkat (Ayala dkk., 2014; Halliwell & Gutteridge, 2015).

Purnamasari melaporkan bahwa kelompok mencit sehat yang diberi pakan standar memiliki kadar MDA yang berbeda nyata dengan kelompok mencit diberi pakan diet tinggi lemak (Purnamasari, 2020). Senyawa MDA dapat bereaksi dengan sel dan protein jaringan atau DNA, hal ini dapat menyebabkan kerusakan secara biomolekuler (Ayala dkk., 2014). MDA bersifat reaktif dan dapat menginduksi delesi pada DNA, sehingga menyebabkan mutasi dan kematian sel (Niedemhofer dkk., 2003). MDA juga dapat memodifikasi protein, sehingga mengganggu ribosom untuk

sintesis protein, hal ini menyebabkan MDA berperan penting dalam proses kerusakan sel dan penyebab penyakit kronik seperti diabetes, kanker dan gangguan kardiovaskuler kardiovaskuler (Ayala dkk., 2014; Negre-Salvayre dkk., 2008; Valko dkk., 2007).



Gambar 5.4 Kadar MDA hepar mencit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Purnamasari, 2020)

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bawang putih tunggal dengan pelarut etanol 70% pada dosis 100 mg/kgBB mengalami penurunan kadar MDA hepar yang signifikan dibandingkan dengan kelompok yang diberi diet tinggi lemak tanpa pemberian ekstrak bawang putih tunggal.

Bawang putih (*A. sativum* L.) diakui sebagai tanaman rempah yang bernilai ekonomi tinggi dan obat untuk berbagai penyakit serta gangguan fisiologis (Singh dkk., 2014). Bawang putih mengandung zat farmakologis yang berguna meliputi 33 senyawa sulfur, beberapa enzim, 17 asam amino, dan mineral seperti selenium (Singh & Singh, 2008). Bawang putih juga dianggap sebagai antioksidan yang efektif untuk melindungi sel terhadap kerusakan akibat radikal bebas, sehingga dapat membantu mencegah beberapa jenis kanker, penyakit jantung, stroke dan infeksi virus (Gebreyohannes & Gebreyohannes, 2013; Singh dkk., 2014). Senyawa aktif (terutama organosulfur) dalam bawang putih tunggal memiliki konsentrasi yang lebih tinggi daripada bawang putih biasanya (Lestari & Rifa'i, 2018a).

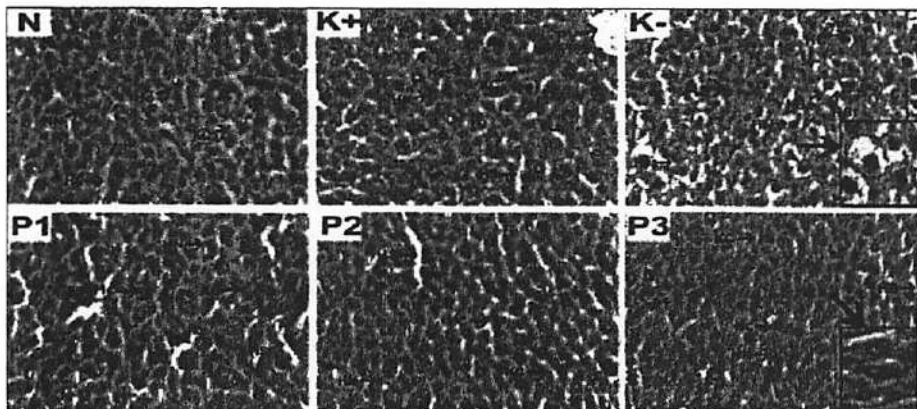
Alliin, allicin dan ajoene menghambat akumulasi kolesterol dengan cara menghambat aktivitas enzim yang bersifat lipogenik dan kolesterogenik, seperti enzim HMG-CoA reduktase dalam proses sintesis kolesterol (Lestari dkk., 2019). Allicin mampu menekan biosintesis kolesterol dengan cara menghambat enzim Asetil-CoA sintase (Borlinghaus dkk, 2014). Ajone mampu menangkal aktivitas radikal hidroksil (Ugwu & Suru, 2016a).

Singh, dkk. (2014) menyatakan senyawa aktif organosulfur tersebut bersifat antioksidan dan dapat membantu melawan radikal bebas yang berbahaya, memecah kolesterol dalam darah, sehingga mencegah penyempitan pembuluh darah yang menyebabkan

tekanan darah tinggi dan serangan jantung. Bawang putih tunggal secara signifikan mengurangi MDA pada hewan coba yang diberi diet tinggi kolesterol (Seham dkk., 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Sayin, dkk (2016) dan Ji, dkk (2017) menunjukkan kelompok perlakuan yang diinduksi pakan tinggi lemak menunjukkan berat hati lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya dan terdapat lipid droplet dalam jumlah lebih banyak pada preparat irisan hati dengan pewarnaan HE (Ji dkk., 2017; Sayin dkk., 2016).

Hashem dan Alazouny (2016) dan Ji dkk. (2017) melaporkan bahwa steatosis (perlemakan hati) pada *Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)* ditandai dengan deposit lipid pada sel hati, akumulasi lipid diantara jaringan hati, hepatosit menggebung, dan terjadi atrofi pada hepatosit (Hashem & Alazouny, 2016; Ji dkk., 2017).



Gambar 5.5 Hasil pengamatan preparat histologi hati mencit (perbesaran 400x). Hepatocyte (Hc), hepatocytes nuclei (HN), Hepatic sinusoids (HS), Kupffer cells (KC), artery (A), portal vein (PV), Hepatic ballooning (HBa), hepatic steatosis (HSt). N = mencit

normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (12.5 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (25 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (50 mg/kgBB) (Sumber: Arifah dkk., 2018).

Pengamatan pada preparat histologi hati mencit menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x diperoleh hasil pada kelompok hewan yang diberikan diet tinggi lemak menunjukkan *hepatic steatosis* (perlemakan hati) (Arifah dkk., 2018). *Hepatic steatosis* ditandai adanya ruang kosong pada hepatosit setelah pewarnaan haematoxylin-eosin (HE). Kelompok hewan dengan diet tinggi lemak saja memiliki *hepatic steatosis* yang secara kualitatif lebih banyak dibandingkan kelompok yang diberi ekstrak bawang putih tunggal.

Mekanisme kerusakan hati akibat NAFLD ini disebabkan karena peningkatan sintesis asam lemak melalui jalur endogen, peningkatan pengiriman asam lemak ke hati, terjadinya defisiensi pada saat pembentukan vLDL sehingga trigliserida tidak dapat diekspor keluar dari hati, peningkatan aktivitas pembentukan asam lemak non-ester melalui jalur *de novo* lipogenesis, dan penurunan aktivitas β -oksidasi sebagai jalur pemecahan asam lemak (lipolisis) (Kawano & Cohen, 2013; Ress & Kaser, 2016).

Bawang putih merupakan salah satu alternatif dari bahan alami yang terbukti memiliki kemampuan dalam mencegah dan

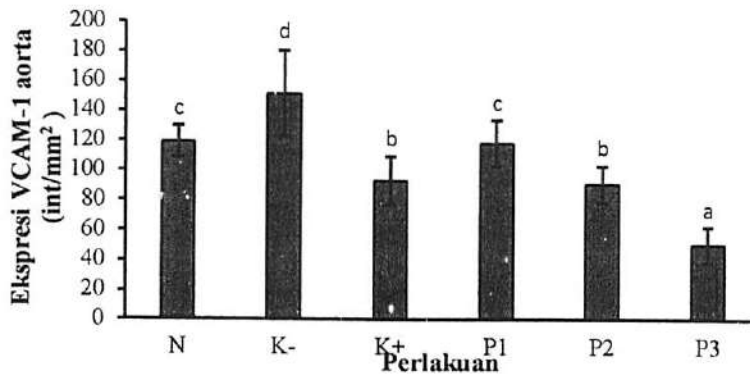
merupakan keadaan endotel pembuluh darah yang mengalami perubahan akibat adanya zat toksik maupun molekul lipid yang mengakibatkan perubahan permeabilitas dinding sel endotel arteri, sehingga molekul-molekul lipid dapat masuk ke dalam dinding arteri (Esenwa & Elkind, 2016). Ox-LDL mempunyai peranan penting pada respon inflamasi karena kaitannya dengan faktor transkripsi yaitu NF κ B.

NF κ B merupakan faktor transkripsi yang terlibat dalam inisiasi penyakit inflamasi. Aktivasi dari komponen sel inflamasi diatur oleh rentetan pemberian sinyal melalui penggabungan urutan regulasi protein yang dimediasi oleh NF κ B (Pamukcu dkk., 2011). Aktifnya NF κ B menginisiasi proses inflamasi termasuk diantaranya sitokin proinflamasi, kemokin ataupun ROS yang berperan dalam respon inflamasi. NF κ B juga berperan dalam regulasi pada beberapa molekul adhesi yang berperan dalam stimuli respon inflamasi, termasuk diantaranya P-selektin, E-selektin, ICAM-1, VCAM-1 yang berperan dalam perkembangan awal aterosklerosis (Bentzon dkk., 2014; Hansson & Hermansson, 2011; Verhagen & Visseren, 2011).

mengobati aterosklerosis. Bawang putih mengandung senyawa organosulfur utama yaitu γ -glutamyl-S-allyl-L-cysteines dan S-allyl-L-cysteine sulfoxides (*alilin*) (Tocmo dkk., 2015). Berdasarkan hasil penelitian menggunakan mencit yang diinduksi dengan pakan tinggi lemak menunjukkan bahwa bawang putih tunggal lokal Indonesia dapat memperbaiki kerusakan hati (*hepatic steatosis*). Hasil penelitian pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak hexane bawang putih tunggal dengan dosis 12,5 mg/kgBB (P1), 25 mg/kgBB (P2), dan 50 mg/kgBB (P3) terjadi perbaikan kondisi histologi *hepatic steatosis* dibandingkan dengan kelompok hewan dengan diet tinggi lemak saja.

Ekstrak bawang tunggal yang diberikan mengandung senyawa allicin yang dapat menjadi inhibitor kompetitif enzim HMG-CoA reduktase yang berperan dalam sintesis lemak dalam hati (Lestari dkk., 2019). Allicin dapat menjadi inhibitor pada enzim HMGR karena allicin dapat bekerja pada substrat yang memiliki atom sulfur. Mekanisme inhibisi pada proses sintesis lemak dalam hati dapat menurunkan aktivitas metabolisme lemak dalam hati sehingga dapat memperbaiki *hepatic steatosis*.

Makanan tinggi lemak juga dapat menyebabkan kondisi hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia yaitu peningkatan jumlah kolesterol di dalam tubuh terutama LDL. Peningkatan LDL menjadi salah satu faktor utama yang menyebabkan aterogenesis yaitu melalui pembentukan LDL teroksidasi (ox-LDL) yang menyebabkan disfungsi sel endotel. Disfungsi sel endotel



Gambar 5.6 Eksresi VCAM-1 pada aorta mencit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (12.5 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (25 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (50 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata ± standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Gofur, dkk., 2019)

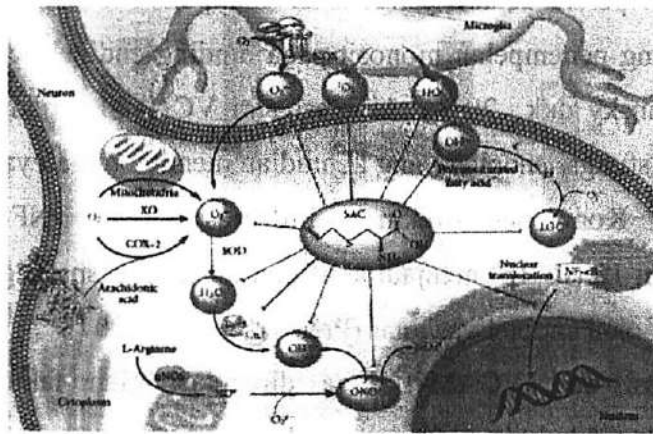
Eksresi VCAM-1 pada aorta menggunakan metode pewarnaan IHC menunjukkan intensitas tertinggi terdapat pada mencit yang diberi pakan tinggi lemak tanpa perlakuan (K-) (150,91 intensitas/mm²) dan intensitas ini lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberikan pakan normal (118,84 intensitas/mm²) (Gambar 5.6). VCAM-1 adalah suatu immuno-globulin yang merupakan molekul adhesi yang bereksresi pada sel-sel endotel yang mengalami aktivasi. VCAM-1 mengikat integrin $\alpha_4\beta_1$ yang secara konstitutif diekspresikan pada limfosit, monosit, dan eosinofil (Ley & Huo, 2001). VCAM-1 memainkan peran penting

sebagai penanda aterogenesis pada awal terjadinya aterosklerosis, karena berperan dalam pengerahan komponen inflamasi yang merangsang penempelan monosit pada dinding endotel pembuluh arteri (Dansky dkk., 2001). Aktivasi dari VCAM-1 terjadi ketika adanya disfungsi endotel, yang kemudian memicu mulainya proses inflamasi. Komponen sitokin proinflamasi seperti TNF- α atau interleukin 1 β (IL-1 β) menjadi aktif dan memicu ekspresi gen dari VCAM-1 oleh endotel vaskular (Preiss & Sattar, 2007).

Ekspresi dari VCAM-1 juga diregulasi oleh faktor pro-aterogenik, dibuktikan dengan adanya peningkatan ekspresi VCAM-1 akibat induksi oleh Ox-LDL. Plak aterosklerosis pada aorta koroner manusia diketahui menunjukkan ekspresi yang tinggi dari VCAM-1 maupun ICAM-1 dan peningkatan jumlah makrofag serta sel T, yang dapat diamati pada daerah neovaskularisasi plak tetapi dengan jumlah yang sedikit pada luminal endotel arteri (Galkina & Ley, 2007).

Senyawa pada bawang putih yaitu allicin diketahui memiliki efek antioksidan yang tinggi (Rahman dkk., 2012). Antioksidan memiliki peranan untuk mencegah stres oksidatif dan modifikasi dari LDL (Gonen dkk., 2005). Allicin diketahui mampu menekan peroksidasi nitrit oksida (NO) yang berperan dalam stress oksidatif (Schwartz dkk., 2002). *S-allyl cysteine* (SAC) pada bawang putih juga diketahui merupakan senyawa antioksidan yang dapat mencegah aktivasi dari faktor transkripsi NF κ B yang berperan dalam inisiasi

proses inflamasi. Mekanisme antioksidan senyawa SAC ditunjukkan pada Gambar 5.7.

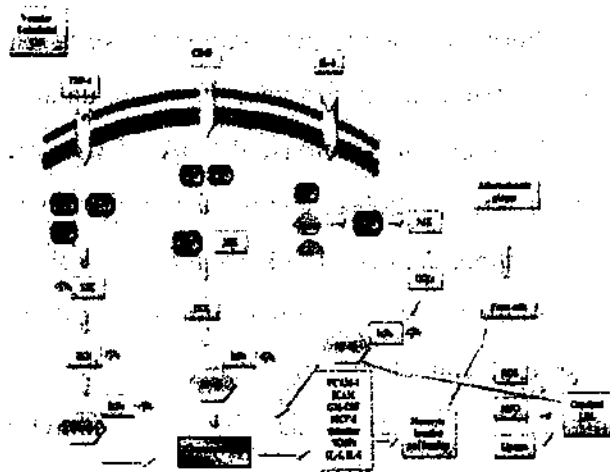


Gambar 5.7 Mekanisme Antioksidan Senyawa *S-allylcysteine* (SAC). Mekanisme antioksidan senyawa *S-allylcysteine* pada bawang putih yang mencegah terjadinya stress oksidatif dan ekspresi dari NFκB. SAC dapat menghambat terbentuknya anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil (OH), radikal peroksinitrit ($ONOO^-$) dan radikal peroksil (LOO). Sumber: Colín-González dkk., 2012.

Penghambatan pada NFκB oleh SAC menyebabkan molekul adhesi seperti VCAM-1 tidak dapat terekspresi. Tidak terekspresinya molekul adhesi menandakan bahwa tidak terjadinya respon inflamasi, sehingga monosit tidak dapat masuk ke dalam endotelium arteri untuk kemudian menjadi makrofag dan menfagosit Ox-LDL hingga nantinya akan terbentuk *foam cell* yang merupakan tahapan awal pembentukan plak aterosklerosis (Colín-González dkk., 2012).

Senyawa lain pada bawang putih yaitu *diallyl-disulfide* (DADS) mempunyai rantai allyl yang dengan mudah akan tereduksi menjadi rantai propyl yang jenuh, sehingga akan menurunkan kadar

nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) dan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) yang penting untuk sintesis trigliserida dan kolesterol (Priskila, 2012). Peranan NF- κ B dalam mengaktifkan ekspresi VCAM-1 ditunjukkan pada Gambar 5.8.



Gambar 5.8 Aktivasi VCAM-1 dimediasi oleh NF- κ B.
(Sumber : Pamukcu dkk., 2011)

Peningkatan jumlah atau konsentrasi ekstrak bawang tunggal yang diberikan pada mencit yang diberi pakan tinggi lemak menyebabkan penurunan jumlah VCAM-1. Penurunan ekspresi VCAM-1 menunjukkan adanya peredaman radikal bebas untuk mencegah stres oksidatif dan pencegahan modifikasi dari LDL menjadi oxLDL (Colin-González dkk., 2012). Selain peredaman radikal bebas, penurunan jumlah VCAM-1 juga dikarenakan pencegahan pada pembentukan kolesterol. Senyawa pada bawang

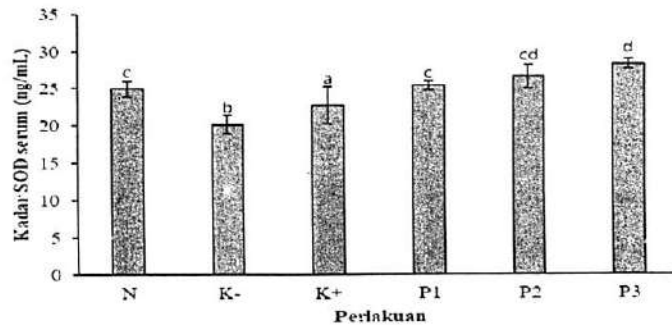
tunggal dapat menekan aktivitas enzim lipogenik dan kolesterogenik seperti enzim malat, asam lemak sintase, glukosa 6-fosfat dehidrogenase dan HMGR (Amal dkk., 2012).

Enzim HMG-CoA berperan untuk mengubah HMG-CoA menjadi mevalonat. Penghambatan pembentukan terjadi karena allicin merupakan inhibitor kompetitif dari enzim HMG-CoA. Allicin juga berperan dalam penghambatan kerja enzim tiolase. Enzim tiolase merupakan enzim yang berperan dalam pengubahan 2 asetil-CoA menjadi asetoasetil-CoA (Al-Numair, 2009). Penghambatan aktivitas tiolase mengakibatkan pembentukan asetil-CoA sebagai sumber semua atom karbon dalam kolesterol menjadi menurun, sehingga terjadi penurunan sintesis kolesterol. Penurunan jumlah kolesterol yang terbentuk mencegah adanya penumpukan LDL yang dapat berakibat pada disfungsi endotel (Al-Numair, 2009; Amal dkk., 2012).

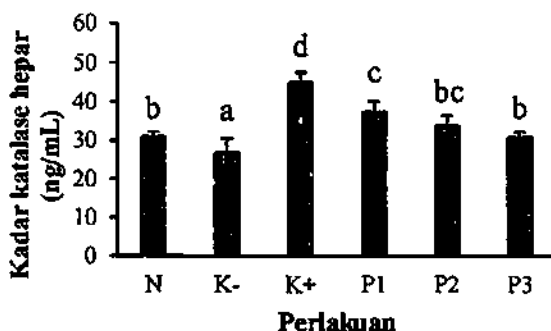
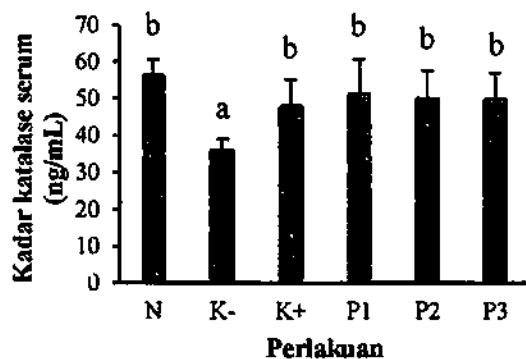
C. Peningkatan Antioksidan Endogen oleh Ekstrak Bawang Putih Tunggal

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan radikal bebas, bersifat sebagai *scavenger*, menghambat pembentukan ataupun meniadakan efek ROS (Halliwell & Gutteridge, 1999, 2015). Sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan endogen (antioksidan yang berasal dari dalam tubuh) dan antioksidan eksogen (antioksidan berasal dari luar tubuh). Antioksidan di dalam makanan dapat

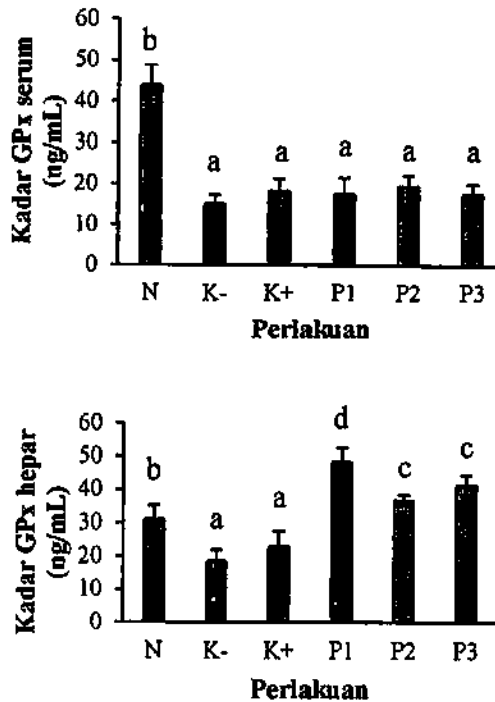
berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada satu atau dua komponen yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan (Nimse & Pal, 2015). Tubuh memiliki kemampuan untuk memproduksi antioksidan endogen seperti SOD, katalase, dan GPx (Nair dkk., 2012).



Gambar 5.9 Kadar SOD serum. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (12.5 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (25 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut heksana (50 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Arifah dkk., 2020c).



Gambar 5.10 Kadar katalase serum dan hepar mencit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Lestari dkk., 2019).



Gambar 5.11 Kadar GPx serum dan hepar mencit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Lestari dkk., 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pada kelompok perlakuan yang hanya diberi pakan tinggi lemak memiliki kadar

SOD, katalase, dan GPx lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok normal dan paling rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Konsumsi makanan tinggi lemak menyebabkan pengaktifan signaling inflamasi dan memediasi peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas yang semakin meningkat dapat menyebabkan menurunnya aktivitas antioksidan dalam tubuh. SOD merupakan enzim antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan akibat radikal bebas (Nimse & Pal, 2015). SOD memiliki kofaktor berupa ion tembaga dan seng, mangan, besi, atau nikel. SOD terdapat di sitoplasma, mitokondria, dan ekstraseluler. GPx adalah antioksidan yang mengandung selenium (Se) aktif (Cristiana dkk., 2014).

Sreekumar dkk. juga menyatakan bahwa peningkatan lemak jenuh menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara produksi ROS dan antioksidan dalam tubuh. Peningkatan produk oksidatif salah satunya berupa lipid peroksida menyebabkan penurunan aktivitas enzim antioksidan SOD, katalase, dan GPx (Sreekumar dkk., 2002). Peningkatan radikal bebas akan menyebabkan lebih banyak sel yang mengalami stres oksidatif sehingga banyak sel yang mengalami kerusakan. Tubuh memerlukan antioksidan tambahan (eksogen) untuk membantu kinerja dari antioksidan endogen. Antioksidan eksogen dapat didapatkan melalui tumbuhan salah satunya bawang putih tunggal.

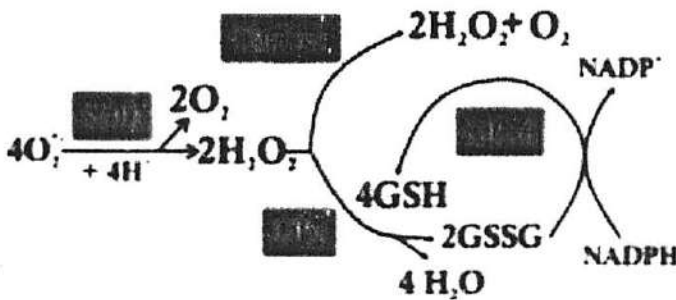
Pemberian ekstrak bawang putih tunggal lokal Indonesia pada mencit yang diinduksi dengan pakan tinggi lemak menunjukkan

adanya peningkatan kadar antioksidan endogen (Arifah dkk., 2020c; Lestari dkk., 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Prasanto dkk., (2017) menyatakan bahwa bawang putih tunggal memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan bawang putih biasa. Aktivitas antioksidan ini diukur berdasarkan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Bawang putih tunggal lokal memiliki nilai IC₅₀ yang lebih kecil dibandingkan bawang putih biasa yang artinya daya antioksidan bawang putih tunggal lokal lebih baik dibandingkan bawang putih biasa (Prasanto dkk., 2017).

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bawang putih tunggal berbagai dosis memiliki kadar SOD, katalase, dan GPx lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok diet tinggi lemak saja. Pemberian ekstrak bawang tunggal yang mengandung senyawa aktif allicin menyebabkan terjadinya peningkatan enzim antioksidan endogen untuk menanggulangi adanya ROS (Gao, 2013; Tocmo dkk., 2015). Hal ini disebabkan allicin dapat menurunkan sintesis lemak dalam hati sehingga LDL dalam darah akan menurun. Penurunan LDL dalam darah dapat menurunkan terbentuknya oxLDL sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen.

Peningkatan aktivitas enzim antioksidan dapat menurunkan reaksi oksidatif pada lipid yang menghasilkan lipid peroksida dalam bentuk oxLDL. SOD dapat mengubah radikal bebas anion superoksida ($2O_2^{\cdot-}$) menjadi H_2O_2 yang kemudian dengan bantuan

enzim katalase akan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O (air) (Cristiana dkk., 2014; Nimse & Pal, 2015; Wong dkk., 2012). Reaksi konversi oleh radikal bebas oleh antioksidan endogen adalah sebagai berikut

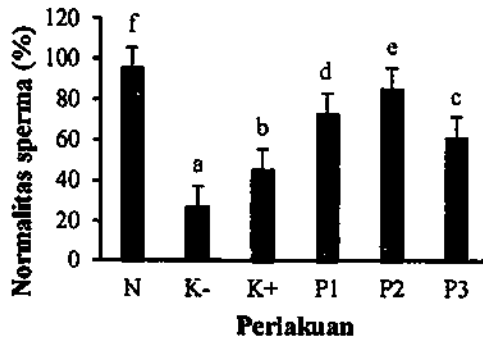
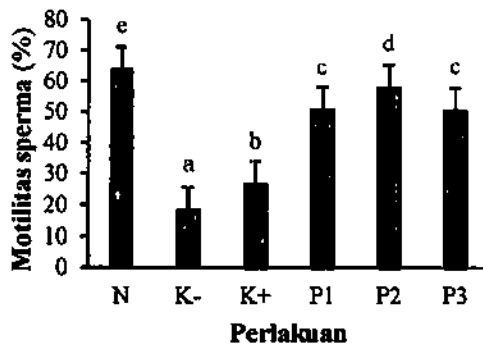
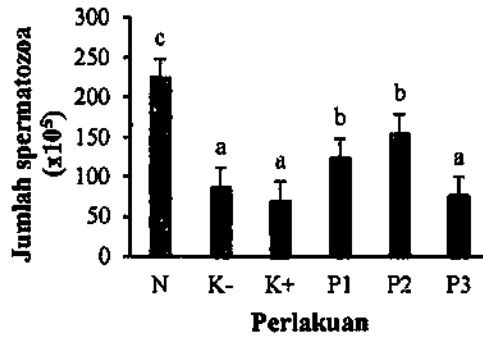


Gambar 5.12 Peran antioksidan SOD, CAT, dan GSHPx dalam mengonversi radikal bebas. (Sumber: (Nimse & Pal, 2015)

D. Peran bawang putih tunggal pada sistem reproduksi jantan

Hiperlipidemia merupakan suatu kondisi profil lipid dalam darah dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL serta penurunan kadar HDL (Almatsier, 2004; Minich dkk., 1997). Hiperlipidemia dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor dominan yaitu makanan yang tinggi lemak (Balqis & Panunggal, 2013; Otunola dkk., 2010). Hiperlipidemia yang diakibatkan dari diet tinggi karbohidrat dan tinggi lemak dapat mengganggu sistem reproduksi jantan, seperti penurunan kualitas sperma yang bisa menyebabkan infertilitas (Ashrafi, dkk., 2013; Chertok dkk., 2001; Gofur & Lestari, 2016; Zhu dkk., 2005). Penurunan kualitas sperma berupa jumlah, motilitas, dan struktur sperma (Bashandy, 2006; Ohara dkk., 1993).

Statin merupakan jenis obat yang saat ini banyak digunakan untuk mengobati kondisi hiperlipidemia (Heart Protection Study Collaborative Group, 2002; Taylor dkk., 2013; Tremblay dkk., 2011). Statin menurunkan kadar lipid dengan cara menghambat HMG-KoA menjadi prekursor kolesterol dan mevalonat dengan menghambat enzim HMGR (McKenney, 2003). Konsumsi statin secara terus menerus dapat memberikan berbagai efek samping negatif bagi tubuh (Bitzur, 2016; Golomb & Evans, 2010; Roy dkk., 2017) yaitu mengganggu kesuburan (Ramirez-Torres dkk., 2000), mengganggu produksi testosteron (Schooling dkk., 2013), menurunkan jumlah total sperma, menurunkan konsentrasi semen, menurunkan motilitas sperma, mengubah fungsi kelenjar prostat dan epididimis (Niederberger, 2005; Pons-Rejraji dkk., 2014).



Gambar 5.13 Kualitas sperma mencit. (a) Jumlah spermatozoa; (b) Persentase motilitas sperma; (c) Persentase normalitas sperma. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih

tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata \pm standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Qadariah dkk., 2020).

Qadariah dkk. (2020) melaporkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sperma yang signifikan antara mencit normal dengan mencit yang mengonsumsi pakan tinggi lemak. Mencit yang diberi pakan tinggi lemak mengalami penurunan jumlah sperma, kemampuan motilitas, dan normalitas sperma secara signifikan jika dibandingkan dengan mencit yang diberi pakan normal (Qadariah dkk., 2020). Dalam sistem reproduksi, lipid dalam darah terutama kolesterol merupakan substrat utama untuk memproduksi hormon steroid (Gwynne & StraussIII, 2014). Namun apabila jumlah lipid terlalu banyak (hiperlipidemia) dapat memberikan dampak buruk pada kualitas sistem reproduksi terutama sperma.

Hiperlipidemia menurunkan jumlah sel leydig, fungsi sel sertoli, peran testosteron (Yamamoto dkk., 1999), volume cairan semen (Monfared, 2013; Padron dkk., 1989; Schisterman dkk., 2014), degenerasi sel-sel gonad (Chertok dkk., 2001; Zhu dkk., 2005), kadar kolesterol di testis meningkat, degenerasi sel gonad, disfungsi kelenjar hipotalamus-pituitari, dan gangguan spermatogenesis (Gofur & Lestari, 2016). Hal ini menyebabkan

jumlah sperma yang dihasilkan sedikit. Peningkatan jumlah lipid dalam darah dapat menyebabkan penurunan motilitas sperma (Monfared, 2013). Penurunan motilitas sperma juga diakibatkan oleh meningkatnya ROS (Henkel, 2011) yang menimbulkan *oxidative stress* (OS) sehingga menyebabkan penurunan motilitas sperma (Bansal & Bilaspuri, 2011). Peroksidasi lipid dapat menginduksi perubahan morfologi pada spermatozoa (Sanchez dkk., 2006). Kondisi hipertipidemia mempengaruhi morfologi sperma terutama kepala sperma (Schisterman dkk., 2014). Hiperlipidemia yang menyebabkan peningkatan ROS dan OS mengakibatkan sperma cacat secara morfologis (Bansal & Bilaspuri, 2011).

Mekanisme penurunan kadar lipid dalam darah oleh bawang putih tunggal hampir sama seperti statin. Zat allicin yang terkandung dalam bawang putih tunggal menghambat aktivitas HMGR (Amagase dkk., 2011; Borek, 2001). Pengobatan dengan bawang putih tunggal terbukti dapat meningkatkan kualitas sperma mencit secara signifikan dibandingkan dengan mencit yang hanya mengonsumsi pakan tinggi lemak.

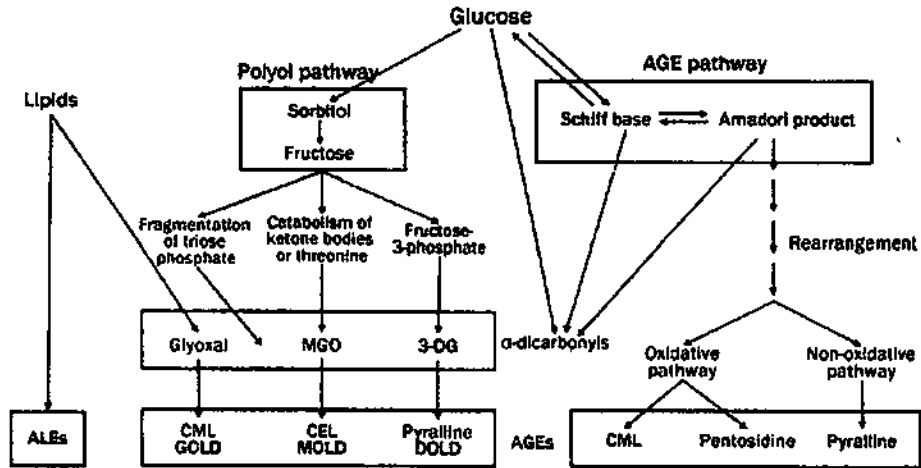
Hiperlipidemia menyebabkan glukosa membentuk suatu ikatan kovalen dengan protein plasma melalui proses non-enzimatik yang disebut glikasi sehingga menghasilkan *Advanced Glycation End-Products* (AGE) (Singh dkk., 2014). AGE dikenal sebagai glikotoksin, merupakan kelompok senyawa dengan kadar oksidan yang tinggi, berasal dari reaksi maillard dengan cara non-enzimatik,

dengan mengurangi gula dan gugus amino yang bersifat bebas dari protein, lipid, atau asam nukleat (Uribarri dkk., 2010). Pembentukan AGE berlangsung dengan reaksi maillard yang melibatkan kelompok protein amino (NH₂) (Luevano-Contreras & Chapman-Novakofski, 2010). Kadar glukosa yang tinggi memicu terjadinya glikasi lipid dan protein sehingga mengakibatkan terbentuknya AGE yang bersifat antigenik. AGE memiliki peran cukup penting dalam terjadinya berbagai jenis komplikasi pada penderita diabetes.

Interaksi AGE dan reseptornya dapat meningkatkan produksi ROS (Yamagishi, 2011). Reseptor AGE ditemukan di darah dan organ lain seperti pada testis, epididimis dan sperma (Mallidis dkk., 2009). Beberapa penelitian menunjukkan kadar AGE yang tinggi dapat terakumulasi dalam saluran reproduksi pasien dengan sindrom metabolik (Zhao dkk., 2016).

AGE juga dapat terbentuk salah satunya melalui jalur peroksidasi lipid (Gambar 5.12). Bahan utama peroksidasi lipid ini adalah *polyunsaturated fatty acid* (PUFA), yaitu merupakan kelompok lipid yang memiliki ikatan rangkap lebih dari dua, misalnya asam arakidonat. PUFA akan diserang oleh radikal bebas berubah menjadi PUFA radikal yang segera bereaksi dengan oksigen membentuk PUFA *peroxide radical*. PUFA *peroxide radical* akan mengalami siklisasi dan serangkaian reaksi hingga membentuk *malondialdehyde* (MDA). MDA di sitoplasma dapat

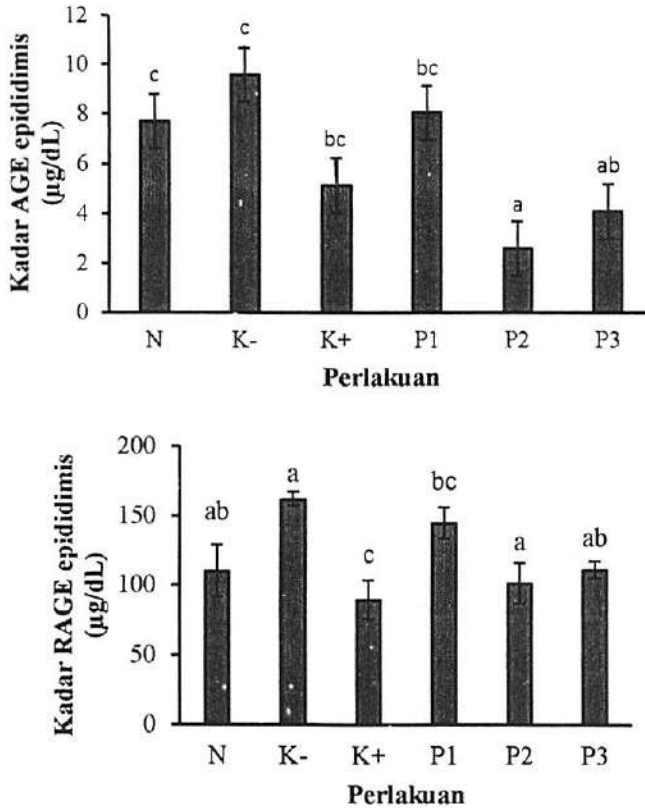
diubah menjadi methylglyoxal (MG) oleh enzim *phosphoglucose isomerase* (Ayala dkk., 2014).



Gambar 5.14 Berbagai jalur pembentukan AGE. Sumber: (Tan dkk., 2007).

Reseptor sel di permukaan yang dapat mengenali AGE yaitu *Receptor for Advanced Glycation Endproducts* (RAGE), *macrophage scavenger receptor class A* (SR-A), SR-B (SR-B1 and CD36), *lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1* (LOX-1), *galectin-3 complex*, *fasciclin*, *epidermal growth factor* (EGF)-like, *laminin-type EGF-like* dan *link domain-containing scavenger receptors-1 and -2* (FEEL-1 and -2), *megalyn*, serta *toll-like receptor 4* (TLR4) (Chuah dkk., 2013). Interaksi antara AGE dan RAGE dapat menyebabkan perubahan *signaling intraseluler*, ekspresi gen, dan berbagai komplikasi diabetes (Ahmed, 2005; Singh dkk., 2014).

Kadar AGE dan RAGE epididimis pada mencit yang beri pakan tinggi lemak berbeda signifikan dibandingkan dengan mencit yang diberi pakan standar (Baroroh dkk., 2020). Hal ini menunjukkan bahwa pakan tinggi lemak dapat meningkatkan produksi AGE dan RAGE terutama di epididimis sebagai salah satu organ reproduksi jantan. Kadar AGE yang tinggi dapat mempengaruhi tingkat kualitas sperma karena sifatnya yang radikal dapat menyebabkan oklusi arteri dan kerusakan serius pada sel sistem reproduksi, dan akibatnya cacat pada sperma. Stres oksidatif yang diinduksi radikal bebas berkontribusi secara signifikan meningkatkan sperma abnormal, mengurangi jumlah sperma, dan fragmentasi DNA sperma (Asadi dkk., 2017).



Gambar 5.15 Kadar AGE dan RAGE epididimis mencit. Mencit kelompok normal dan kelompok perlakuan. Ket: N = mencit normal, K- = mencit yang diberi pakan tinggi lemak, K+ = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + statin (26 mg/kgBB), P1 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (100 mg/kgBB), P2 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (200 mg/kgBB), P3 = mencit yang diberi pakan tinggi lemak + ekstrak bawang putih tunggal pelarut etanol 70% (400 mg/kgBB). Nilai ditunjukkan sebagai rerata ± standar deviasi, nilai signifikansi pada $p < 0,05$ menggunakan uji ANAVA satu jalur. Perbedaan notasi huruf pada grafik menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji lanjut DMRT (Baroroh dkk., 2020).

Kandungan ekstrak bawang putih tunggal yang kaya akan antioksidan juga dapat menurunkan kadar ROS pada mencit diet

tinggi karbohidrat dan lemak (Ilmawati dkk., 2018). Penurunan kadar ROS ini dapat menghindarkan terjadinya stres oksidatif sehingga sistem reproduksi dapat berfungsi kembali. Antioksidan bertindak sebagai *scavenger* ROS yang terbentuk di mitokondria, sehingga dapat mencegah stress oksidatif (Tan dkk., 2007). Antioksidan juga dilaporkan memiliki potensi aksi sebagai agen renoprotektor (*renoprotective agent*). Bawang putih tunggal memiliki senyawa aktif enzim *allinase*, *peroxidase* dan *myrosinase* yang merupakan senyawa golongan flavonoid dan memiliki potensi sebagai antioksidan, serta bahan lain seperti protein, mineral, vitamin, lemak, asam amino, dan prostaglandin (Chuyen, 2006).

DADS dalam struktur biokimia, bawang putih dapat mempengaruhi kerja dari hipotalamus-hipofisis. DADS akan menstimulasi sel-sel basofilik dan sekresi hormon seks *luteinizing hormone* (LH) dengan mempengaruhi anterior kelenjar di bawah otak. LH menstimulasi sel leydig di testis. LH merupakan prekursor untuk sekresi dan regulasi testosteron (Musavi dkk., 2018). DADS dapat mengurangi radikal bebas, meningkatkan sirkulasi darah pada testis, sehingga dapat melindungi organ seksual (Ouarda & Abdennour, 2011). Peningkatan aliran darah ke testis karena konsumsi bawang putih menyebabkan fenol dan glikosida fenolik yang dilepaskan dapat meningkatkan jumlah enzim GPx. Peran enzim GPx adalah untuk melindungi sperma di testis dan epididimis (Pal dkk., 2006). Enzim GPx juga dapat melindungi sperma dari

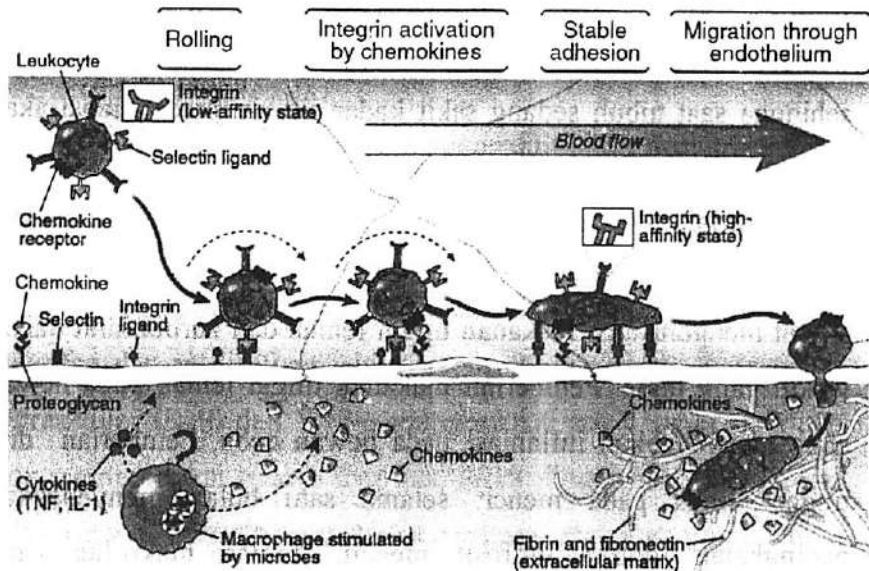
kerusakan radikal bebas di membran plasma dan inti sperma, serta epididimis yang merupakan tempat pematangan akhir dan pengembangan sperma (Amin & Hamza, 2006).

BAB VI

POTENSI BAWANG PUTIH SEBAGAI ANTI-INFLAMASI UNTUK MENEKAN BERBAGAI INFEKSI

Inflamasi merupakan bentuk respon imun tubuh terhadap antigen. Beberapa penyakit akibat infeksi virus dan bakteri patogen akan menyebabkan terjadinya inflamasi. Respon imun bawaan seperti makrofag akan mampu mengenali antigen dan memproduksi sitokin serta kemokin yang akan memicu respons imun adaptif melalui aktivasi sel T proinflamasi (Gordon & Martinez, 2010). Proses inflamasi diawali dengan pelepasan sitokin pro-inflamasi oleh sel mast dan makrofag yang menyebabkan peningkatan peredaran darah lokal, eksudasi dari protein plasma, dan memicu *nerve endings*. Hal inilah yang membuat Inflamasi secara klinis dengan menggunakan bahasa latin yaitu panas, rasa sakit, kemerahan dan bengkak.

Inflamasi diikuti dengan peningkatan akumulasi dari fagosit, neutrofil pada jaringan yang terinfeksi untuk dikeluarkannya sitokin. Secara umum proses inflamasi seperti pada Gambar 6.1 dibawah ini. Sekresi sitokin pro inflamasi akan memicu aktivasi sel T dan sistem imun bawaan yang lain untuk bermigrasi ke tempat terjadinya infeksi atau tempat dimana antigen itu berada.



Gambar 6.1 Proses terjadinya Inflamasi (Sumber: Abbas dkk., 2020)).

Sitokin merupakan protein yang disekresikan sel sebagai komunikasi dan interaksi spesifik antar sel. Sitokin dapat diproduksi oleh banyak populasi sel seperti sel T helper (Th) dan makrofag. Sitokin terbagi atas dua jenis, yaitu sitokin proinflamasi yang menyebabkan terjadinya inflamasi dan sitokin anti-inflamasi yang menurunkan atau menghentikan inflamasi. Beberapa sitokin yang termasuk sitokin proinflamasi adalah IL-1 β , IL-6, dan TNF- α , sedangkan sitokin yang tergolong proinflamasi adalah IL-4, IL-10, IL-11 dan IL-13 yang bekerja antagonis dengan sitokin proinflamasi (Zhang & An, 2009).

Kadar sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi pada tubuh yang sehat adalah dalam jumlah yang seimbang. Saat didalam tubuh terdapat antigen maka kadar sitokin proinflamasi akan meningkat sehingga saat tubuh sedang sakit kadar sitokin proinflamasi akan meningkat.

Inflamasi tidak hanya menjadi pertanda bahwa tubuh kita diserang oleh virus atau bakteri patogen saja. Inflamasi dapat terjadi akibat mengonsumsi makanan tinggi lemak dan karbohidrat dalam waktu yang lama. Pemberian makanan tinggi lemak pada hewan coba menyebabkan inflamasi pada hewan coba. Pemberian diet tinggi lemak pada mencit selama satu bulan menyebabkan peningkatan jumlah limfosit mencit, jumlah makrofag yang mensekresi TNF- α dan IL-1 β , jumlah sel T CD4⁺ yang memproduksi NF κ B⁺, TNF- α ⁺, dan IFN- γ ⁺, serta kadar IL-6 dan TNF- α dalam darah (Arifah dkk., 2020a; Ilmawati dkk., 2019a; Lestari & Rifa'i, 2018).

Konsumsi makanan tinggi lemak dalam jumlah yang tinggi dapat meningkatkan LDL dan ROS dalam darah. ROS akan menyebabkan LDL teroksidasi menjadi ox-LDL (Ilmawati dkk., 2019a; Raggi dkk., 2018). Perubahan LDL menjadi ox-LDL ini menyebabkan OxLDL kehilangan kemampuan dalam mengenali reseptor LDL, sehingga sel hepatosit tidak mampu mengendalikan jumlah lemak dalam darah dan menyebabkan homeostasis tubuh terganggu. OxLDL dapat mengikat reseptor reseptor CD36 pada makrofag dan menyebabkan inflamasi (Itabe dkk., 2011; Trpkovic

dkk., 2015). Makrofag akan mampu mengenali oxLDL kemudian mencerna OxLDL oleh lisosom dan mendegradasi ox-LDL menjadi kolesterol dan asam lemak.

Kolesterol bebas ini akan mengaktifkan sinyal transduksi yang memicu NFκB untuk memproduksi sitokin proinflamasi seperti TNF-α dan IL-1β (Cochain & Zerneck, 2017). Produksi sitokin proinflamasi ini akan menyebabkan semakin banyaknya makrofag dan sel limfosit lain pada pembuluh darah. Pada ruang ekstraseluler IL-1β dan TNF-α menginduksi sel T untuk aktif dan akan memproduksi sitokin (Moriya, 2019; Raggi dkk., 2018). Hal inilah yang menyebabkan saat mengonsumsi makanan tinggi lemak dalam jangka yang panjang akan menyebabkan peningkatan sekresi sitokin proinflamasi dan menyebabkan inflamasi dalam tubuh.

Inflamasi akibat konsumsi makanan tinggi lemak dapat menjadikan tubuh menderita penyakit kardiovaskuler seperti aterosklerosis, stroke dan serangan jantung. Inflamasi dapat dikendalikan dengan menekan kadar sitokin proinflamasi dan meningkatkan kadar sitokin anti-inflamasi menggunakan obat maupun bahan-bahan yang mengandung antioksidan.

A. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih Tunggal terhadap Jumlah Limfosit pada mencit yang diinduksi Diet Tinggi Lemak

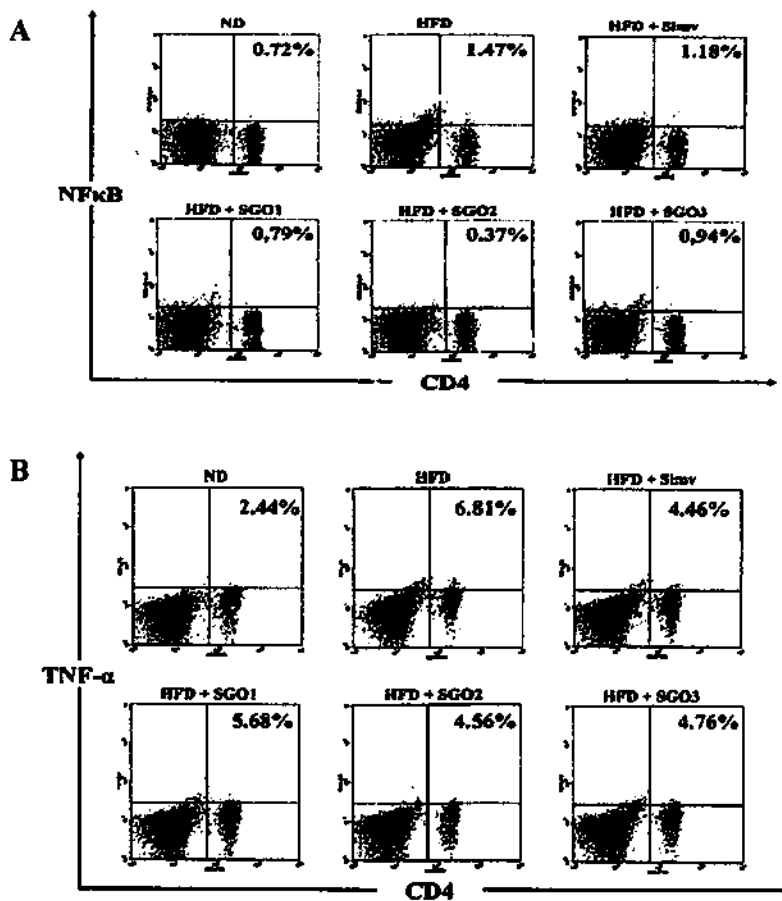
Bawang putih tunggal telah terbukti mampu menekan inflamasi akibat induksi diet tinggi lemak. Pemberian minyak

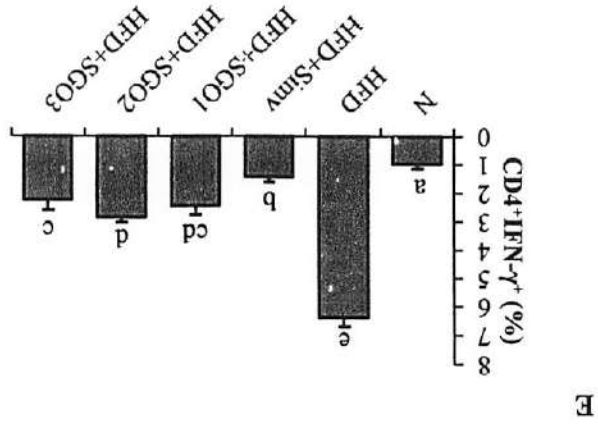
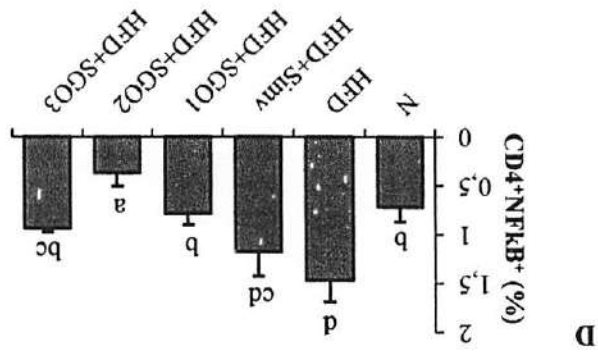
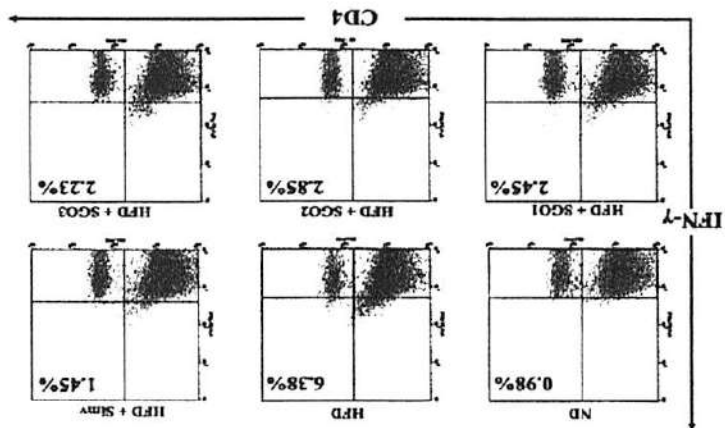
bawang putih tunggal yang diekstraksi menggunakan pelarut N-heksana, pada mencit yang diinduksi HFD mampu menekan jumlah sel T CD4+ dalam mengekspresikan NFκB, memproduksi IFN-γ dan TNF-α (Gambar 6.2). Pada bawang putih tunggal terdapat senyawa Allicin yang mampu menurunkan kolesterol, LDL, dan mencegah oksidasi LDL (Gonen dkk., 2006). LDL teroksidasi dapat bertindak sebagai *damage-associated molecular patterns* (DAMP) pada kondisi diet tinggi lemak, sehingga memicu inisiasi inflamasi melalui TLR4 (Jialal dkk., 2012). Senyawa Allicin dalam bawang memiliki peran penting dalam mencegah uptake LDL berlebih ke dalam sel (Ali dkk., 2000; Gonen dkk., 2006), sehingga akan menurunkan jumlah LDL teroksidasi diikuti dengan menurunnya jumlah sel T yang teraktivasi.

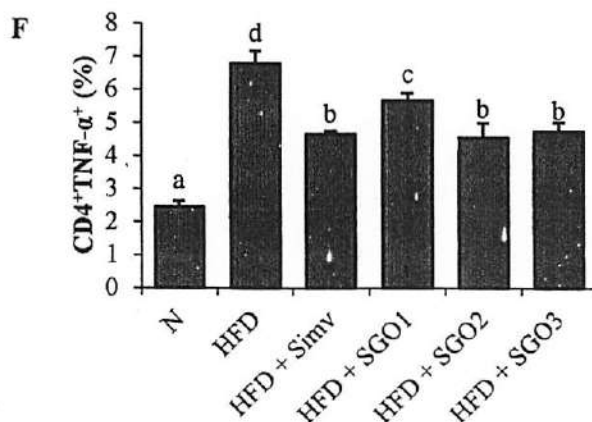
Hasil penelitian kami menunjukkan perlakuan minyak bawang tunggal mampu menurunkan ekspresi NFκB pada sel T CD4 secara signifikan. Senyawa allicin berperan menghambat aktivitas NFκB, sehingga turut menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF-α dan IL-1β (Aggarwal & Shishodia, 2004; Bruck dkk., 2005). Senyawa sulfur pada bawang mampu mencegah degradasi IκB, sehingga aktivitas NFκB berkurang. Selain itu, kandungan sulfur pada bawang mampu menghambat fosforilasi p38 dan jalur ERK (Choi dkk., 2014; Lee dkk., 2012).

Pada saat diberi minyak bawang putih tunggal penurunan aktivitas NFκB ikut menurunkan produksi sitokin TNF-α memiliki aktivitas proinflamasi yang kuat, dan IFN-γ yang menginduksi

kemokin lokal untuk perekrutan sel imun lainnya, termasuk meningkatkan infiltrasi sel T ke jaringan (Sologuren dkk., 2014). Hasil penelitian mengindikasikan bahwa senyawa fitokimia pada minyak bawang memiliki kemampuan anti-inflamasi yang kuat dan dapat digunakan sebagai terapi pada kondisi inflamasi akibat diet tinggi lemak.

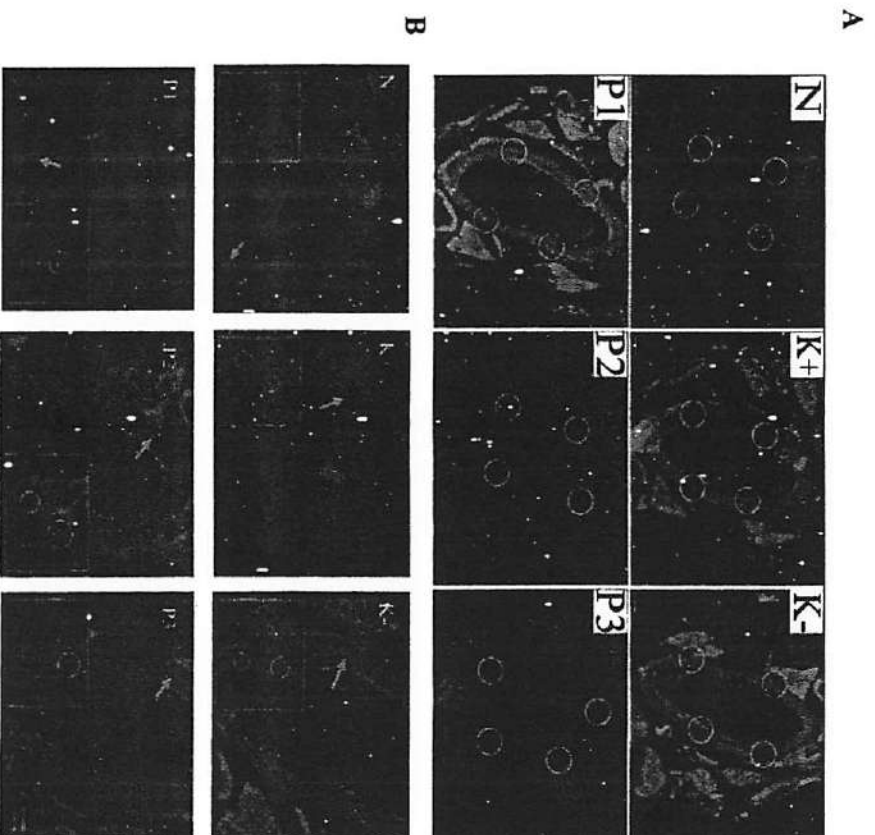




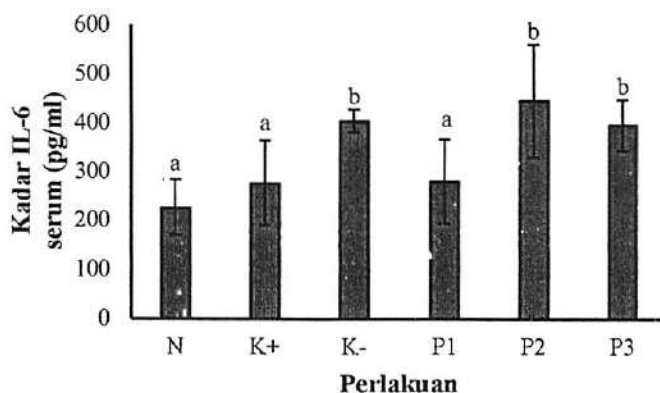


Gambar 6.2. Perlakuan minyak bawang tunggal menekan ekspresi NFκB dan mengurangi produksi sitokin proinflamasi IFN-γ dan TNF-α oleh sel T pada mencit diet tinggi lemak. pada mencit diet tinggi lemak. A) Jumlah relatif sel T CD4⁺NFκB⁺ hasil flowcytometry B) Diagram batang jumlah relatif sel T CD4⁺NFκB⁺, C) Jumlah relatif sel T CD4⁺ sintesis IFN-γ⁺ hasil flowcytometry, D) Jumlah relatif sel T CD4⁺TNF-α⁺, (E) Diagram batang jumlah relatif sel T CD4⁺IFN-γ⁺ yang direpresentasikan dalam rerata ± SD, dan F) Diagram batang jumlah relatif sel T CD4⁺TNF-α⁺ yang direpresentasikan dalam rerata ± SD. Huruf yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna (p<0,05) berdasarkan uji DMRT.

Penelitian lebih lanjut menggunakan minyak bawang putih tunggal juga menunjukkan bahwa bawang putih tunggal mampu menekan ekspresi sitokin pro-inflamasi TNF-α dan IL-6 pada serum darah dan pada aorta mencit yang diberi diet tinggi lemak (Gambar 6.3). Pemberian minyak bawang putih tunggal sebanyak 12 mg/kg BB pada mencit diet tinggi lemak efektif dalam menurunkan kadar TNF-α dan IL-6 baik pada serum maupun pada ekspresinya pada aorta.



D



Gambar 6.3 Pemberian minyak bawang putih tunggal mampu menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi TNF- α dan IL-6 pada serum darah dan aorta mencit yang diberi diet tinggi lemak. A) Diagram rerata kadar TNF- α serum darah, B) IHK aorta mencit, pengamatan menggunakan mikroskop fluorescence. lingkaran kuning menunjukkan daerah yang diukur intensitas ekspresi TNF- α , C) Kadar IL-6 Pada Serum Mencit dan D) Ekspresi IL-6 Pada Aorta Berlabel Rhodamin Diamati Menggunakan Mikroskop Fluorescence (FSX100) Dengan Perbesaran 400x. Ket: N = Normal; K+ = HFD + simvastatin 26 mg/kgBB; K- = HFD+SGO 0 mg/kgBB; P1 = HFD + SGO 12,5 mg/kgBB; P2 = HFD + SGO 25 mg/kgBB; P3 = HFD + SGO 50 mg/kgBB.

Penurunan aktivitas NF κ B oleh allicin akan mengurangi sekresi sitokin pro-inflamasi dalam darah dan juga dinding pembuluh aorta. Peningkatan kadar enzim antioksidan SOD yang dimediasi oleh allicin dapat menurunkan radikal bebas berupa lipid peroksida dalam bentuk oxLDL (Ugwu & Suru, 2016b). Jumlah oxLDL yang menurun akan berdampak *down regulation* pada reseptor sel dendritik dan makrofag terhadap oxLDL seperti TLR4. *Downregulation* dari TLR4 dapat menurunkan sekresi sitokin proinflamasi TNF- α . Pemberian minyak bawang putih tunggal akan

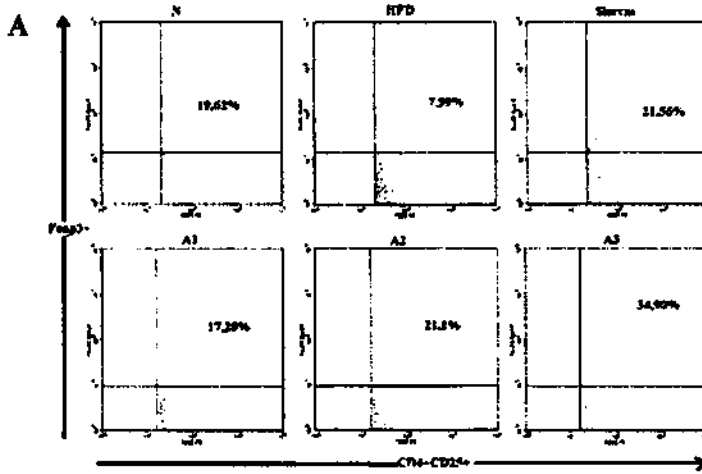
menekan produksi sitokin proinflamasi IL-6 melalui IL-6/MEK5/ERK5 *signaling pathway* (Kuo dkk., 2011), sehingga kadar IL-6 pada serum darah dan aorta mencit akan mengalami penurunan.

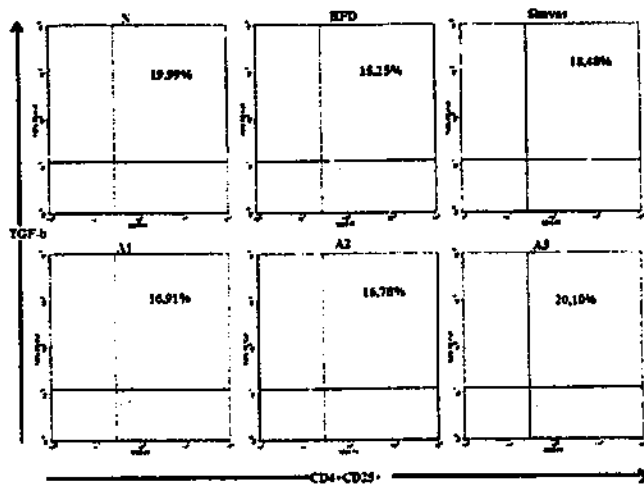
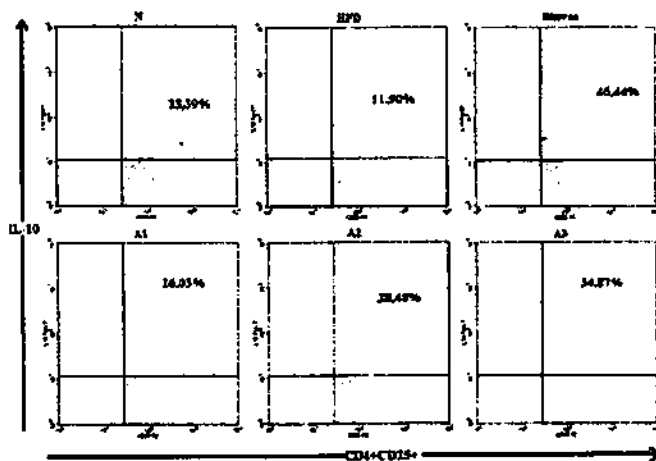
Minyak bawang putih tunggal tidak hanya mampu menurunkan sitokin pro-inflamasi, tetapi juga mampu meningkatkan sitokin anti Inflamasi dalam perannya sebagai terapi pada kondisi inflamasi akibat diet tinggi lemak. Pemberian minyak bawang putih tunggal (*A. sativum*) memicu aktivasi sel T regulator dan meningkatkan sitokin anti inflamasi IL-10 dan TGF- β pada mencit yang diinduksi dengan diet tinggi lemak (Gambar 6.4).

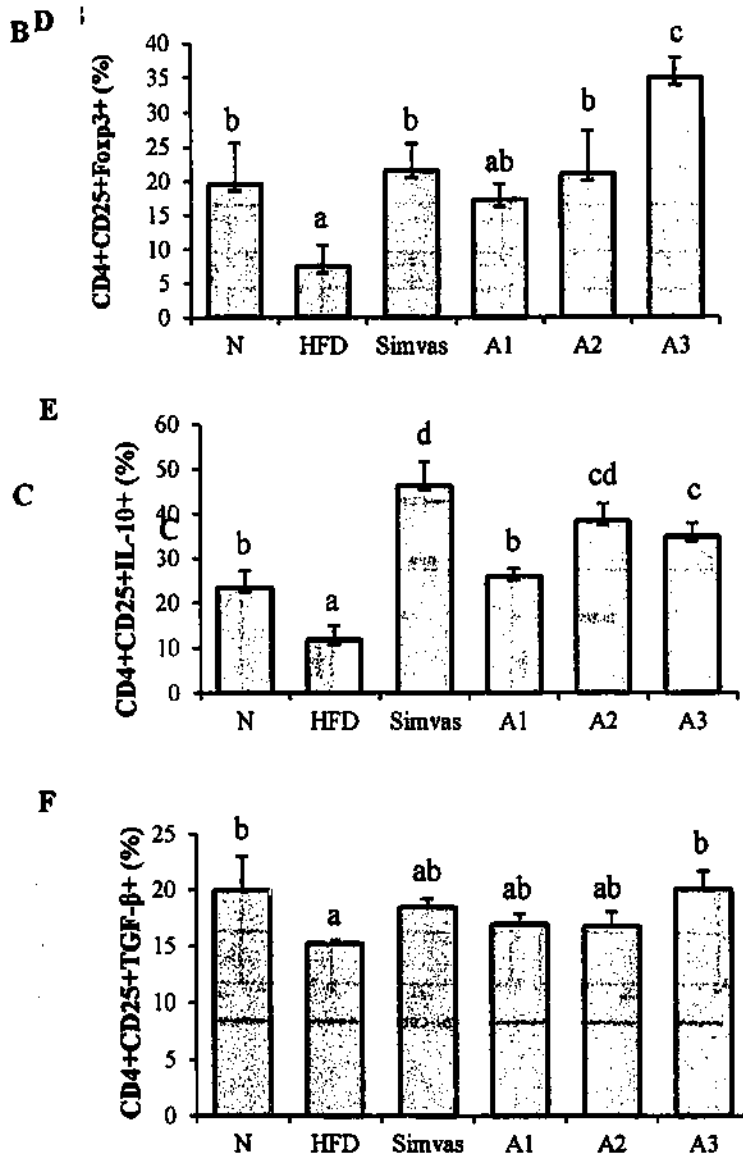
Sel Treg yang mengekspresikan Foxp3 memiliki peran anti-inflamasi dengan mensekresikan sitokin anti-inflamasi IL-10 dan TGF- β (Kyaw dkk., 2016). Sel Treg (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) merupakan kunci utama dalam toleransi imunitas dan mengatur fase induksi pada sistem imun (Lee & Rifa'i, 2012). Dalam peranannya yang memiliki efek supresif, sel Treg membutuhkan Foxp3 agar dapat bekerja. Kadar ekspresi Foxp3 merupakan faktor utama yang mempengaruhi efek supresif sel Treg (Chauhan dkk., 2009). Fungsi efektor sel Treg sangat erat kaitannya dengan pengaruh dari sitokin supresif seperti TGF- β dan IL10. Sel Treg dilaporkan menghasilkan beberapa sitokin seperti IL-10 dan TGF- β yang berfungsi untuk menghambat aktivasi sel T (Rifa'i & Widodo, 2014). IL-10 merupakan sitokin anti inflamasi banyak diproduksi oleh makrofag dan subset Th2. Penurunan kadar IL-10 dapat memicu akumulasi

aktivitas MMP dimana hal tersebut juga akan memicu ketidakstabilan plak yang dapat menyebabkan kejadian kardiovaskular akut pada individu tertentu (Amento dkk., 1991; Holven dkk., 2006; Mallat dkk., 1999).

Target terapi pada sitokin supresif penting dalam menurunkan progresi penyakit inflamasi. Pada saat mencit dengan diet tinggi lemak diberi ekstrak bawang tunggal (*A. sativum*), mengakibatkan peningkatan aktivasi sel Treg yang diikuti dengan peningkatan produksi sitokin anti-inflamasi IL-10 dan TGF- β . Hasil penelitian mengindikasikan bahwa senyawa dalam ekstrak bawang putih tunggal mampu memicu aktivasi dari sel Treg. Menariknya lagi peningkatan sel T regulator oleh *A. sativum* ini lebih tinggi dibandingkan dengan pada pemberian obat simvastatin. Simvastatin adalah obat sintetis yang biasa digunakan untuk terapi hiperkolesterolemia dan jantung koroner.



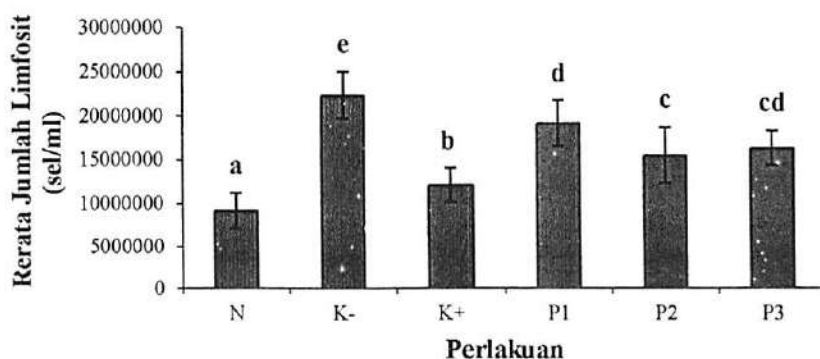




Gambar 6.4 Pemberian minyak bawang putih tunggal (*A. sativum*) memicu aktivasi sel T regulator dan meningkatkan sitokin anti inflamasi IL-10 dan TGF-β pada mencit yang diinduksi dengan diet tinggi lemak. A) Jumlah relatif sel T regulator (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) pada spleen mencit yang diinduksi dengan diet tinggi lemak, B) jumlah relatif

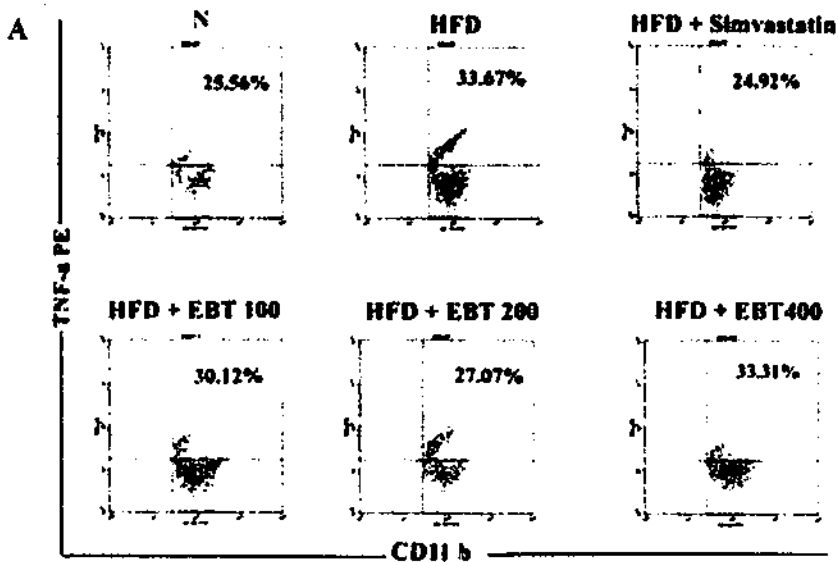
IL-10, C) jumlah relatif TGF- β , D) % jumlah sel T regulator (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) pada mencit yang diberi SGO, E) % jumlah IL-10 pada mencit HFD yang diberi SGO, dan F) % jumlah TGF- β setelah diberi SGO. Ket; N: mencit sehat; HFD: Mencit yang diinduksi dengan diet tinggi lemak (high-fat diet); A1: mencit HFD dan SGO 0,5%; A2: mencit HFD dan diberi SGO 1%; A3: mencit HFD dan diberi SGO 2%.

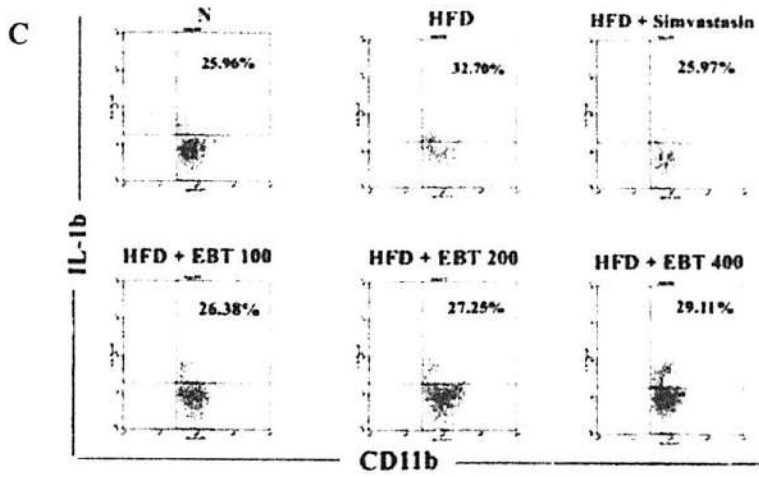
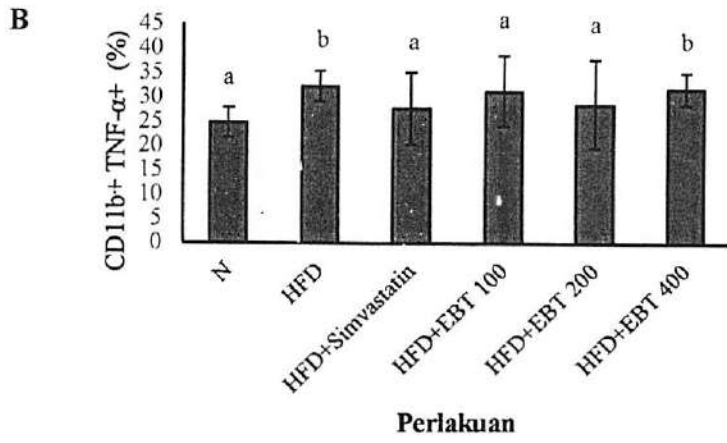
Penelitian lain menggunakan ekstrak bawang putih tunggal dengan pelarut etanol, juga menunjukkan bahwa bawang putih tunggal dapat dimanfaatkan sebagai terapi anti inflamasi. Penelitian pada jumlah limfosit mencit diet tinggi lemak yang diberi ekstrak bawang putih tunggal menunjukkan bahwa bawang putih tunggal dapat menurunkan jumlah sel limfosit, seperti pada Gambar 6.5.

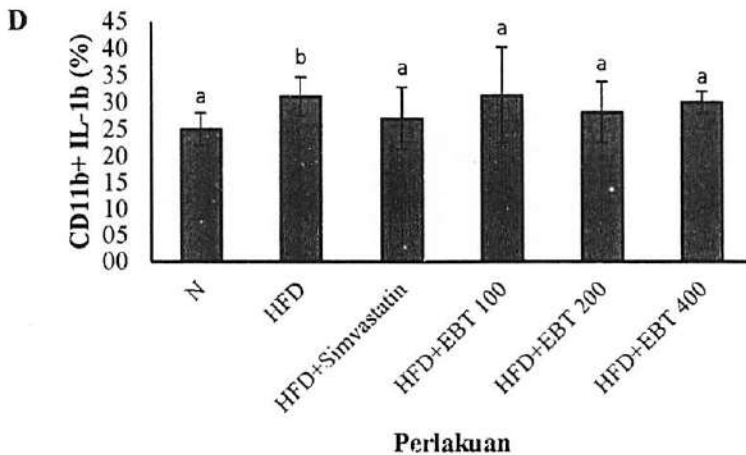


Gambar 6.5 Grafik rerata jumlah limfosit setiap perlakuan. Notasi berbeda menyatakan perbedaan signifikansi berdasarkan pada uji *Duncan*. Keterangan: N = mencit diberi pakan pelet susu A, K- = mencit diberi pakan HFD, K+ = mencit diberi pakan HFD + simvastatin, P1 = mencit diberi pakan HFD + 0,5 ml EBT 125 mg/Kg BB, P2 = mencit diberi pakan HFD + 0,5 ml EBT 250 mg/Kg BB, dan P3 = mencit diberi pakan HFD + 0,5 ml EBT 500 mg/Kg BB

Pemberian ekstrak bawang putih tunggal dapat mengaktifkan sel T regulator, dimana pengaktifan sel T regulator meningkatkan produksi IL-10 dan TGF- β . IL-10 dan TGF- β yang berperan menghambat peningkatan proliferasi, migrasi dan apoptosis dari sel otot dan sel endotel yang berpotensi menghambat sistem imun (Lestari & Rifa'i, 2018b). Sistem imun yang telah dihambat menyebabkan produksi limfosit akan kembali ke jumlah yang normal. Pemberian ekstrak bawang putih tunggal diduga mampu mengurangi stimulasi perkembangan sel efektor yang berperan dalam jalur inflamasi (Lestari & Rifa'i, 2018b). Pemberian ekstrak bawang putih tunggal dapat memperbaiki sistem imun dengan indikator dapat menurunkan jumlah limfosit.





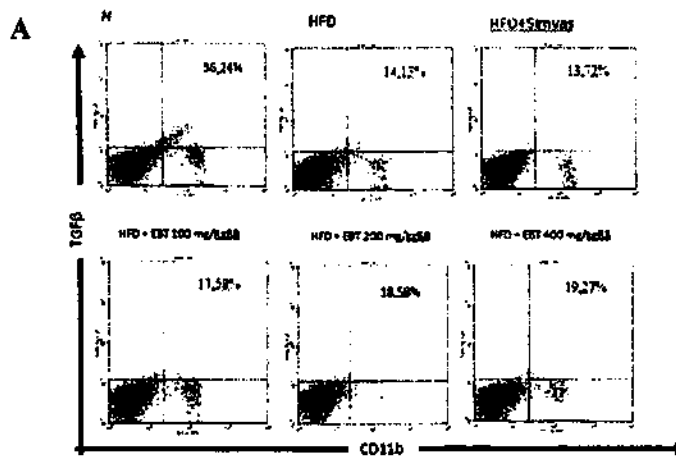


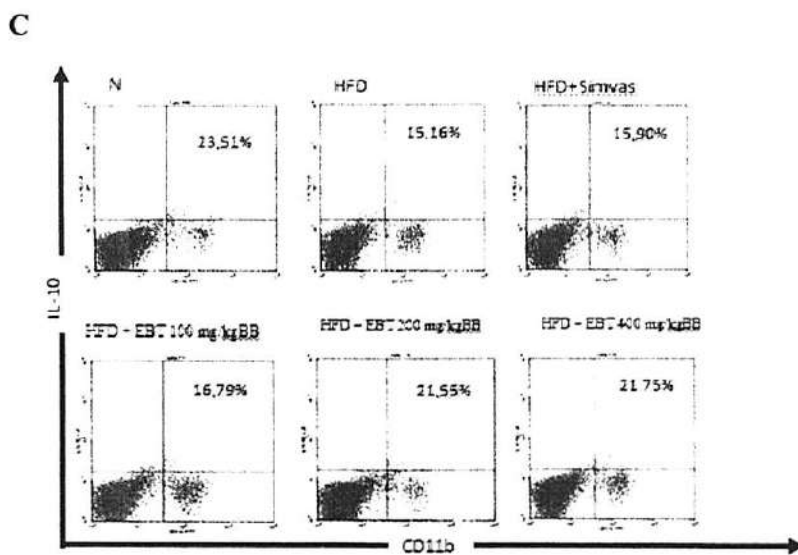
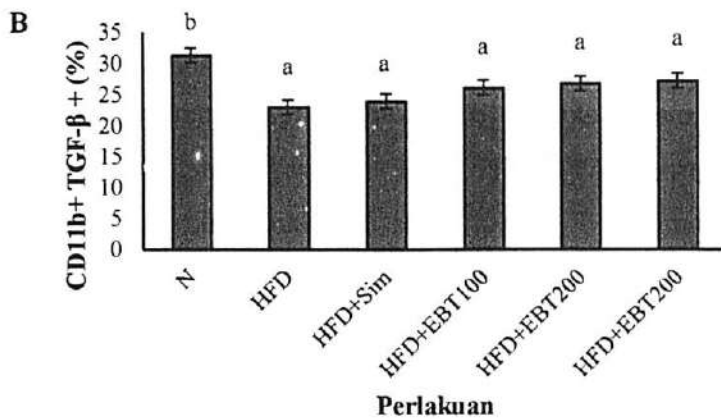
Gambar 6.6 Penurunan jumlah makrofag yang mensekresikan sitokin pro inflamasi TNF- α dan IL-1b pada mencit HFD yang diberi EBT. A) jumlah relatif sel makrofag yang memproduksi TNF- α (CD11b+ TNF- α +), B) % jumlah CD11b+ TNF- α + setelah diberi EBT, C) jumlah relatif sel makrofag yang memproduksi IL-1b (CD11b+ IL-1b+), D) % jumlah CD11b+ IL-1b+ setelah diberi EBT.

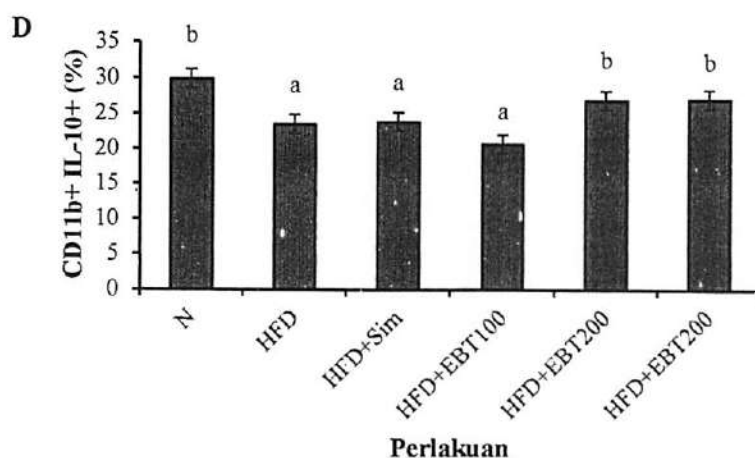
Penurunan jumlah limfosit pada mencit HFD yang diberi Ekstrak bawang putih tunggal (EBT) diikuti dengan penurunan jumlah sel makrofag yang memproduksi sitokin pro inflamasi (Gambar 6.5). Makrofag merupakan sel yang mengenali pertama adanya ox-LDL dan akan memproduksi sitokin proinflamasi untuk memicu sel T CD4+ mensekresikan sitokin proinflamasi pula. Saat kehadiran ROS menyebabkan LDL mudah berubah menjadi ox-LDL dan akan kehilangan kemampuan dalam mengenali reseptor LDL dan mengikat reseptor selain reseptor LDL seperti reseptor CD36 pada makrofag (Itabe dkk., 2011; Magwenzi dkk., 2015).

Ox-LDL akan berikatan dengan reseptor CD36 bersama dengan TLR4-TLR6 kompleks pada makrofag (Cochain &

Zernecke, 2017; Febbraio dkk., 2001), sehingga OxLDL akan dicerna oleh makrofag dan akan mengaktifkan signal transduksi berupa protein My88 dan TRIF. Aktivasi protein My88 dan TRIF akan memicu NF- κ B yang ada di dalam makrofag memproduksi sitokin pro inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β (Daaboul dkk., 2012). Senyawa allicin yang berperan sebagai antioksidan dan senyawa ajoene yang mampu menghambat pembentukan NF κ B pada EBT dosis 100 mg/kg BB mampu mengurangi jumlah makrofag yang memproduksi TNF- α dan IL-1b pada mencit HFD (Gambar 6.5 A dan 6.5 C). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa bawang putih tunggal tidak hanya mampu mengurangi inflamasi dengan menghambat produksi sitokin melalui sel T tetapi juga pada sel makrofag.







Gambar 6.7 Peningkatan jumlah makrofag yang memproduksi sitokin anti inflamasi pada mencit HFD setelah diberi EBT. A) jumlah relatif sel makrofag yang memproduksi TGF- β (CD11b+ TGF- β +), B) % jumlah CD11b+ TGF- β + setelah diberi EBT, C) jumlah relatif sel makrofag yang memproduksi IL-10 (CD11b+ IL-10+), D) % jumlah CD11b+ IL-10+ setelah diberi EBT.

Peran bawang putih tunggal sebagai terapi anti-inflamasi juga terlihat pada pemberian EBT dalam meningkatkan jumlah sel makrofag yang memproduksi sitokin anti inflamasi. Pada saat mencit HFD diberi EBT jumlah sel makrofag yang memproduksi sitokin anti inflamasi IL-10 dan TGF- β menunjukkan adanya peningkatan. Peningkatan jumlah makrofag yang memproduksi sitokin anti inflamasi IL-10 dan TGF- β ini mengindikasikan bahwa senyawa dalam EBT tersebut mampu memicu aktivasi makrofag dalam memproduksi sitokin anti-inflamasi (M2). Allicin mengaktifkan NO di makrofag, sehingga makrofag mengalami polarisasi khususnya makrofag M2 yang menghasilkan sitokin anti

inflamasi. Makrofag M2 menghasilkan protein anti inflamasi akibat stimulus dari meningkatnya kadar lemak dalam jaringan atau ditandai dengan peningkatan pembentukan adiposa, sehingga Makrofag M2 akan memicu Th2 untuk memproduksi sitokin anti inflamasi.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan baik pada minyak bawang tunggal dan ekstrak bawang putih tunggal. Bawang putih tunggal memiliki aktivitas anti inflamasi yang kuat. Pemberian bawang putih tunggal tidak hanya mampu menekan produksi sitokin pro-inflamasi tetapi juga meningkatkan aktivitas sitokin anti inflamasi, sehingga akan mengembalikan homeostasis sistem imun seperti pada saat keadaan normal. Dengan demikian, bawang putih (*A. sativum*) dapat digunakan secara terapeutik untuk menurunkan atau mengatur reaksi inflamasi pada beberapa penyakit inflamasi seperti autoimunitas, alergi dan aterosklerosis.

BAB VII

PENUTUP

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman tinggi. Kearifan lokal yang dilakukan oleh masyarakat Indonesia yaitu melalui pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan terutama untuk pengobatan. Bawang putih tunggal adalah salah satu jenis tumbuhan yang digunakan sebagai bumbu memasak dan dipercaya memiliki khasiat sebagai obat beberapa jenis penyakit terutama penyakit degeneratif yang disebabkan oleh konsumsi makanan tinggi lemak.

Metabolit sekunder bawang putih tunggal yaitu senyawa turunan organosulfur berperan penting dalam menjaga kesehatan tubuh. Senyawa aktif yang terdapat dalam bawang tunggal yang memiliki nilai farmakologis yaitu alliin, allicin, Z-ajoene, dan E-ajoene. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat dan menekan sintesis kolesterol sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol dan lipid dalam darah. Senyawa aktif pada bawang tunggal juga dapat meningkatkan enzim antioksidan endogen dalam tubuh serta dapat menurunkan radikal bebas terutama radikal bebas turunan dari ROS.

Bawang putih tunggal adalah potensi lokal yang perlu diberikan perhatian dan dikembangkan. Bawang putih tunggal lokal memiliki keunggulan dibandingkan bawang putih reguler terutama dalam hal kandungan senyawa aktifnya. Pemerintah melalui

Kementerian Pertanian bekerja sama dengan petani lokal untuk mengembangkan dan meningkatkan produksi bawang putih tunggal lokal Indonesia. Pengembangan dan peningkatan produksi bawang putih tunggal lokal dapat membuat masyarakat sehat dengan potensi lokal dan tanpa harus mengimpor dari luar negeri.

DAFTAR RUJUKAN

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2020). *Basic immunology: Functions and disorders of the immune system*.
- Aggarwal, B. B., & Shishodia, S. (2004). Suppression of the nuclear factor- κ B activation pathway by spice-derived phytochemicals: Reasoning for seasoning. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1030, 434–441. <https://doi.org/10.1196/annals.1329.054>
- Agnesa, O. S., Susilo, H., & Lestari, S. R. (2017a). Aktivitas imunostimulan ekstrak bawang putih tunggal pada mencit yang diinduksi *Escherichia coli*. *Pharmaciana*, 7(1), 105–112. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.6007>
- Agnesa, O. S., Susilo, H., & Lestari, S. R. (2017b). Aktivitas imunostimulan ekstrak bawang putih tunggal pada mencit yang diinduksi *Escherichia coli*. *Pharmaciana*, 7(1), 105–112. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.6007>
- Ahmadian, M., Suh, J. M., Hah, N., Liddle, C., Atkins, A. R., Downes, M., & Evans, R. M. (2013). PPAR γ signaling and metabolism: The good, the bad and the future. *Nature Medicine*, 19(5), 557–566. <https://doi.org/10.1038/nm.3159>
- Ahmed, N. (2005). Advanced glycation endproducts—Role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 67(1), 3–21. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.09.004>
- Ali, M., Al-Qattan, K. K., Al-Enezi, F., Khanafer, R. M. A., & Mustafa, T. (2000). Effect of allicin from garlic powder on serum lipids and blood pressure in rats fed with a high cholesterol diet. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 62(4), 253–259. <https://doi.org/10.1054/plef.2000.0152>
- Almatsier, S. (2004). *Penuntutan Diet Edisi Baru*. Gramedia Pustaka Utama.
- Al-Numair, K. S. (2009). Hypocholesteremic and Antioxidant Effects of Garlic (*Allium sativum* L.) Extract in Rats Fed

- High Cholesterol Diet. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(2), 161–166. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.161.166>
- Amagase, H., Petesch, H., Matsuura, S., Kasuga, & Itakura. (2011). Intake of garlic and bioactive components. *Journal of Nutrition*, 131(3), 955–962.
- Amal, Fyiad, A., & El-Sayed, T. (2012). Effect of *Allium Sativum* Extract on Serum Lipid and Antioxidant Status in hypercholesterolemic Rabbits. *Life Science Journal*, 9(3), 187–195.
- Amento, E. P., Ehsani, N., Palmer, H., & Libby, P. (1991). Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 11(5), 1223–1230. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.11.5.1223>
- Amin, A., & Hamza, A. A. (2006). Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian Journal of Andrology*, 8(5), 607–612. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2006.00179.x>
- Amudha, M., & Rani, S. (2016). IN SILICO MOLECULAR DOCKING STUDIES ON THE PHYTOCONSTITUENTS OF CADABA FRUTICOSA (L.) DRUCE FOR ITS FERTILITY ACTIVITY. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 48–50.
- Arifah, S. N., Atho'illah, M. F., Lukiati, B., & Lestari, S. R. (2020a). Herbal medicine from single clove garlic oil extract ameliorates hepatic steatosis and oxidative status in high fat diet mice. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 27(1), 46–56. <https://doi.org/10.21315/mjms2020.27.1.5>
- Arifah, S. N., Atho'illah, M. F., Lukiati, B., & Lestari, S. R. (2020b). Herbal Medicine from Single Clove Garlic Oil Extract Ameliorates Hepatic Steatosis and Oxidative Status in High Fat Diet Mice. *The Malaysian Journal of Medical Sciences : MJMS*, 27(1), 46. <https://doi.org/10.21315/mjms2020.27.1.5>
- Arifah, S. N., Atho'illah, M. F., Lukiati, B., & Lestari, S. R. (2020c). Herbal Medicine from Single Clove Garlic Oil Extract Ameliorates Hepatic Steatosis and Oxidative Status

- in High Fat Diet Mice. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 27(1), 46–56.
<https://doi.org/10.21315/mjms2020.27.1.5>
- Arifah, S. N., Lukiati, B., & Lestari, S. R. (2018). *Potency of single garlic oil from Indonesian tropical plant in high fat diet-induced hyperlipidemia mice*. 020110.
<https://doi.org/10.1063/1.5054514>
- Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and the Role of Antioxidants in Improving it: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 11(5), IE01–IE05.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23927.9886>
- Astutiningsih, C., Setyani, W., & Hindratna, H. (2016). UJI DAYA ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI ISOLAT SENYAWA KATEKIN DARI DAUN TEH (*Camellia sinensis* L. var *Assamica*). *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas (Journal of Pharmaceutical Sciences and Community)*, 11(2). <https://doi.org/10.24071/jpsc.112100>
- Aulanni'am, Roosdiana, A., & Rahmah, N. L. (2011). Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Bory) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (Inflammatory Bowel Disease). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*, 4(1), 57–64.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–31. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Ayalew, A., Tadesse, D., Medhin, Z. G., & Fantaw, S. (2015). Evaluation of Garlic (*Allium sativum* L.) Varieties for Bulb Yield and Growth at Dabat, Northwestern Ethiopia. *OALib*, 02(01), 1–5. <https://doi.org/10.4236/oalib.1101216>
- Badr, G. M., & Al-Mulhim, J. A. (2014). The protective effect of aged garlic extract on nonsteroidal anti-inflammatory drug-

- induced gastric inflammations in male albino rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2014, 759642. <https://doi.org/10.1155/2014/759642>
- Balqis, & Panunggal, B. (2013). Pengaruh Pemberian Angkak (Red Yest Rice) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida pada Wanita Penderita Hiperlipidemia. *Jurnal of Nutrition College*, 4(3), 571–577.
- Balqis, Widodo, Lukiati, B., & Amin, M. (2018). Active compounds with antioxidant potential in boiled local Papua-Indonesian garlic. *AIP Conference Proceedings*, 020012. <https://doi.org/10.1063/1.5061848>
- Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International*, 686137, 1–7.
- Bantas, K., Agustina, F. M. T., & Zakiyah, D. (2012). Risiko Hiperkolesterolemia pada Pekerja di Kawasan Industri. *Kesmas: National Public Health Journal*, 6(5), 219–224. <https://doi.org/10.21109/kesmas.v6i5.87>
- Baroroh, A. R. E., Miasih, D. S., Lestari, S. R., & Gofur, A. (2020). *Decreased level of age and RAGE in epididymis mice (Mus musculus) Balb/C treated with single clove garlic (Allium sativum L.) extract*. 040011. <https://doi.org/10.1063/5.0002530>
- Bashandy, A. E. S. (2006). Effect of Fixed Oil Nigella sativa on Male Fertility in normal and hyperlipidemic. *Intl. J. Pharmacol*, 2(1), 104–109.
- Bayan, L., Koulivand, P. H., & Gorji, A. (2014). Garlic: A review of potential therapeutic effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4(1), 1–14.
- Bays, H. E., Toth, P. P., Kris-Etherton, P. M., Abate, N., Aronne, L. J., Brown, W. V., Gonzalez-Campoy, J. M., Jones, S. R., Kumar, R., La Forge, R., & Samuel, V. T. (2013). Obesity, adiposity, and dyslipidemia: A consensus statement from the National Lipid Association. *Journal of Clinical Lipidology*, 7(4), 304–383. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2013.04.001>
- Bentzon, J. F., Otsuka, F., Virmani, R., & Falk, E. (2014). Mechanisms of Plaque Formation and Rupture. *Circulation*

- Research*, 114(12), 1852–1866.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302721>
- Bitzur, R. (2016). Remembering Statin: Do Statins Have Adverse Cognitive Effects. *Diabetes Care*, 39(2), S253–S259.
- Boligon, A. A., & Linde, M. (2014). Importance of HPLC in Analysis of Plants Extracts. *Austin Chromatography*, 1(3), 2.
- Booyens, J., Labuschagne, M. C., & Thantsha, M. S. (2014). In Vitro Antibacterial Mechanism of Action of Crude Garlic (*Allium sativum*) Clove Extract on Selected Probiotic Bifidobacterium Species as Revealed by SEM, TEM, and SDS-PAGE Analysis. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6(2), 82–87. <https://doi.org/10.1007/s12602-013-9145-z>
- Borek, C. (2001). Antioxidant Health Effects Of Aged Garlic Extract. *Journal of Nutrition*, 131(3), 1010S–1015S.
- Borek, Carmia. (2001). Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1010S–1015S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.1010S>
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. (2014a). Allicin: Chemistry and Biological Properties. *Molecules*, 19(8), 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. (2014b). Allicin: Chemistry and biological properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(8), 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
- Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*, 25(6), 1340. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>
- Bruck, R., Aeed, H., Brazovsky, E., Noor, T., & Hershkoviz, R. (2005). Allicin, the active component of garlic, prevents immune-mediated, concanavalin A-induced hepatic injury

- in mice. *Liver International*, 25(3), 613–621.
<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2005.01050.x>
- Chaiyasut, C., Kusirisin, W., Lailerd, N., Lertrakarnnon, P., Suttajit, M., & Srichairatanakool, S. (2011). Effects of Phenolic Compounds of Fermented Thai Indigenous Plants on Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2011/749307>
- Chasanah, I., Ghofur, A., & Lestari, S. R. (2019). The protective role of single bulb garlic (*Allium sativum* L.) towards foam cells and vascular cell adhesion molecules-1 (VCAM-1) on mice (*Mus musculus*) with high-fat diet. *Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 51(3), 221–228. <https://doi.org/10.19106/JMedSci005103201905>
- Chasanah, I., Gofur, A., & Lestari, S. R. (2019). Efek Protektif Bawang Putih Tunggal terhadap Vascular Cell Adhesion Molecules-1 (VCAM-1) pada Mencit Diet Lemak Tinggi. *Jurnal Akademika Kimia*, 8(2), 92–97.
- Chauhan, S. K., Saban, D. R., Lee, H. K., & Dana, R. (2009). Levels of Foxp3 in regulatory T cells reflect their functional status in transplantation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 182(1), 148–153.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.1.148>
- Chertok, V. M., Botvich, T. A., Khasina, & Artyukova, O. A. (2001). Effect of Pollack Liver Oli on Lipid Metabolism in Rat Testes. *Bullet Experim. Biol. Med*, 131, 116–118.
- Chiba, T., Nakazawa, T., Yui, K., Kaneko, E., & Shimokado, K. (2003). VLDL Induces Adipocyte Differentiation in ApoE-Dependent Manner. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(8), 1423–1429.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000085040.58340.36>
- Choi, I. S., Cha, H. S., & Lee, Y. S. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19(10), 16811–16823. <https://doi.org/10.3390/molecules191016811>
- Chuah, Y. K., Basir, R., Talib, H., Tie, T. H., & Nordin, N. (2013). Receptor for Advanced Glycation End Products and Its Involvement in Inflammatory Diseases. *International*

- Journal of Inflammation*, 2013, 1–15.
<https://doi.org/10.1155/2013/403460>
- Chuyen, N. V. (2006). Toxicity of the AGEs generated from the Maillard reaction: On the relationship of food-AGEs and biological-AGEs. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(12), 1140–1149.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.200600144>
- Cochain, C., & Zerneck, A. (2017). Macrophages in vascular inflammation and atherosclerosis. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 469(3–4), 485–499.
<https://doi.org/10.1007/s00424-017-1941-y>
- Colin-González, A. L., Santana, R. A., Silva-Islas, C. A., Cháñez-Cárdenas, M. E., Santamaría, A., & Maldonado, P. D. (2012). The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcysteine-induced protection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 907162.
<https://doi.org/10.1155/2012/907162>
- Cristiana, F., Elena, A., & Nina, Z. (2014). Superoxide Dismutase: Therapeutic Targets in SOD Related Pathology. *Health*, 06(10), 975–988.
<https://doi.org/10.4236/health.2014.610123>
- Daaboul, D., Rosenkranz, E., Uciechowski, P., & Rink, L. (2012). Repletion of zinc in zinc-deficient cells strongly up-regulates IL-1 β -induced IL-2 production in T-cells. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 4(10), 1088–1097. <https://doi.org/10.1039/c2mt20118f>
- Daka, D. (2011). Antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An in vitro study. *African Journal of Biotechnology*, 10(4), 666–669.
<https://doi.org/10.4314/ajb.v10i4>
- Dansky, H. M., Barlow, C. B., Lominska, C., Sikes, J. L., Kao, C., Weinsaft, J., Cybulsky, M. I., & Smith, J. D. (2001). Adhesion of monocytes to arterial endothelium and initiation of atherosclerosis are critically dependent on vascular cell adhesion molecule-1 gene dosage.

- Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(10), 1662–1667. <https://doi.org/10.1161/hq1001.096625>
- DeBose-Boyd, R. A. (2008). Feedback Regulation of Cholesterol Synthesis. *Cell Research*, 18(6), 609–621. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.61>
- Devy, N. F., & Suprianto, A. (2007). *Eksplorasi, Karakterisasi, dan Evaluasi Beberapa Klon Bawang Putih Lokal*. 17(4), 7.
- Dirsch, V. M., Gerbes, A. L., & Vollmar, A. M. (1998). Ajoene, a compound of garlic, induces apoptosis in human promyeloleukemic cells, accompanied by generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor kappaB. *Molecular Pharmacology*, 53(3), 402–407. <https://doi.org/10.1124/mol.53.3.402>
- Doerrler, W. T. (2006). Lipid trafficking to the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Molecular Microbiology*, 60(3), 542–552. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05130.x>
- Durairaj, S., Srinivasan, S., & Lakshmanaperumalsamy, P. (2009). In vitro Antibacterial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature. *Electronic Journal of Biology*, 5(1), 5–10.
- Esenwa, C. C., & Elkind, M. S. (2016). Inflammatory risk factors, biomarkers and associated therapy in ischaemic stroke. *Nature Reviews. Neurology*, 12(10), 594–604. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.125>
- Farias-Campomanes, A. M., Horita, C. N., Pollonio, M. A. R., & Meireles, M. A. A. (2014). Allicin-Rich Extract Obtained from Garlic by Pressurized Liquid Extraction: Quantitative Determination of Allicin in Garlic Samples. *Food and Public Health*, 4(6), 272–278.
- Febbraio, M., Hajjar, D. P., & Silverstein, R. L. (2001). CD36: A class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *Journal of Clinical Investigation*, 108(6), 785–791. <https://doi.org/10.1172/JCI14006>
- Febyan, Wijaya, S. H., Adinata, J., & Hudyono, J. (2015). Peranan Allicin dari Ekstrak Bawang Putih sebagai Pengobatan

Komplemen Alternatif Hipertensi Stadium I. *CDK-227*, 42(4), 303–306.

- Feingold, K. R., & Grunfeld, C. (2000). Introduction to Lipids and Lipoproteins. In K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, K. Dungan, A. Grossman, J. M. Hershman, G. Kaltsas, C. Koch, P. Kopp, M. Korbonits, R. McLachlan, J. E. Morley, M. New, L. Perreault, J. Purnell, R. Rebar, F. Singer, D. L. Trence, ... D. P. Wilson (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>
- Fitriana, N., Lestari, S. R., & Lukiati, B. (2018). Senyawa Alami Bawang Putih Tunggal sebagai Inhibitor LpxC Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* melalui Virtual Screening. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 18(1), 25–33. <https://doi.org/10.18196/mm.180111>
- Galkina, E., & Ley, K. (2007). Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(11), 2292–2301.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.149179>
- Gao. (2013). Drug Metabolism and Pharmacokinetics of Organosulfur Compounds from Garlic. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology*, 04(05).
<https://doi.org/10.4172/2157-7609.1000159>
- Gebreyohannes, G., & Gebreyohannes, M. (2013). Medicinal values of garlic: A review. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 5(9), 401–408.
<https://doi.org/10.5897/IJMMS2013.0960>
- Gholkar, M., Laddha, K., & Mulik, M. (2013). Fate of β -asarone in Ayurvedic Sodhana process of Vacha. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 4(1), 19.
<https://doi.org/10.4103/0975-9476.109545>
- Gofur, A., & Lestari, S. R. (2016). Effect of black soybean natto extract (Glycine soja) on reproduction system of hypercholesterolemia male mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(5), 387–390.
<https://doi.org/10.1016/j.apjr.2016.08.002>

- Gofur, A., Wulandari, I., Athoillah, M. F., Witjoro, A., & Lestari, S. R. (2019). Single Clove Garlic (*Allium sativum*) Essential Oil as an Inhibitor of *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, *11*(1), 77–83.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v11i1.13944>
- Golomb, B. A., & Evans, M. A. (2010). Statin Adverse Effects: A Review of the Literature and Evidence for Mitochondrial Mechanism. *Am J Cardiovasc Drugs*, *8*(6), 373–418.
- Gonen, A., Harats, D., Rabinkov, A., Miron, T., Mirelman, D., Wilchek, M., Weiner, L., Ulman, E., Levkovitz, H., Ben-Shushan, D., & Shaish, A. (2005). The antiatherogenic effect of allicin: Possible mode of action. *Pathobiology: Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology*, *72*(6), 325–334.
<https://doi.org/10.1159/000091330>
- Gonen, A., Harats, D., Rabinkov, A., Miron, T., Mirelman, D., Wilchek, M., Weiner, L., Ulman, E., Levkovitz, H., Ben-Shushan, D., & Shaish, A. (2006). The antiatherogenic effect of allicin: Possible mode of action. *Pathobiology*, *72*(6), 325–334. <https://doi.org/10.1159/000091330>
- Gordon, S., & Martinez, F. O. (2010). Alternative activation of macrophages: Mechanism and functions. *Immunity*, *32*(5), 593–604. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.05.007>
- Griendling, K. K., Touyz, R. M., Zweier, J. L., Dikalov, S., Chilian, W., Chen, Y.-R., Harrison, D. G., & Bhatnagar, A. (2016). Measurement of Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species, and Redox-Dependent Signaling in the Cardiovascular System: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation Research*, *119*(5).
<https://doi.org/10.1161/RES.000000000000110>
- Gupta, N., & Porter, T. D. (2001). Garlic and Garlic-Derived Compounds Inhibit Human Squalene Monooxygenase. *The Journal of Nutrition*, *131*(6), 1662–1667.
<https://doi.org/10.1093/jn/131.6.1662>
- Guyonnet, D., Belloir, C., Suschetet, M., Siess, M. H., & Le Bon, A. M. (2001). Antimutagenic activity of organosulfur

- compounds from *Allium* is associated with phase II enzyme induction. *Mutation Research*, 495(1–2), 135–145.
[https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(01\)00205-4](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00205-4)
- Gwynne, J. T., & Strauss III, J. F. (2014). The Role of Lipoproteins in Steroidogenesis and Cholesterol Metabolism in Steroidogenic Glands. *The Endocrine Society*, 3(3).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed). Clarendon Press ; Oxford University Press.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (Fifth edition). Oxford University Press.
- Hansson, G. K. (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*, 352(16), 1685–1695.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra043430>
- Hansson, G. K., & Hermansson, A. (2011). The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunology*, 12(3), 204–212.
<https://doi.org/10.1038/ni.2001>
- Harsa, I. M. S. (2014). Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Profil Lemak. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 3(1), 8.
- Hashem, H. E., & Alazouny, Z. M. (2016). Does Splenectomy Modulate High Fat Diet Induced Liver Injury in Male Rat? (Histological and Biochemical Study). *British Journal of Science*, 13(2), 45–58.
- Heart Protection Study Collaborative Group. (2002). MRC/BHF Heart Protection Study of Cholesterol Lowering with Simvastatin in 20 536 High-risk Individuals: A Randomised Placebocontrolled Trial. *The Lancet*, 360(9326), P7-22.
- Henkel, R. R. (2011). Leukocytes and oxidative stress: Dilemma for sperm function and male fertility. *Asian Journal of Andrology*, 13, 43–52.
- Hodge, G., Hodge, S., & Han, P. (2002). *Allium sativum* (garlic) suppresses leukocyte inflammatory cytokine production in vitro: Potential therapeutic use in the treatment of

- inflammatory bowel disease. *Cytometry*, 48(4), 209–215.
<https://doi.org/10.1002/cyto.10133>
- Holven, K. B., Halvorsen, B., Bjerkeli, V., Damås, J. K., Retterstøl, K., Mørkrid, L., Ose, L., Aukrust, P., & Nenseter, M. S. (2006). Impaired inhibitory effect of interleukin-10 on the balance between matrix metalloproteinase-9 and its inhibitor in mononuclear cells from hyperhomocysteinemic subjects. *Stroke*, 37(7), 1731–1736.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.0000226465.84561.cb>
- Ibrahim, M., Ilyas, M., Shah, F. A., Khan, A., Rukh, S., & Haq, U. (2018). Comparison of Different Garlic (*Allium Sativum*) Varieties for Yield and Yield Components Grown at Agriculture Research Station, Buner. *International Journal of Environmental Sciences*, 5.
- Ilmawati, R. R., Gofur, A., & Lestari, S. R. (2019a). Single bulb garlic oil improves interleukin-6 via decreased reactive oxygen species (ROS) in high-fat diet male mice. *Universa Medicina*, 38(2), 100.
<https://doi.org/10.18051/univmed.2019.v38.100-107>
- Ilmawati, R. R., Gofur, A., & Lestari, S. R. (2019b). Single bulb garlic oil improves interleukin-6 via decreased reactive oxygen species (ROS) in high-fat diet male mice. *Universa Medicina*, 38(2), 100–107.
<https://doi.org/10.18051/UnivMed.2019.v38.100-107>
- Ilmawati, R. R., Gofur, A., & Lestari, S. R. (2019c). Single bulb garlic oil improves interleukin-6 via decreased reactive oxygen species (ROS) in high-fat diet male mice. *Universa Medicina*, 38(2), 100.
<https://doi.org/10.18051/UnivMed.2019.v38.100-107>
- Itabe, H., Obama, T., & Kato, R. (2011). The Dynamics of Oxidized LDL during Atherogenesis. *Journal of Lipids*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/418313>
- Jenny, M., & Kingsbury, J. (2018). Properties and Prevention: A Review of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biology and Medical Research*, 2(3), 8.
- Ji, W., Zhao, M., Wang, M., Yan, W., Liu, Y., Ren, S., Lu, J., Wang, B., & Chen, L. (2017). Effects of canagliflozin on

- weight loss in high-fat diet-induced obese mice. *PLOS ONE*, 12(6), e0179960.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179960>
- Jialal, I., Huet, B. A., Kaur, H., Chien, A., & Devaraj, S. (2012). Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 35(4), 900–904.
<https://doi.org/10.2337/dc11-2375>
- Kawano, Y., & Cohen, D. E. (2013). Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology*, 48(4), 434–441.
<https://doi.org/10.1007/s00535-013-0758-5>
- Kim, W., Kim, Y., Kim, J., Nam, B.-H., Kim, D.-G., An, C., Lee, J., Kim, P., Lee, H., Oh, J.-S., & Lee, J. (2016). Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Rapid Secondary-Metabolite Profiling of Marine Pseudoalteromonas sp. M2. *Marine Drugs*, 14(1), 24.
<https://doi.org/10.3390/md14010024>
- Kim, Y. S., Baek, H. H., Chung, I. M., Kwon, B., & Ji, G. E. (2009). Garlic Fermentation by Lactic Acid Bacteria. *Food Science and Biotechnology*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=KR2010003390>
- Kolovou, G. D. (2005). Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgraduate Medical Journal*, 81(956), 358–366.
<https://doi.org/10.1136/pgmj.2004.025601>
- Kuo, W. W., Chang, S. H., Liu, C. J., Kuo, C. H., Chen, H., Lin, W. Y., Teng, K. Y., Chang, S. W., Tsai, C. H., Tsai, F. J., Huang, C. Y., & Tzang, B. S. (2011). Garlic oil alleviates MAPKs- and IL-6-mediated diabetes-related cardiac hypertrophy in STZ-induced DM rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
<https://doi.org/10.1093/ecam/nej075>
- Kyaw, T., Toh, B. H., & Bobik, A. (2016). Foxp3+CD4+ Regulatory T-Cell Subtypes and Atherosclerosis. *Circulation Research*, 119(11), 1151–1153.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309999>

- Kyo, E., Uda, N., Kasuga, S., & Itakura, Y. (2001). Immunomodulatory Effects of Aged Garlic Extract. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1075S-1079S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.1075S>
- Lee, D. Y., Li, H., Lim, H. J., Lee, H. J., Jeon, R., & Ryu, J. H. (2012). Anti-inflammatory activity of sulfur-containing compounds from garlic. *Journal of Medicinal Food*, 15(11), 992-999. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.2275>
- Lee, S.-Y., Kim, D.-S., & Kyung, K. H. (2014). Factors influencing the stability of garlic thiosulfinates. *Food Science and Biotechnology*, 23(5), 1593-1600. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0216-z>
- Lee, Y.-H., & Rifa'i, M. (2012). CD4+CD25+FOXP3+ Regulatory T Cells In Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Journal of Tropical Life Science*, 1(2), 69-75. <https://doi.org/10.11594/jtls.01.02.04>
- Lestari, S.R., Djati, M. S., Rudijanto, A., & Fatchiyah, F. (2015). The Inhibitory Effect of Rambutan Peel Extract To The Igf-1 And Igf-1r Expression in Obese Rats Visceral Fat. *KnE Life Sciences*, 2(1), 342. <https://doi.org/10.18502/kls.v2i1.170>
- Lestari, Sri Rahayu, Djati, M. S., Rudijanto, A., & Fatchiyah, F. (2015). PPAR γ expression by rambutan peel extract in obesity rat model-induced high-calorie diet. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(10), 852-857. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.01.030>
- Lestari, Sri Rahayu, & Rifa'i, M. (2018). Effect of Single Garlic Oil for Homeostasis of CD4+CD25+ Immuno-regulatory T Cells Controlling Hypercholesterolemia. *Journal of Physics: Conference Series*, 1093(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1093/1/012018>
- Lestari, Sri Rahayu, & Rifa'i, M. (2018a). Regulatory T cells and anti-inflammatory cytokine profile of mice fed a high-fat diet after single-bulb garlic (*Allium sativum* L.) oil treatment. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(11), 2157-2162. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v17i11.7>
- Lestari, Sri Rahayu, & Rifa'i, M. (2018b). Regulatory T cells and anti-inflammatory cytokine profile of mice fed a high-fat

- diet after single-bulb garlic (*Allium sativum* L.) oil treatment. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(11), 2157–2162. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v17i11.7>
- Lestari, Sri Rahayu, & Rifa'i, M. (2018c). Effect of Single Garlic Oil for Homeostasis of CD4⁺CD25⁺ Immuno-regulatory T Cells Controlling Hypercholesterolemia. *Journal of Physics: Conference Series*, 1093, 012018. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1093/1/012018>
- Lestari, Sri Rahayu, & Rifa'i, M. (2019). Regulatory T cells and anti-inflammatory cytokine profile of mice fed a high-fat diet after single-bulb garlic (*Allium sativum* L.) oil treatment. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(11), 2157. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v17i11.7>
- Lestari, Sri Rahayu, Witjoro, A., & Poejiani, S. (2018). The Potential of Single Garlic Oil in Inhibiting The Growth and Damaging The Membrane of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3(3), 67–72. <https://doi.org/10.22146/jtbb.33498>
- Lestari, Sri Rahayu, Wulandari, N., & Lukiati, B. (2019). *Dinamika Bahan Aktif Kompleks Alicin Dan Ajoene Pada Bawang Tunggal (Allium sativum) Sebagai Pengendali Sintesis Kolesterol. Penelitian Tahun II: Bioavailabilitas Bahan Aktif Kompleks Alicin dan Ajone Sebagai Pengendali Sintesis Kolesterol* [Laporan Kemajuan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT)]. Universitas Negeri Malang.
- Ley, K., & Huo, Y. (2001). VCAM-1 is critical in atherosclerosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(10), 1209–1210. <https://doi.org/10.1172/JCI13005>
- Lin, J., Della-Fera, M. A., & Baile, C. A. (2005). Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Inhibits Adipogenesis and Induces Apoptosis in 3T3-L1 Adipocytes. *Obesity Research*, 13(6), 982–990. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.115>

- Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4), 582–610. <https://doi.org/10.1128/CMR.00040-09>
- Liu, L., & Yeh, Y.-Y. (2002). S-alk(en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes. *The Journal of Nutrition*, 132(6), 1129–1134. <https://doi.org/10.1093/jn/132.6.1129>
- Luevano-Contreras, C., & Chapman-Novakofski, K. (2010). Dietary advanced glycation end products and aging. *Nutrients*, 2(12), 1247–1265. <https://doi.org/10.3390/nu2121247>
- Magwenzi, S., Woodward, C., Wraith, K. S., Aburima, A., Raslan, Z., Jones, H., McNeil, C., Wheatcroft, S., Yuldasheva, N., Febbraio, M., Kearney, M., & Naseem, K. M. (2015). Oxidized LDL activates blood platelets through CD36/NOX2-mediated inhibition of the cGMP/protein kinase G signaling cascade. *Blood*, 125(17), 2693–2703. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-574491>
- Mairaj, S., & Rehman, F. (2013). ANTIMICROBIAL STUDIES OF ALLICIN AND AJOENE. *International Journal of Pharma and Bio Sciences, Volume 4 Issue 2*. <http://ijpbs.net/abstract.php?article=2358>
- Mallat, Z., Besnard, S., Duriez, M., Deleuze, V., Emmanuel, F., Bureau, M. F., Soubrier, F., Esposito, B., Duez, H., Fievet, C., Staels, B., Duverger, N., Scherman, D., & Tedgui, A. (1999). Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circulation Research*, 85(8). <https://doi.org/10.1161/01.res.85.8.e17>
- Mallidis, C., Agbaje, I. M., Rogers, D. A., Glenn, J. V., Pringle, R., Atkinson, A. B., Steger, K., Stitt, A. W., & McClure, N. (2009). Advanced glycation end products accumulate in the reproductive tract of men with diabetes. *International Journal of Andrology*, 32(4), 295–305. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2007.00849.x>

- Mangoni, M. L., Papo, N., Barra, D., Simmaco, M., Bozzi, A., Di Giulio, A., & Rinaldi, A. C. (2004). Effects of the antimicrobial peptide temporin L on cell morphology, membrane permeability and viability of *Escherichia coli*. *The Biochemical Journal*, 380(Pt 3), 859–865. <https://doi.org/10.1042/BJ20031975>
- McKenney, J. M. (2003). Pharmacologic Characteristics of Statins. *Clin. Cardiol*, 26(III), III-32-III-38.
- Mikaili, P., Maadirad, S., Moloudizargari, M., Aghajanshakeri, S., & Sarahroodi, S. (2013). Therapeutic Uses and Pharmacological Properties of Garlic, Shallot, and Their Biologically Active Compounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(10), 1031–1048.
- Mikusanti, M., Jennie, B. S. L., Ponco, B., & Trimulyadi, G. (2008). KERUSAKAN DINDING SEL *Escherichia coli* OLEH MINYAK ATSIRI TEMU KUNCI (Kaempferiapandurata). *BERITA BIOLOGI*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v9i1.775>
- Minich, D. M., Roel, J. V., & Henkjan, J. V. (1997). Intestinal Absorption Of Essential Fatty Acids Under Physiological And Essential Fatty Acid-Deficient Conditions. *Journal of Lipid Research*, 38.
- Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A.-S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X., & Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae family. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(12), 20034–20053. <https://doi.org/10.3390/molecules191220034>
- Monfared, A. L. (2013). Correlation of Serum Lipid Profile with Histological and Seminal Parameters of Testis in The Goat. *International Journal of Fertility & Sterility*, 7(2), 122–129.
- Morales-González, J. A., Madrigal-Bujaidar, E., Sánchez-Gutiérrez, M., Izquierdo-Vega, J. A., Valadez-Vega, M. D. C., Álvarez-González, I., Morales-González, Á., & Madrigal-Santillán, E. (2019). Garlic (*Allium sativum* L.):

- A Brief Review of Its Antigenotoxic Effects. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/foods8080343>
- Moriya, J. (2019). Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *Journal of Cardiology*, 73(1), 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2018.05.010>
- Moutia, M., Habti, N., & Badou, A. (2018). *In Vitro and In Vivo Immunomodulator Activities of Allium sativum L.* [Research article]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. <https://doi.org/10.1155/2018/4984659>
- Mozaffari Nejad, A. S., Shabani, S., Bayat, M., & Hosseini, S. E. (2014). Antibacterial Effect of Garlic Aqueous Extract on Staphylococcus aureus in Hamburger. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(11). <https://doi.org/10.5812/jjm.13134>
- Musavi, H., Tabnak, M., Alaei Sheini, F., Hasanzadeh Bezvan, M., Amidi, F., & Abbasi, M. (2018). Effect of garlic (*Allium sativum*) on male fertility: A systematic review. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(4), 306–312. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.46>
- Nair, S. P., Shah, N. C., & Shah, R. M. (2012). Alteration in enzymatic antioxidant defense in diabetes mellitus. *Biomedical Research*, 23(3), 402–404.
- Nakagawa, K., Kishida, H., Arai, N., Nishiyama, T., & Mae, T. (2004). Licorice Flavonoids Suppress Abdominal Fat Accumulation and Increase in Blood Glucose Level in Obese Diabetic KK-Ay Mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27(11), 1775–1778. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1775>
- Nasim, S. A., Aslam, J., Kapoor, R., & Khan, S. A. (2010). SECONDARY METABOLITES PRODUCTION THROUGH BIOTECHNOLOGICAL INTERVENTION: A REVIEW. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 147–161. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v22i3.4886>
- Negre-Salvayre, A., Coatrieux, C., Ingueneau, C., & Salvayre, R. (2008). Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *British Journal of*

- Pharmacology*, 153(1), 6–20.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707395>
- Nelson, R. H. (2013). Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Primary Care*, 40(1), 195–211.
<https://doi.org/10.1016/j.pop.2012.11.003>
- Niederberger, C. (2005). Atorvastatin and male infertility: Is there a link? *J Androl*, 26(1), 12.
- Niedernhofer, L. J., Daniels, J. S., Rouzer, C. A., Greene, R. E., & Marnett, L. J. (2003). Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(33), 31426–31433.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M212549200>
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>
- Ohara, Y., Peterson, T. E., & Harrison, D. G. (1993). Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *The Journal of Clinical Investigation*, 91(6), 2546–2551.
- Okada, Y., Tanaka, K., Fujita, I., Sato, E., & Okajima, H. (2005). Antioxidant activity of thiosulfinates derived from garlic. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 10(2), 96–102. <https://doi.org/10.1179/135100005X38851>
- Omar, S. H. (2013). Garlic and Cardiovascular Diseases. In K. G. Ramawat & J.-M. Mérillon (Eds.), *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes* (pp. 3661–3696). Springer.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_158
- Otunola, G. A., Oyelola, B. O., Adenike, T. O., & Anthony, A. A. (2010). *Effects Of Diet-Induced Hypercholesterolemia On The Lipid Profile And Some Enzyme Activities In Female Wistar Rats*. 4(6), 149–154.
- Ouarda, M., & Abdennour, C. (2011). Evaluation of the therapeutic efficiency of raw garlic on reproduction of domestic rabbits under lead induced toxicity. *Annals of Biological Research*, 2(3), 389–393.

- Pachori, P., Gothalwal, R., & Gandhi, P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & Diseases*, 6(2), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>
- Padron, R. S., Mas, J., Zamora, R., Riverol, F., Licea, M., Mallea, L., & Rodriguez, J. (1989). Lipids and Testicular Function. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*, 21(5), 515–519.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293–304.
- Pal, R., Vaiphei, K., Sikander, A., Singh, K., & Rana, S. V. (2006). Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 12(4), 636–639. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i4.636>
- Palaksha, M. N., Ahmed, M., & Das, S. (2010). Antibacterial activity of garlic extract on streptomycin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* solely and in synergism with streptomycin. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 1(1), 12–15. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.71666>
- Pamukcu, B., Lip, G. Y. H., & Shantsila, E. (2011). The nuclear factor- κ B pathway in atherosclerosis: A potential therapeutic target for atherothrombotic vascular disease. *Thrombosis Research*, 128(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2011.03.025>
- Panovska, T. K., Kulevanova, S., & Stefova, M. (2005). In vitro antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica (Zagreb, Croatia)*, 55(2), 207–214.
- Parasuraman, S. (2011). Prediction of activity spectra for substances. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 2(1), 52–53. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.77119>
- Pons-Rejraji, H., Brugnion, F., Sion, B., Maqdasy, S., Gouby, G., Pereira, B., Marceau, G., Gremeau, A., Drevet, J., Gizard, G., Janny, L., & Tauveron, I. (2014). Evaluation of Atorstatin Efficacy and Toxicity Spermatozoa, Accessory

- Glands and Gonadal Hormones of Healthy Men: A pilot Prospective Clinical Trial. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 65.
- Prasanto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*). *ODONTO : Dental Journal*, 4(2), 122. <https://doi.org/10.30659/odj.4.2.122-128>
- Preiss, D. J., & Sattar, N. (2007). Vascular cell adhesion molecule-1: A viable therapeutic target for atherosclerosis? *International Journal of Clinical Practice*, 61(4), 697–701. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01330.x>
- Priskila, M. R. (2012). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum, Linn.) terhadap Penurunan Rasio Antara Kolesterol Total dengan Kolesterol HDL Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Hiperkolesterolemik* [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret.
- Pujiastuti, I. N. E., Lestari, S. R., & Gofur, A. (2017). Gambaran Hematologi Mencit (*Mus musculus*) Model Toksisitas Subkronis. *Scripta Biologica*, 4(2), 75–78. <https://doi.org/10.20884/1.sb.2017.4.2.371>
- Purnamasari, A. (2020). *Pengaruh Ekstrak Bawang Putih Tunggal (Allium sativum L.) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hepar Mencit (Mus musculus) Diet Tinggi Lemak* [Skripsi]. Universitas Negeri Malang.
- Qadariah, N., Lestari, S. R., & Rohman, F. (2020). Single Bulb Garlic (*Allium sativum*) Extract Improves Sperm Quality in Hyperlipidemia Male Mice Model. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 14(1), 7–11.
- Quintero-Fabián, S., Ortuño-Sahagún, D., Vázquez-Carrera, M., & López-Roa, R. I. (2013). Alliin, a Garlic (*Allium sativum*) Compound, Prevents LPS-Induced Inflammation in 3T3-L1 Adipocytes. *Mediators of Inflammation*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/381815>
- Rader, D. J. (2006). Molecular regulation of HDL metabolism and function: Implications for novel therapies. *Journal of*

- Clinical Investigation*, 116(12), 3090–3100.
<https://doi.org/10.1172/JCI30163>
- Ragavan, G., Muralidaran, Y., Sridharan, B., Nachiappa Ganesh, R., & Viswanathan, P. (2017). Evaluation of garlic oil in nano-emulsified form: Optimization and its efficacy in high-fat diet induced dyslipidemia in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 105, 203–213. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.019>
- Raggi, P., Genest, J., Giles, J. T., Rayner, K. J., Dwivedi, G., Beanlands, R. S., & Gupta, M. (2018). Role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and therapeutic interventions. *Atherosclerosis*, 276, 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2018.07.014>
- Rahayu Lestari, S., Lukiaty, B., Nur Arifah, S., Rofiqotun Nurul Alimah, A., & Gofur, A. (2019). Medicinal Uses of Single Garlic in Hyperlipidemia by Fatty Acid Synthase Enzyme Inhibitory: Molecular Docking. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 276, 012008. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/276/1/012008>
- Rahman, M. M., Fazlic, V., & Saad, N. W. (2012). Antioxidant properties of raw garlic (*Allium sativum*) extract. *International Food Research Journal*, 19(2), 589–591.
- Rahmaniar, R. P. (2017). Uji Sensitivitas Isolat *Staphylococcus Aureus* Patogen Pada Anjing Terhadap Beberapa Antibiotik. *Agro Veteriner*, 5(2), 132–137.
- Ramirez-Torres, M. A., Carrera, A., & Zambrana, M. (2000). High incidence of hyperestrogenemia and dyslipidemia in a group of infertile men. *Ginecol Obstet Mex*, 68, 224–229.
- Rasigade, J.-P., & Vandenesch, F. (2014). *Staphylococcus aureus*: A pathogen with still unresolved issues. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 21, 510–514. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.08.018>
- Rasooli, I. (2011). *Phytochemicals—Bioactivities and Impact on Health*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/2373>
- Ress, C., & Kaser, S. (2016). Mechanisms of intrahepatic triglyceride accumulation. *World Journal of*

- Gastroenterology*, 22(4), 1664–1673.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i4.1664>
- Rifa'i, M., & Widodo, N. (2014). Significance of propolis administration for homeostasis of CD4+CD25+ immunoregulatory T cells controlling hyperglycemia. *Journal of the Korean Physical Society*, 3(1), 1–8.
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-526>
- Rocha, V. Z., & Libby, P. (2009). Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nature Reviews Cardiology*, 6(6), 399–409.
<https://doi.org/10.1038/nrcardio.2009.55>
- Rosen, E. D., Walkey, C. J., Puigserver, P., & Spiegelman, B. M. (2000). Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes & Development*, 14(11), 1293–1307.
- Rosyidah, F. (2020). *Pengaruh Ekstrak Bawang Putih Tunggal terhadap Sel Adiposit pada Mencit Diet Tinggi Lemak* [Skripsi]. Universitas Negeri Malang.
- Roth Gregory A., Nguyen Grant, Forouzanfar Mohammad H., Mokdad Ali H., Naghavi Mohsen, & Murray Christopher J.L. (2015). Estimates of Global and Regional Premature Cardiovascular Mortality in 2025. *Circulation*, 132(13), 1270–1282.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016021>
- Roy, S., Weinstock, J. L., Ishino, A. S., Benites, J. F., Pop, S. R., Perez, C. D., Gumbs, E. A., Rosenbaum, J. A., Roccatto, M. K., Shah, H., Contino, G., & Hunter, K. (2017). Association of Cognitive Impairment in Patients on 3-Hydroxy-3Methyl-Glutaryl-CoA Reductase Inhibitors. *J Clin Med Res*, 9(7), 638–649.
- Sahoo, M., Jena, L., Daf, S., & Kumar, S. (2016). Virtual Screening for Potential Inhibitors of NS3 Protein of Zika Virus. *Genomics & Informatics*, 14(3), 104–111.
<https://doi.org/10.5808/GI.2016.14.3.104>
- Sanchez, E., Marquette, M., Brown, D., & Ansari, N. (2006). The effect of oxidative stress on human sperm morphology. *Fertil Steril*, 86.

- Sayin, F. K., Buyukbas, S., Basarali, M. K., Alp, H., Toy, H., & Ugurcu, V. (2016). Effects of Silybum marianum Extract on High-Fat Diet Induced Metabolic Disorders in Rats. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66(1), 43–50. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0014>
- Schisterman, E. F., Mumford, S. L., Chen, Z., Browne, R. W., Barr, D. B., Kim, S., & Louis, G. M. B. (2014). Lipid Concentrations and Semen Quality: The Life Study. *Andrology*, 2, 408–415.
- Schooling, C. M., Au, Y. S. L., Freeman, G., & Cowling, B. J. (2013). The effect of statins on testosterone in men and women, a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Med*, 11, 57.
- Schwartz, I. F., Hershkovitz, R., Iaina, A., Gnessin, E., Wollman, Y., Chernichowski, T., Blum, M., Levo, Y., & Schwartz, D. (2002). Garlic attenuates nitric oxide production in rat cardiac myocytes through inhibition of inducible nitric oxide synthase and the arginine transporter CAT-2 (cationic amino acid transporter-2). *Clinical Science (London, England: 1979)*, 102(5), 487–493.
- Seham, S. K., Magda, S. M., & Madiha, M. A. (2015). Effect of some plant oils and garlic on lipids of rats fed on high cholesterol diet. *International Food Research Journal*, 22(3), 1307–1314.
- Shang, A., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Tang, G.-Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H.-B. (2019). Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/foods8070246>
- Shepherd, J. (2001). The role of the exogenous pathway in hypercholesterolaemia. *European Heart Journal Supplements*, 3, E2–E5. [https://doi.org/10.1016/S1520-765X\(01\)90105-1](https://doi.org/10.1016/S1520-765X(01)90105-1)
- Singh, D. K., & Singh, V. K. (2008). Pharmacological Effects of Garlic (*Allium Sativum* L.). *Annual Review of Biomedical Sciences*, 10(0), 6–26. <https://doi.org/10.5016/1806-8774.2008.v10p6>

- Singh, J., Singh, S., & Singh, B. R. (2014). Medicinal values of Garlic (*Allium sativum* L.) in Human Life: An Overview. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, 4(6), 265–280. <https://doi.org/10.15580/GJAS.2014.6.031914151>
- Singh, U. N., Kumar, S., & Dhakal, S. (2017). Study of Oxidative Stress in Hypercholesterolemia. *International Journal of Contemporary Medical Research*, 4(5), 1204–1207.
- Singh, V. P., Bali, A., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2014). Advanced glycation end products and diabetic complications. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 18(1), 1–14. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.1.1>
- Sizar, O., & Unakal, C. G. (2020). Gram Positive Bacteria. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470553/>
- Sologuren, I., Rodríguez-Gallego, C., & Lara, P. C. (2014). Immune effects of high dose radiation treatment: Implications of ionizing radiation on the development of bystander and abscopal effects. *Translational Cancer Research*, 3(1), 18–31. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2218-676X.2014.02.05>
- Sreekumar, R., Unnikrishnan, J., Fu, A., Nygren, J., Short, K. R., Schimke, J., Barazzoni, R., & Nair, K. S. (2002). Impact of high-fat diet and antioxidant supplement on mitochondrial functions and gene transcripts in rat muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 282(5), E1055-1061. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00554.2001>
- Tan, A. L. Y., Forbes, J. M., & Cooper, M. E. (2007). AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. *Seminars in Nephrology*, 27(2), 130–143. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2007.01.006>
- Taylor, F., Huffman, M. D., Macedo, A. F., Moore, T. H., Burke, M., Smith, G. D., Ward, K., & Ebrahim, S. (2013). Statin

- for The Primary Prevention of Cardiovascular Disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(CD 004816).
- Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2020). *Staphylococcus Aureus*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- Tocmo, R., Liang, D., Lin, Y., & Huang, D. (2015). Chemical and biochemical mechanisms underlying the cardioprotective roles of dietary organopolysulfides. *Frontiers in Nutrition*, 2, 1. <https://doi.org/10.3389/fnut.2015.00001>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Tremblay, A. J., Lamarche, B., Lemelin, V., Hoos, L., Benjannet, S., Seidah, N. G., Davis, H. R., & Couture. (2011). Atrovastatin Increases Intestinal Expression of NPC1L1 in Hyperlipidemic Men. *Journal of Lipid Research*, 52(3), 558–565.
- Trpkovic, A., Resanovic, I., Stanimirovic, J., Radak, D., Mousa, S. A., Cenic-Milosevic, D., Jevremovic, D., & Isenovic, E. R. (2015). Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 52(2), 70–85.
<https://doi.org/10.3109/10408363.2014.992063>
- Ugwu, C. E., & Suru, S. M. (2016a). The Functional Role of Garlic and Bioactive Components in Cardiovascular and Cerebrovascular Health: What We Do Know. *Journal of Biosciences and Medicines*, 04(10), 28–42.
<https://doi.org/10.4236/jbm.2016.410004>
- Ugwu, C. E., & Suru, S. M. (2016b). The Functional Role of Garlic and Bioactive Components in Cardiovascular and Cerebrovascular Health: What We Do Know. *Journal of Biosciences and Medicines*, 04(10), 28–42.
<https://doi.org/10.4236/jbm.2016.410004>
- Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., Yong, A., Striker, G. E., & Vlassara, H. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical

- guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.e12.
<https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.03.018>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Vanamala, J., Reddivari, L., Radhakrishnan, S., & Tarver, C. (2010). Resveratrol suppresses IGF-1 induced human colon cancer cell proliferation and elevates apoptosis via suppression of IGF-1R/Wnt and activation of p53 signaling pathways. *BMC Cancer*, 10(1), 238.
<https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-238>
- Verhagen, S. N., & Visseren, F. L. J. (2011). Perivascular adipose tissue as a cause of atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 214(1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2010.05.034>
- Viette, V., Hochstrasser, D., & Fathi, M. (2012). LC-MS (/MS) in Clinical Toxicology Screening Methods. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 66(5), 339–342.
<https://doi.org/10.2533/chimia.2012.339>
- Wang, X., & Quinn, P. J. (2010). Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Progress in Lipid Research*, 49(2), 97–107.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.06.002>
- Wong, B. W., Meredith, A., Lin, D., & McManus, B. M. (2012). The biological role of inflammation in atherosclerosis. *The Canadian Journal of Cardiology*, 28(6), 631–641.
<https://doi.org/10.1016/j.cjca.2012.06.023>
- World Health Organization (WHO). (2011). *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic*. WHO.
- Xu, L.-Q., Zeng, J.-W., Jiang, C.-H., Wang, H., Li, Y.-Z., Wen, W.-H., Li, J.-H., Wang, F., Ting, W.-J., Sun, Z.-Y., & Huang, C.-Y. (2017). Isolation and determination of four potential antimicrobial components from *Pseudomonas aeruginosa* extracts. *International Journal of Medical*

- Sciences*, 14(13), 1368–1374.
<https://doi.org/10.7150/ijms.18896>
- Yamagishi, S. (2011). Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes. *Experimental Gerontology*, 46(4), 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.11.007>
- Yamamoto, Y., Shimamoto, K., Sofikitis, N., & Miyagawa, I. (1999). Effects of Hypercholesterolaemia on Leydig and Sertoli Cell Function and The overall Sperm Fertilizing Capacity in Rabbit. *Human Reproduction*, 14(6), 1516–1521.
- Yoshioka, H., Coates, H. W., Chua, N. K., Hashimoto, Y., Brown, A. J., & Ohgane, K. (2020). A key mammalian cholesterol synthesis enzyme, squalene monooxygenase, is allosterically stabilized by its substrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(13), 7150–7158. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915923117>
- Zhang, C., Freddolino, P. L., & Zhang, Y. (2017). COFACTOR: Improved protein function prediction by combining structure, sequence and protein-protein interaction information. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W291–W299. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx366>
- Zhang, J.-M., & An, J. (2009). NOT RIGHT REFERENCE Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin.*, 69(2), 482–489. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
- Zhao, Y.-T., Qi, Y.-W., Hu, C.-Y., Chen, S.-H., & Liu, Y. (2016). Advanced glycation end products inhibit testosterone secretion by rat Leydig cells by inducing oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *International Journal of Molecular Medicine*, 38(2), 659–665. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2645>
- Zhu, Z. P., Huang, Y. F., Pan, I. J., & Xia, X. Y. (2005). The Effects of Diabetic Hyperlipidemia on The Development of Testes and Penis in Mole New Zealand Rabbits. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 11, 904–907.

GLOSSARIUM

Adipogenesis	Proses pembentukan dan perkembangan adiposit sebagai sel utama penyusun jaringan adiposa. Adiposit merupakan sel pasca mitotik, sehingga untuk terjadinya hiperplasia dibutuhkan adiposit baru yang dihasilkan dari diferensiasi sel prekursor.
Alkaloid	Senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan biasanya berupa sistem siklis.
Anabolisme	Proses pembentukan molekul kompleks di dalam tubuh dari sel yang lebih sederhana sehingga membutuhkan energi.
Antibiotik	Kelompok obat yang digunakan untuk mengatasi dan mencegah infeksi bakteri.
Antioksidan	Zat yang dapat mencegah atau memperlambat kerusakan sel akibat radikal bebas.
Aterogenesis	Proses terjadinya disfungsi endotel dengan meningkatkan permeabilitas terhadap monosit dan lipid.
Aterosklerosis	Penyakit degeneratif yang ditandai dengan penebalan lapisan permukaan dalam arteri yang diakibatkan oleh deposit lemak dan jaringan fibrosa.
Atropi	Proses fisiologis umum reabsorpsi dan kerusakan jaringan, yang melibatkan apoptosis sehingga ukuran jaringan tersebut mengalami penyusutan dari kondisi normal.
Binding affinity	Kekuatan interaksi pengikatan antara satu biomolekul (misalnya protein atau DNA) ke ligan (misalnya obat atau inhibitor).

Bioinformatika	Suatu ilmu atau metode mengumpulkan, dan menganalisis data biologi yang bersifat kompleks seperti data DNA, RNA, dan protein, menggunakan pendekatan komputasi. Bioinformatika melibatkan bidang ilmu komputer, matematika, dan statistik dalam memproses informasi yang masif dan sulit untuk dianalisis secara manual.
Degenerasi	Suatu perubahan keadaan secara fisika dan kimia dalam sel, jaringan, atau organ yang bersifat menurunkan efisiensinya.
Enzim	Biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis dalam suatu reaksi kimia organik.
Fagositosis	Suatu mekanisme pertahanan yang dilakukan oleh sel – sel fagosit dengan cara mencerna mikroorganisme / partikel asing yang masuk ke dalam tubuh.
Faktor transkripsi	Sekelompok protein di dalam inti sel yang berperan serta dalam proses transkripsi kode genetik menjadi mRNA. Faktor transkripsi merupakan mata rantai terakhir pada lintasan transduksi sinyal yang mengonversi sinyal ekstraseluler menjadi modulasi ekspresi genetik.
Farmakokinetik	Cabang ilmu dari farmakologi yang mempelajari tentang perjalanan obat mulai sejak diminum hingga keluar melalui organ ekskresi di tubuh manusia.

Flavonoid	Senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya terdapat di golongan tumbuhan.
Fosfolipid	Golongan senyawa lipid dan merupakan bagian dari membran sel makhluk hidup bersama dengan protein, glikolipid dan kolesterol.
Glikasi	Proses dimana gula di dalam aliran darah merekatkan diri ke protein dan membentuk molekul baru berbahaya bernama <i>advanced glycation end products</i> (AGES).
Hepatotoksisitas	Keadaan disfungsi atau kerusakan hati yang disebabkan oleh senyawa eksogen toksik.
High performance liquid chromatography (HPLC)	Suatu metode pemisahan molekul dengan media cair yang diberikan tekanan tinggi yang digunakan untuk mengetahui kadar senyawa tertentu pada suatu tumbuhan.
Hiperlipidemia	Kondisi ketidakseimbangan lemak dalam darah, yang ditandai dengan kadar kolesterol dan trigliserida yang tinggi.
Hyperkholesterolemia	Kondisi berbahaya yang ditandai dengan tingginya kadar kolesterol dalam darah.
Imun adaptif	Imunitas yang melibatkan mekanisme pengenalan spesifik dari patogen atau antigen ketika berkontak dengan sistem imun.
Imun bawaan	Sistem kekebalan pertama yang diperoleh manusia sejak saat dilahirkan. Imun bawaan bersifat tidak spesifik.
Imunohistokimia	Suatu metode laboratorium yang digunakan untuk memeriksa antigen (penanda) tertentu dalam sampel jaringan dengan

	menggunakan antibodi pada preparat jaringan.
Imunomodulator	Semua obat yang dapat memodifikasi respon imun, menstimulasi mekanisme pertahanan bawaan dan adaptif, dan dapat berfungsi baik sebagai immunosupresan maupun immunostimulan.
Imunostimulan	Substansi (obat dan nutrien) yang menstimulasi sistem imun dengan meningkatkan aktivitas komponen sistem imun untuk melawan infeksi dan penyakit.
In silico	Digunakan untuk memprediksi interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, salah satunya reseptor. Interaksi senyawa dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui pharmacophore dari suatu senyawa.
Infertilitas	Tidak mampu untuk hamil sesudah 12 bulan atau lebih tanpa menggunakan kontrasepsi dan bersifat primer dimana pasangan yang gagal untuk mendapatkan kehamilan untuk meneruskan keturunan.
Inflamasi	Respon fisiologis (respon imun) terhadap infeksi, luka, gangguan autoimun dan beberapa penyakit
Kardiovaskuler	Sistem yang terdiri dari jantung dan pembuluh darah
Katabolisme	Reaksi kimia atau enzimatis yang terlibat dalam pemecahan bahan organik atau anorganik seperti protein, gula, asam lemak, dan lainnya.

Kemokin	Keluarga sitokin kemoatraktan yang memainkan peran penting dalam migrasi sel
Limfosit	Sejenis sel darah putih yang merupakan bagian dari sistem kekebalan memiliki satu inti dan tidak bergranula
Lipopolisakarida	Kompleks lipid dan polisakarida terkait yang biasanya ditemukan dalam membran luar dari bakteri gram negatif
Lipoprotein	Kompleks makromolekul lipid dan protein
Liquid chromatography-mass spectrometry (LCMS)	Teknik kimia analitik yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik kromatografi cair atau liquid chromatography dengan kemampuan analisis massa spektrometri massa (MS), dapat digunakan untuk menganalisis senyawa biokimia, organik, dan anorganik.
Malondialdehid	Senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh.
Metabolisme	Keseluruhan reaksi kimia yang terjadi di dalam tubuh, terdiri atas anabolisme dan katabolisme untuk mensintesis bahan organik baru.
Metabolit Sekunder	Senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain.
Molecular docking	Pemodelan interaksi antara molekul kecil dan protein pada tingkat atom, yang memungkinkan untuk mengkarakterisasi perilaku molekul kecil di tempat pengikatan protein target.

Mutagenik	Efek yang menyebabkan terjadinya perubahan sifat genetika sel tubuh.
Mutasi	Perubahan materi genetik pada gen atau kromosom pada suatu sel yang bersifat acak dan tidak terarah.
Oksidasi	Reaksi yang berlangsung karena adanya Sejumlah oksigen (oksigen triplet dan oksigen singlet) yang menyebabkan berkurangnya elektron pada suatu atom atau ion.
Organosulfur	Kelas bahan organik yang mengandung sulfur (belerang).
OxLDL	Lipoprotein densitas rendah yang teroksidasi, dihasilkan dari peningkatan stres oksidatif.
Patogen	Organisme penyebab penyakit pada inangnya.
Peptidoglikan	Komponen penting dan spesifik dari dinding sel bakteri yang terdapat di luar membran sitoplasma hampir semua bakteri biasa disebut murein. Struktur utamanya adalah untaian glycan linier yang dihubungkan silang oleh peptida pendek.
Polisakarida	Struktur karbohidrat polimer dari gula sederhana (monosakarida) yang dihubungkan bersama oleh ikatan glikosidik.
Proliferasi	Peningkatan jumlah sel sebagai akibat dari pertumbuhan sel dan pembelahan sel.
Radikal bebas	Kelompok atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan.

Reactive oxygen species (ROS)	Sejumlah molekul reaktif dan radikal bebas yang berasal dari oksigen.
Reseptor	Molekul protein, biasanya permukaan sel yang mengikat ligan dan menyebabkan respon.
Ribosom	Partikel yang ada dalam jumlah besar di Semua sel hidup dan berfungsi sebagai tempat terjadinya sintesis protein.
Saponin	Kelompok bahan kimia yang beragam, yang namanya berasal dari kemampuannya membentuk busa seperti sabun dalam larutan air. Biasanya berasal dari metabolit sekunder yang bersifat glikosidik yang tersebar luas di tumbuhan
Scavenger	Superfamili dari reseptor terikat Membran yang pada awalnya dianggap mengikat dan menginternalisasi lipoprotein densitas rendah (LDL) yang dimodifikasi, meskipun saat ini diketahui mengikat berbagai ligan termasuk protein dan patogen endogen
Sitokin	Protein yang diproduksi dan disekresikan oleh banyak jenis sel imun yang berbeda, dan berperan pada proses inflamasi dan reaksi kekebalan.
Steatosis	Perubahan lemak, retensi abnormal lemak (lipid) di dalam sel atau organ
Steroid	Salah satu kelompok senyawa organik yang larut dalam lemak yang mengandung empat cincin diatur dalam konfigurasi molekul tertentu, yang diproduksi baik secara alami (yaitu dari sterol lanosterol dan cycloartenol) atau sintetis

Trombosis

Pembentukan bekuan darah (penyumbatan sebagian atau seluruhnya) di dalam pembuluh darah, baik vena atau arteri, membatasi aliran alami darah dan mengakibatkan gejala sisa klinis